

UNIVERZITA PARDUBICE  
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2020

Bc. Michal Kašpar

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Analýza těkavých látek v balzamikových octech

Michal Kašpar

Diplomová práce

2020

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

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Michal Kašpar**  
Osobní číslo: **C18553**  
Studijní program: **N1407 Chemie**  
Studijní obor: **Analytická chemie**  
Téma práce: **Analýza těkavých látek v balzamikových octech**  
Zadávající katedra: **Katedra analytické chemie**

### Zásady pro vypracování

1. Proveďte literární rešerši zaměřenou na octy a dále na využití extrakčních technik a plynové chromatografie pro analýzu těkavých látek v octech.
2. V experimentální části naleznete vhodné podmínky pro extrakci těkavých sloučenin a proveďte analýzu různých druhů balzamikového octa.
3. Porovnejte, jak se liší zastoupení těkavých látek v jednotlivých výrobcích a porovnejte dosažené výsledky s již známými studii.

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

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Tomáš Bajer, Ph.D.**  
Katedra analytické chemie  
Konzultant diplomové práce: **doc. Ing. Petra Bajerová, Ph.D.**  
Katedra analytické chemie  
Datum zadání diplomové práce: **5. února 2020**  
Termín odevzdání diplomové práce: **7. května 2020**



**prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.**  
děkan

L.S.



**prof. Ing. Karel Ventura, CSc.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2020

---

**Prohlašuji:**

Tuto práci jsem 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 25. 6. 2020

Kašpar Michal

## PODĚKOVÁNÍ:

Na tomto místě bych chtěl poděkovat vedoucímu diplomové práce Ing. Tomáši Bajerovi, Ph.D. za odborné vedení práce a za podporu a trpělivost při jejím vytváření. Děkuji také doc. Ing. Petře Bajerové, Ph.D. za poskytnutí cenných rad, připomínek a možnosti osobní konzultace při řešení problémů spojených s diplomovou prací. Dále děkuji své rodině za podporu a umožnění mého studia.

## **ANOTACE**

Diplomová práce se zabývá analýzou těkavých organických látek v balzamikovém octu pomocí plynové chromatografie. První polovina teoretické části je věnována octům, konkrétně pak jejich historii, výrobě, klasifikaci, charakterizaci a využití. Druhá polovina teoretické části se věnuje problematice analýzy těkavých organických látek. Popsána tu je metoda plynové chromatografie a detekce pomocí plamenové ionizace a hmotnostní spektrometrie. Značná část je věnována metodám extrakce se zaměřením na těkavé organické látky v octech. Teoretickou část uzavírá statistické vyhodnocení experimentálních dat. Experimentální část diplomové práce se zabývá optimalizací extrakčních podmínek pro analýzu těkavých organických látek v různých druzích balzamikových octů. Získané výsledky jsou porovnány s dostupnými literárními zdroji.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Balzamikový ocet, plynová chromatografie, mikroextrakce tuhou fází

## **TITLE**

Analysis of volatile compounds in balsamic vinegars

## **ANNOTATION**

The diploma thesis deals with the analysis of volatile organic compounds in balsamic vinegar using gas chromatography. The first half of the theoretical part is devoted to vinegars, specifically their history, production, classification, characterization and use. The second half of the theoretical part deals with the analysis of volatile organic compounds. The method of gas chromatography and detection by flame ionization and mass spectrometry is described here. A significant part is devoted to extraction methods with a focus on volatile organic compounds in vinegars. The theoretical part concludes with a statistical evaluation of experimental data. The experimental part of the diploma thesis deals with the optimization of extraction conditions for the analysis of volatile organic compounds in balsamic vinegars. The obtained results are compared with available literature sources.

## **KEYWORDS**

Balsamic vinegar, gas chromatography, solid phase microextraction



# OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ .....	13
SEZNAM TABULEK .....	14
SEZNAM ZKRATEK .....	15
ÚVOD .....	17
1 OCTY .....	18
1.1 Historie .....	18
1.2 Definice octa .....	18
1.3 Výroba .....	19
1.3.1 Tradiční metody .....	20
1.3.2 Moderní metody .....	20
1.3.3 Další zpracování .....	21
1.4 Klasifikace octů .....	21
1.4.1 Tradiční balzamikový ocet .....	22
1.5 Využití octů .....	23
1.6 Octové bakterie a kvasinky .....	24
1.7 Látky obsažené v octech a jejich vliv na aroma .....	25
2 ANALÝZA TĚKAVÝCH LÁTEK Z OCTŮ .....	28
2.1 Plynová chromatografie .....	28
2.1.1 Kapilární kolony v plynové chromatografii .....	28
2.2 Detektory v plynové chromatografii .....	29
2.2.1 Plamenově ionizační detektor .....	29
2.2.2 Hmotnostní spektrometrie .....	29
2.2.3 Spojení plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie .....	30
2.3 Extrakční techniky v plynové chromatografii .....	31
2.3.1 Headspace analýza .....	31
2.3.2 Mikroextrakce tuhou fází .....	32

2.3.3	Mikroextrakce na magnetickém míchadle .....	33
2.3.4	Spojení mikroextrakce tuhou fází a arrows .....	34
2.3.5	Extrakce nadkritickou tekutinou .....	34
2.3.6	Porovnání extrakčních technik .....	34
2.4	Současné trendy v analýze těkavých látek z octů .....	37
2.5	Vyhodnocení dat .....	39
2.5.1	Statistické vyhodnocení experimentálních dat .....	39
2.5.2	Retenční indexy .....	40
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	41
3.1	Vzorky octů .....	41
3.2	Materiál a chemikálie .....	42
3.3	Měření hustoty vzorků .....	42
3.4	Výběr a optimalizace extrakční techniky .....	42
3.4.1	Statická headspace extrakce .....	42
3.4.2	Mikroextrakce tuhou fází v parním prostoru .....	43
3.4.3	Optimalizace HS-SPME .....	43
2.4	Plynová chromatografie .....	44
2.4.1	Parametry plamenově-ionizačního detektoru .....	44
2.4.2	Parametry hmotnostního spektrometru .....	45
4	VÝSLEDKY A DISKUZE .....	46
4.1	Výběr extrakční techniky .....	46
4.2	Optimalizace mikroextrakce tuhou fází na šedém vlákně .....	47
4.3	Výsledky měření vzorků balzamikového octa .....	50
4.3.1	Identifikace látek .....	50
4.3.2	Semikvantitativní vyhodnocení .....	51
	ZÁVĚR .....	77
5	ZDROJE .....	79

6	PŘÍLOHY .....	91
---	---------------	----

## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 – Porovnání SPME a SPME-arrow .....	37
Obrázek 2 – Počty píků v závislosti na použitém extrakčním čase a extrakční teplotě určené metodou odezvové plochy .....	49
Obrázek 3 – Počty píků v závislosti na použitém objemu nasyceného roztoku NaCl a extrakční teplotě určené metodou odezvové plochy .....	49
Obrázek 4 – Počty píků při konstantní teplotě extrakce 75 °C a různých hodnotách extrakčního času a objemu nasyceného roztoku NaCl .....	50

## SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 – Obecné výhody a nevýhody jednotlivých technik extrakce .....	36
Tabulka 2 – Vzorčky balzamikových octů (zkratky AB značí Aceto balsamico a M značí Modena).....	41
Tabulka 3 – Návrh experimentu pro optimalizaci HS-SPME .....	43
Tabulka 4 – Nastavení průtoku jednotlivých plynů pro GC-FID analýzu.....	45
Tabulka 5 – Výsledky extrakce pomocí statického headspace po odečtení píků před pátou minutou (doba inkubace – 20 min).....	46
Tabulka 6 – Výsledky extrakce pomocí SPME po odečtení píků před pátou minutou (šedé vlákno – DVB/CAR/PDMS, červené vlákno – PDMS, doba inkubace – 20 min, doba extrakce – 60 min).....	46
Tabulka 7 – Počty píků jednotlivých experimentů při optimalizaci HS-SPME na šedém vlákne .....	48
Tabulka 10 – Retenční časy a indexy homologické řady <i>n</i> -alkanů .....	51
Tabulka 11 – Relativní zasoupení VOC ve vzorcích 1 - 10 balzamikového octa [%] ± výběrová směrodatná odchylka (n = 2) [%] .....	52
Tabulka 12 – Relativní zasoupení VOC ve vzorcích 11 - 20 balzamikového octa [%] ± výběrová směrodatná odchylka (n = 2) [%] .....	60

## SEZNAM ZKRATEK

*A.* – *Acetobacter*

BVM – balzamikový ocet z Modeny

CAR – Carboxen

CCA – angl. chromate copper arsenate

CCD – centrálně kompozitní plánování

DHS – dynamický headspace

DI – přímé ponoření

DVB – divynilbenzen

EU – Evropská unie

FDA – Úřad pro kontrolu potravin a léčiv

FID – detektor plamenové ionizace

*G.* – *Gluconoacetobacter*

GC – plynová chromatografie

HS – headspace

HSSE – headspace sorpční extrakce

MS – hmotnostní spektrometrie

NIST – Národní institut standardů a technologie

PDMS – polydimethylsiloxan

QqQ – tři kvadrupólové detektory uspořádané v řadě za sebou

RI – retenční index

*S.* – *Saccharomyces*

SBSE – extrakce na magnetickém míchadle

SFE – extrakce nadkritickou tekutinou

SHS – statický headspace

SPE – extrakce tuhou fází

SPME – mikroextrakce tuhou fází

TBVM – tradiční balzamikový ocet z Modeny

TDN – 3,4-dehydroionen

TOF – Analyzátor doby letu

USA – Spojené státy americké

VOC – těkavá organická látka

WCOT – angl. wall-coated open tubular

WHO – Světová zdravotnická organizace

## ÚVOD

Octy jsou řazeny do skupiny potravinářských výrobků, pro které je charakteristická přítomnost kyseliny octové. Ta vzniká procesem dvojího kvašení v sudech, kdy cukry z výchozí suroviny jsou nejprve přeměněny kvasinkami na alkohol a ten je následně bakteriemi octového kvašení přeměněn na kyselinu octovou. Jako výchozí surovinu lze využít prakticky jakékoliv ovoce, a dokonce i některou zeleninu (známé jsou např. rajčatové nebo švestkové octy), ale také pšenici či rýži. Nejčastější surovinou pro výrobu octa však stále zůstává vinná réva. Z takovýchto surovin jsou vyráběny octy v tradičním slova pojetí. Běžný nejlevnější kuchyňský ocet, obsahuje synteticky vyrobenou kyselinu octovou. Ocet nalézá využití nejen v kuchyni, ale také v medicíně, zemědělství či při odstraňování nečistot v domácnosti.

Balzamikový ocet patří mezi ty nejznámější. Výchozí surovinou pro jeho výrobu je vinná réva. Unikátní je jeho výrobní proces. Finálním produktem je tmavě hnědá viskózní tekutina s bohatým aroma, obohaceným o látky uvolňované z dřevěných sudů. Nejproslulejší balzamikový ocet je vyráběn v italské Modeně a nese chráněné označení „Tradiční balzamikový ocet z Modeny“.

Cílem této diplomové práce bylo najít optimální podmínky pro extrakci těkavých organických sloučenin z balzamikového octa a následně využít tyto podmínky pro charakterizaci aroma profilů balzamikových octů. Cílem analýzy bylo identifikovat co nejvíce těkavých organických sloučenin pomocí plynové chromatografie s hmotnostní detekcí a následně určit jejich semikvantitativní zastoupení pomocí plynové chromatografie s plamenově ionizačním detektorem a porovnat dosažené výsledky s jinými studiemi.



# 1 OCTY

## 1.1 Historie

Anglický výraz pro ocet vinegar má původ z latinského *vinum acer*, neboli ostré víno [1]. Historie využití octa lidmi sahá až 10 000 let zpátky v čase, přičemž první octy byly vyráběny a prodávány před 5 000 lety. Babyloňané vyráběli do 6. století různé variace octů ochucené například medem či ovocem pro potravinářské účely. O mediálním využití octa se zmiňuje Starý Zákon či nejproslulejší lékař starověku Hippokrates, který jej doporučoval pro čištění ulcerací a léčbu bolestivosti [2]. V egyptských urnách byly nalezeny zbytky octů, které se datují 3 000 př. n. l. Zmínky o octu lze nalézt v čínských textech, které pocházejí z let okolo 1 200 př. n. l. [3]. V 8. století ocet konzumovali samurajští válečníci, jelikož věřili, že jim dodá sílu potřebnou k boji [4]. Sung Tse, který se zasloužil o rozvoj soudního lékařství v Číně, využíval v 10. století síru a ocet k čištění rukou pro zábranu šíření infekce [5].

První chemické pokusy byly zaznamenány okolo 15. století, kdy mnich Basilius Venentinus získal destilací slabého octa silnější destilát. V první polovině 18. století německý chemik G. E. Stahl zjistil, že základním principem všech octů je kyselina octová. První kompletní analýzu kyseliny octové pak provedl J. J. Berzelius, a to v roce 1814 [2]. Velkou zásluhu v oblasti chemie octů má německý chemik J. W. Döbereiner, který v roce 1822 přišel se známou rovnicí oxidace ethanolu, kdy vzniká kyselina octová a voda. Na Döbereinera navázal Louis Pasteur. Ten k jeho rovnici přidal nepostradatelnou část, a to bakterie. Pasteur tak položil v roce 1864 pět základních podmínek pro vznik octa. Alkohol obsažený například v hroznovém víně, kyslík, bakterie *Mycoderma aceti*, výživa pro bakterie, kterou je zpravidla cukr a teplotu v rozmezí 20 až 35°C. Spektrum bakterií produkujících kyselinu octovou pak koncem 19. století rozšířil M. W. Beijerinck. Konkrétně zmínil 4 druhy bakterií, přičemž sám tvrdil, že toto číslo může být až pětkrát vyšší. Dnes je známo okolo šedesáti takových bakteriálních druhů [3].

Z výrobního hlediska stojí za zmínku jméno německého chemika Schutzenbacha, který v 19. století přišel s výrobní metodou tzv. generátorového procesu (také Schutzenbachův systém), který umožnil výrobu octa do sedmi dnů. Ve 20. století Otto Hromatka vyvinul metodu ponorných kultivačních systémů, která významně přispěla ke zdokonalení produkce octa [4].

## 1.2 Definice octa

Setkat se můžeme s celou řadou definic, které jsou si navzájem podobné.

Evropská unie definuje ocet jako produkt, vyráběný dvojitým kvašením látek zemědělského původu. Suroviny k tomu použité jsou např. víno, jablečný mošt, slad, rýžová kaše, syrovátka, hroznový mošt a dále různé druhy lihovin [6].

Definice octa podle Světové zdravotnické organizace (WHO, angl. World Health Organization) je následující. Kapalina vhodná pro lidskou spotřebu, vyráběná z vhodné suroviny zemědělského původu, obsahující škrob nebo cukr, případně škrob i cukr, vyráběná dvojitým kvašením, je alkoholická či acetózní a obsahuje určité množství kyseliny octové [7].

Dle „Nařízení o zacházení s octem a octovou esencí“ je ocet produkt, obsahující na 100 ml 5 až 15,5 g kyseliny octové, přičemž obsah zbytkového alkoholu nesmí být vyšší jak 0,5 %. Jako ocet se v tradičním pojetí považuje biologicky získaný produkt. Produkty označené jako „ocet vyrobený z kyseliny octové“ a „ocet vyrobený z octové esence“ obsahují synteticky vyrobenou kyselinu octovou. Octová esence představuje kyselinu octovou v koncentraci 15,5 až 25 g na 100 ml vody [8].

Dle malajského zákona o potravinách z roku 1983 a nařízení o potravinách z roku 1985 je ocet definován jako kapalný produkt vyrobený alkoholovým kvašením a následnou acetální fermentací vhodného jídla. Ocet nesmí obsahovat méně než 4 % kyseliny octové a zároveň nesmí obsahovat minerální kyseliny. Může však obsahovat konzervační látky, karamel či různé druhy koření [9].

Americká správa potravin a léčiv (FDA, angl. Food and Drug Administration) uvádí, že neexistují žádné standardy identity pro ocet. Přesto se FDA domnívá, že uspokojivou definicí pro přírodní ocet, je to, že musí obsahovat minimálně 4 g kyseliny octové na 100 ml produktu. Zároveň se ocet vyrábí alkoholovým a následným octovým kvašením ovocné šťávy [10].

### 1.3 Výroba

Výrobní proces se liší dle daného druhu octa. Základní surovinou pro výrobu mohou být hrozny, jablka a další ovocné šťávy [11]. Znamé jsou také octy vyrobené z rýže, sladu či piva. Výrobní schéma je poměrně jednoduché a zahrnuje první kvašení, kde se cukry přeměňují kvasinkami na alkohol. Ten je oxidován na kyselinu octovou pomocí bakterií v průběhu poslední fermentace [12]. Ne všechny octy se vyrábí touto cestou. Klasický, běžný ocet, který koupíme v supermarketu je vyráběn ze syntetické kyseliny octové, umělého barviva, octové trestí, soli a cukru [1]. Syntetická kyselina octová je získána z acetyleny, který se mění na acetaldehyd a ten na kyselinu octovou [8]. Z analytického hlediska tento ocet postrádá oproti tradičním octům vyrobených z biogenních zdrojů přítomnost  $^{14}\text{C}$  a  $^3\text{H}$  v methylové skupině kyseliny octové [13].

### 1.3.1 Tradiční metody

U tradičních octů se přeměna ethanolu na kyselinu octovou provádí tzv. statickou kulturou octových bakterií na rozhraní kapalina a vzduch. Dřevěné sudy o objemu 200 až 300 l se plní vínem pouze do dvou třetin z důvodu zachování vzduchové komory, která je navíc udržována ve styku s venkovním vzduchem pomocí různých typů otvorů. Takový systém je označován jako povrchová metoda [14]. Na povrchu pluje slizký škraloup (tzv. octová matka), který zde vytvořily octové bakterie. Po vytvoření škraloupu se může až 15 l octa odpuštit a nahradit novým vínem. Tento postup se opakuje až do poklesnutí koncentrace alkoholu pod 1 %. Poté se celé sudy vypustí a naplní novým vínem [8].

Určitou modifikací této metody je Orleansova metoda, kde jsou navíc boční otvory pro cirkulaci vzduchu a nálevka s prodloužením ke dnu sudu. Ta slouží pro přidavek vína, aby nedošlo k narušení povrchové kultury bakterií [14].

### 1.3.2 Moderní metody

Pro nalezení nejvhodnější metody pro výrobu octa byl založen projekt označován jako „EU WINEGAR“, který si kladl za cíl především zrychlení celého procesu. Hlavními optimalizačními parametry byly použitý surový materiál, použité sudy a výběr vhodné bakteriální kultury. Projekt dokázal snížit délku výrobního procesu z půl roku až jednoho roku, na pouhých 50 dnů [15].

Dalším možným postupem je Schutzenbachův systém (tzv. sudová metoda). Zde jsou bakterie imobilizovány na dřevěných štěpkách sudu, kde vytvářejí lože. Následně tekutina prochází tímto sudem, dochází ke kontaktu kapaliny a bakterií. Tato kapalina je shromážděna v dolním kontejneru a následně je znovu přečerpána do sudu. Tím dochází ke zvýšení podílu kyseliny octové [14]. V praxi se osvědčila také imobilizace bakterií na hoblinách ze dřeva. Takto infikované hobliny mohou být používány až 50 let [8].

Ještě rychlejší alternativou jsou tzv. ponořené kultivační systémy, kdy turbíny vytvářejí proud vzduchu v sudu naplněném např. vínem. Oxidační proces probíhá na rozhraní vzduch a kapalina vzduchových bublin. Tímto procesem se docílí menšího množství ostatních metabolitů a také dojde ke značné ztrátě těkavých sloučenin z původního vína [14]. Oproti sudové metodě zde bakterie volně plují v celém objemu tekutiny. Sudy použité u této metody byly původně dřevěné, dnes se vyrábí z hygieničtější oceli a mají obsah až 500 hl. Rychlost celého procesu je extrémně rychlá a lze tak z jednoho sudu vyrobit až 120 hl surového octa [8].

### 1.3.3 Další zpracování

Slizové látky a další nečistoty se odstraní filtrací. Ocet je následně skladován v chladu a temnu bez přístupu vzduchu (místnost je naplněna dusíkem nebo CO<sub>2</sub>), jelikož by octové bakterie v přítomnosti kyslíku znovu zahájily oxidační proces (bez přístupu vzduchu bakterie odumřou nebo se deaktivují). Octy vyrobené především sudovou metodou jsou skladovány po delší dobu, z důvodu rozvinutí jejich chuti a samočištění, kdy se tříslovina (sekundární metabolit rostlin polyfenolického původu) usadí na dně sudu. Při nedostatečném samočištění se ocet může vyčeřit (přidání specifických látek podporující čištění). K čeření se používají např. kyselina křemičitá, bentonit nebo želatina. Jedním z posledních kroků je ředění octa vodou, pro dosažení potřebné koncentrace kyseliny octové. Důležitým krokem je pasterizace, pomocí které dojde k denaturaci bílkovin a tím pádem k úplné deaktivaci zbylých bakterií [8].

### 1.4 Klasifikace octů

Klasifikace typu octa se řídí dle FDA na základě použitého materiálu a způsobu výroby [13].

Jablečný ocet se vyrábí dvojnásobným kvašením jablečného moštu. V angličtině se můžeme setkat s označením „cider vinegar“. Toto označení platí nejen pro jablečný ocet, ale např. pro ocet z broskví a dalších plodů. Prodává se jako nefiltrovaný se žlutou až nahnědlou barvou [13]. Jablka pro výrobu tohoto octa by měla mít vysoký obsah cukrů (pokud není obsah dostatečně vysoký, přidává se průmyslově vyrobený cukr). Z jablek se vytvoří jablečná šťáva, z ní jablečné víno a z něho ocet. Tyto octy chutnají nakysle a je z nich cítit chuť původního ovoce. Z pohledu obsahu látek je základ velmi podobný ostatním octům, tedy kyselina octová o koncentraci 5 % a alkohol do 0,5 %. V octu nalezneme také cukr, pektiny, aromatické látky, draslík a vitamín C [8].

Vinný ocet se vyrábí dvojnásobným kvašením šťávy z vinných hroznů. Jedná se o nejčastěji používaný ocet ve střední Evropě, vyniká komplexní a jemnou chutí. Pro dosažení lepších vlastností se doporučuje zrání v sudech alespoň 2 roky [13]. Zpravidla se tento ocet dělí na bílý a červený (podle druhu vinné révy), kde červený má často výraznější chuť. Na rozdíl od ostatních octů může obsahovat alkohol až do koncentrace 1,5 %. Dále obsahuje minimálně 6 % kyseliny octové, cukr, aromatické látky a značné množství draslíku z vinné révy. Vinný ocet je často nechtěným produktem při výrobě vína, kdy se do nedokonale uzavřených sudů dostanou octové bakterie (tomu se brání sířením vína) [8].

Sladový ocet se vyrábí dvojnásobným kvašením obilovin, kde škrob byl přeměněn na maltózu [13]. Jiným označením je pивní ocet. Základní surovinou je ječmen, který se namočí do vody

a vznikne tak slad. Ke sladu se za nepřístupu vzduchu přidají pivní kvasinky, čímž vznikne pivo, ze kterého se pomocí bakterií vytvoří ocet. Chuťově ocet připomíná pivo, má nakyslou a trpkou chuť. Vzhledem ke svému původu obsahuje vitamín B2 a bílkoviny [8].

Cukrový ocet se vyrábí dvojnásobným kvašením cukrového sirupu nebo melasy [13].

Michaný ocet vzniká ze směsi lihového a jablečného octa [13].

Rýžový ocet, vyrobený dvojnásobnou fermentací cukrů z rýže. Tento ocet bývá často ochucen dalšími aditivy. Vysoké popularitě se těší ve východní a jihovýchodní Asii [13]. Čínský rýžový ocet představují 3 základní druhy. Prvním je ocet Chen (dlouho uleželý ocet), kvasící za vysokých teplot. Druhým druhem je ocet Xiang (vonící ocet), vyráběný z lepkavé rýže a kvasící při středně vysoké teplotě. Třetím druhem je ocet Baoning [8].

Rýžový ocet vyniká jemnou chutí a decentní kyselostí. Velmi populárním se stal v čínském městě Xi'an, kde se konzumuje ve vysoké míře [8]. Zatímco čínské octy mají výraznou osvěžující chuť, japonské octy jsou sladší a méně výrazné [16].

Balzamikový ocet, kterému bude vzhledem ke své tradici a specifické výrobě věnována samostatná kapitola.

Mimo členění FDA rozeznáváme také octy vinařské, lihové, Champagne, bylinné a kořenné, zeleninové, hrozinkové a syrovátkové [8].

Za zmínku stojí ocet Sherry, který se vyrábí z bílého vína a jehož popularita nabývá na významu. Vyniká bohatým aroma a příjemnou chutí, která se získává pomocí specifického výrobního postupu, tzv. „soleras y criaderas“, který zahrnuje pomalou acetifikaci a delší zrání ve dřevěném sudu. Podobně jako balzamikový ocet, i ocet Sherry je chráněn ochranou známkou, konkrétně „Vinagre de Jerez“ (výrobky zrající ve dřevě po dobu od 6 měsíců do 2 let) a „Vinagre de Jerez Reserva“ (zrající v dřevu déle než 2 roky) [17].

#### **1.4.1 Tradiční balzamikový ocet**

Nejproslulejším balzamikovým octem je ocet pocházející z italské Modeny. V roce 2000 získal od EU chráněné označení, díky kterému se může vyrábět pouze v italských provinciích Modena a Reggio Emilia, a to podle přesně daných postupů a z plodů vinné révy pocházejících z této oblasti. Nejpoužívanější révou je Trebbiano. Mošt se vloží do sudů z různých druhů dřeva (moruše, třešeň, kaštan, dub a jalovec). Mošt tak postupně prochází všemi druhy dřevěných sudů, kdy každý druh mu přidá unikátní charakteristiky. Tento proces se nazývá doplňování.

Sudy bývají umístěny v půdních prostorách za proměnlivé teploty, kdy vysoké letní teploty podporují mikrobiální aktivitu a naopak nízké teploty v zimě podporují vývoj chuti. Zrání octa trvá nejméně 12 let [18]. Finálním produktem je vysoce hustý tmavě hnědý ocet, vykazující sladkokyselou chuť s ovocnou a komplexní příchutí [19]. Díky své dlouholeté tradici, dlouhé době zrání a unikátním výrobním postupům patří tento ocet mezi ty nejdražší [1]. Z analytického hlediska obsahuje tento ocet vyšší koncentraci kyseliny octové, aromatické látky ze dřeva a chuťové látky z hroznů [8].

Takto vyráběné octy nesou chráněné označení „Aceto Balsamico tradizionale di Modena či di Reggio Emilia“. Existuje však další označení „Aceto Balsamico di Modena“. Tento ocet se vyrábí taktéž v Modeně, ale většinou zcela jiným způsobem, a především po mnohonásobně kratší dobu. Liší se tak nejen chutí, ale především cenou a kvalitou. Další označení „Aceto Balsamico“ patří octům, vyráběným po celém světě [8].

## 1.5 Využití octů

Největší využití má ocet bezesporu v potravinářství. Hlavní složkou je kyselina octová v obsahu okolo 5 g na 100 ml. Díky kyselině octové má ocet kyselou vůni a zároveň je dobrým konzervačním prostředkem. Díky nízkému obsahu kalorií je vhodný do nízkokalorické diety a do diety s nízkým obsahem sodíku [1]. Používá se jako přísada v kečupu, hořčici, marinádách nebo majonéze. Zároveň slouží jako koření či náhrada za citrón [13].

Kromě potravinářství nalézá ocet široké uplatnění v medicíně, jelikož přináší celou řadu benefitů. Ocet má antimikrobiální účinky a používá se k léčbě plísní nehtů, bradavic a ušních infekcí [20]. Polyfenoly a vitamíny obsažené v octech napomáhají v boji proti oxidačnímu poškození organismu. Octy tak svým antioxidačním účinkem brání např. zrychlenému stárnutí, rakovině a poruchám mozku [21]. Hned několik studií provedených na zvířatech a lidech prokázalo, že ocet napomáhá při léčbě cukrovky [22]. Studie provedená Johnstonem a kol. zjistila zlepšení citlivosti na inzulín po léčbě octem u 19 % pacientů s diabetem typu 2 [23]. Rýžový ocet Kurosu vyráběný v Japonsku je významným zdrojem fenolických sloučenin, které snižují riziko výskytu rakoviny [24]. Stejně tak studie japonského octu Kibizu vyráběný z cukrové třtiny prokázala snížení rizika rakoviny jícnu [25]. Konzumace octů také pomáhá v boji proti obezitě [26] a při prevenci proti kardiovaskulárním chorobám [27].

