

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Analýza profilu těkavých látek sladů s využitím modifikované mikroextrakce
tuhou fází

Bc. Pavla Adámková

Diplomová práce

2021

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

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

Jméno a příjmení: Bc. Pavla Adámková
Osobní číslo: C19472
Studijní program: N2901 Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Hodnocení a analýza potravin
Téma práce: Analýza profilu těkavých látek sladů s využitím modifikované mikroextrakce tuhou fází
Zadávající katedra: Katedra analytické chemie

Zásady pro vypracování

1. Vypracujte literární rešerši zaměřenou na analýzu těkavých látek v potravinách se zaměřením na jejich profilování. Zaměřte se především na analýzu těkavých složek a jejich zastoupení v pivovarských sladech různého druhu. Pro tento účel popište možnosti využití mikroextrakce tuhou fází (SPME) ve spojení s plynovou chromatografií s různými detekčními systémy. Provéřte možnosti modifikace postupu při mikroextrakci tuhou fází za účelem podpoření extrakční účinnosti při headspace vzorkování.
2. V experimentální části prověřte možnosti vzorkování modifikovanou SPME metodou, a to modifikací založenou na kombinaci sorpčních teplot, na využití podtlaku během vzorkování a případné spojení obou principů pro analýzu těkavých složek pivovarských sladů různých druhů. Porovnejte profily těkavých látek jednotlivých sladů a s využitím dostupných retenčních indexů a knihoven hmotnostních spekter identifikujte co největší počet složek.

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

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího práce.

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

Datum zadání diplomové práce: **5. února 2021**
Termín odevzdání diplomové práce: **7. května 2021**

LS.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Ing. Karel Ventura, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2021

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

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

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

V Pardubicích dne 12. 7. 2021

Bc. Pavla Adámková

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych ráda poděkovala mému vedoucímu diplomové práce doc. Ing. Martinu Adamovi, Ph.D. za vstřícný přístup, odborné vedení, cenné rady a trpělivost. Současně bych chtěla poděkovat své rodině a přáteli za podporu po celou dobu mého studia

ANOTACE

Tato diplomová práce se zabývá analýzou těkavých látek v pivovarských sladech technikou Vac-HSSPME s kombinací sorpčních teplot ve spojení s GC-MS/FID analýzou. V teoretické části jsou popsány poznatky o pivovarských sladech a jejich výrobě. Dále jsou popsány extrakční a chromatografické metody. Experimentální část je věnována optimalizaci celého procesu extrakce Vac-HSSPME a následné GC-MS/FID analýze. Na základě optimalizace jsou finální podmínky aplikovány na analýzu 14 vzorků pivovarských sladů.

KLÍČOVÁ SLOVA

Slad, Aromaprofil, Vac-HSSPME, kombinace sorpčních teplot, GC-MS/FID

TITLE

Analysis of Malts Volatile Compounds Profile Using Modified Solid Phase Microextraction Approach

ANNOTATION

This diploma thesis deals with the analysis of volatile substances in brewing malts using the Vac-HSSPME technique with a combination of sorption temperatures followed by GC-MS/FID analysis. The theoretical part describes the knowledge about brewing malts and their production. Extraction and chromatographic methods are described as well. The experimental part is devoted to the optimization of the whole Vac-HSSPME extraction process and subsequent GC-MS/FID analysis. Based on the optimization, the final conditions are applied to the analysis of 14 samples of brewing malts.

KEYWORDS

Malt, Aromaprofil, Vac-HSSPME, Combination of sorption temperatures, GC-MS/FID

OBSAH

ÚVOD.....	13
1 TEORETICKÁ ČÁST.....	14
1.1 Slad.....	14
1.1.1 Sladovnický ječmen.....	14
1.1.2 Sladovnická pšenice.....	15
1.1.3 Speciální slady.....	16
1.2 Sladařství.....	18
1.2.1 Sladování ječmene.....	18
1.2.1.1 Příjem ječmene.....	18
1.2.1.2 Máčení ječmene.....	18
1.2.1.3 Klíčení ječmene.....	19
1.2.1.4 Hvozdění.....	20
1.2.1.5 Odkličování a skladování sladu.....	21
1.2.2 Sladování pšenice.....	22
1.3 Vonné látky v potravinách.....	23
1.3.1 Vonné látky sladů.....	23
1.3.2 Vonné látky v pivu.....	25
1.4 Mikroextrakce tuhou fází.....	27
1.4.1 Stacionární fáze.....	28
1.4.2 Princip extrakce.....	30
1.4.2.1 Přímá mikroextrakce tuhou fází.....	31
1.4.2.2 Mikroextrakce z headspace prostoru.....	32
1.4.2.3 Desorpce.....	32
1.4.3 Optimalizace podmínek.....	32
1.4.3.1 Doba a teplota extrakce.....	32
1.4.3.2 Vliv míchání.....	33

1.4.3.3	Přídavek soli	33
1.4.3.4	Vliv pH	33
1.4.3.5	Výběh vhodného vlákna	34
1.4.4	Derivatizace	34
1.4.5	Vakuum asistovaná mikroextrakce tuhou fází	35
1.4.6	Mikroextrakce tuhou fází využívající chlazení vlákna	37
1.4.7	Metody založené na úplném odpaření vzorku	38
1.4.8	Využití mikroextrakce tuhou fází při analýze potravin a rostlinných matric	39
1.5	Spojení mikroextrakce tuhou fází s plynovou chromatografií	40
1.5.1	Plynová chromatografie	40
1.5.1.1	Plamenový ionizační detektor	41
1.5.1.2	Spojení plynového chromatografu a hmotnostního detektoru	42
1.5.2	Kvalitativní analýza – vyhodnocení výsledků	43
1.5.3	Princip spojení mikroextrakce tuhou fází a plynového chromatografu	44
2	Experimentální část	45
2.1	Přístroje a zařízení	45
2.2	Vzorky a chemikálie	46
2.2.1	Vzorky	46
2.2.2	Chemikálie	46
2.3	Pracovní postup	46
2.3.1	Příprava vzorku a extrakce	46
2.3.2	Analýza extraktů	47
2.3.3	Vyhodnocování chromatografických dat	47
3	Výsledky a diskuze	49
3.1	Optimalizace podmínek	49
3.1.1	Vliv změny teplot během extrakce	49
3.1.2	Vliv vakua	52

3.2	Centrálně kompozitní plánování.....	52
3.3	Analýza reálných vzorků sladů a identifikace sloučenin.....	57
3.3.1	Skupina ječných sladů	57
3.3.1.1	Bavorský slad	57
3.3.1.2	Slad Caraaroma®	59
3.3.1.3	Slad Carafa Special III®.....	61
3.3.1.4	Slad Carahell®	63
3.3.1.5	Slad Caramunich II®.....	65
3.3.1.6	Český slad.....	67
3.3.1.7	Ječný slad Primátor.....	68
3.3.1.8	Nakuřovaný slad	70
3.3.1.9	Karamelový slad	71
3.3.1.10	Mnichovský slad	73
3.3.1.11	Slad Pale Ale.....	75
3.3.1.12	Pražený slad	77
3.3.2	Skupina pšeničných sladů.....	79
3.3.2.1	Wheat malt.....	79
3.3.2.2	Pšeničný slad	80
3.4	Zhodnocení dosažených výsledků	82
3.4.1	Porovnání ječných a pšeničných sladů	83
3.4.2	Porovnání klasických a speciálních sladů.....	83
4	Závěr.....	84
5	Použitá literatura.....	86
6	Přílohy	94

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1: Klas – ječmen dvouřadý.....	15
Obrázek 2: Klas – ječmen šestiřadý.....	15
Obrázek 3: Struktura 4-vinylguajakolu.....	16
Obrázek 4: Speciální slady: nakuřovaný, karamelový, pražený a pšeničný.....	17
Obrázek 5: Porovnání rýžových sladů: tmavý – karamelový – specifiky neupravený.....	18
Obrázek 6: Schéma výroby sladu	22
Obrázek 7: Porovnání chromatogramů ječmene, zeleného sladu a hotového sladu.....	25
Obrázek 8: Chromatogram aromatických látek v pivu.....	26
Obrázek 9: Zařízení pro maunální vzorkování	28
Obrázek 10: Porovnání absorpčních a adsorpčních extrakčních mechanismů	29
Obrázek 11: Přímá mikroextrakce tuhou fází.....	30
Obrázek 12: Mikroextrakce tuhou fází z headspace prostoru.....	30
Obrázek 13: Aplikátor pro mikroextrakci tuhou fází.....	31
Obrázek 14: Možnosti derivatizace při mikroextrakci tuhou fází	35
Obrázek 15: Porovnání vakuem asistované a klasické headspace mikroextrakce tuhou fází ..	36
Obrázek 16: Příklad evakuace nádoby před zavedením kapalného vzorku.....	36
Obrázek 17: Schéma mikroextrakce tuhou fází využívající chlazení vlákna	38
Obrázek 18: Schéma plynového chromatografu.....	41
Obrázek 19: Porovnání celkových ploch pro Mnichovský slad	50
Obrázek 20: Porovnání počtu píků pro Mnichovský slad.....	50
Obrázek 21: Mnichovský slad: porovnání konstantní teploty a změny 90/30 °C	51
Obrázek 22: Mnichovský slad: porovnání konstantní teploty a změny 90/0 °C	51
Obrázek 23: Mnichovský slad: porovnání změny teplot 90/30 °C a 90/0 °	51
Obrázek 24: Bavorský slad: porovnání extrakce bez vakua a s vakuem	52
Obrázek 25: Profily pro vhodnost a předpovědi pro optimalizaci Vac-HSSPME	54
Obrázek 26: Metoda odezvové plochy pro optimalizaci Vac-HSSPME.....	55
Obrázek 27: Porovnání pozorovaných a předpovězených hodnot pro celkovou plochu píků..	55
Obrázek 28: Porovnání pozorovaných a předpovězených hodnot pro počet píků	55
Obrázek 29: Paretův graf standardizovaných efektů pro celkovou plochu píků	56
Obrázek 30: Paretův graf standardizovaných efektů pro počet píků	56

Tabulka 1: Přehled některých používaných vláken pro mikroextrakci tuhou fází	27
Tabulka 2: Přehled použitých vzorků	46
Tabulka 3: Retenční časy a retenční indexy homologické řady <i>n</i> -alkanů	48
Tabulka 4: Navržené podmínky podle centrálně kompozitního plánování	53
Tabulka 5: Bavorský slad, výsledky z GC-MS analýzy	58
Tabulka 6: Slad Caraaroma®, výsledky z GC-MS analýzy	60
Tabulka 7: Slad Carafa Special III®, výsledky z GC-MS analýzy	62
Tabulka 8: Slad Carahell®, výsledky z GC-MS analýzy	64
Tabulka 9: Slad Caramunich II®, výsledky z GC-MS analýzy	65
Tabulka 10: Český slad, výsledky z GC-MS analýzy	67
Tabulka 11: Ječný slad Primátor, výsledky z GC-MS analýzy	68
Tabulka 12: Nakuřovaný slad, výsledky z GC-MS analýzy	70
Tabulka 13: Karamelový slad, výsledky z GC-MS analýzy	72
Tabulka 14: Mnichovský slad, výsledky z GC-MS analýzy	74
Tabulka 15: Slad Pale Ale, výsledky z GC-MS analýzy	75
Tabulka 16: Pražený slad, výsledky z GC-MS analýzy	77
Tabulka 17: Wheat malt, výsledky z GC-MS analýzy	79
Tabulka 18: Pšeničný slad, výsledky z GC-MS analýzy	80