Lidské tělo vyrobí za den až 100 g kyseliny octové ze sacharidů a tuků (při vyšší spotřebě energie je toto množství vyšší). Kyselina octová (syntetizovaná v těle nebo získaná konzumací octa) je dále rozložena na CO<sub>2</sub> a vodu, které jsou z těla vyloučeny. Pakliže použijeme ocet o

koncentraci kyseliny octové vyšší jak 11 g na 100 ml, může dojít k poleptání sliznice trávicí soustavy. Při takové situaci je nejlepší vypít velké množství vody [8].

Praktické využití nalézá ocet při čištění v domácnosti, zvláště při čištění minerálních usazenin na hladkém povrchu. Ocet se používá také v zemědělství jako účinný herbicid, kdy 5% až 20% kyselina octová je schopna likvidovat běžný plevel [13]. Zajímavým využitím je extrakce mědi, chromu a arsenu ze dřeva ošetřeného CCA (angl. chromate copper arsenate). Ocet tak může sloužit jako náhrada za syntetické chemikálie používané k odstraňování kovů z odpadů dřevozpracujícího průmyslu [28]. V neposlední řadě nachází ocet uplatnění i v kosmetice při čištění pleti a péči o vlasy [8].

## 1.6 Octové bakterie a kvasinky

Octové bakterie jsou gramnegativní nebo gramvariabilní, aerobní bakterie elipsoidního až tyčinkovitého tvaru, netvořící spóry a vyskytující se samostatně, ve dvojicích nebo řetězcích. Velikostně se pohybují okolo 0,4 až 1  $\mu\text{m}$  na šířku a 0,8 až 4,5  $\mu\text{m}$  na výšku. Z hlediska základních biochemických testů jsou kataláza pozitivní a oxidáza negativní [29].

Bakterie kyseliny octové mají unikátní schopnost oxidovat uhlíkaté sloučeniny, zejména cukry a alkoholy. Díky této vlastnosti nalézají široké uplatnění v potravinářském průmyslu, včetně výroby octa, kde kyselina octová vzniká především z ethanolu, a to u rodů *Acetobacter* a *Gluconoacetobacter*. U rodu *Gluconobacter* vzniká kyselina octová oxidací cukrů. Navíc rychlost této přeměny je rozdílná u různých druhů bakterií [12].

Nejčastěji izolovanými bakteriálními rody z octů jsou *Acetobacter* a *Gluconoacetobacter*. Z druhového hlediska jsou hojně izolovány *A. pasteurianus*, *A. polyoxogenes*, *G. xylinus*, *G. hansenii*, *G. europaeus*, *G. oboediens*, *G. intermedius* a *G. entanii* [30].

Izolace bakterií z octa, resp. moštu je náročná na kvalitu použitého kultivačního média. Problém nastává při izolaci z prostředí o koncentraci kyseliny octové vyšší jak 10 % a hodnoty pH okolo 2 [12], přičemž optimální hodnoty pH pro růst octových bakterií jsou od 5,5 do 6,3 [31]. Životaschopnost bakterií v moštu závisí také na koncentraci ethanolu. Zatímco *A. pasteurianus* je schopný tolerance 10% ethanolu, *G. europaeus* je schopný tolerovat prostředí 5% ethanolu, přičemž obsah ethanolu v moštu běžně nepřesahuje hodnotu 8 %. Zároveň většina bakteriálních druhů není schopná tolerance koncentrace cukrů vyšší jak 40 % [32]. Octové bakterie jsou mezofilní mikroorganismy a optimální teplota pro jejich růst se pohybuje mezi 25 °C a 40 °C. V podmínkách nad 40 °C dochází k denaturaci enzymů,

poškození membrány a zvýšení citlivost na účinek kyseliny octové [33]. Ve skutečnosti jsou octové bakterie aktivní i při teplotě 10 °C, mají však daleko pomalejší růst [31].

Kromě výroby octa mají tyto bakterie využití i v dalších oblastech potravinářského průmyslu. Naopak negativní význam mají při výrobě vína a piva, kdy dochází ke kazení těchto nápojů. Navíc tyto bakterie mohou být odolné vůči konzervačním látkám, jako je kyselina sorbová, kyselina benzoová a dimethyldikarbonát [31].

Z výrobního hlediska jsou pro výrobu octa důležité také kvasinky, především *Saccharomyces cerevisiae*, ty však postrádají schopnost oxidovat ethanol na kyselinu octovou, a proto se využívají pouze k přeměně cukrů na alkohol [34]. U tradičních balzamikových octů bylo dokázáno, že převládající je kvasinkový kmen *Zygosaccharomyces*. Kvasinky mají tři důležité vlivy na kvalitu výsledného produktu. Kromě již zmíněné přeměny cukrů na alkohol, mají vliv na výsledné aroma a chemicko-fyzikální transformaci [35]. Volba vhodného kmene může významně přispět k množství produkovaných těkavých sloučenin a alkoholu. Například *Saccharomyces cerevisiae* var. *bayanus* produkuje vyšší množství kyseliny octové ve srovnání se *S. cerevisiae* var. *cerevisiae* při 18 °C, jak je ukázáno ve studii provedené Vallesem a kol. [36].

## 1.7 Látky obsažené v octech a jejich vliv na aroma

Všechny octy obsahují vodu a kyselinu octovou o běžné koncentraci 5 až 6 %. O obsahu dalších látek rozhodují především použité suroviny pro výrobu, metoda výroby a druh skladování. Výjimkou jsou octy vyrobené ze syntetické kyseliny octové, které neobsahují žádné další doprovodné látky. U tradičně vyráběných octů platí většinou pravidlo, že čím přírodněji a déle se ocet vyrábí, tím obsahuje širší spektrum látek, obvykle ve stopovém množství [8]. Dalšími fermentačními produkty jsou např. organické kyseliny, estery, ketony a aldehydy. Pro většinu těchto sloučenin je prekurzorem právě kyselina octová [37].

Octy obsahují malá množství vitamínů, minerálů a stopových prvků. Čiré octy obsahují jen malé množství kalu, který se skládá z pektinů a sekundárních rostlinných látek. Dlouhodobým skladováním v dřevěných sudech získají octy tanin, tříslovinu a kyselinu tříslovou [8].

Analýzou těkavých látek v balzamikových octech se zabýval Del Signore [38]. Konkrétně porovnával látkový profil tradičních balzamikových octů, balzamikových octů a běžných octů z Modeny a Reggio Emilia. Tato studie prokázala, že běžné a balzamikové octy obsahují větší množství esterů a kyseliny propionové než tradiční balzamikové octy. Naopak aldehydy jako diacetyl, hexanal a heptanal byly ve vyšším množství nalezeny v tradičním balzamikovém octu.



Z alkoholů byl oktanol přítomen ve vyšším množství u tradičních balzamikových octů, zatímco 1-propanol, isobutylalkohol, isoamylalkohol a 1-hexanol byly přítomny ve vyšším množství v balzamikových octech. U běžných octů byly ve zvýšené míře nalezeny 2-propanol a ethanol.

Chuť a vůně jsou jedny z nejdůležitějších charakteristik, které nás na octech zajímají a určují kvalitu a využití jednotlivých výrobků. Zdrojem chuti a vůně je celá řada těkavých látek. Celé toto spektrum závisí na použitém surovém materiálu pro výrobu octa, na metodě výroby a v neposlední řadě na typu dřevěných sudů a jejich stárnutí [39]. Ke spektru těchto látek podílejících se na chuti a vůni patří karbonylové sloučeniny, ethery, acetály, laktony, kyseliny, těkavé fenoly a estery [40].

Analýzou těkavých látek se zaměřením na aroma v balzamikových a vinných octech se zabýval Ugliano a kol. [41]. Konkrétně porovnávali aromaprofil tradičního balzamikového octa z Modeny, běžného balzamikového octa z Modeny a vinného octa pomocí plynové chromatografie. U tradičního balzamikového octa z Modeny byly jako nejkonzentrovější látky zjištěny kyselina octová (octové aroma), diacetyl (máslové aroma), kyselina 3-methylbutanová (sýrové aroma) a neidentifikované látky s aroma karamelu a medu. U běžného balzamikového octa z Modeny byly jako nejkonzentrovější látky zjištěny kyselina octová, kyselina 3-methylbutanová, 2-fenylethanol (aroma růže) a neznámá sloučenina s aroma karamelu. U vinného octa byly jako hlavní složky identifikovány kyselina octová, kyselina 3-methylbutanová, 2-fenylethanol a neznámá látka s aroma lékořice.

Velmi obsáhlý výčet těkavých látek v octech a jejich vliv na aroma lze nalézt v knize *Advances in Vinegar Production* od A. Bekatoroua [42]. Například kyselina octová, kterou lze nalézt ve všech typech octa, je zde charakterizována pronikavým zápachem a původem z fermentačního procesu. Ethylacetát, vyskytující se prakticky ve všech octech, je charakterizován lepidlovým aroma a původem ve fermentaci a zrání.

Nemalý podíl na octovém aroma mají dřevěné sudy. Na aromatickém profilu se u oblíbených dubových sudů podílí především látky eugenol a vanilin, které vznikají degradací ligninu. Eugenol má aroma hřebíčku a vanilin je znám jako hlavní aromatická složka vanilky. Vyšší koncentraci těchto látek a také urychlení celého výrobního procesu lze dosáhnout přidáním tepelně upravených dubových čipů (třísek o velikosti 5 až 10 mm) [43]. Pro octy vyrobené v dubových sudech je charakteristická přítomnost dubových laktonů. Pro třešňové sudy to jsou látky ethyl furoát a ethyl benzoát [44].

Součástí některých octů mohou být také ochucovadla, která se do octů přidávají pro získání unikátních charakteristik. K aromatizaci se běžně používají bylinky estragon, česnek a bazalka. Z ovoce to jsou především maliny, třešně a citróny [45].

## 2 ANALÝZA TĚKAVÝCH LÁTEK Z OCTŮ

### 2.1 Plynová chromatografie

Historie plynové chromatografie (GC, angl. gas chromatography) sahá do první poloviny dvacátého století. První průmyslový plynový chromatograf sestavil N. C. Turner a to roku 1943. Zařízení mohlo být využito k částečné frakcionaci zemního plynu a využívalo rtuťových par [46]. Znamější jsou však jména Martin a James, kteří v roce 1952 přišli s chromatografií s inertním nosným plynem používaným jako mobilní fáze [47].

Jedná se o techniku analytické chemie, určenou pro separaci a analýzu těkavých složek vzorku. Vhodná je jak pro analýzu plynů, kapalin či vhodně rozpuštěných tuhých látek. Stejně tak ji lze využít pro analýzu organických látek v rozsahu molekulových hmotností 2 až 1000 Da. Principem je distribuce složek vzorku mezi dvě fáze. První z nich je stacionární fáze a druhou je mobilní plynná fáze, která se pohybuje podél fáze první. Mezi základní části plynového chromatografu patří zdroj plynu, dávkovač, kolona, detektor a výpočetní systém, kterým je dnes zpravidla počítač. Nedílnou součástí je také termostat, regulační systém a čistící zařízení [48].

#### 2.1.1 Kapilární kolony v plynové chromatografii

Chromatografická kolona je nejdůležitější součástí plynového chromatografu. Hlavním účelem kolony je separace jednotlivých složek vzorku. Kolonou protéká mobilní fáze, tedy nosný plyn, spolu se vzorkem. Při tom se jednotlivé složky vzorku zadržují různými silami na stacionární fázi. Díky tomu vystupují na detektor různé látky v různém čase. Tyto retenční časy  $t_R$  jsou pak základní kvalitativní charakteristikou každé látky [49].

V současné době se vzhledem ke svým výhodám (vyšší účinnost, rychlejší separace) využívají především kapilární kolony zhotovené z taveného křemene, stočené do válcovitého tvaru a uložené v termostatu. Vnitřní prostor kapilární kolony není vyplněn tuhým materiálem (jako v případě náplňových kolon). Stacionární fáze je tak pouze nanášena v podobě tenkého filmu o tloušťce 0,2 až 5  $\mu\text{m}$  na vnitřní straně kapiláry. Takové kolony nesou označení WCOT (wall-coated open tubular). Typické WCOT kolony mají vnější průměr 0,40 mm, vnitřní průměr 0,25 mm a délku 15 až 60 m [48].

Stacionární fáze jsou na bázi porézních polymerů (pro těkavé polární a nepolární látky), oxidů hliníku (pro uhlovodíkové nečistoty v  $C_1 - C_5$  uhlovodících), oxidů křemíku (pro  $C_1$  až  $C_5$  uhlovodíky a plyny obsahující síru) a carbonu (pro CO a  $CO_2$  ve vzduchu). Z uvedených příkladů je patrné, že nejvyšší využití pro analýzu těkavých organických látek (VOC, angl.

volatile organic compound) mají organické polymery. Pro nepolární analyty se využívají fáze na bázi např. polydimethylsiloxanu a jeho modifikací. Pro středně polární látky jsou příkladem stacionárních fází propriety či polydifenyl dimethylsiloxan a pro polární látky se využívají např. polyethylenglykol a polybiscyanopropylsiloxan [50].

## 2.2 Detektory v plynové chromatografii

### 2.2.1 Plamenově ionizační detektor

Plamenový ionizační detektor (FID, angl. flame ionization detector) je nejpoužívanějším detektorem ve spojení s plynovým chromatografem. Detektor vyniká širokým polem aplikací, velkým dynamickým rozsahem, snadnou manipulací a vysokou spolehlivostí. Nosný plyn s analyty vycházející z kolony je smíchán s vodíkem, vzduchem a případnými přídavnými plyny. Ve vzniklém plameni těsně nad špičkou trysky dochází ke spalování organických látek. Molekuly těchto sloučenin jsou tak štěpeny na fragmenty iontového nebo radikálového typu. Součástí detektoru jsou dvě elektrody. První elektrodou je samotný hořák, který je uzemněn a druhou elektrodu tvoří tzv. kolektor. Mezi elektrody je aplikováno záporné polarizační napětí. Díky tomu dochází k urychlení elektronů a vzniku iontového proudu, který se zaznamenává a je přímo úměrný počtu iontů. Výsledná odezva je závislá na počtu atomů uhlíku, charakteru vazeb mezi dvěma uhlíky a na počtu ostatních atomů [51].

### 2.2.2 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie (MS, angl. mass spectrometry) je technika analytické chemie vhodná pro kvalitativní, ale také kvantitativní analýzu. Jejím principem je generace iontů z organických látek a jejich následná separace podle poměru  $m/z$ , kde  $m$  značí molekulovou hmotnost a  $z$  značí náboj [52]. Hmotnostní spektrometr v základu tvoří zdroj iontů, hmotnostní analyzátor a detektor. Zdroj iontů produkuje ionty v plynné fázi, hmotnostní analyzátor tyto ionty oddělí podle poměru  $m/z$  a jejich záznam provede detektor [53]. Iontový zdroj, hmotnostní analyzátor i detektor jsou umístěny v silném vakuu. Ostatní části jako dávkovač a počítač jsou umístěny v běžné atmosféře [52].

Ve zdroji iontů může ionizace probíhat na základě dvou mechanismů. Prvním z nich je elektronová ionizace, která se řadí mezi tvrdé ionizační techniky. Molekula analytu při této ionizaci získá nadbytek vnitřní energie což vede k fragmentaci molekulárního iontu. Vznikají ionty s lichým počtem elektronů. Tato technika má v plynové chromatografii nespornou výhodu v možnosti použití knihovny spekter, což vede k velmi snadné identifikaci. Její nevýhodou je však častá absence molekulárního iontu, proto byla zavedena šetrnější metoda,

a to chemická ionizace, která se označuje jako měkká ionizační technika. Při chemické ionizaci je množství přijaté energie molekulou analytu daleko menší, což má za následek vznik převážně deprotonovaných či protonovaných molekul. Chemickou ionizací vznikají ionty se sudým počtem elektronů [53].

Na výběr máme z několika hmotnostních analyzátorů. Pro svoji jednoduchost a nízkou cenu je nejpoužívanějším analyzátozem kvadrupólový analyzátor, dělicí ionty na základě stability oscilací při změnách stejnosměrného napětí. Určitou modifikací je QqQ, neboli trojitý kvadrupól, který představují 3 kvadrupólové analyzátory uspořádané za sebou. Další možností je analyzátor doby letu (TOF, angl. time of flight), který dělí ionty na základě jejich různé doby letu. Dále iontové pasti, které fungují na principu zadržování a vypuzování iontů uvnitř pasti pomocí vhodně zvolené hodnoty napětí. Za nejlepší analyzátory jsou považovány Orbitrap, kde ionty oscilují s různými frekvencemi kolem vřetenovité elektrody a iontová cyklotronová rezonance, kde ionty vykonávají cykloidální pohyb v magnetickém a elektrickém poli [53].

### **2.2.3 Spojení plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie**

Spojení plynové chromatografie a detekce pomocí hmotností spektrometrie přináší celou řadu benefitů. Obě techniky se navzájem doplňují. Plynová chromatografie dokáže výborně separovat celou řadu látek ve vzorku, problém však může nastat u selektivní detekce. Tento nedostatek nahrazuje právě hmotnostní detekce. Největším problémem ve spojení těchto dvou technik byl rozdíl tlaků na výstupu z kolony (101,325 kPa) a v hmotnostním spektrometru (0,01 mPa až 0,001 mPa). K překonání tohoto problému byla navržena celá řada řešení [54]. Všechna řešení, resp. všechny spojovací články by neměly ovlivňovat dělení na koloně a separační charakteristiky. Měly by do MS převádět vzorek bez nosného plynu a zároveň by měly být chemicky i fyzikálně inertní. Neměly by vykazovat závislost na průtoku plynu a pracovní teplotě a měly by se hodit pro všechny druhy kolon. Z možných přístupů stojí za zmínku přímé napojení, napojení otevřeným děličem a napojení pomocí separátoru [49].

Dnes je tato technika spojena výhradně s kapilárními kolonami a použitelná je tehdy, pokud je průtok plynu v koloně nízký (několik ml/min) a naopak rychlost čerpání vakuového systému MS vysoká (stovky litrů za sekundu). Kapilární kolona je navíc přímo vložena do iontového zdroje. Toto spojení je vhodné pro kvalitativní i kvantitativní analýzu, dosahuje velmi nízkých detekčních limitů a umožňuje snadnou identifikaci látek pomocí knihovny spekter [54].

## 2.3 Extrakční techniky v plynové chromatografii

### 2.3.1 Headspace analýza

Techniku headspace (HS) můžeme definovat jako extrakci v plynné fázi, která zahrnuje rozdělení analytů mezi netěkavou kapalnou (či tuhou) fází a parní fází nad kapalinou (či tuhou látkou). Prvního použití se tato technika dočkala v roce 1958. Jednalo se o tzv. statickou headspace analýzu. Teoretické zmínky se však objevily již v roce 1939 [55]. Headspace je rychlá, jednoduchá, efektivní a ekologická metoda odběru vzorků používaná ve spojení s kapilární plynovou chromatografií [56]. Kromě klasických přístupů, kterými jsou statická a dynamická headspace analýza, existují i další metody, které se objevily v rámci miniaturizace a automatizace. Patří sem membránová extrakce a “headspace solvent microextraction”. I přes velký potenciál obou technik, nenalézají uplatnění v analýze těkavých látek z octů [55].

Statická headspace analýza (SHS, angl. static headspace) je starší technikou, avšak její využití v analytické chemii nalézá vysoké uplatnění, jelikož je dobře automatizovatelná a validovatelná [55]. Principem jsou dva po sobě následující kroky. Vzorek (kapalina či tuhá látka) je umístěn do vialky, která je uzavřena a následně zahřívána na požadovanou teplotu a dochází v ní k ustavování rovnováhy v celém systému. Těkavé látky se tak dostanou do prostoru nad kapalinou či tuhou látkou a mohou být v druhém kroku přeneseny do proudu nosného plynu, který analyty unáší do kolony plynového chromatografu. Přenesení vzorku na kolonu může probíhat např. manuálně pomocí injekční stříkačky nebo automaticky pomocí přetlaku ve vialce [57]. Ariseto a Toledo [58] uvádí jako hlavní optimalizační parametry teplotu, dobu potřebnou k dosažení rovnováhy, objem prostoru nad kapalinou a instrumentální podmínky. Optimalizace této metody také závisí na velikosti rozdělovacího koeficientu. Pokud je nízký, zvýšením objemu vzorku dojde ke zvýšení citlivosti. Pokud je nízký, zvýšením teploty a přidáním soli dojde ke zvýšení citlivosti [59]. Právě nízká citlivost je hlavní nevýhodou ve srovnání s dynamickou headspace analýzou. Technika nalézá široké uplatnění v environmentální, farmaceutické, klinické a biologické analýze [55].

Dynamická headspace analýza (DHS, angl. dynamic headspace) představuje dobře prověřenou techniku, která je vhodná pro analýzu velmi nízkých koncentrací [55]. Principem této techniky je kontinuální obměna plynné fáze pomocí proudu inertního plynu. Ten prochází buď prostorem nad vzorkem nebo přímo prochází kapalným vzorkem, kterým probublává. Dochází tak ke stále nerovnováze systému, kdy koncentrace analytu v kapalně i plynné fázi klesá exponenciálně s časem. Inertní plyn s analytem prochází sorpční trubicí, kde je analyt zachycen na vhodném sorbentu, čímž dojde k jeho zakoncentrování a následnému přenesení na kolonu, nejčastěji

pomocí termální desorpce [57]. Manzini a kol. [60] uvádí jako hlavní optimalizační parametry inkubační teplotu a objem plynu potřebný na uvolnění těkavých látek. Stejně jako SHS, tak i DHS nalézá uplatnění v široké škále průmyslových odvětví, včetně environmentální analýzy a analýzy potravin [55].

### **2.3.2 Mikroextrakce tuhou fází**

Mikroextrakce tuhou fází (SPME, angl. solid phase micro extraction) je jednou z analytických technik pro přípravu vzorků, která byla zavedena na počátku 90. let [61]. Principem techniky je sorbce analytu na povrch křemenného vlákna, které je pokryto velmi malým množstvím extrakční fáze (sorbentu) [62]. Děje se tak buď ponořením vlákna přímo do kapalného vzorku (DI-SPME, angl. direct immersion), nebo vystavením vlákna parní fázi nad kapalinou (HS-SPME) [63]. HS-SPME má oproti DI-SPME výhodu v delší životnosti vlákna, jelikož v DI-SPME na vlákno negativně působí vyšší koncentrace solí, extrémní hodnoty pH a samozřejmě matrice vzorku. DI-SPME je vhodná pro extrakci méně těkavých látek, dosahuje vyšší citlivosti u analytů přítomných převážně v kapalině, avšak vykazuje vyšší pozadí [64]. Kombinace HS a SPME přinesla velmi zajímavý a poměrně univerzální způsob přípravy vzorku k analýze [55]. V principu se kombinuje výhoda zisku pouze těkavých látek pomocí statického headspace a výborné sorpční vlastnosti pomocí SPME vlákna. Proto lze tuto extrakční techniku považovat za ideální pro analýzu VOC nejen ve vzorcích octa [57].

Křemené vlákno je z důvodu ochrany umístěno v ochranné jehle. Extrakční fázi může být vysokomolekulární polymerní kapalina, ale i tuhý sorbent s vysokou porozitou a tím i velkým povrchem. Analyty jsou adsorbovány či absorbovány extrakční fází tak dlouho, dokud není dosaženo rovnováhy celého systému. Množství sorbovaného analytu je dáno distribuční konstantou analytu mezi vzorkem a extrakčním povrchem. Selektivita závisí zejména na polaritě a těkavosti analytu [62]. Mezi jednotlivými analýzami je třeba vlákno vyčistit pomocí termální desorpce z důvodu odstranění nežádoucích nečistot [64]. Výhodou této techniky je práce bez rozpouštědel a kombinace odběru vzorků, izolace a zakoncentrování v jednom kroku [65]. Využití této techniky nalézá při analýze environmentálních, potravinářských, forenzních a farmaceutických vzorků [62].

Na výsledek analýzy má vliv celá řada extrakčních podmínek. Kromě polarity a tloušťky stacionární fáze vlákna mají vliv také doba extrakce, teplota, množství analytu ve vzorku a míchání. Účinnost extrakce lze zvýšit přidáním soli a následným vysolením vzorku. Nejčastěji se používá chlorid sodný, lze však použít např. uhličitan draselný a síran sodný. Ovlivnit proces

extrakce lze také změnou pH. Obecně je vzorek okyselen pro extrakci kyselých analytů, a naopak zalkalizován pro extrakci zásaditých analytů [64].

### **2.3.2.1 Vlákná pro extrakci tuhou fází**

Volba vhodného vlákna je základem pro úspěšnou analýzu vzorku. Polydimethylsiloxan (PDMS) je nejpoužívanějším extrakčním sorbentem. Jedná se o velmi drsný materiál schopný odolat vysokým teplotám (až 300 °C) při dávkování vzorku do plynového chromatografu. Jelikož se jedná o nepolární fázi, je tedy vhodným sorbentem pro extrakci nepolárních látek. Po optimalizaci je však vhodným i pro extrakci polárnějších analytů. Další výhodou této fáze je možnost odhadnout distribuční konstanty pro organické látky z retenčních charakteristik na PDMS kolonách určených pro plynovou chromatografii [62]. Dalšími běžnými sorbenty pro extrakci analytů jsou polyakrylát, divinylbenzen (DVB), Carboxen (CAR) či Carbowax. Vlákná jsou k dispozici v různých tloušťkách, běžné jsou i směsi povlaků a kopolymery [66]. Právě tloušťka polymerní vrstvy hraje významnou roli v celém procesu extrakce. K dispozici jsou obvykle tloušťky vrstvy povlaku od několika jednotek  $\mu\text{m}$  až po 100  $\mu\text{m}$ . Zpravidla platí, že čím více je látka těkavá, tím vyžaduje silnější vrstvu povlaku a naopak. Silnější vrstvy pak vyžadují delší čas pro dosažení extrakční rovnováhy. Mohou však dosahovat lepší citlivosti, díky možnosti sorpce většího množství analytu [64].

### **2.3.3 Mikroextrakce na magnetickém míchadle**

Mikroextrakce na magnetickém míchadle (SBSE, angl. stir bar sorptive extraction) zavedená v roce 1999 se zdála vhodným konkurentem pro SPME [67]. Principiálně je tato technika podobná SPME, tedy dochází k extrakci analytů na vhodný sorbent. Rozdíl je v technickém provedení, kde u SBSE je místo klasického vlákna sorbentem pokryto magnetické míchadlo. Dochází tak k podpoře přenosu analytů k polymernímu povlaku. Optimalizačními parametry jsou objem vzorku, koncentrace přidané soli, rychlost míchání, doba vzorkování a ředění vzorku [68]. Hlavními výhodami oproti SPME je vyšší fázový poměr, což vede k lepší regeneraci a kapacitě vzorku, dále vyšší citlivost a přesnost stanovení pro látky na stopové úrovni ve složitých maticích. Určitou nevýhodou je potřeba delší doby pro dosažení rovnováhy [69].

U SBSE dochází k sorpci analytů na míchací tyčce. Ta má tři základní části, resp. vrstvy. Vnitřní vrstvu tvoří magnet, díky kterému dochází k procesu míchání. Mezivrstvu tvoří tenká vrstva skla, která brání kontaktu a interakci kovu (magnetu) s vnější vrstvou, kterou je PDMS o tloušťce 500  $\mu\text{m}$  až 1 mm. Pro extrakci se vloží míchadlo do kapalného vzorku po dobu



30 až 240 minut. Po uplynutí této doby se míchadélko vytáhne a zbaví se přebytečné kapaliny na povrchu osušením o např. čistý filtrační papír a následně se zavede do tepelné desorpční jednotky [69]. SBSE lze však použít i pro extrakci VOC, a to v kombinaci s HS vzorkováním, tedy HS-SBSE. Při tomto uspořádání je magnetické míchadlo umístěno v prostoru nad kapalinou či pevnou látkou [70].

#### **2.3.4 Spojení mikroextrakce tuhou fází a arrows**

Ačkoliv se technika SPME zdá jako bezchybná, existuje zde několik nevýhod. Těmi největšími jsou špatná mechanická odolnost a malý objem sorpční fáze. V roce 2015 [71] se na trhu objevila zajímavá inovace pod názvem SPME-arrow (viz obrázek 1), která kombinuje výhody SPME a SBSE. Od SPME technika přebírá plnou automatizaci a od SBSE větší množství extrakční fáze [72]. To vše vede ke zlepšení citlivosti a účinnosti extrakce [73]. Základ tvoří vnitřní ocelová tyč potažená větším množstvím sorpčního materiálu (používají se stejné sorbenty jako u SPME), která je umístěna do vnější ochrany ocelové duté tyče a společně vyústí do tvaru šipky, přičemž celý tento systém je stále kompatibilní s desorpcí v GC. Právě ocelové tyče přidávají technice na odolnosti [71].

Technika SPME-arrow dosud našla uplatnění při analýze odpadní a pitné vody a při analýze atmosférického vzduchu [71].

#### **2.3.5 Extrakce nadkritickou tekutinou**

V potravinářském průmyslu lze k izolaci méně těkavých organických látek použít také extrakci nadkritickou tekutinou (SFE, angl. supercritical fluid extraction) [74]. Metoda SFE je založena na solvatačních vlastnostech nadkritické tekutiny, kterou lze získat použitím teploty a tlaku nad kritickým bodem [75]. Pro nejpoužívanější CO<sub>2</sub> je to 31,04 °C, 7,384 MPa. Nadkritická tekutina má dualistický charakter. Některými vlastnostmi se blíží vlastnostem kapaliny (hustotou), jinými zase vlastnostem plynů (viskozitou, difuzivitou) [76]. Kromě teploty a tlaku jsou dále rozhodujícími podmínkami pro extrakci matrice, interakce použité látky s analytem a další vlastnosti prostředí [75].

#### **2.3.6 Porovnání extrakčních technik**

Primární roli při extrakci VOC z octů zaujímá jednoznačně technika HS-SPME. I přesto byly testovány některé další techniky, jako SHS, DHS, SFE, SBSE a SPME-arrow.

SHS ve spojení s GC-MS využili při analýze VOC z octů ve své studii Ubeda a kol. [56]. Jako optimalizační parametry určili extrakční čas, inkubační teplotu a hodnotu splitu. Dospěli

k závěru, že SHS je vhodnou technikou při stanovení hlavních těkavých sloučenin při výrobě ovocných octů. Validace metody byla uspokojivá a její detekční limity byly dostatečné pro většinu látek.

Ačkoliv technika DHS se může jevit jako lepší než SHS, existuje jen omezené množství studií, které se zabývají touto technikou ve spojení s analýzou těkavých látek z octů. Manzini a kol. [60] úspěšně použili DHS ve spojení s GC-MS pro analýzu furfuralů ve vzorcích balzamikového octa.

Techniku SFE ve spojení s GC-MS analýzou použil např. Lu a kol. [77] ve své studii při analýze těkavých látek z octů Zhenjiang, ve kterých se jim podařilo identifikovat 49 resp. 44 látek. Přesto tato technika nemá významné využití v tomto odvětví potravinářského průmyslu.

Počet studií zabývajících se extrakcí VOC z octů pomocí techniky HS-SPME je daleko rozsáhlejší. Z novějších prací stojí za zmínku studie vykonaná Cirlinim a kol. [78]. Ti se zabývali porovnáním látkového profilu u balzamikových octů z Modeny v různém období zrání. Došli k závěru, že pro octy zrající minimálně po dobu 60 dnů je charakteristický vysoký obsah 3-methyl-1-butanolu, 4-ethylfenolu a 3-methyl-1-butanolu acetátu. Pro octy zrající po dobu minimálně 3 let je charakteristický vysoký obsah ethylacetátu, ethylacetoacetátu, furanů, 2,3-butandiolu a 2,3-butandiolu acetátu.

Castro a kol. [79] se ve své práci zaměřili na optimalizaci SPME parametrů ve spojení s headspace vzorkováním při analýze aromatických látek v octech. Při optimalizaci věnovali pozornost čtyřem parametrům, a to teplotě, iontové síle (resp. koncentraci přidaného NaCl), době extrakce a objemu vzorku. Měření zároveň probíhala v míchaném vzorku. Prvotní screening ukázal, že teplota, doba extrakce a koncentrace NaCl nejvíce ovlivňují počet píků a celkovou plochu píků, přičemž teplota byla nejvýznamnějším parametrem. Naopak objem vzorku se ukázal jako málo významný parametr. Významným se ukázal také vliv vzájemných interakcí některých parametrů, zejména interakce mezi teplotou a koncentrací NaCl a dále interakce mezi dobou extrakce a koncentrací NaCl. Castro s kolegy došli k závěru, že pro extrakci aromatických sloučenin ve vzorku octu Sherry jsou optimální podmínky následující: teplota 70 °C, doba extrakce 60 minut a koncentrace NaCl 6,14 g na 15 ml vzorku.

Co se týče výběru vlákna pro extrakci VOC z octů, Natera a kol. [63] uvádí, že nejvhodnějším vláknem pro analýzu aromatických látek z octů je kombinace PDMS a Carboxenu, které dosahuje lepší účinnosti než kombinace Carbowaxu, divinylbenzenu a PDMS či PDMS a divinylbenzen.

Extrakční technikou SBSE při analýze VOC z octů se zabýval ve své studii Guerrero a kol. [68]. Techniku SBSE určili jako vhodnou pro analýzu těkavých látek v octech, přičemž vykazuje lepší hodnoty citlivosti a reprodukovatelnosti než SPME, se kterou byla tato technika porovnávána. Technika podle nich vykazuje dostatečnou přesnost a detekční a kvantifikační meze. Pomocí SBSE se jim podařilo identifikovat 47 látek, zatímco technikou SPME pouze 25. Většina sloučenin nalezených pomocí SBSE a chybějících v profilu SPME byla furanového původu. I přesto technika SPME ve spojení s HS představuje nejpoužívanější techniku extrakce těkavých látek z octů.

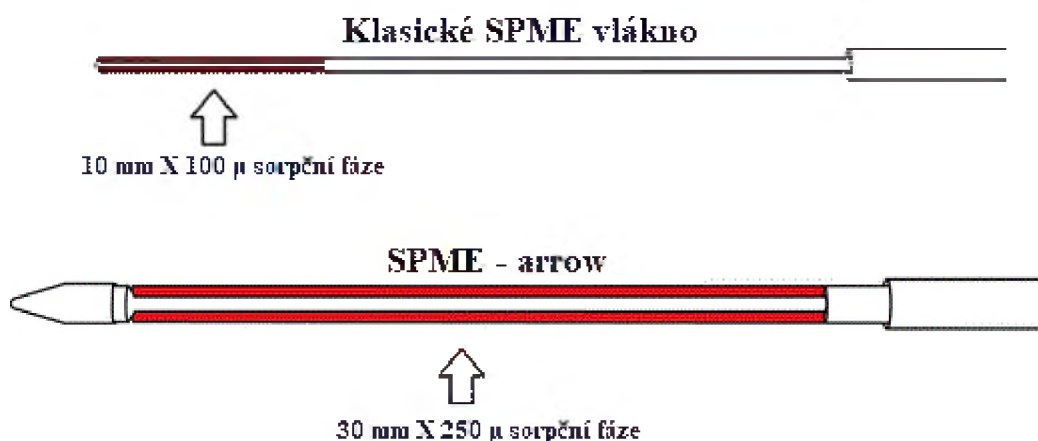
Technika SPME-arrow zatím nenašla větší uplatnění při analýze VOC z octů. I přesto existuje jedna studie, která tuto techniku ve spojení s octy využila. Nam a kol. [73] využili techniku HS-SPME-arrow pro analýzu VOC v hnědém rýžovém octu. Jako sorbent využili směs CAR/PDMS a porovnali tuto techniku s konvenční HS-SPME se stejným typem vlákna. Dospěli k závěru, že technika HS-SPME-arrow je citlivější a vykazuje lepší reprodukovatelnost výsledků než technika HS-SPME pro VOC. Techniku považují za rychlou, jednoduchou a výkonnou, vhodnou pro analýzu VOC v hnědém rýžovém octu.

V následující tabulce jsou shrnuty obecné výhody již zmíněných extrakčních technik.

Tabulka 1 – Obecné výhody a nevýhody jednotlivých technik extrakce

Technika	Výhody	Nevýhody
SHS	Snadná automatizace [55], jednoduchost, dobrá reprodukovatelnost, šetrnost k životnímu prostředí, selektivita pro VOC [80]	Nízká citlivost [55], problém s extrakcí málo těkavých sloučenin [80]
DHS	Vyšší citlivost [55], dobrá reprodukovatelnost, šetrnost k životnímu prostředí, selektivita pro VOC [80]	Vyšší náročnost na instrumentaci [80]
SFE	Šetrnost k životnímu prostředí [81]	Vyšší investiční náklady [81]
SPME	Snížení spotřeby organických rozpouštědel, nízký efekt matrice, snadná automatizace [81] V kombinaci s HS vzorkováním: Možnost extrakce pouze VOC [81]	Vyšší pořizovací cena, potíže při optimalizaci desorpce, dlouhý čas potřebný k dosažení rovnováhy, malé množství extrakční fáze [81], nízká

		mechanická odolnost vlákna [72]
SBSE	Jednoduchost použití, vysoká přesnost a citlivost, menší riziko kontaminace [82] V porovnání s SPME: Větší množství extrakční fáze a tím vyšší účinnost a kapacita extrakce [83]	Komerní dostupnost extrakčních fází pro polární analyty [83], ztráta automatizace procesu extrakce, nutnost tepelné desorpční jednotky [72], delší doba pro dosažení rovnováhy [69]
SPME-arrow	Výhody stejné jako u SPME, navíc větší množství extrakční fáze jako u SBSE a vysoká mechanická odolnost [72]	Nutné rozšíření vstřikovacího portu [72]



Obrázek 1 – Porovnání SPME a SPME-arrow (převzato z [72])

## 2.4 Současné trendy v analýze těkavých látek z octů

Definice těkavých organických látek, dále jen VOC, není jednotná. V hovorové řeči lze VOC přirovnat jako synonymum pro organická rozpouštědla. Jedna z definic v USA uvádí VOC jako látky, podílející se na tvorbě fotochemického ozonu. Obecnější definice jsou založeny na fyzikálních a chemických vlastnostech sloučenin, jako je chemická struktura, bod varu a tlak par [84]. Další z definic používaných v USA uvádí VOC jako organické látky, které mají tlak par vyšší než 13,3 Pa při 25 °C [85]. V Evropské unii jsou VOC definovány jako organické sloučeniny s tlakem par nad 10 Pa při 20 °C [86].

V potravinářském průmyslu jsou to právě těkavé látky, které udávají produktu jeho vůni, ale také chuť. Vůbec první organickou látkou podílející se na chuti byl identifikován benzaldehyd,

a to již před více jak 150 lety. Vanilin, jako jedna z nejdůležitějších těkavých látek podílejících se na aroma potravin, byl identifikován před více než padesáti lety. Zároveň se jednalo o první syntetizovanou látku podílející se na aroma, což vedlo k počátkům sensorické analýzy. V první polovině dvacátého století byla identifikace těchto látek založena na charakterizaci derivátů VOC, zejména 3,5-dinitrobenzoátů a 2,4-dinitrofenylhydrazonů. Dnes tuto úlohu přebraly instrumentální metody, především plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií [74].

Na rozdíl od GC-MS, existuje jen málo studií, zabývajících se analýzou těkavých látek z octů za použití GC-FID. Studie, kterou provedl Xiao a kol. [87], se zabývala analýzou tetramethylpyrazinu a acetoinu ve vzorcích octa. Ukázalo se, že použití metody GC-FID je vhodné pro rutinní analýzu těchto analytů. Autoři uvádí jako hlavní výhody oproti GC-MS vysokou opakovatelnost a nízkou pořizovací cenu, a proto metodu doporučují pro rutinní analýzu například potravin a léčiv.

Zatímco mezi separačními metodami jasně dominuje plynová chromatografie a mezi detekčními technikami je to hmotnostní spektrometrie, spektrum extrakčních technik je o něco širší. Nejpobulárnější je technika HS-SPME-GC-MS. Lze však využít i další extrakční techniky jako SHS-GC-MS, DHS-GC-MS, HS-SPME-GC-GC-MS (dvourozměrná plynová chromatografie) či SBSE-GC-MS [42].

Kromě samotné identifikace nás zajímá také vůně jednotlivých složek a jejich vliv na aroma. K tomuto účelu slouží metoda olfaktometrie a tzv. „sniffing porty“, které jsou umístěny na konci chromatografické kolony. Tyto porty slouží jako samostatné detektory. Při analýze se rozseparované látky rozdělí na dva podíly, kdy jeden putuje do „sniffing portu“ a druhý do klasického MS či FID detektoru. Výsledkem je pak klasický chromatogram, který obsahuje píky obohacené o informace ohledně vůně. Olfaktometrie nalézá široké uplatnění v analýze potravin, včetně octů, kde byla nejvíce aplikována na ocet Sherry [42].

Pro identifikaci aroma a k popisu celkové směsi těkavých látek a jejich intenzity slouží také elektronické nosy. Dodd a Persaud představili tuto myšlenku, jako zařízení napodobující diskriminaci čichového systému u savců [88]. Jejich princip je v podstatě stejný jako u lidského nosu a je založen na reaktivitě řady poloselektivních senzorů, kde každý senzor může vnímat více pachů a stejně tak je každý pach vnímán několika senzory, přičemž senzory zde představují receptory v lidském nose. Produkty s podobnou vůní pak mají podobnou odezvu senzoru (otisk prstu) a naopak produkty s odlišnou vůní mají odlišnou odezvu senzoru. Vzorek

se vnáší do detektoru injekční stříkačkou nebo pomocí headspace analýzy [89]. Elektronické nosy byly použity v několika studiích, kde napravovaly nedostatky ostatních metod, především neschopnost online, real-time a in-situ analýz. Zhang a kol. [90] si ve své studii dali za cíl zřídit databázi otisku prstů pro čínské octy, která je nezbytná pro rychlou identifikaci. Zároveň uvádí, že elektronické nosy jsou vhodným nástrojem pro charakterizaci octa.

V praxi lze pro charakterizaci octa použít již poměrně starší přístup, a to sensorickou analýzu, která vyhodnocuje data na základě například chuťových vjemů několika lidských účastníků. Tesfaye a kol. [91] ve své studii využili deskriptivní sensorickou analýzu pro charakterizaci vinných octů. Této studii se zúčastnilo 9 nekuřáků ve věku 25 až 45 let. Tito ochutnavači museli prokázat zkušenosti v tomto oboru. Zároveň jim byl doporučen vhodný postup pro analýzu. Intenzitu jednotlivých třinácti atributů vyhodnocovali účastníci na 10 cm dlouhé škále počínaje “není patrný” a končící “velmi silný”. Poté následovalo statistické vyhodnocení dat. Studie si také kladla za cíl rozšíření slovníků pro popis jednotlivých atributů.

## 2.5 Vyhodnocení dat

### 2.5.1 Statistické vyhodnocení experimentálních dat

Pro návrh experimentu k získání optimálních podmínek extrakce byla použita metoda centrálně kompozitního plánování (CCD, angl. central composite design). Metoda je často využívána k vytváření polynomu druhého řádu pro proměnné odezvy v metodologii odezvové plochy (angl. response surface) aniž by bylo nutné použít kompletní faktoriální návrh experimentů. Aby bylo možné stanovit koeficienty polynomu, musí mít experimentální návrh alespoň tři úrovně každého faktoru. V CCD rozeznáváme tři druhy bodů. Faktorové body jsou vrcholy  $n$ -rozměrné krychle, které vycházejí z úplného nebo zlomkového faktoriálního návrhu. Úrovně faktorů jsou zde kódovány jako  $-1$  a  $+1$ . Středový bod je bod ve středu konstrukčního prostoru. Axiální body jsou umístěny na osách souřadnicového systému symetricky vůči centrálnímu bodu ve vzdálenosti  $\alpha$  od středu návrhu [92].

Existují dvě varianty CCD, jmenovitě face-centred CCD a rotatable (otočný) CCD. U face-centred CCD  $k$ -faktorový tříúrovňový experiment vyžaduje  $2^k + 2k + C$  experimentů, kde  $k$  je počet faktorů,  $2^k$  představuje body v rohu krychle,  $2k$  jsou axiální body ve středu každé plochy krychle a  $C$  body jsou repliky ve středu krychle, nezbytné pro odhad opakovatelnosti. Otočný CCD se využívá tehdy, pokud rozptyl předpokládané odezvy v kterémkoli bodě závisí pouze na vzdálenosti bodu od středu návrhu. Tento model poskytuje jednotnost predikční chyby a jeho dosažení závisí na vhodném výběru  $\alpha$  [92].

## 2.5.2 Retenční indexy

Ke kvalitativnímu určení studovaných látek slouží vedle hmotnostních spekter i retenční indexy (RI, angl. retention index). Nejznámějšími jsou indexy navržené Kovatsem v roce 1958 a van den Doolem v roce 1963, přičemž Kovatsovy indexy (viz rovnice 1) mají uplatnění při izotermálních podmínkách analýzy a van den Doolovy (viz rovnice 2) při programované změně teploty. Retenční časy jednotlivých neznámých látek ze vzorku se po separaci převedou na retenční indexy. Ty jsou vztaženy k homologické řadě  $n$ -alkanů. Následně pomocí rozsáhlých databází vyhledáme námi dosud neznámé analyzované látky na základě srovnání námi získaného retenčního indexu a retenčního indexu dané látky z databáze, která byla již někým změřena na podobné koloně [93].

$$I_x = 100n + 100 \frac{\log t_x - \log t_z}{\log t_{z+1} - \log t_z} \quad (1)$$

$$I_x = 100n + 100 \frac{t_x - t_z}{t_{z+1} - t_z} \quad (2)$$

kde  $I_x$  značí počet píků,  $n$  značí počet atomů uhlíku v nejbližším nižším  $n$ -alkanu,  $t_z$  značí retenční čas nejbližšího nižšího  $n$ -alkanu,  $t_{z+1}$  značí retenční čas nejbližšího vyššího  $n$ -alkanu a  $t_x$  značí retenční čas neznámé látky.

### 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Cílem experimentální části bylo zoptimalizovat metodu pro stanovení VOC v balzamikových octech a následně využít získané podmínky pro určení chemické identity a relativního zastoupení analytů ve vybraných vzorcích balzamikového octa. Pro izolaci a zakoncentrování VOC byla testována statická HS extrakce a HS-SPME. Metoda GC-MS byla použita pro identifikaci VOC na základě porovnání hmotnostních spekter analytů s knihovny, a také pomocí porovnání retenčních indexů. Metoda GC-FID byla využita pro získání relativního zastoupení VOC v aromaprofilech jednotlivých vzorků.

#### 3.1 Vzorky octů

Bylo shromážděno 20 vzorků (viz tabulka 2) balzamikového octa. Vzorky se lišily výrobní značkou, viskozitou (octy s malou viskozitou a krémy) a kvantitativním obsahem v láhvi (nové octy a již dříve použité). Dva páry vzorků (4 a 20, 15 a 18) byly stejné značky i druhu a mohly tak posloužit k porovnání stejných výrobků s různým stářím. Vzorky 8 až 13 byly zakoupeny v českých supermarketech a láhve zůstaly neotevřené až do doby analýzy. Ostatní vzorky byly získány z českých domácností a byly s různou, blíže nespecifikovanou, dobou od otevření. Podmínky výroby a skladování do data odběru/zakoupení vzorku nejsou známy. Po odběru byly vzorky uchovávány v HS vialkách, chráněny proti světlu a umístěny do lednice.

Tabulka 2 – Vzorky balzamikových octů (zkratky AB značí Aceto balsamico a M značí Modena)

Vzorek	Název	Značka	Stav	Původ	Hustota [g/cm <sup>3</sup> ]
1	Organick balsamic vinegar of M	Tesco	na dně	Itálie	1,128
2	Fattorie Giacobazzi AB di M	Fattorie Giacobazzi	polovina	Itálie	1,101
3	Acentino AB di M I.G.P.	Acentino	třičtvrtě	Itálie	1,096
4	Italiamo AB di M I.G.P.	Italiamo	na dně	Itálie	1,154
5	AB di M IGP IL Torrione BIO	Carandini	na dně	Itálie	1,087
6	San Fabio AB di M IGP	San Fabio	téměř plný	Itálie	1,091
7	Ocet typu Balsamico ocet	Kand	téměř plný	Rakousko	1,085
8	Glaze with AB di M IGP	Kaiser Franz Josef exclusive	nový	Itálie	1,220
9	AB di M IGP	Kaiser Franz Josef exclusive	nový	Itálie	1,073
10	AB di M IGP	Tesco	nový	Itálie	1,121
11	AB di M	Ortalli	nový	Itálie	1,133
12	AB di M I.G.P.	Kaufland Classic	nový	Itálie	1,091
13	AB di M I.G.P.	DeCesare	nový	Itálie	1,094
14	AB di M	Ponti	téměř plný	Itálie	1,088
15	Crema con "AB di M I.G.P."	Acentino	polovina	Itálie	1,180
16	Kalamata Balsamic vinegar	Papadimitriou	polovina	Řecko	1,096



17	AB di M.I.G.P.	Deluxe	polovina	Itálie	1,296
18	Crema con "AB di M.I.G.P."	Acentino	polovina	Itálie	1,178
19	AB di M IGP	Despar Premium	téměř plný	Itálie	1,282
20	Italiamo AB di M.I.G.P.	Italiamo	polovina	Itálie	1,186

### 3.2 Materiál a chemikálie

Demineralizovaná voda získaná purifikací v systému Mili-Q® od firmy Merck KGaA (Darmstadt, Německo). Chlorid sodný (Lach-Ner s.r.o., Neratovice, Česká republika) Standardní roztok *n*-alkanů C8 až C33 (CPAchem, Stara Zagora, Bulharsko). Technické plyny – helium, vodík, dusík (Linde gas a. s., Praha, Česká republika) a vzduch (z místního rozvodu). SPME vlákna: 50/30 µm DVB/CAR/PDMS (šedé vlákno) a 100 µm PDMS (červené vlákno) od firmy Supelco (Bellefonte, PA, USA)

### 3.3 Měření hustoty vzorků

Měření hustoty probíhalo pomocí přenosného hustoměru s automatickou kompenzací teploty Density2Go od firmy Mettler Toledo (Greifensee, Švýcarsko). Řidké vzorky mohly být rovnou měřeny, viskóznější vzorky (8; 15; 18) musely být naředěny vodou a na základě znalosti hustoty a hmotnosti vody a hmotnosti octa byla dopočítána jejich hustota. Hustota vzorků byla měřena při teplotě 24 °C. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 2.

### 3.4 Výběr a optimalizace extrakční techniky

Pro účely zakoncentrování VOC před chromatografickou analýzou byly nejprve testovány možnosti statické headspace extrakce a mikroextrakce tuhou fází a výsledky z obou extrakčních technik byly porovnány. Pak byla zvolena extrakční technika, která víc vyhovovala požadavkům zadání. Jako rozhodovací kritéria byly zvoleny hodnoty celkového počtu píků a celkové plochy píků v chromatogramu.

#### 3.4.1 Statická headspace extrakce

Technika statické HS byla využita pro izolaci VOC. Byly testovány 3 možnosti přípravy vzorku před extrakcí: vzorek neupravený, vzorek ředěný vodou a vzorek ředěný solným roztokem. Objem vzorku dávkovaný do HS vialky byl 1 ml. Objem destilované vody, resp. nasyceného roztoku NaCl byl 4 ml. HS vialky byly po přípravě vzorku k analýze opatřeny teflonovým septem. Inkubační teplota byla 70 °C resp. 100 °C a inkubační čas byl zvolen 20 min. Objem parní fáze odebraný po inkubaci vzorku pro nadávkování do nástřikového bloku plynového chromatografu byl 500 µl.

### 3.4.2 Mikroextrakce tuhou fází v parním prostoru

Stejně jako v případě statické HS extrakce byly testovány 3 možnosti přípravy vzorku před extrakcí: vzorek neupravený, vzorek ředěný vodou a vzorek ředěný solným roztokem. Objem vzorku dávkovaný do HS vialky byl 1 ml. Objem destilované vody, resp. nasyceného roztoku NaCl byl 4 ml. HS vialky byly po přípravě vzorku k analýze opatřeny teflonovým septem. Dále byla testována dvě extrakční vlákna (viz kapitola 3.2). Extrakční vlákna byla bezprostředně před extrakcí tepelně vyčištěna při 250 °C po dobu 5 minut. Doba pre-inkubace vzorku byla 20 min. Teplota extrakce byla 50 °C resp. 95 °C, doba extrakce byla 60 minut. Poté byly extrahované látky desorbovány v nástřikovém bloku plynového chromatografu při 230 °C po dobu 15 sekund.

Na základě porovnání výsledků (viz Výsledky a diskuse, kapitola 4.3) získaných pomocí HS extrakce a HS-SPME extrakce byla pro extrakci VOC ze vzorků octů zvolena metoda HS-SPME s použitím vlákna 50/30 µm DVD/CAR/PDMS. Tato metoda extrakce byla dále optimalizována (viz kapitola 3.4.3).

### 3.4.3 Optimalizace HS-SPME

Pro optimalizaci extrakce byl zvolen vzorek octa č. 20. Návrh optimalizace byl proveden metodou centrálně kompozitního návrhu v software Statistica, verze 12 (StatSoft CR, Praha, ČR). Byly optimalizovány 3 parametry: extrakční teplota (v rozsahu 40-120 °C), doba sorpce (v rozsahu 10-90 minut) a objem nasyceného roztoku NaCl přidaného ke vzorku (v rozsahu 0-9 ml). Celkem bylo provedeno 20 extrakcí při různých extrakčních podmínkách (viz tabulka 3). K 1 ml vzorku v headspace nádobce byl přidán nasycený roztok NaCl, nádobka byla uzavřena víčkem se septem. Každý takto připravený vzorek byl inkubován při teplotě extrakce po dobu 20 minut, poté byly VOC extrahovány na šedé vlákno po zvolenou extrakční dobu. Získaný extrakt byl desorbován v nástřikovém bloku plynového chromatografu po dobu 15 sekund. Výsledky byly vyhodnoceny metodou odezvové plochy v software Statistica.

Tabulka 3 – Návrh experimentu pro optimalizaci HS-SPME

Experiment	Extrakční teplota [°C]	Doba sorpce [min]	Objem nasyc. roztoku NaCl [ml]
1	40	10	1
2	40	10	9
3	40	90	1
4	40	90	9
5	100	10	1
6	100	10	9

7	100	90	1
8	100	90	9
9	40	50	5
10	100	50	5
11	70	10	5
12	70	90	5
13	70	50	1
14	70	50	9
15	70	50	5
16	70	50	5
17	70	50	5
18	70	50	5
19	120	40	0
20	120	40	3

## 2.4 Plynová chromatografie

První plynový chromatograf GC-2010 od firmy Shimadzu (Kyoto, Japonsko) byl vybaven plamenově-ionizačním detektorem. Druhý plynový chromatograf GC-2010 od firmy Shimadzu byl vybaven hmotnostním spektrometrem GCMS-QP2010 Plus od firmy Shimadzu. Oba chromatografy byly obsluhovány autosamplerem Combi PAL od firmy CTC Analytics (Zwingen, Švýcarsko). Oba plynové chromatografy byly vybaveny kapilární kolonou SLB-5MS (Supelco, Bellefonte, PA, USA) o celkové délce 30 m a vnitřním průměru 0,25 mm. Jako stacionární fáze byla použita směs 5% difenyl- a 95% dimethylpolysiloxanu o tloušťce vrstvy 0,25 µm. Jako nosný plyn bylo použito helium 4.6. Lineární rychlost toku helia byla nastavena na 30 cm/sec. Teplota nástřikového bloku byla nastavena na 230 °C. Dávkování vzorku na kolonu proběhlo ve split módu 1:5, kde první číslo představuje podíl dávkovaný na kolonu. Celá analýza probíhala v režimu programované teploty (počáteční teplota 40 °C, poté nárůst 2 °C/min až na teplotu 250 °C, která byla udržována po dobu 5,5 minuty).