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

AMK	Aminokyseliny
CI	Chemická ionizace
CF-SPME	Mikroextrakce tuhou fází využívající chlazení vlákna (Cold Fibre Solid Phase Microextraction)
CF-HS-SPME	Headspace mikroextrakce tuhou fází využívající chlazení vlákna (Cold Fiber Headspace Solid Phase Microextraction)
CW TM /DVB	Carbowax TM /Divynylbenzen
CW TM /TPR	Carbowax TM /pryskyřice (Carbowax TM /Templated Resin)
DVB/CAR TM /PDMS	Divynylbenzen/Carboxen TM /Polydimethylsiloxan
DI-SPME	Přímá mikroextrakce tuhou fází (Direct Immersion Solid Phase Microextraction)
ECD	Detektor elektronového záchytu (Electron Capture Detector)
EI	Elektronová ionizace
FID	Plamenový ionizační detektor (Flame Ionization Detector)
FPD	Plamenový fotometrický detektor (Flame Photometric Detector)
GC-FID	Plynová chromatografie s plamenovým ionizačním detektorem (Gas Chromatography – Flame Ionization Detector)
GC-MS	Plynová chromatografie s hmotnostním spektrometrem (Gas Chromatography – Mass Spectrometry)
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (High Performance Liquid Chromatography)
HS-SPME	Mikroextrakce tuhou fází v headspace prostoru (Headspace Solid Phase Microextraction)
MK	Mastné kyseliny
PA	Polyakrylát
PDMS	Polydimethylsiloxan
PDMS/CAR TM	Polydimethylsiloxan/Carboxen TM
PDMS/DVB	Polydimethylsiloxan/Divynylbenzen
RI	Retenční index
SPME	Mikroextrakce tuhou fází (Solid Phase Microextraction)
TIC	Celkový iontový proud (Total Ion Current)
TEC	Termoelektrický chladič (Thermoelectric Cooler)
TV-SPME	Metody založené na úplném odpaření vzorku (Total Vaporization Solid Phase Microextraction)
VA-TV-SPME	Metody založené na úplném odpaření vzorku (Vacuum Assisted – Total Vaporization Solid-Phase Microextraction)
Vac-HSSPME	Vakuum asistovaná mikroextrakce tuhou fází (Vacuum Assisted Headspace Solid Phase Microextraction)

ÚVOD

Slady jsou jednou ze základních surovin používaných zejména při výrobě piva, whisky a případně lihu (ethanolu). Jejich výroba se skládá z několika kroků: máčení, klíčení a hvozdění. Hotový slad je v podstatě naklíčená a usušená obilovina. V současné době se celosvětově používají především slady vyrobené ze sladovnického ječmene a v minimálním množství slady ze sladovnické pšenice. V České republice se pro výrobu světlých piv používají zejména světlé slady plzeňského typu a pro piva tmavá tmavé slady mnichovského typu. Pro výrobu pivních speciálů se používají speciální slady, které se přidávají v určité míře ke klasickým sladům pro zvýraznění některých sensorických vlastností piva.

Aromatické látky ve sladech hrají důležitou roli i při následné výrobě piva, přestože se vyskytují pouze ve velmi nízkých koncentracích. Při sestavování celkového aromaprofilu je proto důležité látky zakoncertovat, k čemuž se často využívají mikroextrakční metody. V případě aromaprofilu se jako nejvhodnější jeví mikroextrakce tuhou fází v headspace prostoru (HS-SPME).

Cílem této diplomové práce bylo prověřit možnosti vzorkování pomocí modifikované SPME metody s využitím podtlaku ve spojení s kombinací sorpčních teplot pro analýzu těkavých složek pivovarských sladů. Separace a identifikace látek probíhala pomocí plynové chromatografie s plamenovým ionizačním a hmotnostním detektorem a také s využitím knihovny hmotnostních spekter a relativních retenčních indexů.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Slad

Obilné slady jsou jednou z hlavních surovin pro výrobu piva, které patří mezi jeden z nejoblíbenějších alkoholických nápojů. Slad je za daných podmínek v podstatě naklíčená a usušená obilovina. V dnešní době se ve většině zemí používá pro výrobu sladů zejména sladovnický ječmen, avšak až do konce 18. století převládala v Evropě i na území dnešní České republiky výroba sladů z pšenice seté (*Triticum aestivum* L.).

V současné době se celosvětově pro výrobu světlého piva používají především světlé slady plzeňského typu a pro piva tmavá tmavé slady mnichovského typu. Existuje několik dalších typů speciálních sladů, které slouží hlavně pro zvýraznění určitých kvalitativních a specifických vlastností klasických piv nebo pro výrobu speciálních druhů piv [1].

Používání jiných surovin, než je sladovnický ječmen nebo pšenice, může mít při výrobě sladu určité výhody, ale zároveň mohou vznikat i značné potíže. Jednou z výhod je možné snížení výrobních nákladů a také zlepšení některých organoleptických vlastností piva. Mezi méně obvyklé suroviny se řadí čirok. Pivo vyrobené s jeho použitím může obsahovat i dvakrát více fenolických sloučenin než pivo z ječného sladu. Další možností je využití ovesného sladu, kde výhodou je možnost jeho použití na výrobu bezlepkového piva. Z ekonomických důvodů je možné využití i obiloviny tritikale, přestože se tato obilovina v současné době využívá primárně pro krmení hospodářských zvířat. Podle dosavadních studií je vhodná i pro sladování, a to díky dostatečnému obsahu enzymu amylázy. Z relativně nových obilovin je pro výrobu piva, dle studií, velmi zajímavé tritordeum. Jedná se o křížence divokého ječmene a tvrdé pšenice. Při jeho použití nedocházelo k významným problémům při sladování a následné výrobě piva [2,3].

1.1.1 Sladovnický ječmen

Ječmen je preferovanou obilovinou pro sladovnický průmysl a pro výrobu piva se převážně používají jarní ječmeny, zejména dvouřadé níčí (*Hordeum distichum* var. *nutans*) nebo ječmen šestiřadý (*Hordeum vulgare* L.), které mají nejlepší sladařské a pivovarské vlastnosti. Je vhodný díky svým fyzikálním, fyziologickým a biochemickým vlastnostem, které jsou ideální jak pro sladování, tak i následné procesy, jako jsou vaření piva nebo výroba whisky. Dvouřadý ječmen má plodný vždy jen prostřední klásek, naopak ječmen víceřadý má plodné všechny tři klásky (viz Obr. 1 a 2). Výhodou oproti jiným obilovinám, které je možné použít

pro sladování, je snadnější regulace a kontrola procesu klíčení. Sladovnický ječmen se řadí mezi traviny (*Gramineae*) a patří do čeledi lipnicovité (*Poaceae*).



Obrázek 1: Klas – ječmen dvouřadý [4]

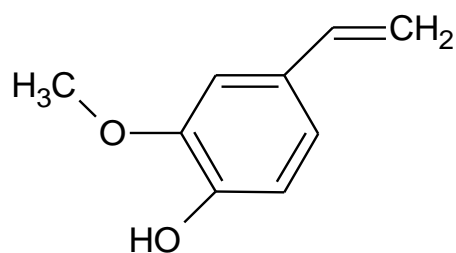


Obrázek 2: Klas – ječmen šestiřadý [4]

Při výběru sladovnického ječmene je velmi důležitým krokem posouzení kvality zrna a také splnění parametrů pro sladovnický ječmen, aby byl zajištěn účinný sladovnický proces a produkce sladu. Mezi požadavky na kvalitu, které zrno musí splňovat, patří rychlost klíčení, obsah dusíkatých látek, rovnoměrnost a velikost zrn a zároveň jejich objemová hmotnost. Dalším parametrem je množství propadlých zrn přes specifickou velikost sít a množství zrn, která jsou mechanicky poškozená, napadena škůdci a poškozena vlivem chorob. Zároveň velmi důležitá je i kontrola plísní, jak z hlediska technického, tak i zdravotního [5,6].

1.1.2 Sladovnická pšenice

Pro výrobu pšeničného sladu se používá pšenice setá (*Triticum aestivum* L.), která se řadí stejně jako ječmen mezi traviny (*Gramineae*) a patří do čeledi lipnicovité (*Poaceae*). Pokud je použit na výrobu piva pšeničný slad, získává pivo určité variace chuťových vjemů a obecně podporuje pěnivost. Z důvodu dobré pěnivosti se někdy malý přírůstek pšeničného sladu využívá i u piv ze sladu ječného, která mají špatnou stabilitu pěny a dochází tím k jejímu zlepšení. Nevýhodou pšeničných sladů je omezení při výrobě ležáků, protože pšenice zhoršuje průběh scezování a filtraci, a to z důvodu absence obalových vrstev zrna. Pokud je pšeničný slad spojen s vhodným kmenem kvasinek, získávají pšeničná piva specifickou vůni a chuť po 4-vinylguajakolu (2-methoxy-4-vinylfenol), připomínající štiplavou vůni hřebíčku (viz Obr. 3).



Obrázek 3: Struktura 4-vinylguajakolu

Ve srovnání s ječným sladem obsahuje pšeničný o 4–5 % více extraktu, má vyšší obsah dusíkatých a polysacharidických látek. Na rozdíl od ječmene nemá pšenice pluchy, jedná se tedy o zrna nahé. Pšeničné slady se používají na výrobu pšeničných, svrchně kvašených piv a speciálních piv hlavně v Německu a Belgii. Oblíbenost pšeničných piv v posledních letech vzrůstá i v České republice [1,7].

Z důvodu většího zájmu o pšeničné pivo roste také zájem o odrůdy pšenice vhodné k pivovarským účelům. Odrůdy pšenice, které jsou primárně využívány pro pekařské účely, jsou zcela pro výrobu piva nevhodné z důvodu vysokého obsahu dusíkatých látek, proto se hledají odrůdy s nízkým obsahem dusíkatých látek a nízkou viskozitou. V České republice se v současné době pěstují a šlechtí pouze pšenice pro pekařské a krmivářské účely. Pro všechny zpracovatele pšenice je velmi důležité sledování kvalitativních parametrů na začátku každé sklizně. Vlastnosti pšenice se liší dle odrůdy a v závislosti na půdních a klimatických podmínkách. Rozhodujícím faktorem je obsah dusíkatých látek a tvrdá nebo měkká struktura endospermu. Pro sladařské účely je lepší pšenice měkká s obsahem bílkovin do 11 %, protože stejně jako u jarního ječmene je optimální obsah dusíkatých látek 10–12 %. Obsah dusíkatých látek má velký dopad na celkový pivovarský proces a ovlivňuje i výslednou kvalitu piva [8].

1.1.3 Speciální slady

Celosvětově se vyrábějí převážně světlé slady plzeňského typu a slady tmavé mnichovského (bavorského) typu. Dalším klasickým sladem je vídeňský, který je přechodným typem mezi světlými a tmavými slady.

Speciální slady se od běžných světlých a tmavých sladů liší enzymovými aktivitami, redoxní kapacitou, ale také barvou, kyselostí, vůní a chutí. Mezi speciální druhy patří: karamelové, barevné, nakuřované, melanoidinové, diastatické, proteolytické a slady zvyšující redoxní kapacitu piva (viz Obr. 4). Zároveň se mezi speciální slady řadí i netradiční náhražky sladovnického ječmene, jako např.: čirok, triticales, pohanka, rýže a žito.

Ve většině případů se přidávají v určitém objemu k běžným sladům. Cílem přidávání těchto sladů při výrobě piva je úprava barvy, chutě, vůně a popřípadě pěnivosti. Někdy se speciální slady vyrábějí z pšenice a jiných obilovin, ale převážně se používají slady z ječmene. Na rozdíl od běžných sladů by se speciální slady měly používat co nejčerstvější s minimální dobou skladování, aby si udržely své specifické aroma [7,9].