### 2.4.1 Parametry plamenově-ionizačního detektoru

Pracovní teplota FID byla nastavena o 20 °C vyšší, než je maximální teplota programu kolony, tedy 270 °C. Průtoky jednotlivých plynů byly nastaveny podle tabulky 4.

Tabulka 4 – Nastavení průtoku jednotlivých plynů pro GC-FID analýzu

Plyn	Průtok [ml/min]
Vodík	40
Vzduch	400
Dusík	30
Helium	30

#### 2.4.2 Parametry hmotnostního spektrometru

Pracovní teplota MS detektoru byla nastavena na 200 °C. Rozsah hodnot m/z při kterém detektor pracoval, byl nastaven v rozmezí 33 až 450. Velikost ionizační energie byla nastavena na hodnotu 70 eV. Hodnota solvent cut time byla nastavena na 5 minut.

## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Tato část diplomové práce představuje vyhodnocení jednotlivých počátečních experimentů včetně extrakce pomocí headspace, extrakce pomocí SPME a výběru vhodného vlákna. Dále zde budou diskutovány výsledky optimalizace pro určení ideálních podmínek SPME extrakce na šedém vlákne pro extrakci a následnou GC-MS, resp. GC-FID analýzu VOC z dvaceti vzorků balzamikového octa. Další část se bude zabývat shrnutím výsledků kvalitativní analýzy aromaprofilu vzorků, včetně semikvantitativního zastoupení jednotlivých látek. Poslední část bude věnována diskuzi, ve které budou dosažené výsledky porovnány s již existujícími studii, zabývající se analýzou VOC v balzamikových octech.

### 4.1 Výběr extrakční techniky

Při počátečních experimentech byly porovnány dvě metody extrakce: statická headspace extrakce a mikroextrakce tuhou fází z headspace prostoru. Při obou metodách extrakce byly testovány také možnosti úpravy vzorku octa. Byl testován vliv ředění destilovanou vodou, nasycených roztokem NaCl a v poslední řadě byl změřen vzorek octa bez jakéhokoliv ředění. U metody HS-SPME byly kromě dvou teplot extrakce také otestovány dva druhy sorbentu. Po GC-FID analýze následovalo odečtení počtu píků a jejich celkové plochy. Píky byly odečítány až po páté minutě analýzy, jelikož do této doby byly eluovány látky s vysokými koncentracemi (např. kyselina octová), které mají oproti ostatním analytům násobně větší plochu a započítání těchto píků by mohlo zkreslit celkové vyhodnocení jednotlivých extrakčních technik. Výsledky jsou shrnuty v tabulkách 5 a 6.

Tabulka 5 – Výsledky extrakce pomocí statického headspace po odečtení píků před pátou minutou (doba inkubace – 20 min)

Experiment	Ředění	Teplota extrakce [°C]	Počet píků	Celková plocha
1	destilovaná voda	70	38	84 864
2	nasyc. roztok NaCl	70	22	89 463
3	bez ředění	100	31	188 746

Tabulka 6 – Výsledky extrakce pomocí SPME po odečtení píků před pátou minutou (šedé vlákno – DVB/CAR/PDMS, červené vlákno – PDMS, doba inkubace – 20 min, doba extrakce – 60 min)

Úprava vzorku	Teplota extrakce (°C)	Počet píků		Celková plocha píků	
		šedé	červené	šedé	červené
Bez úpravy	50	121	132	1 473 291	183 278
	95	81	102	449 938	257 742
Ředění destilovanou vodou	50	100	115	1 128 237	194 829

	95	130	49	235 246	70 112
Ředění nasyceným roztokem	50	112	124	1 175 967	358 769
NaCl	95	128	173	343 073	254 500

Z výsledků je patrné, že metodou HS bylo extrahováno daleko menší množství látek v porovnání s HS-SPME. Stejně tak plochy především majoritních komponent byly u metody HS nižší. Proto metoda HS je méně vhodná pro extrakci VOC z balzamikového octa oproti metodě HS-SPME.

Při výběru SPME vlákna bylo extrahováno více látek pomocí červeného vlákna (PDMS). Avšak plochy jednotlivých píků byly mnohonásobně vyšší při extrakci na šedém vlákne (DVB/CAR/PDMS). Rozdíl v počtu píků byl způsoben hlavně přítomností píků s malou plochou, což je zřejmé i z porovnání celkových ploch píků. Tyto píky při analýze GC-MS buď zanikly v šumu, nebo je bylo obtížné identifikovat kvůli nízké shodě hmotnostních spekter. Proto byla pro analýzu vzorků vybrána extrakce HS-SPME na šedém vlákne. Jako úprava vzorku bylo zvoleno ředění nasyceným roztokem NaCl. Toto ředění bylo zvoleno na základě uspokojivých výsledků při obou použitých teplotách extrakce a také na základě teoretické představy o vysolení vzorků.

#### 4.2 Optimalizace mikroextrakce tuhou fází na šedém vlákne

Byla provedena optimalizace (viz. kapitola 3.4.3) mikroextrakce tuhou fází na šedém vlákne (50/30  $\mu\text{m}$  DVB/CAR/PDMS). Výsledky jsou shrnuty v tabulce 7. Vyhodnocení proběhlo v programu Statistica, verze 12, na základě počtu píků. Píky s výškou nižší, než trojnásobek výšky šumu nebyly do vyhodnocení počítány. Analýzou dat v programu Statistica 12 byla určena jako statisticky významný parametr extrakční teplota (lineární i kvadratický člen výsledného polynomu, rovnice (3)). Extrakční čas, objem nasyceného roztoku NaCl a vzájemný vliv parametrů byly určeny jako statisticky nevýznamné. Na základě provedené analýzy odevzové plochy (viz obrázky 2 a 3 a 4) byla určena optimální extrakční teplota 75 °C. Z obrázku 4 je patrné, že největšího počtu píků bude dosaženo při extrakčním času 90 minut a objemu nasyceného roztoku NaCl 6 až 9 ml. Extrakční čas 90 minut a objem roztoku NaCl 9 ml jsou hodnoty vyhodnocené modelem jako optimum. Při použití 6 ml roztoku NaCl je modelem vypočítáno podobné množství píků (139 píků) jako při použití optima (142 píků). Tento rozdíl byl vyhodnocen jako zanedbatelný a z důvodu zvětšení parního prostoru byl zvolen objem 6 ml.

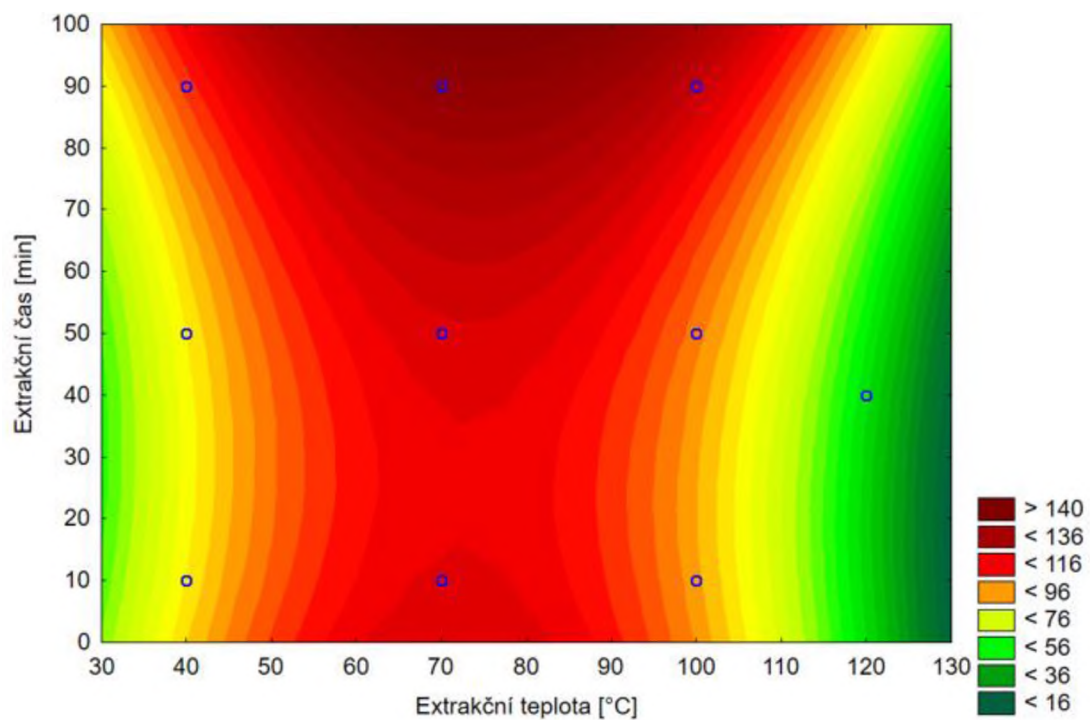
Jako optimální podmínky pro extrakci VOC z balzamikového octa byly tedy určeny následující hodnoty extrakčních parametrů: extrakční teplota 75 °C, doba extrakce 90 min a objem nasyceného roztoku NaCl 6 ml.

$$PP = 3,257 + 2,762 * X - 0,017 * X^2 - 0,592 * Y + 0,007 * Y^2 + 4,414 * Z - 0,266 * Z^2 + 0,0004 * (X * Y) - 0,035 * (X * Z) + 0,035 * (Y * Z) \quad (3)$$

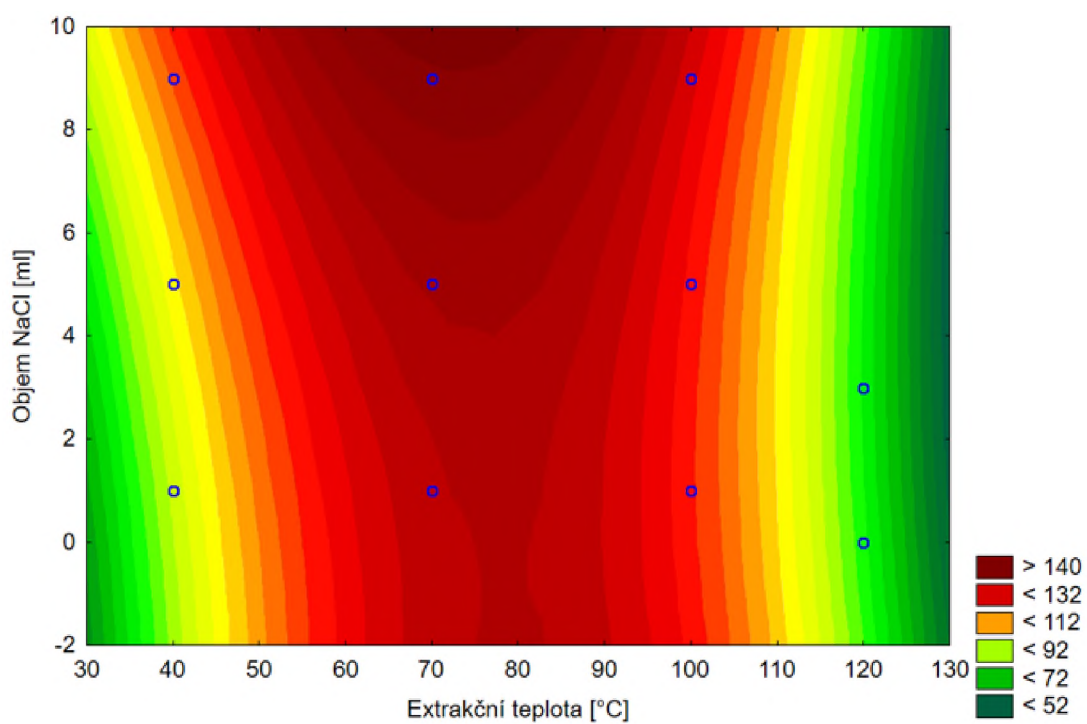
Kde PP značí počet piků, X značí extrakční teplotu, Y značí extrakční čas a Z značí objem nasyceného roztoku NaCl.

Tabulka 7 – Počty piků jednotlivých experimentů při optimalizaci HS-SPME na šedém vlákni

Experiment	Extrakční teplota [°C]	Doba extrakce [min]	Objem NaCl [ml]	Počet piků
1	40	10	1	77
2	40	10	9	91
3	40	90	1	95
4	40	90	9	114
5	100	10	1	127
6	100	10	9	90
7	100	90	1	131
8	100	90	9	134
9	40	50	5	104
10	100	50	5	125
11	70	10	5	103
12	70	90	5	125
13	70	50	1	110
14	70	50	9	120
15	70	50	5	118
16	70	50	5	112
17	70	50	5	119
18	70	50	5	113
19	120	40	0	49
20	120	40	3	34

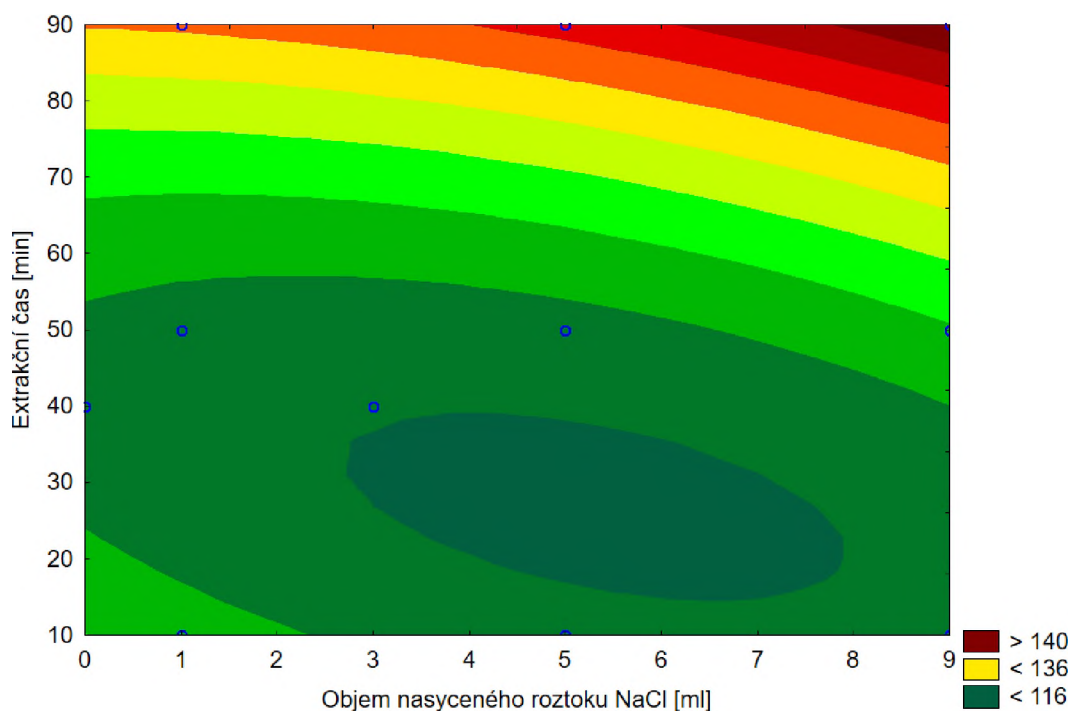


Obrázek 2 – Počty piků v závislosti na použitém extrakčním čase a extrakční teplotě určené metodou odezvové plochy



Obrázek 3 – Počty piků v závislosti na použitém objemu nasyceného roztoku NaCl a extrakční teplotě určené metodou odezvové plochy





Obrázek 4 – Počty píků při konstantní teplotě extrakce 75 °C a různých hodnotách extrakčního času a objemu nasyceného roztoku NaCl

### 4.3 Výsledky měření vzorků balzamického octa

Po analýze všech vzorků balzamického octa následovalo kvalitativní a kvantitativní vyhodnocení získaných chromatogramů. Chromatogramy získané po GC-MS analýze byly vyhodnoceny v programu GCMS Solution 4.20 (Kyoto, Japonsko). Chromatogramy získané po GC-FID analýze byly vyhodnoceny v programu GC Solution (Kyoto, Japonsko). Výsledky pro vzorky 1 až 10 jsou shrnuty v tabulce 11 a výsledky pro vzorky 11 až 20 jsou shrnuty v tabulce 12. Typické chromatogramy z analýzy aromaprofilu balzamického octa jsou v příloze 1 a 3 pro GC-FID analýza a v příloze 2 a 4 pro GC-MS analýzu.

#### 4.3.1 Identifikace látek

K získání kvalitativních informací posloužila technika GC-MS. Chemická identifikace proběhla na základě dvou přístupů. Prvním z nich bylo porovnání naměřených hmotnostních spekter separovaných látek s hmotnostními spektry standardů z knihoven FFNSC 2, NIST 11. Návrhy sloučenin s největší procentuální shodou spektra byly následně ověřeny druhým přístupem, a to na základě srovnání retenčních indexů separovaných látek s již dříve publikovanými retenčními indexy navrhovaných sloučenin dostupnými v databázi National Institute of Standards and Technology [94]. Ze znalosti retenčních časů analytů a retenčních časů *n*-alkanů byly dle rovnice 2 vypočítány van den Doolovy retenční indexy analytů. Retenční

časy *n*-alkanů (viz tabulka 10) byly získány analýzou homologické řady *n*-alkanů za stejných podmínek, při jakých byly měřeny vzorky octů.

### 4.3.2 Semikvantitativní vyhodnocení

K získání relativního zastoupení analytu ve vzorku posloužila technika GC-FID. GC-FID analýzou byla získána chromatografická data, konkrétně retenční časy a plochy píků, resp. analytů. Proměřením homologické řady *n*-alkanů (viz tabulka 10) za stejných podmínek jako u vzorků, byly získány (pomocí rovnice 2) retenční indexy jednotlivých analytů. Retenční indexy získané GC-FID a GC-MS byly spárovány a pomocí plochy píku bylo určeno relativní zastoupení již identifikovaného analytu ve vzorku.

Tabulka 8 – Retenční časy a indexy homologické řady *n*-alkanů

Alkan	Počet uhlíků	Retenční čas FID [min]	Retenční čas MS [min]	Retenční index
<i>n</i> -oktan	8	6,954	6,61	800
<i>n</i> -nonan	9	10,414	10,042	900
<i>n</i> -dekan	10	14,285	13,917	1000
<i>n</i> -undekán	11	18,18	17,819	1100
<i>n</i> -dodekán	12	21,921	21,575	1200
<i>n</i> -tridekán	13	25,466	25,134	1300
<i>n</i> -tetradekán	14	28,809	28,492	1400
<i>n</i> -pentadekán	15	31,967	31,664	1500
<i>n</i> -hexadekán	16	34,954	34,664	1600
<i>n</i> -heptadekán	17	37,787	37,509	1700
<i>n</i> -oktadekán	18	40,475	40,211	1800
<i>n</i> -nonadekán	19	43,035	42,784	1900
<i>n</i> -ikosan	20	45,478	45,238	2000
<i>n</i> -henkosan	21	47,809	47,584	2100
<i>n</i> -dokosan	22	50,04	49,827	2200
<i>n</i> -trikosan	23	52,179	51,977	2300
<i>n</i> -tetrakosan	24	54,231	54,043	2400
<i>n</i> -pentakosan	25	56,369	56,151	2500
<i>n</i> -hexakosan	26	58,927	58,671	2600

Tabulka 9 – Relativní zasoupení VOC ve vzorcích balzamikového octa č. 1 - 10 [%] ± výběrová směrodatná odchylka (n = 2) [%] (veškeré hodnoty jsou \*10<sup>-2</sup>)

CAS číslo	RI	RI TAB	Název sloučeniny	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
			ALDEHYDY A KETONY										
98-01-1	830	837	Furfural	30,8 ± 0,1	92,0 ± 17,5	48,9 ± 2,0	77,5 ± 1,3	48,2 ± 8,5	47,6 ± 3,1	59,8 ± 1,3	171,4 ± 21,2	29,7 ± 1,3	35,4 ± 2,1
4906-24-5	889	888	2-acetoxy-3-butanon	2,1 ± 0,1	-	12,9 ± 1,1	6,4 ± 0,1	5,7 ± 0,5	6,1 ± 0,8	11,4 ± 0,1	9,4 ± 1,1	12,5 ± 0,2	2,7 ± 0,4
1192-62-7	910	914	2-acetyl-furan	<1	4,0 ± 0,5	6,7 ± 0,2	4,8 ± 0,1	3,9 ± 0,8	2,6 ± 0,1	9,2 ± 0,1	18,2 ± 2,5	7,0 ± 0,2	<1
123-05-7	953	952	2-ethylhexanal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
620-02-0	960	962	5-methyl-2-furfural	-	36,6 ± 4,1	-	13,7 ± 1,4	-	23,9 ± 1,7	40,5 ± 0,7	94,6 ± 11,5	46,8 ± 2,4	13,8 ± 1,1
100-52-7	962	964	Benzaldehyd	22,0 ± 0,4	-	82,6 ± 3,7	39,2 ± 1,7	63,6 ± 11,5	-	-	-	-	-
3214-41-3	985	983	Oktan-2,5-dion	-	<1	-	-	-	-	-	-	-	-
124-13-0	1004	1005	Oktanal	-	-	<1	-	1,9 ± 0,5	-	-	-	-	-
3194-15-8	1007	1005	2-furyl ethyl keton	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1193-79-9	1034	1037	2-acetyl-5-methylfuran	-	-	1,9 ± 0,1	-	-	-	-	0,04 ± 0,01	-	-
122-78-1	1044	1042	Fenylacetaldehyd	6,4 ± 0,3	3,6 ± 0,2	12,1 ± 0,1	9,1 ± 0,4	8,7 ± 1,6	-	13,2 ± 0,6	15,0 ± 1,6	-	-
7416-35-5	1045	1045	2,2-dimethyl-5-(1-methyl-1-propenyl)-tetrahydrofuran	-	-	-	-	-	-	-	-	8,0 ± 0,2	-
823-82-5	1076	1076	5-formylfurfural	-	<1	-	<1	-	-	-	2,0 ± 0,2	-	-
17678-19-2	1081	1086	Furyl hydroxymethyl keton	-	-	-	-	-	-	-	9,4 ± 0,8	-	<1
104-87-0	1085	1082	4-methylbenzaldehyd	-	-	-	6,9 ± 0,6	-	-	-	-	-	-
124-19-6	1104	1105	Nonanal	4,1 ± 1,4	6,6 ± 1,7	-	10,5 ± 0,4	22,9 ± 5,2	3,7 ± 0,9	12,3 ± 0,8	28,4 ± 12,1	6,4 ± 0,8	3,3 ± 0,7
112-31-2	1205	1207	Dekanal	3,3 ± 0,6	4,7 ± 0,7	6,3 ± 0,8	6,1 ± 1,3	9,2 ± 2,5	3,3 ± 0,2	8,6 ± 0,3	14,0 ± 2,7	5,7 ± 0,4	3,2 ± 0,5
5779-94-2	1217	1208	2,5-dimethylbenzaldehyd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
496-16-2	1218	1219	Dihydrobenzofuran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<0,01
67-47-0	1223	1224	5-hydroxymethylfurfural	<1	74,8 ± 2,0	1,2 ± 0,1	53,3 ± 15,3	<1	<1	4,2 ± 3,0	319,8 ± 50,9	<1	1,3 ± 0,1
4411-89-6	1270	1267	2-fenylbut-2-enal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

CAS číslo	RI	RI TAB	Název sloučeniny	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
112-12-9	1292	1291	2-undekanon	-	-	-	-	-	-	-	-	<0,01	-
10551-58-3	1304	1304	5-acetoxymethylfurfural	8,6 ± 0,8	62,4 ± 6,8	8,3 ± 1,6	55,5 ± 6,1	15,6 ± 0,2	8,9 ± 0,8	18,9 ± 1,1	107,6 ± 2,1	9,2 ± 0,4	17,2 ± 2,5
112-44-7	1307	1309	Undekanal	-	-	-	5,0 ± 0,8	3,3 ± 0,6	2,2 ± 0,1	-	-	2,6 ± 0,3	-
6175-49-1	1393	1393	2-dodekanon	-	-	-	<1	-	-	-	-	-	-
121-33-5	1396	1391	Vanilin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
112-54-9	1409	1409	Lauraldehyd	-	1,6 ± 0,3	-	-	5,3 ± 1,2	4,0 ± 1,3	-	-	2,3 ± 0,3	-
719-22-2	1463	1460	2,6-di- <i>tert</i> -butylchinon	3,0 ± 0,4	3,7 ± 0,4	3,0 ± 0,4	4,5 ± 0,2	5,9 ± 1,1	5,0 ± 0,2	8,2 ± 0,6	6,9 ± 0,1	4,4 ± 0,4	-
593-08-8	1494	1495	2-tridekanon	-	-	-	<1	-	<1	-	-	<1	-
10486-19-8	1511	1511	Tridekanal	-	-	-	<1	8,3 ± 1,3	6,6 ± 0,1	-	-	9,0 ± 0,7	-
64142-23-0	1584	1592	Butyrovaniilon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2345-27-9	1595	1597	2-tetradekanon	-	-	-	<1	-	<1	-	-	<1	-
124-25-4	1612	1613	Tetradekanal	-	-	2,3 ± 0,2	<1	3,1 ± 0,6	1,5 ± 0,3	3,3 ± 1,4	-	1,6 ± 0,4	1,1 ± 0,3
119-61-9	1633	1629	Benzofenon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2345-28-0	1697	1696	2-Pentadekanon	-	-	-	-	-	<1	-	-	<1	-
2345-28-0	1697	1696	Tridecyl methyl keton	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
316249	1715	1715	Pentadekanal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1620-98-0	1759	1753	3,5-di- <i>tert</i> -butyl-4-hydroxybenzaldehyd	2,7 ± 0,6	5,8 ± 0,6	4,2 ± 0,1	5,1 ± 0,4	4,9 ± 0,1	2,6 ± 0,1	6,0 ± 0,1	5,6 ± 0,9	4,1 ± 0,1	4,4 ± 0,3
629-80-1	1816	1816	Palmitaldehyd	-	-	-	-	-	-	-	-	<1	-
82304-66-3	1905	1908	7,9-Di- <i>tert</i> -butyl-1-oxaspiro(4,5)deka-6,9-dien-2,8-dion	<1	-	-	4,8 ± 0,4	5,9 ± 0,8	-	-	-	-	-
			ALIFATICKE UHLOVODIKY										
629-62-9	1499	1500	Pentadekan	-	-	<1	1,1 ± 0,1	-	-	-	-	<1	-
544-76-3	1599	1600	Hexadekan	0,01 ± 0,00	-	<1	<1	-	1,1 ± 0,3	-	-	1,2 ± 0,1	1,0 ± 0,3
629-78-7	1699	1700	Heptadekan	<1	-	<1	<1	-	<1	-	-	<1	-

CAS číslo	RI	RI TAB	Název sloučeniny	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
593-45-3	1799	1799	Oktadekan	<1	-	<1	<1	-	<1	-	-	-	-
629-92-5	1899	1900	Nonadekan	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0 ± 0,1	-
112-95-8	1999	2000	Ikosan	-	-	-	-	-	-	-	-	<1	-
			ALKOHOLY										
137-32-6	756	749	2-methyl-1-butanol	103,8 ± 0,5	151,8 ± 23,6	90,8 ± 12,3	98,0 ± 7,5	70,5 ± 16,0	187,3 ± 8,2	138,0 ± 5,1	120,1 ± 20,9	120,2 ± 0,1	110,3 ± 15,0
513-85-9	791	786	2,3-butandiol izomer 1	<1	<1	13,3 ± 0,7	33,4 ± 0,1	29,2 ± 7,0	21,1 ± 3,1	14,6 ± 2,3	10,5 ± 0,1	1,7 ± 0,1	19,7 ± 0,1
19132-06-0	801	788	2,3-butandiol izomer 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
111-27-3	871	875	Hexanol	-	-	-	<1	-	1,5 ± 0,1	-	-	-	<1
5131-66-8	942	941	1-butoxy-2-propanol	-	-	-	<1	-	-	-	-	-	-
628-99-9	1003	1104	2-nonanol	-	-	-	-	-	-	-	10,6 ± 2,1	-	-
104-76-7	1029	1029	2-ethyl-1-hexanol	1,2 ± 0,1	1,7 ± 0,1	6,9 ± 0,1	1,6 ± 0,2	1,7 ± 0,5	7,7 ± 0,4	6,6 ± 0,3	8,0 ± 1,3	5,1 ± 0,2	1,9 ± 0,1
100-51-6	1035	1040	Benzylalkohol	2,6 ± 0,3	-	4,2 ± 0,3	3,2 ± 2,6	1,3 ± 0,9	7,8 ± 6,8	1,9 ± 0,3	4,3 ± 1,9	2,3 ± 0,1	<1
77164-93-3	1077	1084	6-methyl-2-pyrazinylmethanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
78-69-3	1099	1097	3,7-dimethyl-3-oktanol	-	-	-	2,0 ± 0,4	1,6 ± 0,5	-	5,0 ± 0,4	-	-	-
60-12-8	1113	1113	Fenethylalkohol	285,9 ± 31,4	457,8 ± 63,0	197,9 ± 13,1	456,3 ± 38,6	381,6 ± 40,7	644,5 ± 56,6	336,1 ± 0,3	233,9 ± 23,2	120,7 ± 6,6	399,1 ± 11,6
7643-59-6	1153	1156	<i>cis</i> -Ocimenol	7,8 ± 0,5	44,0 ± 0,2	18,1 ± 0,6	16,2 ± 0,3	8,2 ± 1,4	24,9 ± 1,4	15,2 ± 1,5	23,9 ± 2,5	20,4 ± 0,7	11,8 ± 1,5
7643-60-9	1165	1168	<i>trans</i> -Ocimenol	10,9 ± 0,6	-	21,0 ± 0,3	-	15,0 ± 2,3	-	19,5 ± 0,6	25,2 ± 3,2	19,7 ± 0,9	-
6627-74-3	1179	1184	2,6,6-Trimethylcyklohex-2-en-1-methanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
112-53-8	1475	1476	Dodekanol	-	-	<1	<1	<1	<1	1,1 ± 0,6	-	<1	-
112-70-9	1576	1575	Tridekanol	-	-	-	-	-	-	-	-	<1	-
112-72-1	1677	1679	Tetradekanol	-	-	-	-	-	-	-	-	<1	-
			AMIDY										
13434-12-3	1137	1150	<i>N</i> -Isoamylacetamid	-	-	-	<1	-	1,0 ± 0,1	-	-	-	-
3622-84-2	1784	1794	Benzensulfoamid	<1	-	-	-	-	-	-	-	-	-

CAS číslo	RI	RI TAB	Název sloučeniny	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
APOKAROTENOIDY													
116-26-7	1201	1200	Safranal	-	-	-	-	-	-	-	6,3 ± 0,3	-	-
30364-38-6	1357	1352	3,4-dehydroionen	78,7 ± 0,4	-	73,1 ± 0,4	49,1 ± 1,3	-	62,0 ± 3,0	55,6 ± 0,3	168,4 ± 23,5	48,5 ± 1,3	85,2 ± 8,1
23726-93-4	1381	1378	$\beta$ -Damascenon	4,9 ± 0,1	-	5,2 ± 0,1	2,1 ± 0,1	-	4,7 ± 0,3	4,7 ± 0,2	9,0 ± 1,2	4,9 ± 0,1	7,3 ± 0,3
79-77-6	1481	1479	( <i>E</i> )- $\beta$ -ionon	-	-	-	-	-	-	-	-	2,4 ± 0,1	-
38818-55-2	1627	1626	Megastigmatrienon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
502-69-2	1841	1839	Hexahydrofarnesyl aceton	-	-	-	-	-	<1	-	-	<1	-
ESTERY													
110-19-0	769	768	Isobutyl acetát	16,1 ± 1,5	3,8 ± 0,1	5,0 ± 1,1	7,7 ± 0,1	18,2 ± 4,1	32,4 ± 0,1	13,2 ± 3,0	30,9 ± 0,3	16,6 ± 2,5	19,3 ± 0,9
97-62-1	769	765	Ethyl-isobutyrylát	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1
105-54-4	802	803	Ethyl butyrát	-	-	-	-	-	-	-	-	14,6 ± 1,0	-
97-64-3	807	816	Ethyl laktát	-	25,1 ± 5,3	4,9 ± 0,4	-	-	-	-	-	-	-
108-64-5	852	858	Ethyl isovalerát	-	-	-	-	-	<1	-	-	-	<1
123-92-2	875	880	Isoamyl acetát	83,8 ± 7,1	25,1 ± 0,3	205,0 ± 2,0	13,9 ± 0,1	23,1 ± 5,9	347,7 ± 2,8	104,8 ± 28,3	179,7 ± 0,5	127,4 ± 25,1	177,2 ± 0,4
624-41-9	877	876	2-methylbutyl acetát	45,8 ± 4,6	7,7 ± 0,1	52,5 ± 0,1	11,7 ± 0,1	32,8 ± 8,1	95,6 ± 0,1	22,3 ± 5,7	117,7 ± 1,7	24,4 ± 4,2	66,6 ± 2,1
108-65-6	927	914	1-methoxy-2-propyl acetát	7,1 ± 1,2	-	-	-	-	-	13,2 ± 0,3	11,0 ± 0,1	9,2 ± 0,5	8,2 ± 0,3
?	996	1019	3-ethoxypropyl acetát	1,3 ± 0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
123-66-0	998	1000	Ethyl hexanoát	<1	-	2,1 ± 0,2	-	-	1,8 ± 0,1	-	-	-	1,2 ± 0,1
142-92-7	1012	1016	Hexyl acetát	-	-	-	-	-	1,6 ± 0,2	-	-	-	<1
106-27-4	1056	1060	Isoamyl butanoát	-	-	0,02 ± 0,00	-	-	-	-	-	-	-
6946-90-3	1056	1060	Ethyl 2-hydroxyhexanoát	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
539-88-8	1060	1065	Ethyl levulinát	<1	-	4,1 ± 0,2	-	-	2,1 ± 0,2	-	-	3,9 ± 0,2	-
1114-92-7	1066	1065	2,3-butandiol diacetát	<1	-	-	2,8 ± 0,1	1,5 ± 0,1	-	-	-	-	-
19329-89-6	1067	1071	Isoamyl laktát	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

CAS číslo	RI	RI TAB	Název sloučeniny	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
106-61-6	1093	1095	1,2,3-propantriol monoacetát	-	-	-	<1	-	-	-	-	-	-
16630-55-0	1122	1123	3-(methylthio)propyl acetát	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
103-09-3	1146	1150	2-ethylhexyl acetát	-	-	1,8 ± 0,1	-	-	1,9 ± 0,1	-	-	-	-
140-11-4	1162	1165	Benzyl acetát	4,6 ± 0,1	6,7 ± 0,3	11,3 ± 0,6	9,4 ± 0,4	6,0 ± 1,3	21,4 ± 1,9	22,5 ± 0,1	11,6 ± 0,8	8,0 ± 0,1	7,0 ± 0,5
123-25-1	1177	1182	Diethyl sukcinát	192,3 ± 13,1	-	5,9 ± 0,2	-	-	-	-	24,4 ± 2,9	7,6 ± 0,3	228,2 ± 27,1
119-36-8	1193	1191	Methyl salicylát	-	-	3,2 ± 0,1	1,4 ± 0,1	-	12,4 ± 0,4	-	-	2,9 ± 0,1	4,0 ± 0,2
106-32-1	1195	1197	Ethyl kaprylát	3,1 ± 0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
101-97-3	1242	1244	Ethyl fenylacetát	13,2 ± 0,9	-	2,9 ± 0,1	3,0 ± 0,5	-	5,2 ± 0,3	-	-	-	7,2 ± 0,7
103-45-7	1254	1256	Fenethyl acetát	354,7 ± 15,2	513,2 ± 39,5	283,6 ± 13,9	516,4 ± 18,4	400,9 ± 75,4	788,6 ± 45,4	368,8 ± 6,0	275,0 ± 32,9	174,0 ± 4,9	532,9 ± 46,7
5655-61-8	1289	1287	L-bornyl acetát	-	-	-	-	-	-	3,2 ± 0,7	-	-	-
102-76-1	1339	1340	Triacetin	-	-	-	-	-	<1	-	-	-	-
122-70-3	1350	1350	Fenethyl propionát	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
110-38-3	1393	1395	Ethyl dekanóát	<1	-	-	-	-	1,7 ± 0,1	-	-	-	2,1 ± 0,3
28024-16-0	1425	1428	Ethyl isopentyl sukcinát	<1	-	-	-	-	-	-	-	-	<1
617-05-0	1585	1582	Ethyl vanillát	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6846-50-0	1587	1585	2,2,4-Trimethyl-1,3-pentandiol diisobutyát	-	-	-	-	-	<1	-	-	1,0 ± 0,1	-
84-66-2	1587	1594	Diethyl ftalát	<1	-	<1	-	1,9 ± 0,2	-	-	-	-	-
106-33-2	1592	1594	Ethyl laurát	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
?	1784	1782	(2E)-2-undekenyl pentanoát	-	-	-	-	-	-	-	-	<1	-
110-27-0	1822	1824	Isopropylmyristát	-	-	-	-	<1	<1	-	-	<1	-
84-69-5	1858	1857	Diisobutyl ftalát	2,2 ± 0,8	2,7 ± 0,3	2,1 ± 0,2	2,6 ± 0,4	2,6 ± 0,6	1,6 ± 0,1	4,9 ± 1,1	3,4 ± 1,1	-	2,3 ± 0,3
112-39-0	1924	1925	Methyl palmitát	-	-	-	-	-	-	-	-	<1	-
84-74-2	1954	1952	Dibutyl ftalát	1,0 ± 0,2	1,2 ± 0,2	<1	<1	<1	1,6 ± 0,1	2,0 ± 0,4	<1	13,1 ± 2,3	1,2 ± 0,1
628-97-7	1991	1992	Ethyl palmitát	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

CAS číslo	RI	RI TAB	Název sloučeniny	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
142-91-6	2021	2025	Isopropyl palmitát	-	-	-	-	-	-	-	-	<1	-
ETHERY													
628-55-7	803	808	Isobutyl ether	<1	-	-	-	-	-	19,9 ± 4,8	-	12,7 ± 0,5	8,2 ± 0,1
FURANY													
496-16-2	1218	1219	Dihydrobenzofuran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1
1193-79-9	1034	1034	2-acetyl-5-methylfuran	-	-	1,9 ± 0,1	-	-	-	-	3,6 ± 1,1	-	-
7416-35-5	1045	1044	2,2-dimethyl-5-(1-methyl-1-propenyl)-tetrahydrofuran	-	-	-	-	-	-	-	-	8,0 ± 0,2	-
DERIVÁTY INDANU													
3910-35-8	1715	1714	1-fenyl-1,3,3-trimethylindan	-	-	-	<1	-	-	-	-	-	-
KYSELINY													
79-31-2	765	753	Kyselina isomáselná	11,2 ± 1,2	-	10,5 ± 1,3	27,3 ± 0,1	35,1 ± 4,5	10,6 ± 1,0	9,9 ± 0,4	29,5 ± 1,8	18,0 ± 1,4	12,8 ± 0,9
107-92-6	787	787	Kyselina máselná	-	-	131,1 ± 2,9	7,4 ± 0,1	-	1,7 ± 0,6	30,7 ± 0,4	24,2 ± 4,0	22,6 ± 0,1	-
503-74-2	840	852	Kyselina isovalerová	119,5 ± 9,8	43,3 ± 5,2	77,5 ± 2,3	258,1 ± 2,7	316,6 ± 37,5	77,0 ± 13,1	42,0 ± 0,2	219,9 ± 19,9	27,9 ± 1,3	142,7 ± 0,1
116-53-0	848	860	Kyselina 2-methylbutyrová	8,7 ± 0,5	-	12,9 ± 0,8	23,6 ± 0,3	28,3 ± 3,3	10,8 ± 1,6	10,5 ± 0,1	21,4 ± 3,1	5,4 ± 0,8	7,8 ± 0,3
109-52-4	881	879	Kyselina valerová	-	-	32,3 ± 1,5	-	-	-	17,5 ± 0,1	11,6 ± 1,7	10,4 ± 0,5	-
646-07-1	948	955	Kyselina 4-methylvalerová	-	-	4,0 ± 0,2	-	-	-	-	-	-	-
142-62-1	978	985	Kyseliny kapronová	38,4 ± 3,9	27,1 ± 2,9	43,4 ± 0,8	-	32,8 ± 3,8	35,1 ± 3,5	53,8 ± 0,4	62,1 ± 4,8	20,7 ± 0,2	32,0 ± 0,5
124-07-2	1172	1181	Kyselina kaprylová	109,2 ± 7,4	180,9 ± 11,7	140,9 ± 10,4	142,7 ± 1,9	157,7 ± 18,9	367,3 ± 30,3	82,7 ± 18,3	125,4 ± 12,7	116,9 ± 3,6	109,3 ± 11,2
103-82-2	1245	1246	Kyselina fenylactová	-	1,8 ± 0,1	-	-	1,7 ± 0,9	-	-	-	-	-
112-05-0	1266	1273	Kyselina pelargonová	9,4 ± 0,4	<1	18,7 ± 1,5	58,6 ± 3,1	72,8 ± 9,5	20,9 ± 4,6	31,8 ± 1,9	61,1 ± 14,2	<1	12,8 ± 1,1
334-48-5	1364	1373	Kyselina kaprinová	54,7 ± 13,3	40,6 ± 3,8	34,8 ± 0,7	27,4 ± 0,4	23,0 ± 2,0	89,7 ± 15,1	60,4 ± 20,0	58,8 ± 9,2	53,2 ± 1,5	5,5 ± 0,3
112-37-8	1460	1467	Kyselina undecylová	-	1,3 ± 0,3	-	-	-	-	2,6 ± 0,1	1,4 ± 0,6	1,3 ± 0,7	1,0 ± 0,3
143-07-7	1559	1568	Kyselina laurová	4,9 ± 4,0	8,4 ± 1,4	7,9 ± 1,0	6,2 ± 1,2	4,1 ± 0,3	5,1 ± 1,3	11,3 ± 1,9	7,5 ± 0,8	14,3 ± 0,1	12,6 ± 0,8
638-53-9	1658	1662	Kyselina tridecylová	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1



CAS číslo	RI	RI TAB	Název sloučeniny	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
LAKTONY													
591-12-8	866	865	$\alpha$ -Angelika lakton	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
96-48-0	913	909	$\gamma$ -butyrolakton	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39212-23-2	1321	1325	$\beta$ -Methyl- $\gamma$ -oktalakton	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
104-61-0	1360	1358	$\gamma$ -nonalakton	-	-	<1	<1	-	<1	<1	-	12,0 ± 0,1	<1
15356-74-8	1534	1538	Dihydroaktinolid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
104-67-6	1572	1573	$\gamma$ -Undekalakton	-	-	-	-	-	<1	-	-	<1	-
148051	1679	1677	$\gamma$ -Dodekalakton	-	-	-	-	-	<1	<1	-	-	-
DERIVÁTY NAFTALENU													
2245-38-7	1570	1572	1,6,7-trimethylnaftalen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1
TERPENY													
7392-19-0	970	972	Linalool-3,7-oxid	2,3 ± 0,2	-	8,7 ± 0,9	5,1 ± 0,5	4,0 ± 1,0	11,2 ± 0,1	4,8 ± 0,7	9,0 ± 0,9	8,1 ± 0,2	3,6 ± 0,3
54750-70-8	990	989	( <i>E</i> )-Dehydroxy linalool oxid	-	-	2,7 ± 0,1	-	-	2,3 ± 0,1	-	-	-	-
54750-69-5	1005	1005	( <i>Z</i> )-Dehydroxy linalool oxid	-	-	1,9 ± 0,1	-	-	3,7 ± 0,1	-	-	-	-
5989-33-3	1072	1073	( <i>Z</i> )-Linalool furanoxid	4,6 ± 0,3	16,4 ± 0,5	16,7 ± 0,7	20,1 ± 1,4	21,4 ± 2,5	25,3 ± 2,9	42,8 ± 2,0	30,1 ± 2,9	11,6 ± 0,3	7,7 ± 0,5
34995-77-2	1087	1088	( <i>E</i> )-Linalool furanoxid	2,2 ± 0,2	6,0 ± 0,6	10,8 ± 0,5	7,0 ± 0,6	6,4 ± 1,1	11,9 ± 1,8	15,4 ± 0,2	16,2 ± 2,6	5,1 ± 0,1	4,3 ± 0,2
1195-32-0	1090	1090	<i>p</i> -Cymen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,0 ± 0,3
78-70-6	1099	1100	Linalool	-	-	-	-	-	-	-	4,0 ± 0,4	-	-
138-87-4	1151	1153	$\beta$ -Terpineol	-	-	-	1,9 ± 0,1	-	-	-	-	-	-
1490-04-6	1180	1184	Menthol	-	-	-	3,8 ± 0,4	5,3 ± 1,2	-	5,0 ± 1,0	-	-	-
98-55-5	1196	1195	$\alpha$ -Terpineol	4,0 ± 0,1	7,8 ± 0,7	7,0 ± 0,1	10,5 ± 0,3	5,6 ± 0,8	15,4 ± 0,9	10,8 ± 0,2	19,3 ± 2,1	10,0 ± 0,3	10,8 ± 0,8
586-81-2	1201	1200	$\gamma$ -Terpineol	-	1,7 ± 0,5	2,8 ± 0,1	3,1 ± 0,2	-	4,3 ± 0,3	-	-	2,2 ± 0,1	3,1 ± 0,2
29548-14-9	1222	1220	Karvomethenal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
99-49-0	1246	1243	Karvon	-	4,5 ± 0,2	-	6,8 ± 1,4	3,7 ± 0,1	9,2 ± 0,2	-	-	-	-

CAS číslo	RI	RI TAB	Název sloučeniny	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
77129-50-1	1547	1546	$\alpha$ -Kalakoren	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1209-71-8	1638	1629	$\gamma$ -Eudesmol	<1	-	-	-	-	-	-	-	-	<1
39647-11-5	1650	1649	Methyl-(Z)-dihydrojasmonát	-	-	-	1,1 ± 0,1	<1	<1	1,4 ± 0,2	-	<1	-
DERIVÁTY FENOLU													
2785-89-9	1275	1274	4-ethylguajakol	-	7,1 ± 0,7	1,3 ± 0,5	3,9 ± 0,5	-	19,6 ± 0,8	-	-	-	12,6 ± 1,0
97-53-0	1353	1353	Eugenol	2,1 ± 0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
96-76-4	1507	1513	2,4-di- <i>tert</i> -butylfenol	13,7 ± 0,4	-	-	-	10,2 ± 1,6	12,8 ± 0,4	13,0 ± 0,5	-	-	-
108-68-9	1165	1168	3,5-dimethylfenol	-	-	-	32,5 ± 1,4	-	-	-	-	-	-
123-07-9	1165	1168	4-ethylfenol	-	31,3 ± 3,0	-	-	-	72,1 ± 6,1	-	-	-	24,4 ± 1,3
93-51-6	1189	1192	Kreosol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
585-34-2	1291	1292	4- <i>tert</i> -butylfenol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,8 ± 0,5
PYRAZINY													
14667-55-1	1008	1005	Pyrazin	-	-	4,8 ± 0,8	-	-	-	-	-	-	-
DERIVÁTY PYRROLU													
1003-29-8	1012	1008	Pyrrol-2-carboxaldehyd	-	-	<1	<1	-	-	-	<1	-	-
2167-14-8	1049	1046	1-ethyl-2-formylpyrrol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1072-83-9	1063	1063	2-acetylpyrrol	-	-	-	-	-	-	<1	6,5 ± 0,3	-	-
SILOXANY													
556-67-2	981	994	Derivát siloxanu 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
541-02-6	1134	1135	Derivát siloxanu 2	1,7 ± 0,7	3,2 ± 0,2	5,1 ± 0,9	3,0 ± 0,2	4,1 ± 0,5	3,4 ± 0,8	<1	7,4 ± 0,4	3,4 ± 0,2	2,4 ± 0,2
TERPENOIDY													
543-39-5	1120	1121	Myrcenol	3,8 ± 0,4	-	6,7 ± 0,7	7,8 ± 0,2	5,7 ± 0,4	7,3 ± 0,7	13,0 ± 1,3	8,9 ± 0,7	7,1 ± 0,2	-

Tabulka 10 – Relativní zasoupení VOC ve vzorcích balzamikového octa č. 11 - 20 [%] ± výběrová směrodatná odchylka (n = 2) [%] (veškeré hodnoty jsou \*10<sup>-2</sup>)

CAS číslo	RI	RI TAB	Název sloučeniny	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
			ALDEHYDY A KETONY										
98-01-1	830	837	Furfural	39,8 ± 0,04	4,7 ± 0,4	21,3 ± 1,6	52,4 ± 6,0	34,8 ± 8,9	193,3 ± 12,5	227,8 ± 40,2	41,0 ± 3,3	256,5 ± 9,7	131,5 ± 1,8
4906-24-5	889	888	2-acetoxy-3-butanon	5,5 ± 0,2	2,5 ± 0,1	6,4 ± 0,7	6,6 ± 0,2	3,7 ± 0,8	16,1 ± 1,2	3,5 ± 0,1	4,7 ± 0,2	7,9 ± 0,2	11,1 ± 0,2
1192-62-7	910	914	2-acetyl-furan	7,7 ± 0,5	-	2,8 ± 0,3	2,9 ± 0,2	2,7 ± 0,6	14,0 ± 1,6	6,7 ± 1,2	3,8 ± 0,3	4,1 ± 0,3	4,2 ± 0,1
123-05-7	953	952	2-ethylhexanal	-	-	<1	-	-	-	-	-	-	-
620-02-0	960	962	5-methyl-2-furfural	60,0 ± 3,7	-	29,9 ± 1,0	15,8 ± 2,7	24,2 ± 9,3	154,6 ± 8,8	56,3 ± 9,8	57,1 ± 3,4	65,2 ± 3,2	23,3 ± 0,2
100-52-7	962	964	Benzaldehyd	-	15,9 ± 0,8	-	-	-	-	-	-	-	-
3214-41-3	985	983	Oktan-2,5-dion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
124-13-0	1004	1005	Oktanal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3194-15-8	1007	1005	2-furyl ethyl keton	-	-	-	-	-	1,2 ± 0,2	-	-	-	-
1193-79-9	1034	1037	2-acetyl-5-methylfuran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
122-78-1	1044	1042	Fenylacetaldehyd	7,2 ± 0,6	3,0 ± 0,3	2,9 ± 0,1	8,9 ± 0,8	12,5 ± 3,8	12,4 ± 1,4	15,1 ± 3,0	15,1 ± 1,1	17,5 ± 0,8	11,6 ± 0,5
7416-35-5	1045	1045	2,2-dimethyl-5-(1-methyl-1-propenyl)-tetrahydrofuran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
823-82-5	1076	1076	5-formylfurfural	<1	-	-	-	-	8,0 ± 0,4	2,1 ± 0,2	2,0 ± 0,4	3,9 ± 0,1	<1
17678-19-2	1081	1086	Furyl hydroxymethyl keton	<1	-	-	-	-	-	40,1 ± 3,4	<1	3,4 ± 0,1	<1
104-87-0	1085	1082	4-methylbenzaldehyd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
124-19-6	1104	1105	Nonanal	4,4 ± 0,1	3,3 ± 0,3	-	-	10,8 ± 2,4	-	-	14,4 ± 1,6	-	-
112-31-2	1205	1207	Dekanal	5,2 ± 0,7	4,3 ± 1,4	9,2 ± 4,3	5,9 ± 1,0	8,7 ± 1,0	20,5 ± 4,6	10,5 ± 0,8	20,1 ± 6,3	16,8 ± 2,3	12,0 ± 1,1
5779-94-2	1217	1208	2,5-dimethylbenzaldehyd	2,8 ± 0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
496-16-2	1218	1219	Dihydrobenzofuran	-	-	-	-	-	-	0,02 ± 0,00	-	0,05 ± 0,01	-
67-47-0	1223	1224	5-hydroxymethylfurfural	26,5 ± 0,1	<1	1,0 ± 0,1	1,8 ± 0,3	1,5 ± 0,4	882,3 ± 332,8	570,8 ± 42,0	21,9 ± 9,5	337,7 ± 4,8	17,1 ± 0,1
4411-89-6	1270	1267	2-fenylbut-2-enal	-	2,2 ± 0,2	-	-	-	-	-	-	-	-
112-12-9	1292	1291	2-undekanon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

CAS číslo	RI	RI TAB	Název sloučeniny	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
10551-58-3	1304	1304	5-acetoxymethylfurfural	28,0 ± 0,6	<1	9,9 ± 1,6	7,7 ± 0,4	4,3 ± 1,3	392,8 ± 16,4	403,6 ± 67,9	5,0 ± 0,2	278,5 ± 13,4	29,6 ± 1,0
112-44-7	1307	1309	Undekanal	-	2,9 ± 1,0	-	-	-	-	-	-	-	-
6175-49-1	1393	1393	2-dodekanon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
121-33-5	1396	1391	Vanilin	<1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
112-54-9	1409	1409	Lauraldehyd	-	4,8 ± 2,0	-	-	-	-	-	-	-	-
719-22-2	1463	1460	2,6-di- <i>tert</i> -butylchinon	6,5 ± 0,7	3,6 ± 0,4	3,2 ± 0,7	4,9 ± 0,7	4,8 ± 1,2	9,2 ± 0,1	9,8 ± 0,1	8,2 ± 1,1	7,3 ± 1,1	7,3 ± 0,6
593-08-8	1494	1495	2-tridekanon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10486-19-8	1511	1511	Tridekanal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64142-23-0	1584	1592	Butyrovaniillon	-	-	-	-	-	<1	-	-	-	-
2345-27-9	1595	1597	2-tetradekanon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
124-25-4	1612	1613	Tetradekanal	1,7 ± 0,4	1,5 ± 0,6	-	-	-	-	-	-	-	-
119-61-9	1633	1629	Benzofenon	-	-	-	-	38,6 ± 6,5	-	-	9,3 ± 0,4	-	-
2345-28-0	1697	1696	2-Pentadekanon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2345-28-0	1697	1696	Tridecyl methyl keton	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
316249	1715	1715	Pentadekanal	-	-	-	-	1,0 ± 0,2	-	-	1,1 ± 0,1	-	-
1620-98-0	1759	1753	3,5-di- <i>tert</i> -butyl-4-hydroxybenzaldehyd	4,4 ± 0,3	3,8 ± 0,4	3,1 ± 0,2	4,7 ± 0,3	3,2 ± 0,2	1,5 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,1 ± 0,1	2,6 ± 0,1	1,2 ± 0,2
629-80-1	1816	1816	Palmitaldehyd	-	<1	-	-	-	-	-	-	-	-
82304-66-3	1905	1908	7,9-Di- <i>tert</i> -butyl-1-oxaspiro(4,5)deka-6,9-dien-2,8-dion	-	-	<1	1,0 ± 0,2	1,6 ± 0,4	1,6 ± 0,2	1,1 ± 0,2	-	-	0,8 ± 0,1
			ALIFATICKÉ UHLOVODÍKY										
629-62-9	1499	1500	Pentadekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
544-76-3	1599	1600	Hexadekan	-	1,1 ± 0,2	-	1,3 ± 0,3	-	-	-	1,4 ± 0,1	-	<1
629-78-7	1699	1700	Heptadekan	-	<1	-	-	-	-	-	-	-	<1
593-45-3	1799	1799	Oktadekan	-	<1	-	-	-	<1	-	-	-	<1