Karamelové slady se vyrábějí z rozluštěného zeleného sladu nebo z navlhčeného světlého sladu rychlo-pražením ve speciálních bubnech, kde konečná teplota je 120–180 °C. Jsou typické vysokým obsahem aromatických a barevných látek. Před použitím se nechávají odležet 2–4 týdny, aby jejich aroma bylo příjemnější. Aroma karamelových sladů, které se promítá do piva, silně ovlivňuje složení dusíkatých heterocyklických sloučenin.

Barevné slady se používají při výrobě velmi tmavých piv. Přípravují se z hotových navlhčených sladů při teplotě až 225 °C. Hořkost se zmírní lehkým navlhčením po upražení. Tyto slady mají drsnou a natrpklou chuť, která se zmírňuje alespoň dvoutýdenním odležením. Většinou se přidávají k tmavým mnichovským sladům, aby bylo docíleno tmavší barvy. Dávkuje se v množství maximálně 2 % do druhého rmutu nebo až po odrmutování.

Nakuřované slady se vyrábějí hlavně pro přípravu skotské whisky, ve specializovaných sladovnách z ječného sladu sušeného přímými spaliny rašeliny. Mají typické aroma, které souvisí s vysokým obsahem fenolů těkajících s vodní párou [1].



Obrázek 4: Speciální slady: nakuřovaný, karamelový, pražený a pšeničný

Dalšími speciálními slady mohou být například rýžové. Jejich použití je možné pro výrobu bezlepkového piva, což je značnou výhodou, protože pivo představuje velkou část spotřebitelského trhu a roste také zájem o bezlepkové pivo pro lidi trpící celiakií. Naopak nevýhodou rýžového sladu je jeho slabý sensorický profil a velmi bledá barva. Zlepšení organoleptických vlastností je možné docílit použitím speciálních rýžových sladů karamelového a tmavého typu (viz Obr. 5). Svrchně kvašená piva vyrobená z těchto sladů měly jantarovou barvu a zároveň se zlepšila chuť. Piva vyrobená z rýžového sladu nejen že jsou

bezlepková, ale dle studií mají i dobré nutriční hodnoty a antioxidační vlastnosti díky vysokému obsahu polyfenolů [10,11].



Obrázek 5: Porovnání rýžových sladů: tmavý – karamelový – specificky neupravený [12]

1.2 Sladařství

Proces výroby sladu se skládá z několika klíčových kroků. Prvním krokem je příjem ječmene. Následuje máčení, při kterém se zvyšuje vlhkost ječmene na přibližně 45 %. Dalším krokem je klíčení, při kterém dochází k tvorbě enzymů a změně buněčné struktury a složení. Po klíčení dochází k hvozdění zeleného sladu, které probíhá tak, aby se zachovala požadovaná enzymatická aktivita a chuť. Posledním krokem je správné skladování již hotového sladu. Většina vyrobeného sladu se používá na výrobu piva, popřípadě whisky. Zbylá část se používá v potravinářství a lihovarnictví [13,14].

1.2.1 Sladování ječmene

1.2.1.1 Příjem ječmene

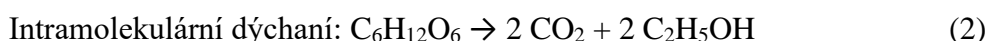
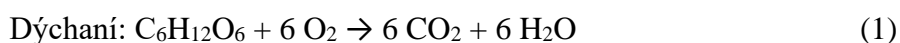
Při příjmu ječmene je potřeba zajistit jeho kontrolu, čištění a třídění dle velikosti zrna, ale i podle odrůd a jakosti. Do sladoven jsou ječmeny dodávány ihned po sklizni. Během příjmu dochází ke zjištění hmotnosti přijímaného ječmene a zároveň jsou kontrolovány předepsané kvalitativní znaky: vlhkost, obsah dusíkatých látek, objemová hmotnost, klíčivost, obsah zlomků, nečistot nebo jinak poškozených zrn, zároveň je prováděna kontrola plísní a podíl zrna nad sítím o specifické velikosti. Během čištění je ječmen zbaven prachu, nečistot a příměsí. Vyčištěný ječmen se skladuje buď na půdách, nebo v lepším případě v silech, která jsou vybavena pneumatickou dopravou a provzdušňovacím zařízením [15].

1.2.1.2 Máčení ječmene

Cílem je zvýšit řízeně obsah vody v zrně z 12–14 % na 42–44 %, aby došlo k zahájení enzymatických reakcí a zároveň k zahájení klíčení. Během máčení se objem zrna až zdvojnásobí. Máčení je považováno za nejdůležitější část výroby sladu, protože rozhoduje

o jeho budoucí kvalitě. Některé sladovny mají pračky na ječmen, což je technologicky velmi významným procesem, při kterém se vyloučí barevné a hořké látky, kyselina křemičitá a bílkoviny z pluch. Vyloučené látky jsou nežádoucí z důvodu zhoršování sensorických vlastností piva a podporují tvorbu zákalu [16,17].

Máčení ječmene probíhá v náduvnících, které jsou dnes výhradně kovové, vyrobené z legovaných ocelí a jsou válcové nebo čtyřhranné s kónickým dnem s úhlem 45°, aby ječmen mohl samovolně vytékat ven. K máčení musí být používána čistá voda, ideálně s nízkým obsahem organických látek a sloučenin železa a manganu. Do zrna voda proniká především embryem. Nejprve je příjem vody velmi rychlý, ale postupně dochází k jeho zpomalení. Je závislý na době máčení, teplotě vody, pohybu zrna ve vodě a jeho odrůdě. Během procesu dochází ve třech krocích ke střídání máčení a vzdušných přestávek. Při prvním namočení je zvýšen obsah vody na 30 % a probíhá 2–6 hodin, následuje vzdušná přestávka, trvající 14–20 hodin. Druhé namočení zvyšuje obsah vody na 38–40 % a trvá 6–10 hodin. Vzdušná přestávka, která následuje, je velmi důležitá k obeschnutí ječmene. Poslední namočení zvyšuje obsah vody na 42–44 % a trvá 4–6 hodin a následné okapávání trvá 2–4 hodin. Důležité je odsávání oxidu uhličitého, za jehož zvýšené přítomnosti by mohlo docházet k poškození nebo umrtvení embrya zrna, protože dochází k intramolekulárnímu dýchání. Při dýchání zrna, jak je patrné z rovnice (1), se počet molekul CO₂ rovná počtu molekul spotřebovaného O₂. Pokud by došlo ke zvýšení obsahu CO₂, lze hovořit o intramolekulárním dýchání, viz rovnice (2), při kterém vzniká ethanol, který je pro embryo toxický, a tím dochází k jeho poškození nebo umrtvení [16].



1.2.1.3 Klíčení ječmene

Klíčení je důležitým technologickým krokem při výrobě sladu. Během klíčení probíhá celá řada chemických, biochemických, fyziologických a fyzikálních změn ječného zrna. Zároveň s těmito změnami souvisí růstové projevy a strukturální změny, které jsou závislé na degradaci vysokomolekulárních látek vedoucí k rozluštění zrna. Jedná se o proces, při kterém jsou uměle vytvořeny podmínky přirozeného klíčení, tj. vhodná teplota, vlhkost a přístup kyslíku. Během klíčení se v zárodečné části zrna vytváří zárodky kořínků a listů za využití zásobních látek z endospermu. Všechny enzymové reakce jsou ovlivňovány stupněm domočení

ječmene, teplotou v hromadě a přístupem kyslíku. Ideální teplota v hromadě je 14–18 °C, ale liší se podle druhu vyráběného sladu [15,18].

Cílem klíčení je uvolnění a aktivace enzymů, které degradují buněčnou stěnu endospermu a dochází k uvolňování škrobových granulí. Enzymy, které mají největší technologický význam, jsou: fosfatázy, cytázy, proteázy, limitní dextrinázy a zejména amylázy. α a β -amylázy a limitní dextrinázy se účastní štěpení škrobu na fermentovatelné cukry a také přispívají k diastatické síle ječmene. α -amylázy nejsou v ječmeni přítomny, ale tvoří se během klíčení. Naopak β -amylázy jsou přítomny v malém množství již v ječném zrně. Pokud není slad připravován pouze z ječmene, doporučuje se přidávání enzymů, které se běžně ve sladovnickém ječmeni vyskytují [19].

Klíčení sladovnického ječmene se provádí na tzv. humnech. Jedná se o prostorné místnosti s účinným větráním, které mají podlahy z hlazeného betonu nebo dlaždic. Novější humnové sladovny mají v podlaze zabudované chlazení, což umožňuje udržet příznivější podmínky při klíčení. V těchto sladovnách se musí manuálně v počátečních stádiích hromady přehazovat a provětrávat, aby se vyvětral vznikající oxid uhličitý. Větší množství oxidu uhličitého a nedostatek kyslíku může nepříznivě ovlivnit proces klíčení nebo může dojít k jeho inhibici. Proto je provětrávání velmi důležitou součástí celého procesu. Další možností jsou pneumatické sladovny, které mají vysokou kapacitu a je snížena potřeba manuální práce. Jsou vybavené obracečem a ventilátorem na větrání klíčícího díla vlhčením klimatizovaným vzduchem. Klíčení probíhá při teplotě 12–14 °C a obvykle trvá 4–5 dní. Konečným produktem je zelený slad [15,16,20].

1.2.1.4 Hvozdění

Posledním krokem přípravy je hvozdění zeleného sladu, kde je cílem snížení obsahu vody pod 4 % u světlých sladů a pod 2 % u sladů tmavých. Jedná se o ukončení procesu klíčení v proudu horkého a suchého vzduchu. Při zastavení vegetačních pochodů musí být zachována požadovaná enzymatická aktivita a dochází k vytvoření chuťových, barevných a oxidoredukčních látek, které tvoří charakter sladu. Jedná se o nejdůležitější reakce při hvozdění. Podmínky hvozdění se liší na základě požadavků na konečný slad [21].

Během hvozdění se rozeznávají tři fáze. První fáze se nazývá růstová, probíhá při teplotě do 40 °C a vlhkostí nad 20 %. V této fázi ještě probíhají všechny vegetační pochody včetně růstu kořínků a stříšky. Další fáze je enzymová, probíhá při teplotách do 60 °C, vlhkostí pod 20 %. Během druhé fáze, jsou zastaveny vegetační pochody, ale enzymové reakce pokračují dále. Poslední fáze je chemická, probíhá při teplotách nad 60 °C a vlhkosti pod 10 %. V zrně

dochází k zastavení enzymatických reakcí a probíhají chemické změny, při kterých se tvoří barevné, chuťové a oxidoredukční látky [7,15]. Během sušení nesmí dojít k poškození zrna. Poškozená zrna by mohla způsobovat problémy během skladování.