CAS číslo	RI	RI TAB	Název sloučeniny	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
629-92-5	1899	1900	Nonadekan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
112-95-8	1999	2000	Ikosan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ALKOHOL													
137-32-6	756	749	2-methyl-1-butanol	96,7 ± 18,1	52,1 ± 0,1	136,3 ± 3,6	199,2 ± 4,7	152,7 ± 35,2	122,9 ± 18,1	122,4 ± 18,8	178,5 ± 9,9	112,4 ± 9,4	168,6 ± 7,0
513-85-9	791	786	2,3-butandiol izomer 1	6,3 ± 0,3	2,4 ± 0,6	1,7 ± 0,4	15,4 ± 0,1	14,6 ± 0,1	24,1 ± 1,9	4,6 ± 1,6	16,2 ± 5,3	62,7 ± 14,2	12,1 ± 2,3
19132-06-0	801	788	2,3-butandiol izomer 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
111-27-3	871	875	Hexanol	<1	2,2 ± 0,1	1,2 ± 0,2	-	-	-	2,2 ± 0,3	-	-	2,7 ± 0,2
5131-66-8	942	941	1-butoxy-2-propanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
628-99-9	1003	1104	2-nonanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
104-76-7	1029	1029	2-ethyl-1-hexanol	3,9 ± 0,2	3,8 ± 0,2	5,7 ± 0,7	2,6 ± 0,2	11,2 ± 3,2	-	2,9 ± 0,4	11,4 ± 1,3	5,0 ± 0,4	4,7 ± 0,3
100-51-6	1035	1040	Benzyalkohol	1,0 ± 0,1	<1	0,7 ± 0,1	6,1 ± 0,9	5,8 ± 1,8	25,1 ± 4,1	<1	8,8 ± 2,2	17,6 ± 0,7	6,8 ± 0,8
77164-93-3	1077	1084	6-methyl-2-pyrazinylmethanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
78-69-3	1099	1097	3,7-dimethyl-3-oktanol	-	1,3 ± 0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
60-12-8	1113	1113	Fenethylalkohol	283,3 ± 13,5	292,9 ± 17,1	417,3 ± 34,1	466,2 ± 62,5	309,7 ± 91,6	502,4 ± 9,5	594,0 ± 119,3	373,6 ± 34,7	732,9 ± 36,8	483,6 ± 25,9
7643-59-6	1153	1156	cis-Ocimenol	20,6 ± 1,1	5,6 ± 0,4	6,1 ± 0,7	13,4 ± 1,7	12,4 ± 3,2	32,7 ± 2,2	9,4 ± 1,6	13,1 ± 1,4	24,2 ± 0,3	7,0 ± 0,2
7643-60-9	1165	1168	trans-Ocimenol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6627-74-3	1179	1184	2,6,6-Trimethylcyklohex-2-en-1-methanol	-	-	-	-	-	5,6 ± 0,7	-	-	-	-
112-53-8	1475	1476	Dodekanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
112-70-9	1576	1575	Tridekanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
112-72-1	1677	1679	Tetradekanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AMIDY													
13434-12-3	1137	1150	N-Isoamylacetamid	1,4 ± 0,1	-	-	-	-	-	-	-	19,3 ± 1,5	-
3622-84-2	1784	1794	Benzensulfoamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
APOKAROTENOIDY													
116-26-7	1201	1200	Safranal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

CAS číslo	RI	RI TAB	Název sloučeniny	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
30364-38-6	1357	1352	3,4-dehydroionen	57,8 ± 5,5	43,1 ± 3,5	75,8 ± 11,0	129,9 ± 19,3	67,8 ± 18,2	37,8 ± 0,2	56,9 ± 9,2	67,5 ± 8,2	197,6 ± 1,2	157,8 ± 0,8
23726-93-4	1381	1378	$\beta$ -Damascenon	6,1 ± 0,1	5,3 ± 0,5	4,4 ± 0,8	7,5 ± 1,2	5,6 ± 1,5	13,3 ± 0,4	9,2 ± 1,6	5,9 ± 0,7	12,3 ± 0,2	6,8 ± 0,3
79-77-6	1481	1479	( <i>E</i> )- $\beta$ -ionon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38818-55-2	1627	1626	Megastigmatrienon	-	-	-	-	-	-	15,8 ± 1,6	-	-	-
502-69-2	1841	1839	Hexahydrofarnesyl aceton	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ESTERY													
110-19-0	769	768	Isobutyl acetát	13,9 ± 2,2	13,5 ± 0,4	20,0 ± 4,6	29,5 ± 6,7	25,1 ± 7,5	30,4 ± 0,8	42,5 ± 3,8	34,7 ± 4,5	36,7 ± 1,8	28,5 ± 2,7
97-62-1	769	765	Ethyl-isobutyryát	-	-	<1	-	-	-	-	-	-	-
105-54-4	802	803	Ethyl butyrát	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
97-64-3	807	816	Ethyl laktát	-	11,7 ± 1,0	15,0 ± 0,7	-	-	-	-	-	-	7,5 ± 0,1
108-64-5	852	858	Ethyl isovalerát	-	-	-	-	-	-	1,6 ± 0,1	-	-	-
123-92-2	875	880	Isoamyl acetatát	122,1 ± 22,2	167,2 ± 4,1	240,5 ± 76,5	330,0 ± 70,7	188,0 ± 53,2	239,3 ± 8,4	579,4 ± 44,7	253,6 ± 31,3	405,0 ± 22,7	407,9 ± 43,4
624-41-9	877	876	2-methylbutyl acetát	38,2 ± 6,5	34,9 ± 0,5	69,1 ± 19,6	91,7 ± 19,3	46,9 ± 12,5	50,0 ± 3,1	147,5 ± 14,2	64,6 ± 11,0	106,4 ± 5,1	87,7 ± 6,2
108-65-6	927	914	1-methoxy-2-propyl acetát	7,9 ± 0,1	<1	8,6 ± 0,8	12,2 ± 0,8	7,1 ± 1,2	22,7 ± 1,5	18,2 ± 0,8	8,1 ± 1,2	42,4 ± 0,1	10,9 ± 0,1
?	996	1019	3-ethoxypropyl acetát	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
123-66-0	998	1000	Ethyl hexanoát	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
142-92-7	1012	1016	Hexyl acetát	-	-	1,0 ± 0,3	-	-	-	3,8 ± 0,1	-	-	-
106-27-4	1056	1060	Isoamyl butanoát	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6946-90-3	1056	1060	Ethyl 2-hydroxyhexanoát	-	1,0 ± 0,1	-	-	-	-	-	-	-	3,0 ± 0,2
539-88-8	1060	1065	Ethyl levulinát	1,1 ± 0,2	-	-	-	-	-	2,2 ± 0,8	-	-	-
1114-92-7	1066	1065	2,3-butandiol diacetát	-	-	-	-	-	4,7 ± 0,2	2,4 ± 0,4	-	12,8 ± 0,8	-
19329-89-6	1067	1071	Isoamyl laktát	-	0,03 ± 0,01	-	-	-	-	-	-	-	-
106-61-6	1093	1095	1,2,3-propantriol monoacetát	-	-	-	-	-	-	-	-	2,0 ± 0,1	-
16630-55-0	1122	1123	3-(methylthio)propyl acetát	-	3,0 ± 0,1	2,2 ± 0,2	2,8 ± 0,4	-	-	6,2 ± 1,3	-	9,5 ± 0,4	-

CAS číslo	RI	RI TAB	Název sloučeniny	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
103-09-3	1146	1150	2-ethylhexyl acetát	-	-	1,0 ± 0,3	-	-	-	-	-	-	-
140-11-4	1162	1165	Benzyl acetát	7,5 ± 0,3	7,0 ± 0,7	9,1 ± 0,9	10,0 ± 1,4	7,2 ± 2,7	40,5 ± 1,8	20,9 ± 4,5	9,9 ± 0,7	38,7 ± 2,4	16,6 ± 2,0
123-25-1	1177	1182	Diethyl sukcinát		293,7 ± 26,9	224,2 ± 15,7	264,8 ± 44,8	109,5 ± 0,1	-	-	93,8 ± 5,3	379,6 ± 31,4	106,5 ± 5,1
119-36-8	1193	1191	Methyl salicylát	3,3 ± 0,1	16,6 ± 1,4	7,2 ± 0,8	4,1 ± 0,7	-	6,1 ± 0,1	12,9 ± 2,5	-	3,9 ± 0,1	5,8 ± 0,2
106-32-1	1195	1197	Ethyl kaprylát	-	-	-	-	3,9 ± 1,1	-	-	-	-	-
101-97-3	1242	1244	Ethyl fenylacetát	3,5 ± 0,1	2,2 ± 0,1	3,3 ± 0,5	-	6,1 ± 1,6	-	-	7,0 ± 0,5	5,5 ± 0,7	-
103-45-7	1254	1256	Fenethyl acetát	406,9 ± 15,5	369,7 ± 24,8	512,1 ± 47,4	573,3 ± 88,6	253,3 ± 68,3	597,8 ± 19,3	1 324,7 ± 240,9	277,1 ± 22,9	1 592,4 ± 95,7	641,6 ± 22,5
5655-61-8	1289	1287	L-bornyl acetát	-	1,1 ± 0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
102-76-1	1339	1340	Triacetin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
122-70-3	1350	1350	Fenethyl propionát	-	-	-	-	-	-	2,7 ± 0,7	-	-	-
110-38-3	1393	1395	Ethyl dekanóát	-	-	-	-	2,0 ± 0,5	-	-	1,7 ± 0,4	-	-
28024-16-0	1425	1428	Ethyl isopentyl sukcinát	<1	6,8 ± 0,4	2,6 ± 0,3	-	-	-	-	-	6,4 ± 0,7	1,7 ± 0,1
617-05-0	1585	1582	Ethyl vanillát	-	-	-	-	-	-	<1	-	-	-
6846-50-0	1587	1585	2,2,4-Trimethyl-1,3-pentandiol diisobutyrát	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
84-66-2	1587	1594	Diethyl ftalát	-	-	1,4 ± 0,7	-	<1	-	-	<1	-	-
106-33-2	1592	1594	Ethyl laurát	-	-	-	-	1,7 ± 0,5	-	-	1,5 ± 0,1	-	-
?	1784	1782	(2E)-2-undekenyl pentanoát	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
110-27-0	1822	1824	Isopropylmyristát	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
84-69-5	1858	1857	Diisobutyl ftalát	2,0 ± 0,3	1,6 ± 0,4	2,6 ± 1,1	2,6 ± 0,6	-	2,8 ± 0,7	1,3 ± 0,4	-	1,7 ± 0,1	1,1 ± 0,4
112-39-0	1924	1925	Methyl palmitát	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
84-74-2	1954	1952	Dibutyl ftalát	-	<1	1,5 ± 0,4	1,5 ± 0,3	-	-	<1	1,3 ± 0,2	1,1 ± 0,1	<1
628-97-7	1991	1992	Ethyl palmitát	-	-	-	-	-	-	-	<1	-	-
142-91-6	2021	2025	Isopropyl palmitát	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ETHERY													
628-55-7	803	808	Isobutyl ether	14,7 ± 3,4	-	38,6 ± 4,5	10,6 ± 0,1	-	-	-	-	-	22,6 ± 0,1

CAS číslo	RI	RI TAB	Název sloučeniny	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
FURANY													
496-16-2	1218	1219	Dihydrobenzofuran	-	-	-	-	-	-	2,1 ± 0,3	-	5,0 ± 0,7	-
1193-79-9	1034	1034	2-acetyl-5-methylfuran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7416-35-5	1045	1044	2,2-dimethyl-5-(1-methyl-1-propenyl)-tetrahydrofuran	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DERIVÁTY INDANU													
3910-35-8	1715	1714	1-fenyl-1,3,3-trimethylindan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KYSELINY													
79-31-2	765	753	Kyselina isomáselná	13,4 ± 0,8	<1	54,7 ± 7,7	12,5 ± 0,4	10,7 ± 0,1	42,4 ± 3,0	4,8 ± 0,3	10,3 ± 0,1	8,9 ± 2,3	28,6 ± 0,3
107-92-6	787	787	Kyselina máselná	<1	<1	<1	4,7 ± 0,1	25,6 ± 0,1	-	4,9 ± 0,1	25,0 ± 0,3	6,4 ± 0,1	-
503-74-2	840	852	Kyselina isovalerová	85,3 ± 3,2	9,3 ± 0,5	47,9 ± 4,9	149,9 ± 5,8	57,9 ± 14,2	57,8 ± 1,2	38,9 ± 4,6	70,9 ± 5,0	55,6 ± 2,5	45,5 ± 3,2
116-53-0	848	860	Kyselina 2-methylbutyrová	9,0 ± 0,3	2,5 ± 0,1	7,2 ± 0,8	21,7 ± 0,9	10,2 ± 2,7	12,7 ± 0,1	5,6 ± 0,4	12,1 ± 0,1	7,3 ± 0,1	9,5 ± 0,2
109-52-4	881	879	Kyselina valerová	-	-	-	-	16,4 ± 4,3	-	-	22,7 ± 2,1	-	-
646-07-1	948	955	Kyselina 4-methylvalerová	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
142-62-1	978	985	Kyseliny kapronová	30,9 ± 0,3	37,7 ± 3,4	33,9 ± 4,5	57,2 ± 2,5	38,0 ± 0,1	36,1 ± 4,7	17,2 ± 4,3	40,2 ± 0,8	34,7 ± 2,1	23,0 ± 1,7
124-07-2	1172	1181	Kyselina kaprylová	275,6 ± 4,8	308,9 ± 21,0	44,3 ± 6,5	99,1 ± 12,5	-	148,1 ± 7,1	150,5 ± 31,7	222,8 ± 19,8	<1	-
103-82-2	1245	1246	Kyselina fenylctová	-	1,6 ± 0,4	-	-	-	-	-	-	4,7 ± 0,3	-
112-05-0	1266	1273	Kyselina pelargonová	18,6 ± 1,1	13,9 ± 2,4	21,1 ± 10,4	17,2 ± 2,6	<1	36,3 ± 3,2	4,7 ± 0,5	<1	11,3 ± 0,6	2,9 ± 0,1
334-48-5	1364	1373	Kyselina kaprinová	-	163,4 ± 8,4	86,4 ± 3,4	-	36,9 ± 5,7	<1	44,4 ± 8,1	31,7 ± 1,0	70,5 ± 3,5	-
112-37-8	1460	1467	Kyselina undecylová	1,7 ± 0,1	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,5	1,9 ± 0,2	-	1,0 ± 0,1	-	-	-	-
143-07-7	1559	1568	Kyselina laurová	8,4 ± 1,6	9,4 ± 0,2	7,3 ± 0,2	8,2 ± 0,1	4,2 ± 0,1	2,0 ± 0,5	5,0 ± 0,6	4,0 ± 0,2	5,5 ± 0,1	3,4 ± 1,1
638-53-9	1658	1662	Kyselina tridecylová	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LAKTONY													
591-12-8	866	865	α-Angelika lakton	-	-	-	-	-	3,1 ± 0,2	9,0 ± 1,5	-	-	-
96-48-0	913	909	γ-butyrolakton	-	-	-	-	-	8,7 ± 0,3	-	-	5,5 ± 0,2	-



CAS číslo	RI	RI TAB	Název sloučeniny	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
39212-23-2	1321	1325	$\beta$ -Methyl- $\gamma$ -oktalakton	-	-	3,0 $\pm$ 0,6	-	1,7 $\pm$ 0,1	-	-	1,6 $\pm$ 0,1	2,0 $\pm$ 0,1	-
104-61-0	1360	1358	$\gamma$ -nonalakton	<1	<1	<1	<1	-	59,6 $\pm$ 9,6	<1	-	<1	49,7 $\pm$ 8,8
15356-74-8	1534	1538	Dihydroaktinolid	-	-	-	-	-	<1	-	-	-	-
104-67-6	1572	1573	$\gamma$ -Undekalakton	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
148051	1679	1677	$\gamma$ -Dodekalakton	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			DERIVÁTY NAFTALENU										
2245-38-7	1570	1572	1,6,7-trimethylnaftalen	-	-	-	<1	-	-	<1	-	-	-
			TERPENY										
7392-19-0	970	972	Linalool-3,7-oxid	6,4 $\pm$ 0,6	2,1 $\pm$ 0,1	2,1 $\pm$ 0,3	5,1 $\pm$ 0,8	24,2 $\pm$ 9,3	14,0 $\pm$ 1,1	1,8 $\pm$ 0,4	6,4 $\pm$ 1,1	9,5 $\pm$ 0,1	-
54750-70-8	990	989	( <i>E</i> )-Dehydroxy linalool oxid	1,6 $\pm$ 0,1	-	-	-	1,7 $\pm$ 0,4	-	-	2,1 $\pm$ 0,3	2,1 $\pm$ 0,1	-
54750-69-5	1005	1005	( <i>Z</i> )-Dehydroxy linalool oxid	2,4 $\pm$ 0,3	-	1,5 $\pm$ 0,2	-	-	-	-	-	-	-
5989-33-3	1072	1073	( <i>Z</i> )-Linalool furanoxid	17,5 $\pm$ 0,1	5,6 $\pm$ 0,6	8,5 $\pm$ 2,1	11,0 $\pm$ 0,9	16,6 $\pm$ 5,1	29,7 $\pm$ 1,9	10,2 $\pm$ 1,4	18,8 $\pm$ 1,0	18,3 $\pm$ 1,7	10,0 $\pm$ 0,8
34995-77-2	1087	1088	( <i>E</i> )-Linalool furanoxid	8,6 $\pm$ 0,1	2,5 $\pm$ 0,1	3,7 $\pm$ 0,4	4,7 $\pm$ 0,3	9,2 $\pm$ 3,1	18,7 $\pm$ 0,1	8,4 $\pm$ 1,3	10,9 $\pm$ 0,9	10,7 $\pm$ 0,7	-
1195-32-0	1090	1090	<i>p</i> -Cymen	-	-	-	-	-	-	6,7 $\pm$ 1,5	-	-	-
78-70-6	1099	1100	Linalool	-	-	-	-	2,9 $\pm$ 0,9	4,3 $\pm$ 0,3	-	3,8 $\pm$ 0,2	4,3 $\pm$ 1,0	-
138-87-4	1151	1153	$\beta$ -Terpineol	-	-	-	-	-	-	-	-	2,9 $\pm$ 0,1	-
1490-04-6	1180	1184	Menthol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
98-55-5	1196	1195	$\alpha$ -Terpineol	13,9 $\pm$ 0,5	5,5 $\pm$ 0,6	7,2 $\pm$ 0,6	7,8 $\pm$ 0,9	15,3 $\pm$ 4,6	14,7 $\pm$ 0,1	16,1 $\pm$ 2,9	18,2 $\pm$ 0,9	20,2 $\pm$ 0,6	14,4 $\pm$ 0,5
586-81-2	1201	1200	$\gamma$ -Terpineol	3,0 $\pm$ 0,1	<1	1,8 $\pm$ 0,3	-	-	5,4 $\pm$ 0,1	3,1 $\pm$ 0,6	2,6 $\pm$ 0,1	-	3,0 $\pm$ 0,1
29548-14-9	1222	1220	Karvomethenal	-	-	-	-	-	-	-	-	3,0 $\pm$ 0,8	-
99-49-0	1246	1243	Karvon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
77129-50-1	1547	1546	$\alpha$ -Kalakoren	-	-	-	-	-	-	1,0 $\pm$ 0,1	-	-	-
1209-71-8	1638	1629	$\gamma$ -Eudesmol	-	<1	<1	1,6 $\pm$ 0,1	-	-	-	-	3,3 $\pm$ 0,1	-

CAS číslo	RI	RI TAB	Název sloučeniny	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
39647-11-5	1650	1649	Methyl-(Z)-dihydrojasmonát	-	<1	-	-	-	-	-	-	-	-
DERIVÁTY FENOLU													
2785-89-9	1275	1274	4-ethylguajakol	5,8 ± 0,3	4,1 ± 0,2	-	-	-	-	-	-	-	-
97-53-0	1353	1353	Eugenol	2,0 ± 0,1	-	<1	-	-	-	-	-	-	-
96-76-4	1507	1513	2,4-di- <i>tert</i> -butylfenol	-	-	5,1 ± 1,1	6,9 ± 1,0	15,4 ± 3,9	-	-	18,0 ± 1,4	15,2 ± 1,7	2,1 ± 0,1
108-68-9	1165	1168	3,5-dimethylfenol	31,8 ± 2,0	11,7 ± 0,9	-	-	221,7 ± 0,1	-	-	-	-	-
123-07-9	1165	1168	4-ethylfenol	-	-	20,8 ± 2,0	49,9 ± 6,1	-	95,0 ± 3,7	20,8 ± 4,0	28,6 ± 3,1	60,3 ± 1,9	15,9 ± 1,4
93-51-6	1189	1192	Kreosol	-	3,3 ± 0,7	-	-	-	3,2 ± 0,2	-	-	-	-
585-34-2	1291	1292	4- <i>tert</i> -butylfenol	3,1 ± 0,1	4,7 ± 0,6	<1	-	-	-	-	-	2,5 ± 0,1	-
PYRAZINY													
14667-55-1	1008	1005	Pyrazin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DERIVÁTY PYRROLU													
1003-29-8	1012	1008	Pyrrrol-2-carboxaldehyd	<1	-	-	-	1,2 ± 0,5	-	-	2,0 ± 0,5	1,2 ± 0,1	1,8 ± 0,1
2167-14-8	1049	1046	1-ethyl-2-formylpyrrol	-	-	-	-	-	-	-	-	1,7 ± 0,1	9,0 ± 0,6
1072-83-9	1063	1063	2-acetylpyrrol	-	-	-	-	-	4,2 ± 0,7	-	-	8,8 ± 0,5	8,0 ± 4,0
SILOXANY													
556-67-2	981	994	Derivát siloxanu 1	<1	-	-	-	-	-	-	2,6 ± 2,6	-	-
541-02-6	1134	1135	Derivát siloxanu 2	2,5 ± 0,3	1,4 ± 0,1	1,4 ± 0,1	3,1 ± 0,1	6,5 ± 1,8	8,2 ± 0,9	6,2 ± 1,9	6,0 ± 0,9	4,7 ± 0,8	5,1 ± 0,5
TERPENOIDY													
543-39-5	1120	1121	Myrcenol	9,0 ± 0,7	-	-	4,8 ± 0,1	-	9,5 ± 0,6	-	6,6 ± 0,1	-	-

Metodou HS-SPME-GC-MS bylo celkově identifikováno 166 těkavých organických látek. Nejvíce látek spadalo do skupiny aldehydů a ketonů (40), esterů (41), alkoholů (17), kyselin (14) a terpenů (16). Menší množství pak představovaly látky ze skupiny alifatických uhlovodíků (6), amidů (2), apokarotenoidů (6), etherů (1), derivátů indanu (1), laktonů (7), derivátů naftalenu (1), derivátů fenolu (7), pyrazinů (1), derivátů pyrrolu (3), siloxanů (2) a terpenoidů (1). Relativní zastoupení bude dále v textu komentováno pro přehlednost bez směrodatných odchylek.

Všechny skupiny látek budou dále porovnány s již vykonanými studiemi. Marrufo-Curtido a kol. [95] se ve práci zaměřili na využití metody SBSE-GC-MS pro charakteristiku aromaprofilu balzamických (tradičního balzamického octu z Modeny, dále jen TBVM a balzamického octu z Modeny, dále jen BVM) a dalších octů. Touto metodou se jim podařilo identifikovat 113 VOC. Zeppa a kol. [96] se ve své práci zabývali analýzou aromaprofilu balzamického octa pomocí metody SPE-GC-MS (solid phase extraction ve spojení s GC-MS). Celkově se jim podařilo identifikovat 114 VOC. Callejón a kol. [97] se ve své studii zaměřili na porovnání aromaprofilu balzamického octa v závislosti na použitém materiálu sudů. Pro analýzu látek s majoritním zastoupením využili techniku DI-GC-FID. Pro analýzu látek v minoritním zastoupením využili techniku HSSE-GC-MS (headspace sorpční extrakce). Celkově se jim podařilo identifikovat 57 VOC.

### Estery

Nejpočetnější skupinu látek tvořily estery. Mezi ně se řadí i acetáty (estery kyseliny octové), kterých bylo celkově identifikováno 13. V porovnávaných pracích bylo identifikováno 16 pro TBVM, resp. 13 pro BVM (SBSE extrakce) [95], 15 (SPE extrakce) [96] a 9 (HSSE) [97] esterů kyseliny octové.

S vůbec největším relativním zastoupením ze všech látek byl identifikován fenethyl acetát (1,740 rel. % až 15,924 rel. %). Fenethyl acetát byl identifikován s vysokým relativním zastoupením také ve studiích od Marrufo-Curtido a kol. [95] a Zeppa a kol. [96]. Malé relativní zastoupení měl ve studii vypracované Callejónem a kol. [97]. Tento fakt by mohl souviset s použitím HSSE extrakce, namísto ostatních technik. Corsini a kol. [98] ve své studii zabývající se charakterizací vůně vybraných VOC v balzamických octech, popisují vůni fenethyl acetátu jako sladkou, připomínající růže či med.

Druhé největší relativní zastoupení z esterů měl isoamyl acetát (0,139 rel. % až 5,794 rel. %), který byl přítomen ve všech vzorcích. Identifikován byl ve všech porovnávaných studiích [95], [96], [97]. Corsini a kol. [98] přirovnávají jeho vůni k banánům a ovoci.

Významné relativní zastoupení v aromaprofilu měli z acetátů dále isobutyl acetát (0,038 rel. % až 0,425 rel. %) a 2-methylbutyl acetát (0,077 rel. % až 1,475 rel. %). Isobutyl acetát byl identifikován ve všech porovnávaných pracích [95], [96], [97], avšak 2-methylbutyl acetát nebyl identifikován v žádné z těchto studií. Ríos-Reina a kol. [99] ve své studii porovnávali různé extrakční techniky (HSSE, DHS, HS-SPME) pro analýzu vinných octů. 2-methylbutyl acetát se jim podařilo identifikovat všemi využitými technikami. Zajímavé v této studii bylo, že metodou HS-SPME se jim podařilo identifikovat pouze 7 esterů kyseliny octové, kdežto metodou DHS identifikovali 13 esterů kyseliny octové. Navíc metodou HSSE a DHS získali daleko větší plochy píků v porovnání s HS-SPME, přičemž využili vlákno DVB/CAR/PDMS a extrakční teplotu 62 °C. Gonçalves a kol. [100] ve své studii přirovnávají aroma 2-methylbutyl acetátu k aroma bylin, rumu, fermentovanému ovoci a banánu. Peddie [101] ve své studii přirovnává aroma isobutylacetátu k aroma banánu.

Jediným esterem mimo acetáty s výrazným relativním zastoupením byl identifikován diethyl skucinát (0,059 rel. % až 3,796 rel. %). Ten byl identifikován ve 12 vzorcích. Zároveň byl identifikován ve všech námi porovnávaných studiích [95], [96], [97]. Zeppa a kol. [96] ve své studii uvádí možnost nižšího zastoupení diethyl sukcinátu a dalších ethyl esterů u starších vzorků octa, v důsledku posunu esterifikační rovnováhy, způsobeného malým množstvím ethanolu. Jako další důvod nízké koncentrace ethyl esterů uvádí jejich vysokou těkavost. Bekatorou [42] ve své knize uvádí aroma diethyl sukcinátu, jako sladké, ovocné a vinné. Zároveň uvádí jeho původ v alkoholickém kvašení.

### Aldehydy a ketony

Celkově bylo identifikováno 40 aldehydů a ketonů. V námi porovnávaných pracích bylo identifikováno 16 [95], 21 [96] a 9 [97] látek ze skupiny aldehydů a ketonů.

Mezi aldehydy a ketony s největším relativním zastoupením patřil furfural, který byl přítomen ve všech vzorcích. Jedná se o derivát furanu, pro které je charakteristické karamelové aroma. Tyto deriváty vznikají Maillardovými reakcemi mezi redukujícími cukry a aminokyselinami, nejčastěji při vyšších teplotách. Někteří výrobci se zajímají o analýzu furfuralu za účelem zjištění organoleptických vlastností a případných komerčních podvodů. Giordano a kol. [102] se ve své práci zaměřili na analýzu furfuralu a 5-methyl-2-furfuralu pomocí metody

HS-SPME-GC-MS. Jako vlákno pro SPME zvolili směs DVB/CAR/PDMS. Ve všech čtyřech testovaných vzorcích balzamikového octa zjistili přítomnost furfuralu, a to v koncentračním rozmezí 2,63 mg/l až 14,19 mg/l. Analýza byla provedena při extrakční teplotě 50 °C, čas extrakce byl 40 min. Detekční limit byl stanoven na 15 µg/l. Marrufo-Curtido a kol. [95] identifikovali furfural, a to na koncentrační úrovni 0,193 rel. % u BVM, resp. 1,147 rel. % u TBVM. Tyto hodnoty jsou v souladu s námi získanými hodnotami (0,047 rel. % až 2,565 rel. %).

Jak již bylo zmíněno, Giordano a kol. [102] se ve své práci zaměřili také na analýzu 5-methyl-2-furfuralu. Ten byl v této diplomové práci identifikován v 16 z 20 vzorcích (0,137 rel. % až 1,546 rel. %). To může souviset s nižší koncentrací tohoto derivátu furanu v balzamikových octech, jelikož Giordano a kol. jej identifikovali ve všech 4 vzorcích, avšak na menší koncentrační úrovni oproti furfuralu (1,08 mg/l až 2,42 mg/l). Marrufo-Curtido a kol. [95] zjistili relativní zastoupení 5-methyl-2-furfuralu 0,177 rel. % pro BVM, resp. 0,703 rel. % pro TBVM.

Ve všech vzorcích byl ve vyšším zastoupení 5-hydroxymethylfurfural. Marrufo-Curtido a kol. [95] ve své práci zjistili relativní zastoupení 5-hydroxymethylfurfuralu 0,137 rel. % u BVM, resp. 1,574 rel. % u TBVM. V našem případě bylo koncentrační rozmezí <0,01 rel. % až 8,823 rel. % u vzorku č. 16, kde měla tato látka největší zastoupení ze všech identifikovaných látek. Zajímavostí je, že vzorek octa č. 16 pochází z Řecka, kdežto všechny ostatní vzorky (vyjma č. 7 (Rakousko)) pochází z Itálie. *In vitro* byly prokázány mutagenní účinky této látky [103]. V čerstvých potravinách se tato látka prakticky nevyskytuje. Její koncentrace stoupá se zahříváním a přítomnost této látky je dobrým ukazatel čerstvosti a kvality některých potravin [104].

Dalším derivátem furanu s vyšším zastoupením je 5-acetoxymethylfurfural, který byl přítomen ve všech vzorcích v širokém koncentračním rozmezí <0,01 rel. % až 4,036 rel. %. Marrufo-Curtido a kol. [95] získali metodou SBSE poměrně vysoké relativní zastoupení této látky (0,570 rel. % pro BVM, resp. 3,959 rel. % pro TBVM). Ačkoliv byla tato látka identifikována ve všech vzorcích, není jí věnována větší pozornost v souvislosti s balzamikovými octy.

Poslední identifikovanou látkou ze skupiny aldehydů a ketonů s vyšším relativním zastoupením je benzaldehyd, který byl přítomen v pěti vzorcích (0,159 rel. % až 0,826 rel. %). Castro-Vázquez a kol. [105] ve své práci došli k závěru, že koncentrace benzaldehydu se zvyšuje

během stárnutí potravin jako je víno či ocet, v důsledku uvolňování z dřevěných sudů [105]. Vyšší přítomnost benzaldehydu se může projevit hořkým aroma mandlí [91].

### Alkoholy

Bylo identifikováno 17 látek ze skupiny alkoholů. V porovnávaných studiích bylo identifikováno 8 (TBVM), resp. 7 (BVM) [95], 19 [96] a 11 [97] látek ze skupiny alkoholů. Callejón a kol. [97] ve své studii identifikovali ethanol, jako alkohol s největším relativním zastoupením. Vzhledem ke svému nízkému retenčnímu času, nebyl ethanol v této diplomové práci identifikován.

Z alkoholů měl největší relativní koncentraci fenethylalkohol (1,207 rel. % až 7,329 rel. %), který byl přítomen ve všech vzorcích. Z identifikovaných látek se jedná o jednu z látek s největší relativní koncentrací. To je v souladu s Marrufo-Curtido a kol. [95] a Zeppa a kol. [96], kteří identifikovali fenethylalkohol taktéž s vysokým relativním zastoupením. Callejón a kol. [97] fenethylalkohol identifikovali ve všech vzorcích, avšak nejednalo se o látku s majoritním zastoupením a její zastoupení v porovnání s předchozími studii bylo málo významné. Fenethylalkohl je látka s aroma růže, proto se často využívá jako přídavek do kosmetických výrobků [106]. Jedná se o zdravotně nezávadnou látku, přirozeně se vyskytující především v květinách, ale i čaji, tabáku a pivu [107].

Vysoké relativní zastoupení má dále z alkoholů 2-methyl-1-butanol (0,521 rel. % až 1,992 rel. %). 2-methyl-1-butanol ve své práci identifikovali také Marrufo-Curtido a kol. [95] a Callejón a kol. [97], avšak jeho relativní zastoupení nebylo významné.

### Terpeny

Bylo identifikováno 16 látek ze skupiny terpenů. Jejich relativní zastoupení v žádném ze vzorků nepřesáhlo hranici 0,5 rel. %. V porovnávaných studiích bylo identifikováno 12 (TBVM), resp. 10 (BVM) [95], 2 [96] a 0 [97] terpenů. S nejvyšším relativním zastoupením byl identifikován (*Z*)-linalool furanoxid a dále  $\alpha$ -terpineol. Oba tyto terpeny byly přítomny ve všech vzorcích balzamikového octa. V 19 vzorcích byl identifikován (*E*)-linalool furanoxid a v 18 vzorcích byl identifikován linalool-3,7-oxid, který nebyl identifikován v žádné z porovnávaných studií [95], [96], [97]. Přítomnost obou izomerů linalool furanoxidu je v souladu se studií od Zeppa a kol. [96]. Přítomnost  $\alpha$ -terpineolu je v souladu se studií Marrufo-Curtidoa a kol. [95], kde tato látka patřila k terpenům s největším zastoupením. Avšak Marrufo-Curtidoa a kol. určili pomocí metody SBSE-GC-MS jako terpeny s největším

relativním zastoupením limonen a 4-terpineol. Oba tyto terpeny nebyly v této diplomové práci identifikovány. Terpeny jsou obecně známy svojí příjemnou vůní, která může být charakterizována jako ovocná, sladká či bylinná [108].

### Kyseliny

Kromě kyseliny octové, u které se předpokládá nejvyšší relativní zastoupení, a která nemohla být vzhledem ke svému nízkému času retence identifikována, bylo identifikováno 14 organických kyselin. V porovnávaných studiích bylo identifikováno 15 (TBVM), resp. 11 (BVM) [95], 9 [96] a 6 [97] organických kyselin. Kyseliny jsou v octech tvořeny oxidací alkoholů pomocí bakterií octového kvašení [95].

Ve všech vzorcích byla s velkým relativním zastoupením identifikována kyselina isovalerová (0,093 rel. % až 3,166 rel. %). To je v souladu s prací Zeppa a kol. [96], kde měla tato látka největší koncentraci ze všech kyselin. Ve studii provedené Marrufo-Curtidoem a kol. [95] patřila kyselina isovalerová ke kyselinám s větším relativním zastoupením. Ve studii od Callejóna a kol. [97] měla kyselina isovalerová malé relativní zastoupení v porovnání s ostatními kyselinami. Podle studie vyhotovené Corsinim a kol. [98] má kyselina isovalerová sýrové aroma.

Další kyselinou s vysokým relativním zastoupením byla kyselina kaprylová (<0,01 rel. % až 3,673 rel. %). Ta byla identifikována v celkem 18 vzorcích. Její vyšší zastoupení bylo i ve všech porovnávaných studiích [95], [96], [97]. Corsini a kol. [98] ve své studii uvádí její aroma jako nepříjemné, kyselé a žluklé.

S významným relativním zastoupením byly identifikovány kyseliny kapronová (19 vzorků), pelargonová (20 vzorků) a kaprinová (17 vzorků). Jejich relativní zastoupení se drželo ve většině případů pod hranicí 0,5 rel. %. Přítomnost těchto tří kyselin v balzamikovém octu je v souladu se studiemi od Marrufo-Curtidoa a kol. [95] a Callejóna a kol. [97]. Ve studii provedené Zeppa a kol. [96] byla identifikována pouze kyselina kapronová. Corsini a kol. [98] uvádí aroma kyseliny kapronové jako kyselé, připomínající kozí pach či pot. Bekaterou [42] ve své knize uvádí aroma kyseliny pelargonové jako sýrové či voskové a aroma kyseliny kaprinové jako žluklé.

### Laktony

Celkově bylo identifikováno 7 laktonů. Jejich výskyt byl však velmi nepravidelný a jejich relativní zastoupení se drželo ve většině případů pod hranicí 0,1 rel. %. V porovnávaných

pracích bylo identifikováno 7 (TBVM), resp. 6 (BVM) [95], 4 [96] a 3 [97] laktonů. Původ laktonů v octech je v odbourávání cukrů, případně v cyklizaci hydroxykyselin během procesu kvašení [95].

Ve 4 vzorcích byl přítomen  $\beta$ -Methyl- $\gamma$ -oktalakton, který je označován jako dubový či whiskey lakton a jeho původ může být z dubových sudů, používaných při výrobě octa [44]. To je v souladu se studií od Callejóna a kol. [97], kteří porovnávali vliv sudů z různého dřeva na výsledný aromaprofil.  $\beta$ -Methyl- $\gamma$ -oktalakton měl výrazně vyšší koncentraci právě v dubovém sudu, avšak jeho přítomnost byla potvrzena i v dalších materiálech. Bekaterou [42] uvádí aroma whiskey laktonu jako kořeněné a podobné kokosu.

Nejčastěji zastoupeným byl  $\gamma$ -nonalakton, který byl přítomen ve 14 vzorcích. Jeho relativní zastoupení bylo ve většině případů  $<0,01$  rel. %. Výjimku tvořily vzorky 6 a 10, kde jeho relativní zastoupení bylo okolo 0,5 rel. %. Tento lakton nebyl identifikován v žádné z námi porovnávaných studií [95], [96], [97]. Liang a kol [109] jej identifikovali v octu Shanxi a zároveň jej vyhodnotili, jako látku významnou pro výsledné aroma tohoto octa. Bekaterou [42] uvádí aroma tohoto laktonu jako sladké, kokosové a krémové.

#### Deriváty fenolu

Bylo identifikováno 7 derivátů fenolu. V porovnávaných studiích bylo identifikováno 7 (TBVM), resp. 5 (BVM) [95], 3 [96] a 3 [97] látek ze skupiny fenolů.

V nejvíce vzorcích (10) byl s vysokým relativním zastoupením identifikován 4-ethylfenol (0,159 rel. % až 0,950 rel. %). To je v souladu s prací Marrufo-Curtidoa a kol. [95] a Callejóna a kol. [97], ve kterých měl 4-ethylfenol významné relativní zastoupení. 4-ethylfenol je produkován kvasinkami a pro celkové aroma octa je nežádoucí, jelikož připomíná koňské aroma [110].

S vysokým relativním zastoupením byl ve 4 vzorcích identifikován 3,5-dimethylfenol (0,117 rel. % až 2,217 rel. %). Ten nebyl identifikován v žádné z námi porovnávaných studií [95], [96], [97].

#### Alifatické uhlovodíky

Bylo identifikováno 6 látek ze skupiny alifatických uhlovodíků. V porovnávaných studiích bylo identifikováno 3 [95], 3 [96] a 0 [97] látek ze skupiny alifatických uhlovodíků.



Alifatické uhlovodíky byly identifikovány v 11 vzorcích balzamikového octa. Jejich relativní zastoupení bylo ve většině případů <0,01 rel. %, ostatní hodnoty nepřesáhly hranici 0,02 rel. %. Celkově bylo identifikováno 6 alifatických uhlovodíků. Nejčastěji zastoupeným byl hexadekan (10). Zajímavostí je fakt, že 7 vzorků obsahovalo 3 a více alifatických uhlovodíků. Ve 4 vzorcích byl identifikován pouze jeden alifatický uhlovodík. V 9 vzorcích se nepodařilo identifikovat žádný alifatický uhlovodík. Marrufo-Curtido a kol. [95] ve své práci identifikovali metodou SBSE-GC-MS pouze 3 alifatické uhlovodíky na stopové úrovni, konkrétně tridekan, tetradekan a pentadekan, který se jako jediný z jmenovaných podařilo identifikovat i v této diplomové práci. Zeppa a kol. [96] z alifatických uhlovodíků zjistili přítomnost undekanu, dodekanu a tridekanu. Žádný z těchto uhlovodíků nebyl identifikován v této diplomové práci.

### Apokarotenoidy

Apokarotenoidy byly identifikovány v 18 vzorcích. Ve všech těchto případech byl přítomen 3,4-dehydroionen (TDN), který měl významné relativní zastoupení v rámci aromaprofilu (0,378 rel. % až 1,976 rel. %). V žádné z porovnávaných studií nebyl identifikován [95], [96], [97]. Jeho přítomnost v balzamikovém octu je však logická, jelikož se běžně vyskytuje v hroznovém víně. Zároveň byl mnohokrát identifikován ve víně, Winterhalter [111] popsal jeho aroma jako „petrolejové či benzínové“.

Ve všech těchto 18 vzorcích byl také přítomen  $\beta$ -damascenon. Jeho relativní zastoupení v žádném ze vzorků nepřesáhlo hodnotu 0,150 rel. %. Tuto látku identifikovali ve své studii Ubeda a kol. [112], avšak v jahodovém octu. Zde přispíval k sensorickým vlastnostem svým aroma pečených jablek.

### Deriváty pyrrolu

Byly identifikovány 3 deriváty pyrrolu. Jejich relativní zastoupení nepřesáhlo hodnotu 0,1 rel. %. Žádný z námi zjištěných derivátů pyrrolu nebyl identifikován v námi porovnávaných pracích [95], [96], [97]. Největší relativní zastoupení měl 2-acetylpyrrolu, který byl přítomen v 5 vzorcích. Liang a kol. [109] identifikovali 2-acetylpyrrol v octu Shanxi. Jeho aroma přiřadili k lékořici.

### Amidy

Byly identifikovány 2 látky ze skupiny amidů. V porovnávaných studiích byly identifikovány 3 [95], 0 [96] a 0 [97] látek ze skupiny amidů.

Ve 4 vzorcích se podařilo identifikovat *N*-isoamylacetamid a ve 2 případech byl nalezen benzensulfoamid. Jejich relativní zastoupení nepřesáhlo hodnotu 0,2 rel. %. *N*-isoamylacetamid ve svých studiích identifikovali také Marrufo-Curtido a kol. [95] a Zeppa a kol. [96], taktéž s nižším relativním zastoupením. Benzensulfoamid nebyl identifikován v žádné z porovnávaných studií [95], [96], [97]. Podle Rocha a kol. [113] amidy nepřispívají k sensorickým vlastnostem vína. To samé se dá předpokládat i u octů.

### Siloxany

Byly identifikovány dva deriváty siloxanu. Ve dvou vzorcích byl identifikován s velmi malým relativním zastoupením derivát siloxanu 1. Naopak ve všech vzorcích a s relativním zastoupením okolo 0,05 rel. % byl identifikován derivát siloxanu 2. V námi porovnávaných studiích nebyly siloxany identifikovány [95], [96], [97]. Jejich přítomnost podle Barba a kol. [114] nesouvisí nijak s octem, ale jedná se o produkty degradace PDMS. Zabránit tvorbě těchto artefaktů lze použitím nižší extrakční teploty.

### Ethery

Jediným identifikovaným etherem byl isobutyl ether (<0,01 rel. % až 0,386 rel. %), který byl přítomný v 8 vzorcích. Ten nebyl identifikován v žádné z porovnávaných studií [95], [96], [97]. Zároveň není uváděn ani v knize *Advances in vinegar production* od Bekatorou [42], ve které je pravděpodobně nejrozsáhlejší přehled VOC ve všech typech octa.

### Deriváty indanu

Ve vzorku č. 4 bylo nalezeno stopové množství 1-fenyl-1,3,3-trimethylindanu. Tato látka nebyla identifikována v žádné známé studii zabývající se analýzou VOC z octů.

### Deriváty naftalenu

Z derivátů naftalenu byl identifikován 1,6,7-trimethylnaftalen (3 vzorky). Jeho relativní zastoupení nepřesáhlo hranici 0,01 rel. %. V žádné z porovnávaných studií nebyla tato látka identifikována [95], [96], [97].

### Pyraziny

Vzorek č. 3 jako jediný obsahoval pyrazin (0,048 rel. %). Ten nebyl identifikován v žádné z námi porovnávaných studií [95], [96], [97]. Lu a kol. [77] identifikovali methyl deriváty pyrazinu v octu Zhenjiang pomocí SFE extrakce.

### Terpenoidy

Myrcenol byl identifikován jako jediná látka ze skupiny terpenoidů. Byl identifikován ve 12 vzorcích s relativním zastoupením pod 0,15 rel. %. Myrcenol nebyl identifikován v žádné z námi porovnávaných prací [95], [96], [97]. Su a Chien [115] ve své studii identifikovali myrcenol v borůvkovém octu. Jeho aroma přisoudili k vůni čerstvých květin.

## ZÁVĚR

Byla vypracována literární rešerše zabývající se problematikou octů a využití extrakčních technik a plynové chromatografie pro analýzu těkavých látek v octech, dále pak byla experimentálně optimalizována metoda pro analýzu těkavých organických látek z balzamikových octů a výsledné podmínky pak byly aplikovány na různé balzamikové octy. Získané výsledky byly porovnány s již známými studiemi.

První kapitola teoretické části je věnována historii octů, ze které je patrné, že ocet byl již před tisíci lety rozšířen po celém světě. Také jsou zde popsány první chemické pokusy a objevy, které souvisí s tematikou octů. V další kapitole je přehled nejpoužívanějších definic, kterými lze octy charakterizovat. Většina těchto definic má společné dvě věci, a to přítomnost kyseliny octové a výrobu dvojitým kvašením. Následující kapitoly se zabývají tradičními a moderními postupy výroby octů, praktickým využitím octů a klasifikací octů podle členění FDA. Zmíněny jsou zde i další octy, které nespádají do členění podle FDA. Tradičnímu balzamikovému octu je věnována samostatná kapitola. V ní je popsána jeho charakteristika a unikátní výrobní postup. Poslední kapitola první teoretické části je věnována látkám obsažených v octech. Jsou zde zmíněny nejvíce zastoupené skupiny chemických sloučenin a některé literární zdroje, které se touto problematikou zabývají. Také je zde zmíněn vliv dřevěných sudů a ochucovadel na výsledné aroma octa.

Druhá polovina teoretické části se zabývá problematikou analýzy těkavých organických látek. Na začátku je představena technika plynové chromatografii. Větší pozornost je věnována extrakčním technikám využívaných při analýze těkavých látek, jako jsou techniky headspace, mikroextrakce tuhou fází a její modifikace, extrakce na magnetickém míchadle a extrakce nadkritickou tekutinou. V následující kapitole jsou popsány současné trendy v analýze těkavých organických látek z octů. Je zde zmíněna definice VOC a jejich historický aspekt z pohledu chemické analýzy a dále je pozornost věnována technikám pro určení aroma dané látky či produktu. Poslední část teorie je zaměřena na návrh experimentů pomocí centrálně kompozitního plánování a je zde vysvětlen princip retenčních indexů.

Z extrakčních technik byla během experimentální části věnována pozornost statické headspace a mikroextrakci tuhou fází. Bylo zjištěno, že metodou statické headspace bylo extrahováno daleko méně látek. Mikroextrakce tuhou fází tak byla určena jako vhodnější technika extrakce pro analýzu VOC z balzamikových octů, což je v souladu i s dalšími studiemi, které se touto problematikou zabývají. Dále byl testován vliv použití dvou různých SPME vláken, konkrétně

šedého (na bázi DVB/CAR/PDMS) a červeného (na bázi PDMS). Při optimalizaci byla pozornost věnována třem parametrům extrakce – extrakční teplotě, času a objemu nasyceného roztoku NaCl. Jako vhodné extrakční vlákno bylo zvoleno šedé vlákno. Statistickým zpracováním dat byly jako optimální podmínky určeny extrakční teplota 75 °C, extrakční čas 90 minut a objem nasyceného roztoku NaCl 6 ml.

Podmínky extrakce získané optimalizací byly následně využity pro analýzu VOC ve dvaceti vzorcích balzamikového octa. Látky byly identifikovány metodou GC-MS a následně bylo určeno jejich semikvantitativní zastoupení pomocí metody GC-FID. Celkově bylo identifikováno 166 těkavých organických sloučenin. Dosažené výsledky byly porovnány s publikovanými pracemi. Jelikož se nepodařilo dohledat studii, která by se zabývala charakterizací úplného aromaprofilu balzamikových octů za využití SPME extrakce, byly výsledky porovnány se studii využívající SBSE, SPE a HSSE extrakce. Nejvíce bylo identifikováno esterů a karbonylových sloučenin. Početné zastoupení tvořily dále alkoholy, kyseliny a terpeny. Jako látky s největším relativním zastoupením byly identifikovány fenethyl acetát, isoamyl acetát, fenethyl alkohol a kyselina kaprylová.

## 5 ZDROJE

- [1] ARENS, U. Jídlo jako jed, jídlo jako lék: [abecední průvodce bezpečnou a zdravou výživou]. Praha: Reader's Digest Výběr, 1998. ISBN 80-902069-7-2.
- [2] TAN, S. C. Vinegar Fermentation. 2005.
- [3] BOURGEOIS, J. F., F. BARJA. The history of vinegar and of its acetification systems. *Achives Des Sciences Journal*. 2009, 62(2), 147-160.
- [4] HO, C. W., A. M. LAZIM, S. FAZRY, U. K. H. H. ZAKI a S. J. LIM. Varieties, production, composition and health benefits of vinegars: A review. *Food Chemistry*. 2017, 221, 1621-1630. ISSN 03088146.
- [5] CHAN, E. L.P., T. M. AHMED, M. WANG a J. C.M. CHAN. History of Medicine and Nephrology in Asia. *American Journal of Nephrology*. 1994, 14(4-6), 295-301. ISSN 1421-9670.
- [6] ERBE, T. a H. BRÜCKNER. Chiral amino acid analysis of vinegars using gas chromatography - selected ion monitoring mass spectrometry. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*. 1998, 207(5), 400-409. ISSN 1431-4649.
- [7] CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, et al. Draft European regional standard for vinegar. 1987.
- [8] IBURG, A.. Lexikon octů a olejů: původ, chuť, použití, recepty. Dobřejiovice: Rebo Productions, 2004. ISBN 80-7234-382-3.
- [9] REGULATIONS, Malaysian Food. Standards and particular labelling requirements for food. Vinegar sauce, chutney and pickle. 1983.
- [10] THE UNITED STATES OF AMERICA FOOD AND DRUG ADMINISTRATION: Vinegar, Definitions – Adulteration with Vinegar Eels. 1977.
- [11] ADAMS, M. R. Microbiology of fermented food. 1985, 1, 1-45.
- [12] GULLO, M., P. GIUDICI. Acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar: Phenotypic traits relevant for starter cultures selection. *International Journal of Food Microbiology*. 2008, 125(1), 46-53.

- [13] KROSCSWITZ, J. I. a A. SEIDEL. Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology. 5th ed. Hoboken, N.J.: Wiley-Interscience, 2007. ISBN 9780471484943.
- [14] MAS, A., M. J. TORIJA, M. C. GARCÍA-PARRILLA, A. M. TRONCOSO. Acetic Acid Bacteria and the Production and Quality of Wine Vinegar. *The Scientific World Journal*. 2014, 1-6. ISSN 2356-6140.
- [15] TORIJA, M. J., E. MATOE, C. A. VEGAS et al. Effect of wood type and thickness on acetification kinetics in traditional vinegar production. *International Journal of Wine Research*. 2009, 1(1), 155-160. ISSN 1179-1403.
- [16] NORMAN, J.. Oleje, octy a jiné přísady: tradiční i nové chuťové přísady k neobvyklým jídlům. Praha: Slovart, 2004. ISBN 80-7209-531-5.
- [17] GARCÍA PARRILLA, M. C., F. J. HEREDIA a A. M. TRONCOSO. Sherry wine vinegars: phenolic composition changes during aging. *Food Research International*. 1999, 32(6), 433-440. ISSN 09639969.
- [18] CALIGIANI, A., G. SILVA, G. PALLA. Determination of 2,3-Butanediol and 2-Hydroxybutanone Stereoisomers in Batteries of Traditional Balsamic Vinegar. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007, 55(19), 7810-7815.
- [19] GIUDICI, P., M. GULLO, L. SOLIERI. Traditional Balsamic Vinegar. *Vinegars of the World*. Milano: Springer Milan, 2009, 157-177.
- [20] RUTALA, W. A., S. L. BARBEE, N. C. AGUIAR, M. D. SOBSEY a D. J. WEBER. Antimicrobial Activity of Home Disinfectants and Natural Products Against Potential Human Pathogens. *Infection Control & Hospital Epidemiology*. 2000, 21(1), 33-38. ISSN 0899-823X.
- [21] DÁVALOS, A., B. BARTOLOMÉ a C. GÓMEZ-CORDOVÉS. Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars. *Food Chemistry*. 2005, 93(2), 325-330. ISSN 03088146.
- [22] SALBE, A. D., C. S. JOHNSTON, M. A. BUYUKBESE, P. D. TSITOURAS a S. M. HARMAN. Vinegar lacks antiglycemic action on enteral carbohydrate absorption in human subjects. *Nutrition Research*. 2009, 29(12), 846-849. ISSN 02715317.
- [23] JOHNSTON, C. S., C. M. KIM a A. J. BULLER. Vinegar Improves Insulin Sensitivity to a High-Carbohydrate Meal in Subjects With Insulin Resistance or Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2004, 27(1), 281-282. ISSN 0149-5992.

- [24] SHIMOJI, Y., H. KOHNO, K. NANDA, Y. NISHIKAWA, H. OHIGASHI, K. UENAKAI a T. TANAKA. Extract of Kurosu, a Vinegar From Unpolished Rice, Inhibits Azoxymethane-Induced Colon Carcinogenesis in Male F344 Rats. *Nutrition and Cancer*. 2004, 49(2), 170-173. ISSN 0163-5581.
- [25] XIBIB, S., H. MEILAN, H. MOLLER, H. S. EVANS, D. DIXIN, D. WENJIE, L. JIANBANG. Risk factors for oesophageal cancer in Linzhou, China: a case-control study. *Asian Pacific Journal Cancer Prevention*. 2003, 4, 119-124.
- [26] MERMEL, V. L.. Old paths new directions: the use of functional foods in the treatment of obesity. *Trends in Food Science & Technology*. 2004, 15(11), 532-540. ISSN 09242244.
- [27] LARANJINHA, J. A. N., L. M. ALMEIDA a V. M. C. MADEIRA. Reactivity of dietary phenolic acids with peroxy radicals: Antioxidant activity upon low density lipoprotein peroxidation. *Biochemical Pharmacology*. 1994, 48(3), 487-494. ISSN 00062952.
- [28] CHOI, Yong-Seok, Byoung Jun AHN a Gyu-Hyeok KIM. Extraction of chromium, copper, and arsenic from CCA-treated wood by using wood vinegar. *Bioresource Technology*. 2012, 120, 328-331. ISSN 09608524.
- [29] SENGUN, I. Y. a S. KARABIYIKLI. Importance of acetic acid bacteria in food industry. *Food Control*. 2011, 22(5), 647-656. ISSN 09567135.
- [30] YAMADA, Y. Transfer of *Acetobacter oboediens* Sokollek et al. 1998 and *Acetobacter intermedius* Boesch et al. 1998 to the genus *Gluconacetobacter* as *Gluconacetobacter oboediens* comb. nov. and *Gluconacetobacter intermedius* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2000, 50(6), 2225-2227. ISSN 1466-5026.
- [31] RASPOR, P. a D. GORANOVIĆ. Biotechnological Applications of Acetic Acid Bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2008, 28(2), 101-124. ISSN 0738-8551.
- [32] GULLO, Maria, Cinzia CAGGIA, Luciana DE VERO a Paolo GIUDICI. Characterization of acetic acid bacteria in “traditional balsamic vinegar”. *International Journal of Food Microbiology*. 2006, 106(2), 209-212. ISSN 01681605.
- [33] DE ORY, I., L. Enrique ROMERO a D. CANTERO. Modelling the kinetics of growth of *Acetobacter aceti* in discontinuous culture: influence of the temperature of operation. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 1998, 49(2), 189-193. ISSN 0175-7598.
- [34] ADAMS, M. R. Vinegar. Boston, MA: Springer US, 1998. ISBN 978-1-4613-7990-4.