Zařízení používané na sušení a hvozdní zeleného sladu se nazývá hvozdní. V současné době jsou využívány převážně vysokovýkonné jednolískové hvozdy nebo polokontinuální, případně kontinuální hvozdy pásové a šachové. Hlavními částmi hvozdu jsou vyhřívací systém, lísky, větrací systém, regulační a ovládací prvky. Kontinuální sušení je vhodné pro velké množství sladu. Jednou z výhod je zkrácení celkové doby sušení, protože není potřeba díky velkému množství sladu opětovné plnění a vykládání. Další možností jsou přerušované sušičky, kdy slad několikrát prochází sušičkou, než dojde k jeho úplnému vysušení. Na zrno působí teplo v krátkých časových intervalech, které jsou prokládány dobou odpočinku. V této době zrno nepřichází do kontaktu s ohřátým vzduchem. Přerušované sušení se řadí mezi velmi účinnou metodu, protože šetří energii a konečný produkt může mít lepší nutriční hodnoty, barvy a fyzikální vlastnosti. Během studií, které se zaměřovaly na automatické měření vlhkosti sladu v hvozdech během sušení, bylo zjištěno, že použití speciálního měřicího zařízení by bylo značnou výhodou při určování konečné vlhkosti sladu [22,23].

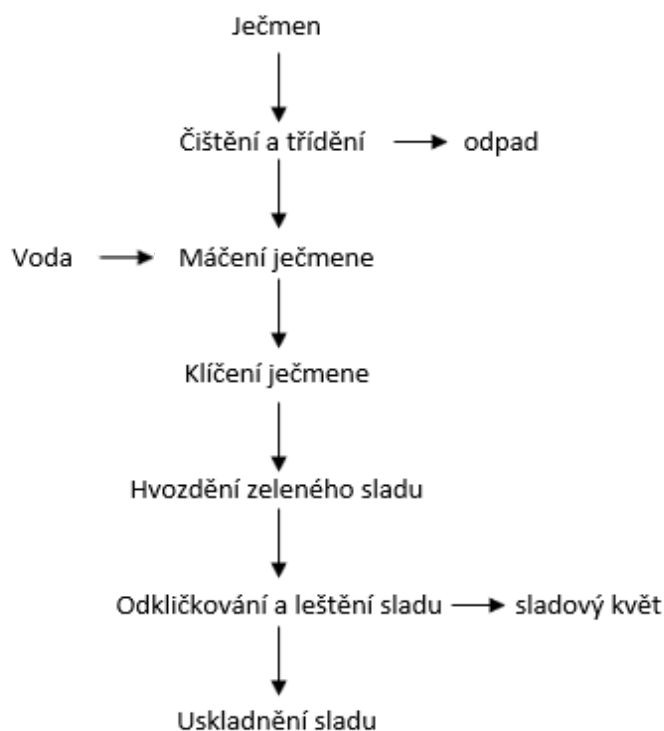
1.2.1.5 Odkličování a skladování sladu

Po procesu hvozdní následuje odkličování sladu neboli zbavení kořínků a zároveň poškozených zrn a prachu. Slad je ochlazen a připravený na uskladnění v sílech, popřípadě na sladových půdách ve starších sladovnách. Odkličování může probíhat pomocí šnekových odkličovadel. Během tohoto procesu je získáván sladový květ, který je nejcennějším odpadem při výrobě sladu. Je možné ho použít pro krmení hospodářských zvířat, protože se jedná o velmi výživné krmivo. Dalším využitím je průmyslové zpracování v droždárnách a příprava léčiv [16].

Očekávaná doba skladování, během které je slad stabilní, je přibližně 12 měsíců. Některé pivovary zaznamenaly během skladování změny sladové vůně, naopak delší skladování má pozitivní vliv na filtraci mladiny při výrobě piva. Proto jak samotná výroba sladu, tak i následné skladování může ovlivnit výslednou kvalitu piva. Dlouhodobé skladování není vhodné pro speciální slady (pražené, karamelové atd.), protože jsou méně stabilní. Při studii změn obsahu těkavých látek během skladování bylo zjištěno, že v prvních měsících koncentrace například dusíkatých heterocyklických sloučenin mírně vzrostla a poté postupně klesala pod původní koncentraci. Dalšími důležitými faktory během skladování je aktivita vody a teplota, které ovlivňují stabilitu během skladování. Čím vyšší je aktivita vody ve sladech, tím

více měla na skladování vliv i teplota. Naopak čím nižší aktivita vody byla, tím méně byl slad ovlivňován skladovací teplotou. Z tohoto důvodu je při skladování vyšší aktivita vody nevhodná, protože se může tvořit vhodné prostředí pro růst plísní [24].

Celý proces výroby sladu je schematicky znázorněn na obrázku 6. Proces začíná příjmem ječmene a jeho čištěním a tříděním. Vytríděný ječmen je máčen, následuje klíčení a hvozďení. Posledním krokem před sladováním je odkličování a leštění sladu.



Obrázek 6: Schéma výroby sladu [15]

1.2.2 Sladování pšenice

Postup sladování pšenice je podobný jako při sladování ječmene. Jelikož pšenice snadněji přijímá vodu, je zde odlišný stupeň domočení, který je v počátku máčení 37–38 % a ke konci až 45 %. Pokud je srovnána pšenice s ječmenem, je sladování pšenice i následná výroba piva obtížnější. Je potřeba nižší teplota klíčení, protože se pšenice zahřívá podstatně rychleji než ječmen. Ke konci se zvyšuje na 17–20 °C. Díky absenci pluch je klíčení rychlejší než u ječmene. Při hvozďení je první fáze při 40 °C a končí při 60 °C a musí být také šetrnější než u ječmene. Světlé slady se dotahují krátce při 80 °C a tmavé při 100–110 °C. Další nevýhodou pšeničných sladů je absence pluch, což způsobuje problémy při scezování a filtraci mladiny během výroby piva [7,25].

1.3 Vonné látky v potravinách

Každá potravina má svou typickou vůni, kterou doprovází i chuť. Společně tak dávají potravinařům svou osobitost a organoleptické vlastnosti. Lze říci, že aroma je základním prvkem potravin v souvislosti s jejich konzumací. Zároveň má aroma přímou roli při výživě, protože dokáže jednotlivce povzbudit ke konzumaci. Některé technologie výroby způsobují, že dochází ke ztrátě typického aromatu.

Aroma potravin tvoří látky, které jsou těkavé a dělí se do několika tříd na základě fyzikálně-chemických vlastností. Rostlinné suroviny, kam se řadí i slady, je možné zařadit do skupiny, kde vonné látky vznikají podrobením rostliny jednoduchým procesům, při kterých nastávají změny (např.: enzymatické, fyzikální nebo mikrobiologické).

Studie aromatických látek v potravinách může mít svůj přínos jak v potravinářském průmyslu, tak i během balení potravin. Některé aromatické látky mohou mít antioxidační vlastnosti nebo působí jako inhibitory růstu mikroorganismů [26,27].

1.3.1 Vonné látky sladů

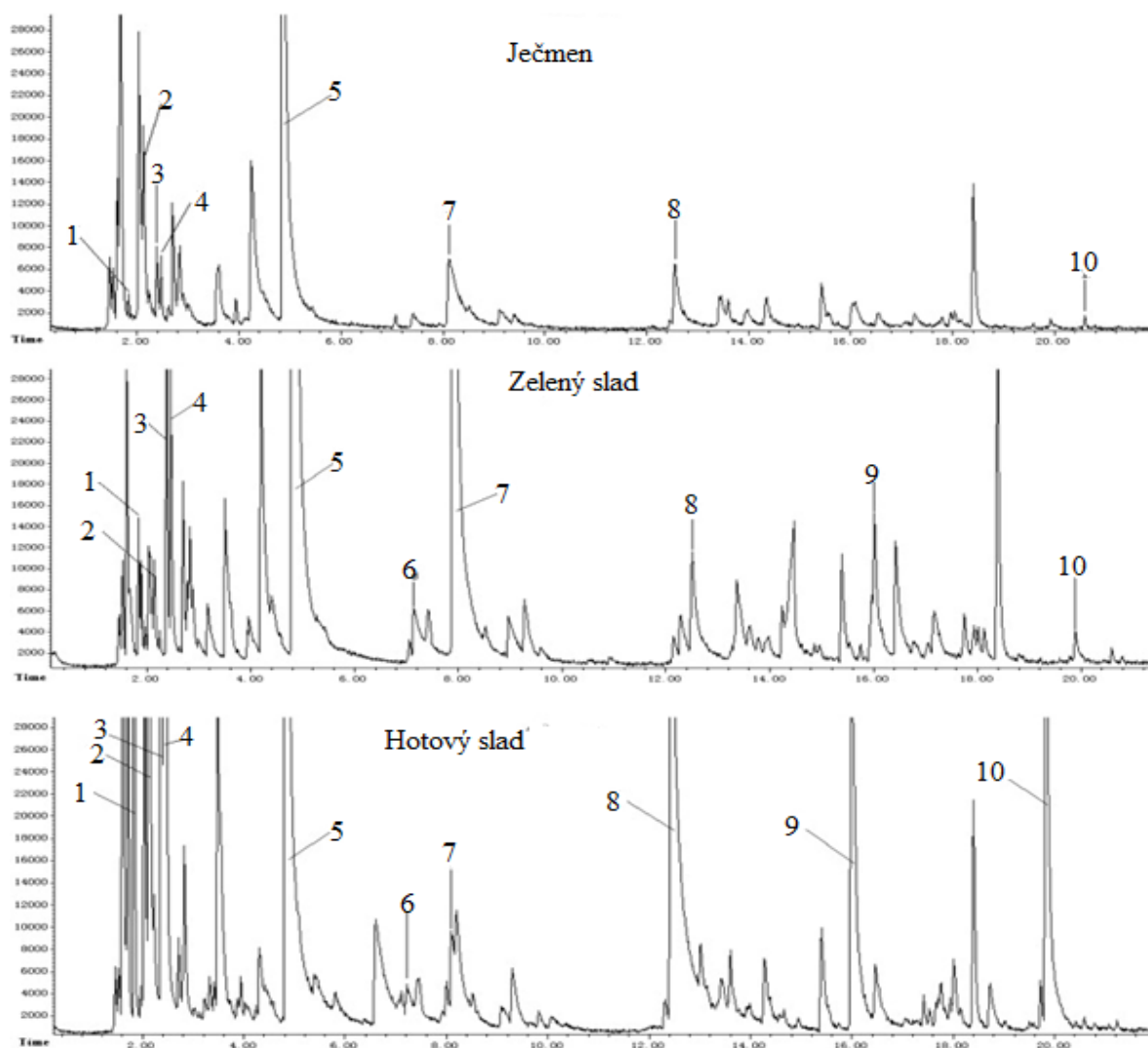
Těkavé aromatické látky ve sladu hrají důležitou roli nejen u vůně sladu, ale i piva. Během procesu sladování mohou vznikat určité odchylky v kvalitě a množství vonných látek, které způsobují konečnou vůni a chuť sladu. Vonné, ale zároveň i chuťové látky vznikají hlavně během hvozdění, a to za podmínek reakcí neenzymového hnědnutí. Jedná se o složité směsi nízkomolekulárních látek. Koncentrace těchto látek ve sladech závisí hlavně na rychlosti jejich vzniku, transformaci a odpaření během hvozdění. Některé látky se později stávají prekurzory, které vstupují do dalších reakcí během vaření sladiny a při chmelovaru, nebo jsou metabolizovány kvasinkami a v konečném aroma piva se neuplatní. Během hvozdění jsou odstraněny nežádoucí vůně zeleného sladu. Analýza vonných látek sladů může napomoci k odhalení tvorby těkavých látek ve sladech během celého procesu sladování a pomocí toho vylepšit vůni a chuť piva [28,29].

Látky, které se podílejí na vůni a chuti sladů, jsou alkoholy, organické kyseliny, aldehydy, ketony, estery a heterocyklické sloučeniny obsahující kyslík, síru nebo dusík. Dále k vůni přispívají produkty různých reakcí. Jedná se o vonné apokarotenoidy s velmi nízkými podnětovými prahy nebo β -dioxopiperaziny, které mají hořkou nebo hořko-kovovou chuť a vznikají z lineárních dipeptidů nebo aminokyselin (dále AMK). Během hvozdění jsou částečně degradovány a oxidovány mastné kyseliny (dále MK) lipidů a vznikají nenasycené aldehydy, alkoholy, laktony a jiné kyseliny, které mají většinou nežádoucí aroma.

Dalšími významnými reakcemi jsou Maillardovy. Při výrobě světlých sladů se téměř neprojevují a vznikají pouze sensoricky indiferentní produkty, které se na vonné látky transformují až během vaření piva. Jedná se například o ketosaminy neboli Amadoriho produkty, které jsou v různých sladech zastoupeny v rozdílném množství. Nejvíce těchto produktů obsahují tmavé slady, naopak barevné slady je neobsahují prakticky žádné, protože při teplotě 200 °C, kdy se tyto slady vyrábějí, zreagují [28].

V roce 2005 Cramer a kol. [30] udělali studii, která porovnávala těkavé aromatické látky v surovém ječmeni, zeleném sladu a nakonec v hotovém sladu. Celkem bylo během celého procesu sladování identifikováno 47 těkavých látek. Zejména se zaměřili na dynamiku 2-methylpropanalu, 3-methylbutanal, 2-methylbutanal, hexanal a 2-nonenal. Tyto sloučeniny jsou běžně považovány za klíčové aromatické látky u ječmene a sladu. Při pražení se zvýšilo množství 2-methylpropanalu, 3-methylbutanal a 2-methylbutanal, naopak množství hexanal a 2-hexanal se ve stejném stupni snížilo. Na obrázku 7 jsou znázorněny chromatogramy ječmene, zeleného sladu a hotového sladu. Rozdíl počtů a ploch píků mezi jednotlivými chromatogramy demonstruje rozdíl v počtu a množství nalezených těkavých látek v jednotlivých sladech. Plochy píků ukazují, že převládající těkavé sloučeniny (aldehydy, ketony a alkoholy) jsou během celého procesu výroby sladu shodné se surovým ječmenem. Během procesu byly identifikovány tři organické kyseliny: octová, hexanová a heptanová. Kyselina octová byla produkována anaerobním dýcháním v zeleném sladu při nižším přívodu kyslíku. Ve zředěných koncentracích zůstala ve sladech, které mají charakteristický kyselý zápach.

Pro stanovení těkavých aromatických látek v surovém ječmeni, zeleném sladu a hotovém sladu, byla použita mikroextrakce tuhou fází v headspace prostoru (HS-SPME) v kombinaci s GC-MS analýzou (plynová chromatografie s hmotnostním spektrometrem). Pro analýzu byla připravena suspenze namletím ječmene, ke kterému byl přidán 20% roztok chloridu sodného. Nádobka s připravenou suspenzí byla míchána po dobu 20 minut. Následně bylo vloženo SPME vlákno, potažené DVB/CAR/PDMS. Extrakce probíhala po dobu 1 hodiny ve vodní lázni při 18 °C, následovala GC-MS analýza. Desorpce probíhala v nástřikovém prostoru při 250 °C po dobu 5 minut a poté byl nastaven teplotní gradient. Počáteční teplota byla 40 °C/5 min, poté byla teplota zvyšována rychlostí 2 °C/min. Konečná teplota byla 250 °C/5 min. Jako nosný plyn bylo použito helium [29].



Obrázek 7: Porovnání chromatogramů ječmene, zeleného sladu a hotového sladu [29]

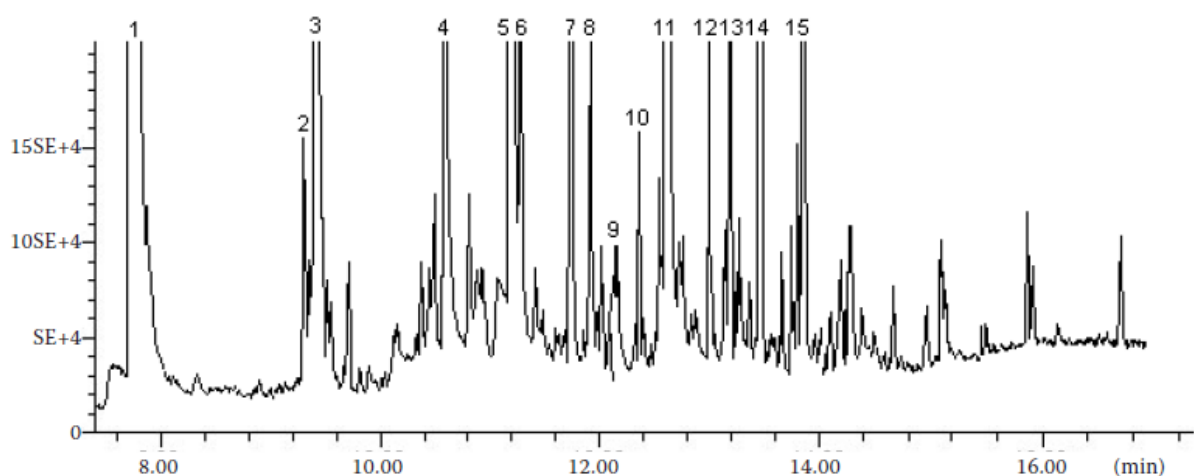
Obrázek 7 porovnává tři chromatogramy: surového ječmene, zeleného sladu a hotového sladu. Číselně označené píky jsou látky, které byly identifikovány během procesu sladování. Jedná se o látky: 1: 2-methylpropanal, 2: ethylacetát, 3: 3-methylbutanal, 4: 2-methylbutanal, 5: hexanal, 6: 2-hexenal, 7: 1-hexanol, 8: benzaldehyd, 9: fenylacetaldehyd, 10: E-2-nonenal [29].

1.3.2 Vonné látky v pivu

Vonné látky v pivu významně přispívají ke kvalitě konečného produktu a jeho organoleptickým vlastnostem. Tyto těkavé látky jsou u piv, která nejsou nijak znehodnocena v určité vzájemné rovnováze. K porušení rovnováhy může přispět například filtrace nebo stáčení. Dochází tím k ochuzení nebo změně některých těkavých látek a tím může dojít v horším případě k nepříznivým chuťovým změnám v pivu. Mezi identifikované těkavé sloučeniny patří alkoholy, estery, organické kyseliny, aldehydy, ketony, terpeny, sloučeniny

síry, aminy, fenoly a mastné kyseliny. Různé látky mohou k vůni a chuti piva přispívat v odlišné míře. Některé těkavé látky mohou významně přispět k chuti piva, zatímco ostatní vytvářejí základní aroma. Pochopení klíčových aromatických látek v pivu má zásadní význam pro moderní technologii vaření piva, zejména při výběru kmene kvasinek, kontrole kvality a vývoji produktu. Rozdíly při tvorbě těkavých látek piva jsou ovlivňovány složením surovin, druhem kvasinek a dokvašováním. Nejvíce je specifické aroma piva ovlivněno teplotou a druhem kvasinek než jejich množstvím a pH mladiny [31,32].

Pro analýzu těkavých sloučenin v pivu pomocí plynové chromatografie není ve většině případů vhodné přímé vstříkávání, a to kvůli vysokému obsahu cukrů, které by při vysoké teplotě mohly zkaramelizovat a poškodit kolonu. Pro extrakci těkavých složek z piva se například používá metoda HS-SPME (mikroextrakce v headspace prostoru), která se ukázala jako nejúčinnější s použitím PDMS vlákna. Extrakci je možné podpořit přidáním soli a správným výběrem teplot, naopak míchání zhoršuje v tomto případě reprodukovatelnost. Pro analýzu je nejvhodnější GC s FID nebo MS detektorem. Na obrázku 8 je zobrazen příklad chromatogramu aromatických látek v pivu stanovených pomocí HS-SPME a GC [33].



Obrázek 8: Chromatogram aromatických látek v pivu [33]

Obrázek 8 znázorňuje chromatogram aromatických látek v pivu. Jedná se o látky: 1: 3-methylbutylester kyseliny octové, 2: mycren, 3: ethylester kyseliny hexanové, 4: fenylethylalkohol, 5: ethylester kyseliny oktanové, 6: kyselina octová, 7: 2-fenylethylester kyseliny octové, 8: ethylester kyseliny nonanové, 9: citronellylacetát, 10: ethylester kyseliny 9-decenové, 11: ethylester kyseliny dekanové, 12: humulen, 14: dibutylhydroxytoluen, 15: ethylester kyseliny dodekanové [33].

1.4 Mikroextrakce tuhou fází

Mikroextrakce tuhou fází (dále SPME) se řadí mezi jednoduché extrakční metody. Byla vyvinuta na Univerzitě ve Waterloo v Ontariu v Kanadě. Tato sorpčně/desorpční technika je bezrozpuštědlová, účinná, úsporná, všestranná a snadno automatizovatelná. Velkou výhodou má její konstrukce, díky které je možné spojení s plynovou, případně kapalinovou chromatografií a dalšími analytickými metodami. Při metodě SPME jsou analyty sorbovány na vlákno až do doby, dokud není dosaženo rovnováhy. Podstatou je křemenné vlákno, které je pokryté různými typy stacionární fáze, které se liší svou polaritou a sorpčními vlastnostmi. SPME je možné provádět buď přímým ponořením vlákna do kapalného vzorku (DI-SPME) nebo v headspace prostoru (HS-SPME) nad analyzovaným vzorkem. Vhodně zvolený typ vlákna (viz Tab. 1) může zajistit reprodukovatelné výsledky i pro nízké koncentrace analytů. Vlákno se nachází uvnitř kovové jehly (viz Obr. 9), která slouží k jeho ochraně a zároveň k propíchnutí septa u nádoby se vzorkem. Použití této metody je vhodné jak pro kvantitativní, tak kvalitativní analýzu. Další výhodou je možnost využití pro analýzu rostlinných matric, kde je celý proces selektivnější a zároveň citlivější a šetrnější k životnímu prostředí [34–36].

Tabulka 1: Přehled některých používaných vláken pro mikroextrakci tuhou fází [34]

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

^a Tato vlákna jsou odolnější než ostatní. Nejsou lepena epoxydovým lepidlem.

^b Speciální délka 2 cm.