- [35] SOLIERI, L. a P. GIUDICI. Yeasts associated to Traditional Balsamic Vinegar: Ecological and technological features. *International Journal of Food Microbiology*. 2008, 125(1), 36-45. ISSN 01681605.
- [36] SUÁREZ VALLES, B., R. P. BEDRIÑANA, N. F. TASCÓN, A. G. GARCIA a R. RODRÍGUEZ MADRERA. Analytical differentiation of cider inoculated with yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) isolated from Asturian (Spain) apple juice. *LWT - Food Science and Technology*. 2005, 38(5), 455-461. ISSN 00236438.
- [37] YU, Y. J., Z. M. LU, N. H. YU, W. XU, G. Q. LI, J. S. SHI a Z. H. XU. HS-SPME/GC-MS and chemometrics for volatile composition of Chinese traditional aromatic vinegar in the Zhenjiang region. *Journal of the Institute of Brewing*. 2012, 118(1), 133-141. ISSN 00469750.
- [38] DEL SIGNORE, A.. Chemometric analysis and volatile compounds of traditional balsamic vinegars from Modena. *Journal of Food Engineering*. 2001, 50(2), 77-90. ISSN 02608774.
- [39] PIZARRO, C., I. ESTEBAN-DÍEZ, C. SÁENZ-GONZÁLEZ a J.M. GONZÁLEZ-SÁIZ. Vinegar classification based on feature extraction and selection from headspace solid-phase microextraction/gas chromatography volatile analyses: A feasibility study. *Analytica Chimica Acta*. 2008, 608(1), 38-47. ISSN 00032670.
- [40] BLANCH, G. P., J. TABERA, J. SANZ, M. HERRAIZ a G. REGLERO. Volatile composition of vinegars. Simultaneous distillation-extraction and gas chromatographic-mass spectrometric analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1992, 40(6), 1046-1049. ISSN 0021-8561.
- [41] UGLIANO, M., E. SQUILLANTE, A. GENOVESE a L. MOIO. Investigation on aroma compounds of Modena balsamic vinegars. In: Flavour Research at the Dawn of the Twenty-First Century, Proceedings of the 10th Weurman Flavour Research Symposium, Beaune, France. 2002, 24-28.
- [42] BEKATOROU, A.. Advances in vinegar production. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2020. ISBN 978-0-8153-6599-0.
- [43] MORALES, M. L., B. BENITEZ a A. M. TRONCOSO. Accelerated aging of wine vinegars with oak chips: evaluation of wood flavour compounds. *Food Chemistry*. 2004, 88(2), 305-315. ISSN 03088146.

- [44] CALLEJÓN, R. M., W. TEFAYE, M. J. TORIJA, A. MAS, A. M. TRONCOSO a M. L. MORALES. Volatile compounds in red wine vinegars obtained by submerged and surface acetification in different woods. *Food Chemistry*. 2009, 113(4), 1252-1259. ISSN 03088146.
- [45] EMIRE, S.. Vinegar Production Technology – An Overview. *Beverage and Food World*. 2012, 29-32.
- [46] KOLOMNIKOV, I. G., A. M. EFREMOV, T. I. TIKHOMIROVA, N. M. SOROKINA, Y. A. ZOLOTOV. Early stages in the history of gas chromatography. *Journal of Chromatography*. 2018, 1537, 109-117. ISSN 00219673.
- [47] JAMES, A. T., A. J. P. MARTIN. Gas-liquid partition chromatography: the separation and micro-estimation of volatile fatty acids from formic acid to dodecanoic acid. *Biochemical Journal*. 1952, 50(5), 679. ISSN 0264-6021.
- [48] MCNAIR, H. M., J. M. MILLER, N. H. SNOW. Basic gas chromatography. Third edition. Hoboken, NJ: Wiley, 2019. ISBN 978-1-119-45075-7.
- [49] TESAŘÍK, K. a K. KOMÁREK. Kapilární kolony v plynové chromatografii. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1984.
- [50] SUPELCO: GC Column Selection Guide. St. Louis. Dostupné z: [https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Supelco/General\\_Information/t407133.pdf](https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Supelco/General_Information/t407133.pdf)
- [51] HINSHAW, J. V.. The Flame Ionization Detector. *LCGC North America*. 2005, 23(12), 1262-1272.
- [52] GROSS, J. H. Mass Spectrometry. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2011. ISBN 978-3-642-10709-2.
- [53] DE HOFFMANN, E. Mass Spectrometry. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. 2005.
- [54] SNEDDON, J., S. MASURAM, J. C. RICHERT. Gas Chromatography-Mass Spectrometry-Basic Principles, Instrumentation and Selected Applications for Detection of Organic Compounds. *Analytical Letters*. 2007, 40(6), 1003-1012. ISSN 0003-2719.
- [55] SNOW, N. H a G. C. SLACK. Head-space analysis in modern gas chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2002, 21(9-10), 608-617. ISSN 01659936.

- [56] UBEDA, C., R. M. CALLEJÓN, C. HIDALGO, M. J. TORIJA, A. MAS, A. M. TRONCOSO a M. L. MORALES. Determination of major volatile compounds during the production of fruit vinegars by static headspace gas chromatography–mass spectrometry method. *Food Research International*. 2011, 44(1), 259-268. ISSN 09639969.
- [57] KOLB, B. a L. S. ETTRE. Static headspace-gas chromatography: theory and practice. 2nd ed. Hoboken, N.J.: Wiley, 2006. ISBN 0-471-74944-3.
- [58] ARISETO, A. P., a M. C. F. TOLEDO. Furano: um contaminante formado durante o processamento de alimentos. *Brazilian Journal of Food Technology*. 2008, 11(1), 1-11.
- [59] PENTON, Z.. Optimization of conditions in static headspace GC. *Journal of High Resolution Chromatography*. 1992, 15(12), 834-836 ISSN 0935-6304.
- [60] MANZINI, S., C. DURANTE, C. BASCHIERI, M. COCCHI, S. SIGHINOLFI, S. TOTARO a A. MARCHETTI. Optimization of a Dynamic Headspace – Thermal Desorption – Gas Chromatography/Mass Spectrometry procedure for the determination of furfurals in vinegars. *Talanta*. 2011, 85(2), 863-869. ISSN 00399140.
- [61] ARTHUR, C. L. a J. PAWLISZYN. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical Chemistry*. 2002, 62(19), 2145-2148. ISSN 0003-2700.
- [62] PAWLISZYN, J.. Applications of solid phase microextraction. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1999. ISBN 0-85404-525-2.
- [63] NATERA MARÍN, R., R. CASTRO MEJÍAS, M. DE VALME GARCÍA MORENO, F. GARCÍA ROWE a C. GARCÍA BARROSO. Headspace solid-phase microextraction analysis of aroma compounds in vinegar. *Journal of Chromatography A*. 2002, 967(2), 261-267. ISSN 00219673.
- [64] KATAOKA, H., H. L. LORD a J. PAWLISZYN. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography A*. 2000, 880(1-2), 35-62. ISSN 00219673.
- [65] PAWLISZYN, J.. Solid phase microextraction: theory and practice. New York: Wiley-VCH, 1997. ISBN 0-471-19034-9.
- [66] OUYANG, G. aj. PAWLISZYN. SPME in environmental analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2006, 386(4), 1059-1073. ISSN 1618-2642.

- [67] BALTUSSEN, E., P. SANDRA, F. DAVID a C. CRAMERS. Stir bar sorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: Theory and principles. *Journal of microbiology* 1999, 11, 737-747.
- [68] GUERRERO, E. D., R. N. MARÍN, R. C. MEJÍAS a C. G. BARROSO. Stir bar sorptive extraction of volatile compounds in vinegar: Validation study and comparison with solid phase microextraction. *Journal of Chromatography A*. 2007, 1167(1), 18-26. ISSN 00219673.
- [69] SÁNCHEZ-ROJAS, F., C. BOSCH-OJEDA a J. M. CANO-PAVÓN. A Review of Stir Bar Sorptive Extraction. *Chromatographia*. 2009, 69(1), 79-94. ISSN 0009-5893.
- [70] VALCÁRCEL, M., S. CÁRDENAS a R. LUCENA. Analytical Microextraction Techniques. Sharjah: Bentham Science Publishers, 2017. ISBN 9781681083797.
- [71] HELIN, A., T. RÖNKKÖ, J. PARSHINTSEV, K. HARTONEN, B. SCHILLING, T. LÄUBLI a M.-L. RIEKKOLA. Solid phase microextraction Arrow for the sampling of volatile amines in wastewater and atmosphere. *Journal of Chromatography A*. 2015, 1426, 56-63. ISSN 00219673.
- [72] KREMSER, A., M. A. JOCHMANN a T. C. SCHMIDT. PAL SPME Arrow—evaluation of a novel solid-phase microextraction device for freely dissolved PAHs in water. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2016, 408(3), 943-952. ISSN 1618-2642.
- [73] NAM, T. G., J.-Y. LEE, B.-K. KIM, N.-E. SONG a H. W. JANG. Analyzing volatiles in brown rice vinegar by headspace solid-phase microextraction (SPME)—Arrow: Optimizing the extraction conditions and comparisons with conventional SPME. *International Journal of Food Properties*. 2019, 22(1), 1195-1204. ISSN 1094-2912.
- [74] MAARSE, H. Volatile compounds in foods and beverages. New York, N.Y.: Marcel Dekker, 1991. ISBN 0824783905.
- [75] SHARIF, K. M., M. M. RAHMAN, J. AZMIR, A. MOHAMED, M. H. A. JAHURUL, F. SAHENA a I. S. M. ZAIDUL. Experimental design of supercritical fluid extraction - A review. *Journal of Food Engineering*. 2014, 124, 105-116. ISSN 02608774.
- [76] MCHUGH, M. A. a V. J. KRUKONIS. Supercritical fluid extraction: principles and practice. 2nd ed. Boston: Butterworth-Heinemann, 1994. ISBN 0-7506-9244-8.

- [77] LU, Z., W. XU, N. YU, T. ZHOU, G. LI, J. SHI a Z. XU. Recovery of aroma compounds from Zhenjiang aromatic vinegar by supercritical fluid extraction. *International Journal of Food Science & Technology*. 2011, 46(7), 1508-1514. ISSN 09505423.
- [78] CIRLINI, M., A. CALIGIANI, L. PALLA a G. PALLA. HS-SPME/GC-MS and chemometrics for the classification of Balsamic Vinegars of Modena of different maturation and ageing. *Food Chemistry*. 2011, 124(4), 1678-1683. ISSN 03088146.
- [79] CASTRO MEJÍAS, R., R. NATERA MARÍN, M. DE VALME GARCÍA MORENO a C. GARCÍA BARROSO. Optimisation of headspace solid-phase microextraction for analysis of aromatic compounds in vinegar. *Journal of Chromatography A*. 2002, 953(1-2), 7-15. ISSN 00219673.
- [80] SORIA, A. C., M. J. GARCÍA-SARRIÓ a M. L. SANZ. Volatile sampling by headspace techniques. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2015, 71, 85-99. ISSN 01659936.
- [81] PIAO, C., L. CHEN a Y. WANG. A review of the extraction and chromatographic determination methods for the analysis of parabens. *Journal of Chromatography B*. 2014, 969, 139-148. ISSN 15700232.
- [82] BENIJTS, T., J.VERCAMMEN, R. DAMS, H. P.TUAN, W. LAMBERT a P. SANDRA. Stir bar sorptive extraction-thermal desorption-capillary gas chromatography-mass spectrometry applied to the analysis of polychlorinated biphenyls in human sperm. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 2001, 755(1-2), 137-142. ISSN 03784347.
- [83] LANCAS, F. M., M. E. C. QUEIROZ, P. GROSSI a I. R. B. OLIVARES. Recent developments and applications of stir bar sorptive extraction. *Journal of Separation Science*. 2009, 32(5-6), 813-824. ISSN 16159306.
- [84] DEWULF, J., H. VAN LANGENHOVE a G. WITTMANN. Analysis of volatile organic compounds using gas chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2002, 21(9-10), 637-646. ISSN 01659936.
- [85] ASTM D 3960: Standard Practice for Determining Volatile Organic Compound (VOC) Content of Paints and Related Coatings. 1996.

- [86] EUROPEAN UNION LAW: Council Directive 1999/13/EC of 11 March 1999 on the limitation of emissions of volatile organic compounds due to the use of organic solvents in certain activities and installations. 1999.
- [87] XIAO, Z., L. ZHAO, L. TIAN, L. WANG a J. ZHAO. GC–FID determination of tetramethylpyrazine and acetoin in vinegars and quantifying the dependence of tetramethylpyrazine on acetoin and ammonium. *Food Chemistry*. 2018, 239, 726-732. ISSN 03088146.
- [88] PERSAUD, K. a G. DODD. Analysis of discrimination mechanisms in the mammalian olfactory system using a model nose. *Nature*. 1982, 299(5881), 352-355. ISSN 0028-0836.
- [89] AMPUERO, S. a J. O. BOSSET. The electronic nose applied to dairy products: a review. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2003, 94(1), 1-12. ISSN 09254005.
- [90] ZHANG, Q., S. ZHANG, C. XIE, D. ZENG, C. FAN, D. LI a Z. BAI. Characterization of Chinese vinegars by electronic nose. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2006, 119(2), 538-546. ISSN 09254005.
- [91] TESFAYE, W., M. L. MORALES, R. M. CALLEJÓN, A. B. CEREZO, A. G. GONZÁLEZ, M. C. GARCÍA-PARRILLA a A. M. TRONCOSO. Descriptive sensory analysis of wine vinegar: tasting procedure and reliability of new attributes. *Journal of Sensory Studies*. 2010, 25(2), 216-230. ISSN 08878250.
- [92] DAVIM, J. P. Mechatronics and manufacturing engineering: research and development. Cambridge: Woodhead Publishing, 2012. ISBN 978-0-85709-150-5.
- [93] ZELLNER, B. A., C. BICCHI, P. DUGO, P. RUBIOLO, G. DUGO a L. MONDELLO. Linear retention indices in gas chromatographic analysis: a review. *Flavour and Fragrance Journal*. 2008, 23(5), 297-314. ISSN 08825734.
- [94] LINSTROM, P. J., W. MALLARD. NIST Chemistry WebBook. *NIST Standard Reference Database Number 69*. Dostupné z: <https://webbook.nist.gov/chemistry/>
- [95] MARRUFO-CURTIDO, A., M. J. CEJUDO-BASTANTE, E. DURÁN-GUERRERO, R. CASTRO-MEJÍAS, R. NATERA-MARÍN, F. CHINNICI a C. GARCÍA-BARROSO. Characterization and differentiation of high quality vinegars by stir bar sorptive extraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry (SBSE–GC–MS). *LWT - Food science and technology*. 2012, 47(2), 332-341. ISSN 00236438.

- [96] ZEPPA, G., M. GIORDANO, V. GERBI a G. MEGLIOLI. Characterisation of volatile compounds in three acetification batteries used for the production of Aceto Balsamico Tradizionale di Reggio Emilia. *Italian journal of food science*. 2002, 14(3), 247-266.
- [97] CALLEJÓN, R. M., M. J. TORIJA, A. MAS, M. L. MORALES a A. M. TRONCOSO. Changes of volatile compounds in wine vinegars during their elaboration in barrels made from different woods. *Food Chemistry*. 2010, 120(2), 561-571. ISSN 03088146.
- [98] CORSINI, L., R. CASTRO, C. G. BARROSO a E. DURÁN-GUERRERO. Characterization by gas chromatography-olfactometry of the most odour-active compounds in Italian balsamic vinegars with geographical indication. *Food Chemistry*. 2019, 272, 702-708. ISSN 03088146.
- [99] RÍOS-REINA, R., M. L. MORALES, D. L. GARCÍA-GONZÁLEZ, J. M. AMIGO a R. M. CALLEJÓN. Sampling methods for the study of volatile profile of PDO wine vinegars. A comparison using multivariate data analysis. *Food Research International*. 2018, 105, 880-896. ISSN 09639969.
- [100] GONÇALVES, J. L., J. A. FIGUEIRA, F. P. RODRIGUES, L. P. ORNELAS, R. N. BRANCO, C. L. SILVA a J. S. CÂMARA. A powerful methodological approach combining headspace solid phase microextraction, mass spectrometry and multivariate analysis for profiling the volatile metabolomic pattern of beer starting raw materials. *Food Chemistry*. 2014, 160, 266-280. ISSN 03088146.
- [101] PEDDIE, H. A. B. ESTER FORMATION IN BREWERY FERMENTATIONS. *Journal of the Institute of Brewing*. 1990, 96(5), 327-331. ISSN 00469750.
- [102] GIORDANO, L., R. CALABRESE, E. DAVOLI a D. ROTILIO. Quantitative analysis of 2-furfural and 5-methylfurfural in different Italian vinegars by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry using isotope dilution. *Journal of Chromatography A*. 2003, 1017, 141-149. ISSN 00219673.
- [103] WALLER, G. R., M. S. FEATHER. The Maillard reaction in foods and nutrition. ACS symposium series (USA). American Chemical Society. 1983.
- [104] FALLICO, B., E. ARENA a M. ZAPPALÀ. Roasting of hazelnuts. Role of oil in colour development and hydroxymethylfurfural formation. *Food Chemistry*. 2003, 81(4), 569-573. ISSN 03088146.

- [105] CASTRO-VÁZQUEZ, L., M. E. ALAÑÓN, E. CALVO, M. J. CEJUDO, M. C. DÍAZ-MAROTO a M. S. PÉREZ-COELLO. Volatile compounds as markers of ageing in Tempranillo red wines from La Mancha D.O. stored in oak wood barrels. *Journal of Chromatography A*. 2011, 1218(30), 4910-4917 ISSN 00219673.
- [106] SCOGNAMIGLIO, J., L. JONES, C. S. LETIZIA a A. M. API. Fragrance material review on phenylethyl alcohol. *Food and Chemical Toxicology*. 2012, 50, 224-239. ISSN 02786915.
- [107] Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons. 2000. ISBN 0471238961.
- [108] JEONG, E.-J., S.-Y. JEON, J.-H. BAEK a Y.-J. CHA. Volatile Flavor Compounds in Commercial Vinegar Beverages Derived from Fruits. *Journal of Life Science*. 2011, 21(2), 292-299. ISSN 1225-9918.
- [109] LIANG, J., J. XIE, L. HOU, M. ZHAO, J. ZHAO, J. CHENG, S. WANG a B.-G. SUN. Aroma Constituents in Shanxi Aged Vinegar before and after Aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2016, 64(40), 7597-7605 ISSN 0021-8561.
- [110] MARTORELL, N., M. P. MARTÍ, M. MESTRES, O. BUSTO aj. GUASCH. Determination of 4-ethylguaiacol and 4-ethylphenol in red wines using headspace-solid-phase microextraction-gas chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2002, 975(2), 349-354. ISSN 00219673.
- [111] WINTERHALTER, P.. 1,1,6-Trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (TDN) formation in wine. 1. Studies on the hydrolysis of 2,6,10,10-tetramethyl-1-oxaspiro[4.5]dec-6-ene-2,8-diol rationalizing the origin of TDN and related C13 norisoprenoids in Riesling wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1991, 39(10), 1825-1829. ISSN 0021-8561.
- [112] UBEDA, C., R. M. CALLEJÓN, A. M. TRONCOSO, J. M. MORENO-ROJAS, F. PEÑA a M. L. MORALES. Characterization of odour active compounds in strawberry vinegars. *Flavour and Fragrance Journal*. 2012, 27(4), 313-321. ISSN 08825734.
- [113] ROCHA, S. M., F. RODRIGUES, P. COUTINHO, I. DELGADILLO a M. A COIMBRA. Volatile composition of Baga red wine. *Analytica Chimica Acta*. 2004, 513(1), 257-262. ISSN 00032670.
- [114] BARBA, C., T. THOMAS-DANGUIN a E. GUICHARD. Comparison of stir bar sorptive extraction in the liquid and vapour phases, solvent-assisted flavour evaporation and headspace

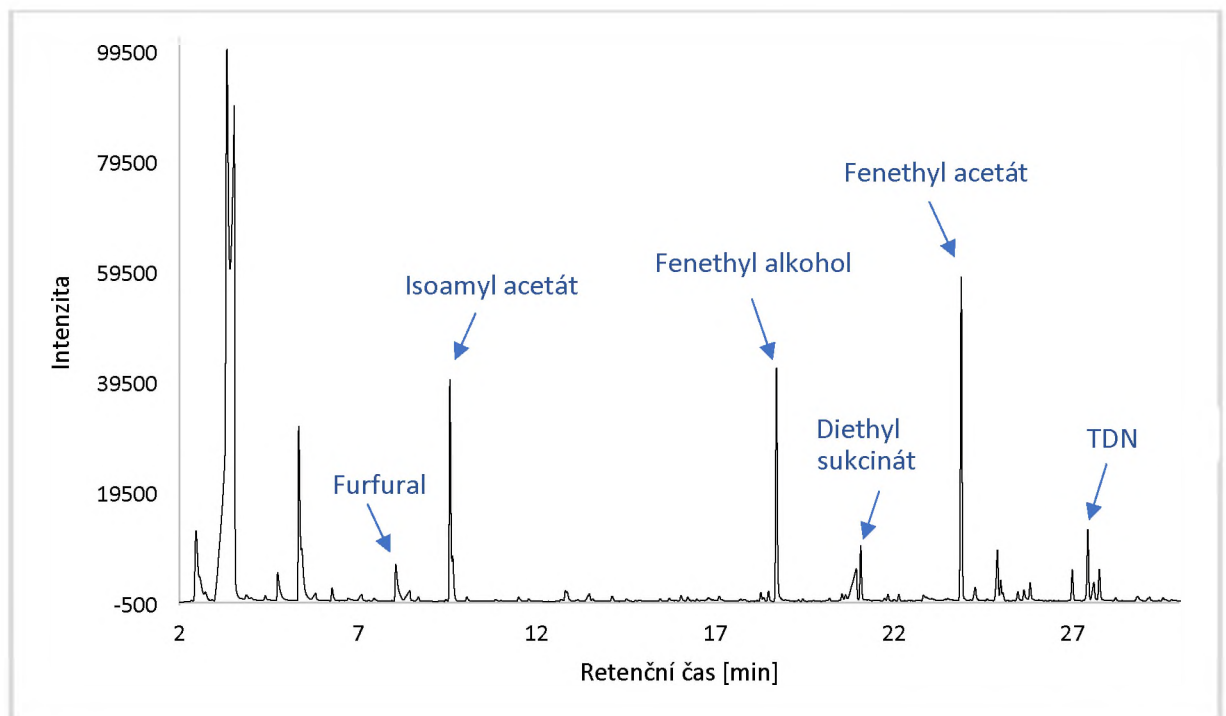


solid-phase microextraction for the (non)-targeted analysis of volatiles in fruit juice. *LWT – Food Science and Technology*. 2017, 85, 334-344. ISSN 00236438.

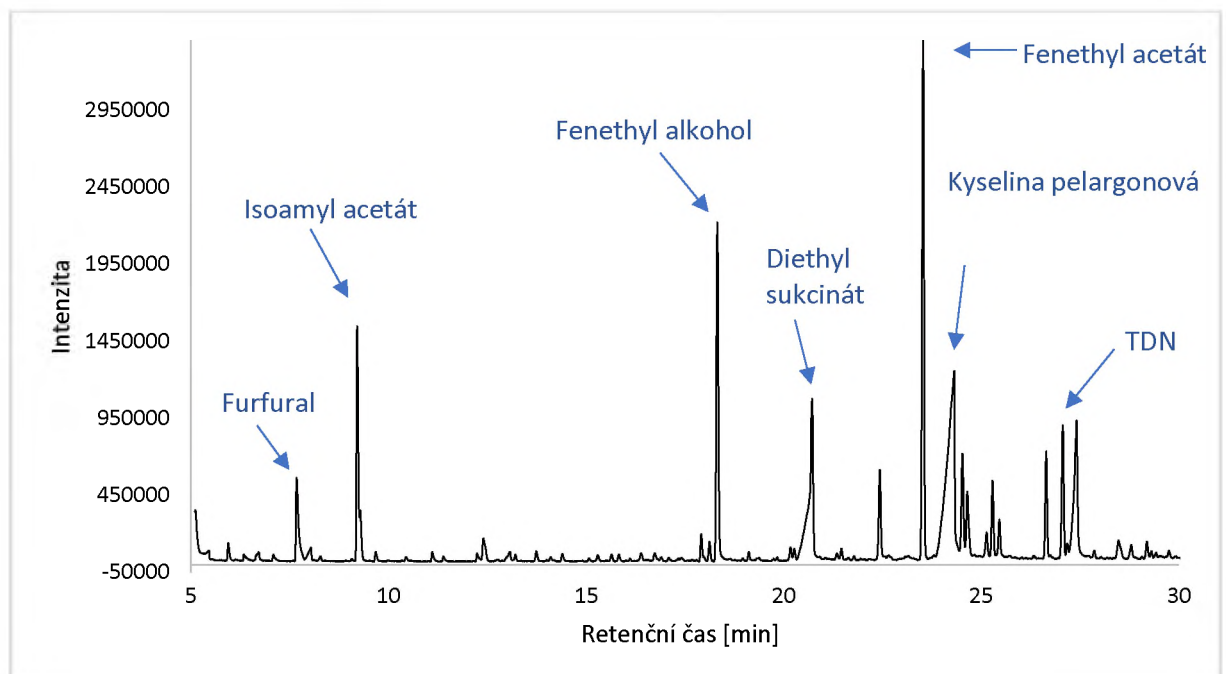
[115] SU, M.-S. a P.-J. CHIEN. Aroma impact components of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) vinegars. *Food Chemistry*. 2010, 119(3), 923-928. ISSN 03088146.

## 6 PŘÍLOHY

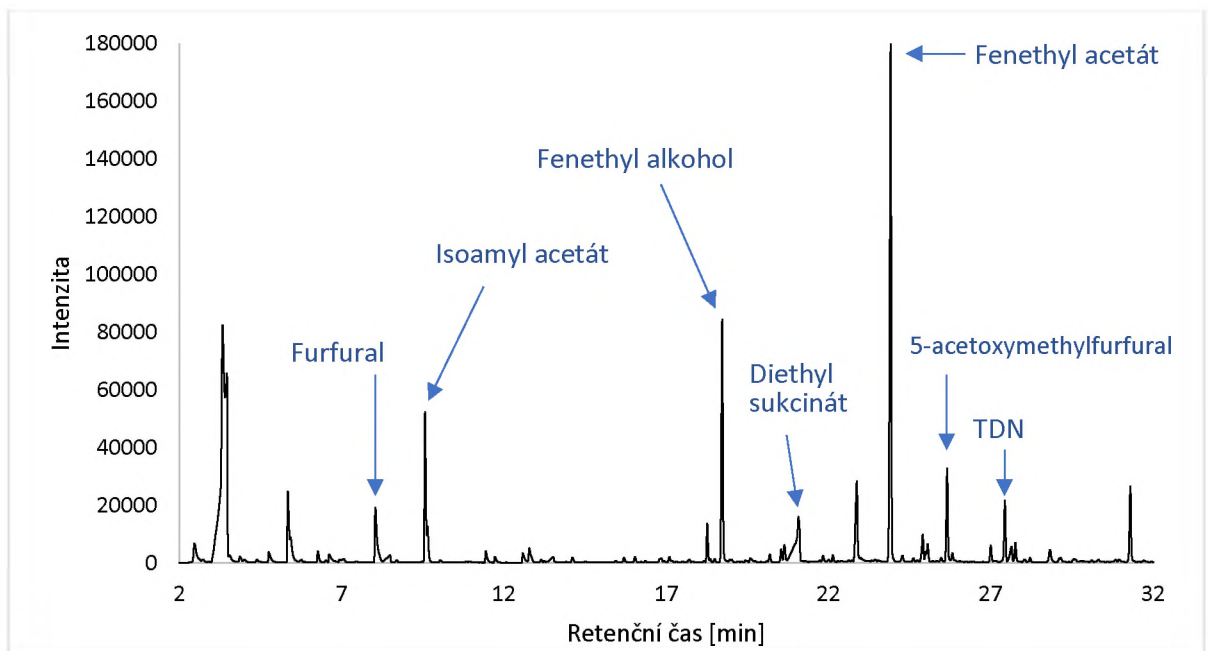
Příloha 1: Chromatogram z GC-FID analýzy vzorku balzamikového octa č. 20



Přílohy 2: Chromatogram z GC-MS analýzy vzorku balzamikového octa č. 20



**Příloha 3: Chromatogram z GC-FID analýzy vzorku balzamického octa č. 19**



**Příloha 4: Chromatogram z GC-MS analýzy vzorku balzamického octa č. 19**