Obrázek 9: Zařízení pro manuální vzorkování

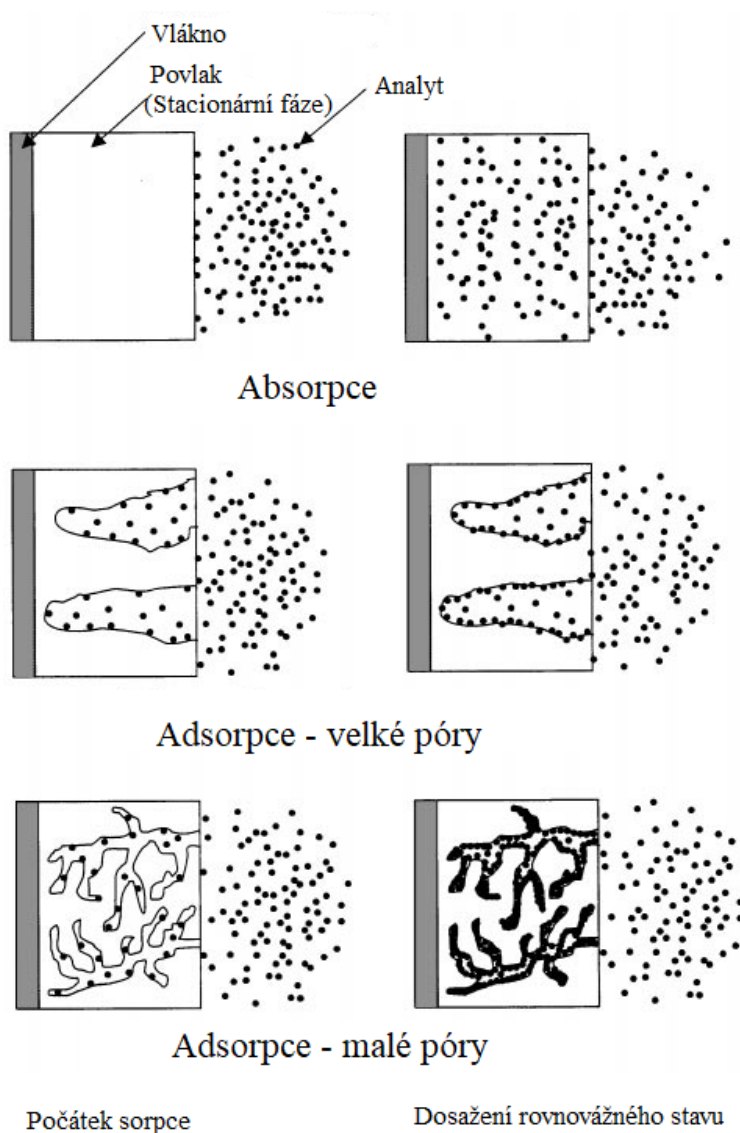
1.4.1 Stacionární fáze

Stacionární fáze používané u SPME lze rozdělit do dvou skupin: homogenní čisté polymery – absorbenty a porézní částice suspendované v polymeru – adsorbenty. Analyt se tedy na vlákne zachycuje na základě absorpce nebo adsorpce (viz Obr. 10), v některých případech může dojít i na oba mechanismy současně. Rovnovážný stav během sorpce je závislý na koncentraci analytu ve vzorku a na druhu a tloušťce polymeru, kterým je pokryto křemenné vlákno. Při použití SPME pro kvantitativní analýzu je výtěžek ovlivněn tloušťkou sorpční vrstvy. Silnější vrstva extrahuje větší množství analytu a naopak. Další faktory ovlivňující sorpci jsou: vliv pH, míchání vzorku, teplota a vysolování. Při volbě stacionární fáze je důležité zohlednit jejich tloušťku a polaritu (viz Tab. 1). Na základě Liebigova pravidla, které říká: podobné se rozpouští v podobném, platí, že pro nepolární analyty je volena nepolární fáze (např.: PDMS – polydimethylsiloxanová) a pro více polární sloučeniny je vhodná polární fáze (např.: PA – polyakrylátová). Silnější stacionární fáze je vhodnější pro těžavější sloučeniny, zatímco tenčí fáze je účinnější pro větší molekuly [34,37].

Stacionární fáze mohou být vázané a nevázané. Rozdílem těchto fází je jejich použití v organických rozpouštědlech. Nevázané fáze jsou stabilní v organických rozpouštědlech, která jsou mísitelná s vodou, ale mohou v nich slabě bobtnat. Tento typ vláken nesmí být čištěn nepolárními rozpouštědly. Ve všech organických rozpouštědlech jsou stabilnější vázané fáze, které mohou v některých organických rozpouštědlech slabě bobtnat. Problém mohou být chlorovaná rozpouštědla, protože mohou rozpouštět epoxidová lepidla, která jsou použita k lepení některých druhů vláken. Mezi komerčně dostupná vlákna (viz Tab. 1) patří polydimethylsiloxan (PDMS), polyakrylát (PA), CarbowaxTM/divynylbenzen (CWTM/DVB), polydimethyldiloxan/divynylbenzen (PDMS/DVB), polydimethylsiloxan/CarboxenTM (PDMS/CARTM), CarbowaxTM/pryskyřice (CWTM/TPR), divynylbenzen/CarboxenTM/polydimethylsiloxan (DVB/CARTM/PDMS) [34,38].

Na základě určitých studií bylo zjištěno, že vlákna potažená PDMS/CARTM jsou ideální pro extrakci malých analytů ve stopovém množství. Vlákna PA a CWTM/DVB jsou vhodná jak pro extrakci polárních, tak i nepolárních větších analytů. Dalším zjištěním bylo, že polarita vláken má malý vliv na extrakci malých polárních analytů, ale naopak má velký vliv na extrakci nepolárních větších analytů [39].

Přestože použití SPME má velkou řadu výhod, i tato metoda nese omezení pro své použití. Jednou z nevýhod je omezená provozní teplota pro spojení s GC, a to max. 300 °C. Dále mohou být některá vlákna nestabilní při použití organických rozpouštědel, protože může docházet k bobtnání vlákna a tím je zároveň omezeno použití ve spojení s kapalinovou chromatografií (dále HPLC). Další problémy mohou vzniknout při manipulaci, kdy může dojít k rozbití vlákna, ohnutí a odstranění povrchu (stacionární fáze) z křemenného vlákna [38].

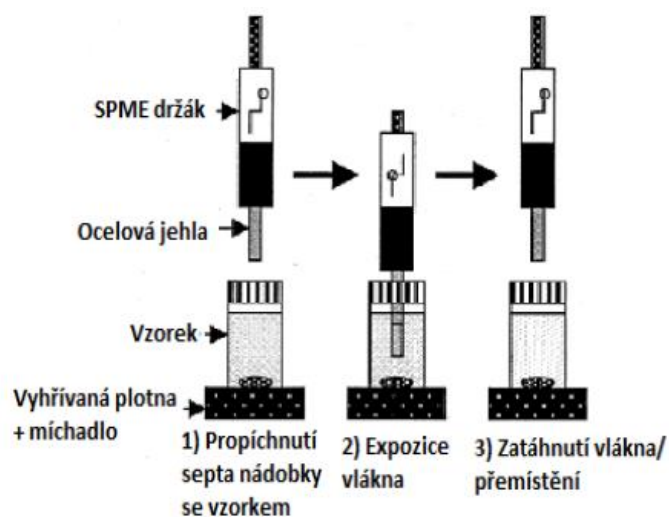


Obrázek 10: Porovnání absorpčních a adsorpčních extrakčních mechanismů [37]

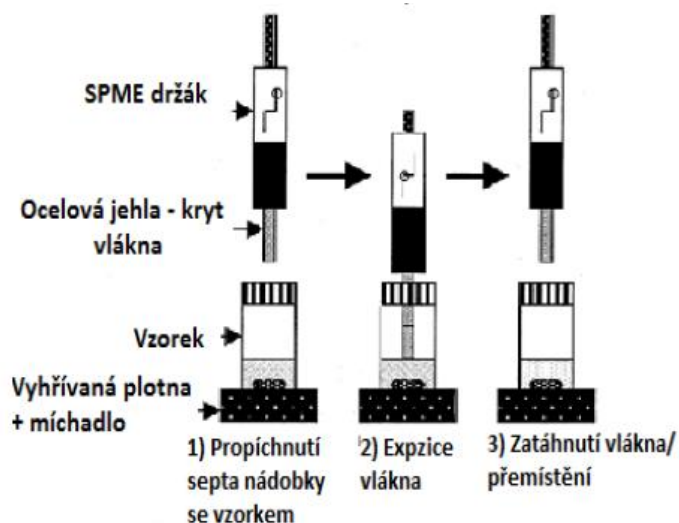
1.4.2 Princip extrakce

Sorpce analytů pomocí SPME je možné provádět dvěma způsoby (viz Obr. 11 a 12). Prvním způsobem je DI-SPME. Jedná se o přímou sorpci ze vzorku na vlákno, které je v tomto případě vkládáno přímo do kapalného vzorku. Druhým způsobem je HS-SPME neboli mikroextrakce z headspace prostoru nad tuhým nebo kapalným analyzovaným vzorkem.

Extrakce pomocí DI-SPME se používá spíše pro kapalně vzorky a málo těkavé analyty. HS-SPME je ideální pro extrakci těkavých látek. Jedním z rozdílů mezi těmito dvěma způsoby je ustavování rovnováhy, které u HS-SPME probíhá rychleji, protože se molekuly analytu pohybují v plynné fázi rychleji, dále probíhá u HS-SPME ustavování rovnováhy i mezi vzorkem a headspace prostorem ještě před samotnou sorpcí z headspace prostoru na vlákno. U obou způsobů je následně možná GC nebo HPLC analýza [36,40].

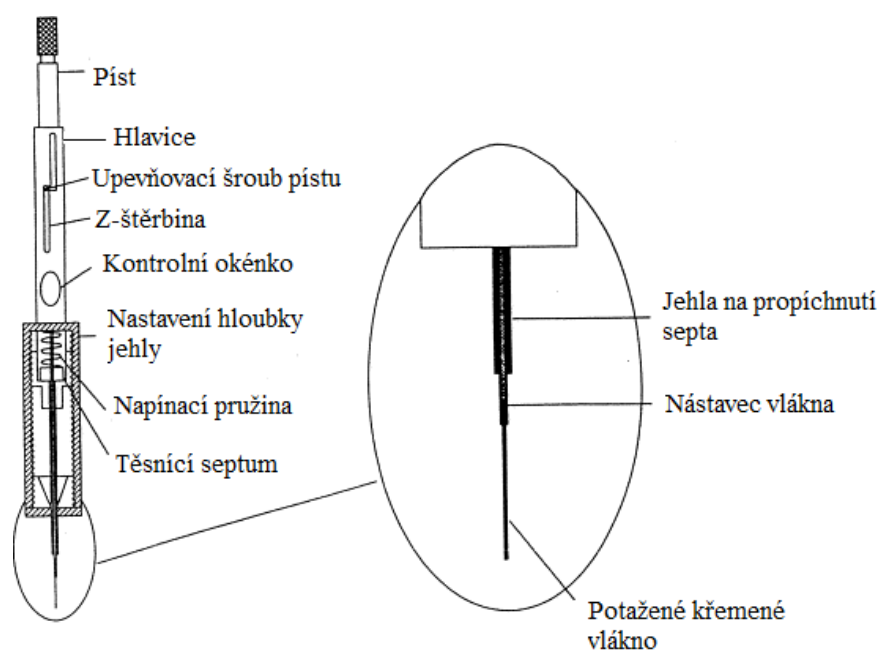


Obrázek 11: Přímá mikroextrakce tuhou fází [41]



Obrázek 12: Mikroextrakce tuhou fází z headspace prostoru [41]

Křemenné vlákno pokryté vrstvičkou polymeru a dlouhé přibližně 1 cm je spojeno s pístem z nerezové oceli a nainstalováno do držáku, který připomíná modifikovanou mikrolitrovou stříkačku (viz Obr. 13). Aby byla možná manipulace s vláknem například při propíchnutí septa, je vloženo do duté ocelové jehly, která vlákno zároveň ochraňuje. Při analýze je pomocí jehly propíchnuto septum, které utěsňuje nádobku se vzorkem, a následně je pomocí pístu vlákno vysunuto z ocelové jehly. Po ukončení extrakce je nutné vlákno opět zasunout, aby nedošlo k jeho poškození a úniku analytů. V tuto chvíli je vlákno připraveno pro následnou analýzu například pomocí plynového chromatografu [42].



Obrázek 13: Aplikátor pro mikroextrakci tuhou fází [43]

1.4.2.1 Přímá mikroextrakce tuhou fází

Principem DI-SPME je vložení vlákna přímo do analyzovaného vzorku. Analyty jsou extrahovány přímo z matrice do stacionární fáze. Extrakci je možné urychlit například mícháním vzorku.

Extrakce se považuje za ukončenou ve chvíli, kdy dojde k dosažení distribuční rovnováhy mezi matricí vzorku a povrchem vlákna. Čas, který je potřebný k dosažení rovnováhy během DI-SPME vzorkování, závisí na vlastnostech analytu a může se pohybovat v řádech několika minut až hodin [40,43]

1.4.2.2 Mikroextrakce z headspace prostoru

Při HS-SPME se na procesu podílejí tři fáze a mechanismus je založen na rovnováze v tomto třífázovém systému: vzorek, prostor nad vzorkem (headspace) a stacionární vrstva na vlákne. Množství analytu, který je extrahován, je ovlivněno jeho počáteční koncentrací ve vzorku, distribučními konstantami analytu mezi třemi fázemi a dobou extrakce.

Během HS-SPME probíhá několik reverzibilních procesů. Jako první dochází k transportu analytů z matrice vzorku na jeho povrch. Analyt je následně odpařován do plynné fáze a postupně se v headspace prostoru nad vzorkem posouvá do blízkosti vlákna. Poté dochází k extrakci z headspace prostoru do stacionární fáze na vlákne. K hromadnému transportu analytu v plynné fázi dochází mechanismem molekulární difúze, která je způsobena náhodným pohybem molekul [44].

1.4.2.3 Desorpce

Desorpce z vlákna SPME může probíhat několika způsoby. Jednou z možností je spojení s GC, kde je desorpce analytu z vlákna přímá. Jehla SPME je zavedena do nástřikového prostoru GC, kde je vlákno vystaveno předem nastavené teplotě a analyty jsou tepelně desorbovány a unášeny nosným plynem na kolonu. Desorpce probíhá při jedné konstantní teplotě. Některé moderní techniky spojující SPME s GC používají tepelnou desorpci s postupným zvyšováním teploty.

Další možností je spojení s HPLC. V tomto případě je vlákno umístěno do malé desorpční komory, která je připojená v poloze vstřikovací smyčky u typického šesticestného ventilu. Přepnutím ventilu se komora a SPME vlákno propláchne mobilní fází, která desorbuje analyty. Desorpce analytu závisí na času, složení mobilní fáze a zvoleném průtoku [45,46].

1.4.3 Optimalizace podmínek

Před extrakcí pomocí SPME, ale i u dalších metod, je důležitá optimalizace podmínek za účelem získání co největšího množství analytů. U metody SPME průběh extrakce ovlivňuje v první řadě teplota a doba extrakce. Dalšími faktory jsou míchání analyzovaného vzorku, úprava pH a přídavek soli. Velmi důležitým faktorem je volba vhodného typu vlákna a tloušťky stacionární fáze [47].

1.4.3.1 Doba a teplota extrakce

Jedním z hlavních parametrů optimalizace SPME extrakce je čas, protože se jedná o limitující faktor rychlosti analýzy. Čas je možné zkrátit mícháním nebo případně zvyšováním teploty, které sice vede k účinnějšímu uvolňování sloučenin z matrice, ale zároveň může

způsobit ztrátu citlivosti. Za ideální dobu potřebnou k extrakci se považuje čas, během kterého je dosaženo rovnováhy mezi analytem ve vzorku a analytem zachyceném na sorpční vrstvě SPME vlákna [45,46].

Zvolení optimální teploty extrakce závisí na složení vzorku a použitém vlákne (stacionární fázi). Teplota během extrakce hraje velmi důležitou roli v celém extrakčním procesu, zároveň ovlivňuje rychlost přestupu analytů mezi maticí vzorku a SPME vláknem. Z termodynamického pohledu má teplota vliv na množství analytu zachyceného na vlákne. Se zvyšující se teplotou dochází ke snížení množství analytu zachyceného na vlákne. Z kinetického pohledu, při zvyšování teploty se zvětšuje i rychlost difúze analytů směrem k SPME vláknem, čímž může docházet k rychlejšímu dosažení rovnovážného stavu [48,49]. Teplota a čas může ovlivnit i skladování vlákna a udržení extrahovaných látek [42].

1.4.3.2 Vliv míchání

Jedním z faktorů, které je možné optimalizovat během extrakce pomocí SPME, je míchání. Pokud je vzorek míchán, dochází k rychlejšímu ustanovení rovnováhy mezi roztokem s SPME vláknem. Míchání musí být během extrakce konstantní, protože jeho změna vede k možným nepřesnostem stanovení. Při srovnání SPME metod je míchání vhodnější pro DI-SPME. U HS-SPME má míchání smysl zejména u méně těkavých látek, u více těkavých je vliv míchání zanedbatelný [41].

1.4.3.3 Přídavek soli

Přidání soli, obvykle ve formě chloridu sodného nebo síranu sodného, zvyšuje iontovou sílu roztoku a je možné tím zvýšit analytickou odezvu. Účinnost extrakce se zlepšuje, pokud dojde ke snížení rozpustnosti analytů. Tím dochází ke zvýšení množství analytu sorbovaného na vlákne. Účinek přídavku soli závisí na konkrétním obsahu analytů a solí ve vzorku. Přídavek soli zvyšuje účinnost extrakce zejména u polárních sloučenin a těkavých látek. Pokud je koncentrace soli vyšší, může docházet k poškození SPME vláken a zkrácení jejich životnosti [49,50].

1.4.3.4 Vliv pH

Stejně jako ostatní parametry i pH hraje důležitou roli při optimalizaci podmínek, a to zejména při extrakci kyselých a zásaditých sloučenin pomocí SPME. Změnou pH je možné potlačit disociaci látek. Kyselé sloučeniny se lépe extrahují v prostředí s nízkým pH, naopak v prostředí s vyšším pH se lépe extrahují zásadité sloučeniny. Díky tomu jsou např. bazická léčiva, jako jsou antidepressiva, analyzována ve vodném roztoku NaOH a kyselé analyty, jako

např. chlorofenoly, jsou lépe extrahovány při nízkém pH. Hodnota pH je limitována druhem použitého vlákna pro extrakci [46,47]

1.4.3.5 Výběh vhodného vlákna

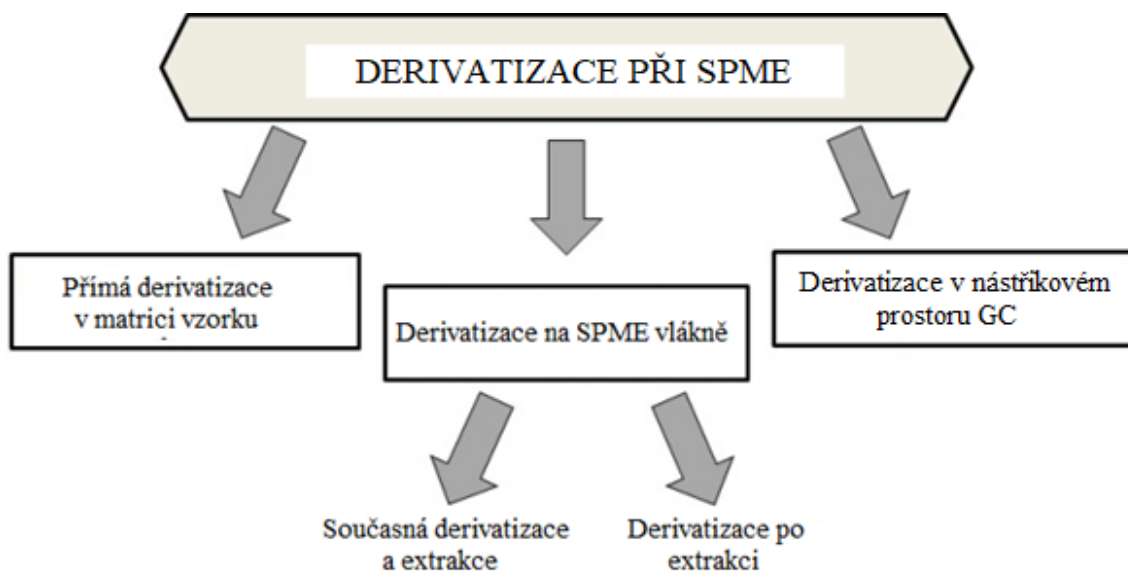
Výběr vlákna závisí hlavně na povaze analytu. Pro potraviny a vzorky životního prostředí jsou často používána komerčně dostupná vlákna: PDMS, PA, CARTM, DVB a CWTM. K dispozici jsou tato vlákna v různých kombinacích, směsích a tloušťkách filmu (viz Tab. 1). CARTM/PDMS a DVB/CARTM/PDMS jsou vlákna, která poskytují velmi dobrou účinnost extrakce pro širokou škálu analytů s různou polaritou a molekulovou hmotností. Vláknem PDMS má schopnost odolávat teplotám až do 300 °C a vyznačuje se vysokou stabilitou. Jsou vhodnější pro analýzu nepolárních analytů, zatímco vlákna PA jsou naopak vhodnější pro extrakci analytů polárních. Dalším sorpčním materiálem je DVB. Jedná se o polární porézní povlak, který je vhodný pro analýzu polárních sloučenin, jako jsou např. disulfidy a trisulfidy. Sloučeniny jako alkoholy, aldehydy, ketony, ethery a karboxylové kyseliny jsou neúčinněji extrahovány vlákny, které se sestávají z kombinace např. nepolárního PDMS a polárního DVB. Pro extrakci analytů s různou polaritou je vhodné použít směs CARTM/PDMS nebo DVB/CARTM/PDMS. Nevýhodou tohoto sorpčního materiálu je vytěšňovací účinek analytů s nižší afinitou k použitému sorbentu [34,37,50].

Celkově je při výběru vhodného vlákna nutné zohlednit několik faktorů, mezi které patří velikost a druh analytu, úroveň koncentrace a detekční limity zvolené analytické koncovky. Na závěr lze říci, že neexistuje vlákno, které by dokázalo zachytit veškeré analyty na úrovni stopových až vysokých koncentrací. Proto je velmi důležité při výběru vlákna zvážit veškeré faktory ovlivňující extrakci analytů [39].

1.4.4 Derivatizace

Za určitých podmínek není možné cílené analyty efektivně extrahovat nebo využít aplikovanou metodou, a to z důvodu jejich fyzikálně-chemických vlastností nebo složení matrice. V těchto případech přichází na řadu derivatizace, díky které je možné analyty upravit a zlepšit jejich extrakci, desorpci nebo chromatografickou analýzu. Pro SPME je možné použít různé metody derivatizace (viz Obr. 14). Jednou z možností je přímé přidání derivatizačního činidla přímo do vzorku. Jedná se tedy o přímou derivatizaci, při které je upravena chemická struktura analytu a následně extrakční a derivatizační procesy probíhají společně. Deriváty získané tímto postupem vykazují lepší charakteristické vlastnosti než původní analyty. Metoda přímé derivatizace je používána velmi často. V jiném případě může derivatizační reakce

probíhat přímo během extrakce nebo bezprostředně po extrakci. V tomto případě je obohacené SPME vlákno po extrakci vystaveno roztoku derivatizačního činidla a je možné tím výrazně zkrátit celkovou dobu analýzy. Další možností je derivatizace, která probíhá až v nástřikovém prostoru plynového chromatogramu. Jednou z nevýhod derivatizace je zvýšení produkce odpadů [50].



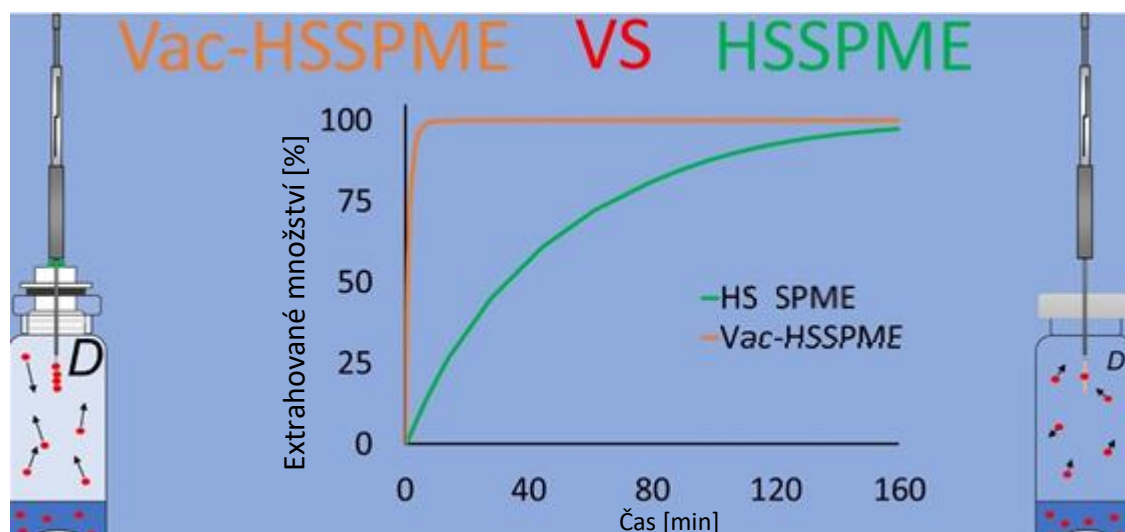
Obrázek 14: Možnosti derivatizace při mikroextrakci tuhou fází [50]

1.4.5 Vakuem asistovaná mikroextrakce tuhou fází

Nejen pro analýzu aromaprofilu potravin existuje celá řada metod, které obvykle zahrnují prekoncentrační a extrakční krok před analýzou pomocí GC. Jednou z metod je HS-SPME, kde prekoncentrační krok a extrakce probíhají zároveň. U metody HS-SPME je možné kinetiku extrakce těkavých látek urychlit mícháním, zvýšenou teplotou nebo pomocí sníženého tlaku. Při použití sníženého tlaku se jedná o vakuem asistovanou mikroextrakci tuhou fází (dále Vac-HSSPME). Jedná se o rozvíjející se analytickou techniku, která poskytuje nižší detekční limity analytů se špatnou těkavostí při kratších dobách extrakce.

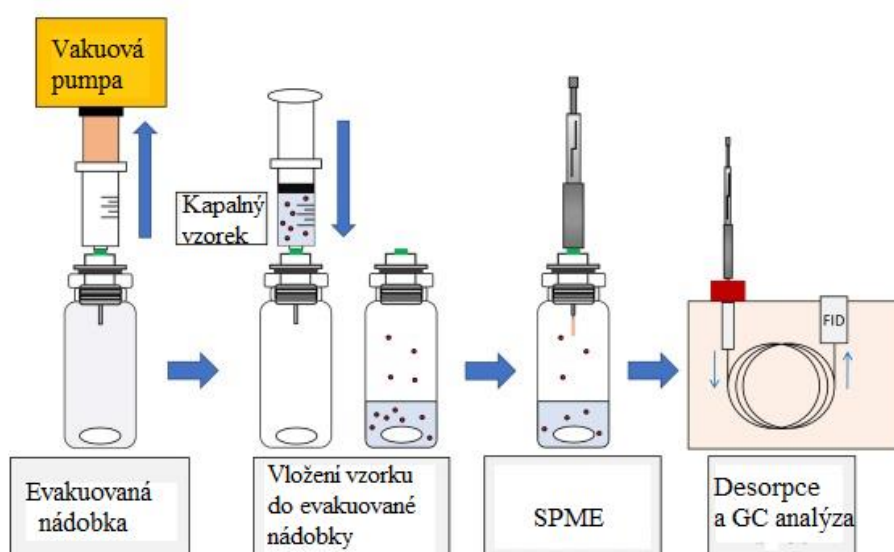
Vac-HSSPME zachovává jednoduchost metody HS-SPME, jedinou změnou je evakuace nádoby se vzorkem nebo bez jeho přítomnosti před zavedením vlákna. Ve srovnání s klasickou HS-SPME poskytuje Vac-HSSPME metoda vysokou účinnost extrakce během krátké doby a při mírné teplotě, zároveň je dosaženo velmi dobré citlivosti. Podle teoretických předpokladů je při kvantitativní analýze množství extrahovaných látek stejné jak při použití HS-SPME, tak i při Vac-HSSPME (viz Obr. 15). Širší uplatnění této metody je omezeno nedostatečnou možností automatizace. Naopak jednoduchost tohoto provedení umožňuje

přípravu vzorků na místě odběru. Další výhodou je, že tato metoda umožňuje snížit křížovou kontaminaci vzorků z laboratorního vzduchu, což je výhodné pro identifikaci a kvantifikaci stopových látek znečišťujících životní prostředí [44,51,52].



Obrázek 15: Porovnání vakuem asistované a klasické headspace mikroextrakce tuhou fází [44]

U tuhých látek je možná tvorba vakua pouze v přítomnosti vzorku v nádobce. Naopak u kapalných vzorků je možné si zvolit v závislosti na cílech analýzy evakuaci nádoby před anebo po přidání vzorku (viz Obr. 16). Někdy je možné z počátku využít HS-SPME, aby došlo k extrakci těkavých látek, a následně využít evakuace nádoby a Vac-HSSPME na extrakci méně těkavých látek. K evakuaci nádoby se vzorkem je možné použít vakuové čerpadlo, které je schopné generovat velmi dobře vakuum [44,51,52].



Obrázek 16: Příklad evakuace nádoby před zavedením kapalného vzorku [52]

Vhodnou metodou při porovnávání účinnosti Vac-HSSPME a HS-SPME je výpočet poměru ploch píků pro každý analyt (Vac-HSSPME/HS-SPME). Pokud je výsledná hodnota větší než 1, znamená to, že metoda Vac-HSSPME se jeví účinnější [44,51,52]

V roce 2001 Brunton a kol. [53] využili metodu Vac-HSSPME na extrakci těkavých látek z vařených a syrových krůt a prokázali pozitivní účinek této metody. V roce 2005 Darrouzes a kol. [54] pomocí této metody studovali extrakci toxických sloučenin z vody po derivatizaci tetraethylborátem sodným. Psillakis a kol. [55] v roce 2012 navrhli přidání vzorků vody do předem evakuovaných nádob a tím dále rozvinuli teorii této techniky. Zároveň Psillakis [51] publikovala podrobný návod pro techniku Vac-HSSPME, který bere v úvahu teorii, vybavení a optimalizaci metody [44].

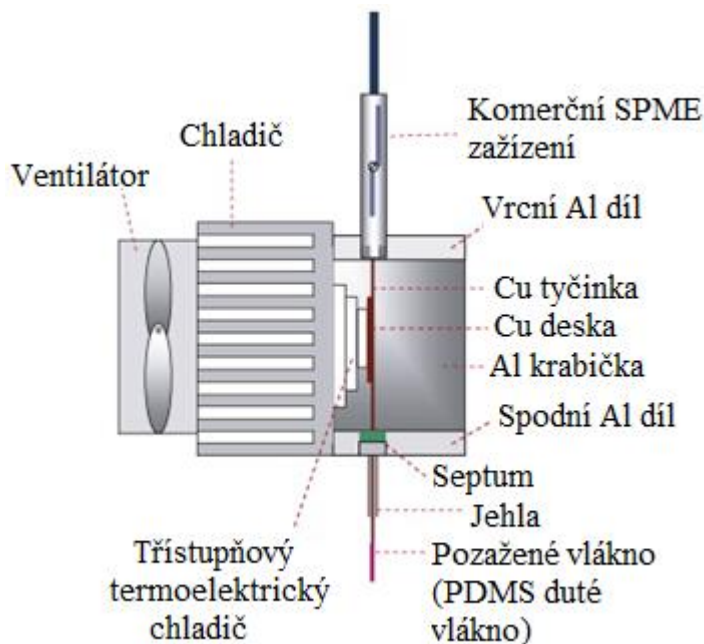
1.4.6 Mikroextrakce tuhou fází využívající chlazení vlákna

Mikroextrakce tuhou fází, která využívá chlazená vlákna (dále CF-SPME), může být realizována pomocí termoelektrického chlazení (viz Obr. 17). Měděná tyčinka je potažena vláknem z PDMS, které slouží jako SPME vlákno. Pro chlazení se může používat třístupňový termoelektrický chladič (dále TEC). SPME vlákno je vyrobeno z měděného drátu, který má přibližný průměr 0,8 mm. Měděná tyčinka, která je namontovaná na komerční píst SPME, je vystavena studenému povrchu TEC a vše je uzavřeno do malé hliníkové krabičky. K odvádění generovaného tepla na horké straně TEC se používá chladič s ventilátorem. Na studené straně TEC je zabudována měděná deska, v níž je vytvořena drážka, která funguje jako sedlo pro SPME vlákno. Blízko drážky je umístěn termočlánek, který nepřímo měří teplotu vlákna. Během extrakce není prakticky možné teplotu vlákna měřit přímo, ale je možné zařízení kalibrovat na různé teploty vzorku a nepřímo řídit teplotu vlákna monitorováním teploty TEC [43,56,57].

Během studie [57], při které byla kvantitativně analyzována rýže, se metoda CF-SPME ukázala jako relativně rychlá, přesná a citlivá pro kvantitativní analýzu. Při této studii byla výtěžnost extrakce získaná pomocí CF-SPME vyšší než při použití klasické SPME s vláknem DVB/CARTM/PDMS a zároveň byla srovnatelná s extrakcí pomocí rozpouštědla, ale metoda CF-SPME byla přesnější a rychlejší. Hlavní výhodou této metody je zdroj chlazení, který je společně s SPME integrován do jediného zařízení, které lze ovládat pomocí nízkonapětového napájecího zdroje [43,56,57].

V další studii, která se zabývala analýzou nanočástic, bylo navrženo spojení HS-SPME s chlazením vlákna. Získané zařízení CF-HS-SPME (Headspace mikroextrakce tuhou fází

využívající chlazení vlákna) zlepšuje účinnost uvolňování analytů z matrice, usnadňuje přenos analytu do headspace prostoru a významně zvyšuje rozdělovací koeficienty analytů [58].



Obrázek 17: Schéma mikroextrakce tuhou fází využívající chlazení vlákna [56]

1.4.7 Metody založené na úplném odpaření vzorku

TV-SPME (*Total Vaporization Solid Phase Microextraction*) je nová technika, při které se do vzorkovací lahvičky se septem zavede malé množství vzorku (případně vzorku s rozpouštědlem), který se zahřívá, dokud nedojde k jeho úplnému odpaření. Následně je septum propíchnuto pomocí SPME jehly a je zavedeno vlákno, na které se sorbují analyty. Analyt se rozděluje mezi parní fázi a SPME vlákno. Použití TV-SPME k odběru vzorků může zefektivnit proces derivatizace tím, že umožňuje, aby byla provedena současně s krokem extrakce způsobem derivatizace na vláknech. TV-SPME metoda byla využita ke stanovení nikotinu a kotininu ve vlasech kuřáků. Bylo zjištěno, že pro toto využití má metoda TV-SPME větší citlivost a nižší mez detekce. Další využití našla tato metoda při analýze zbytků výbušnin trubkových bomb, které jsou ve Spojených státech nejčastějším typem podomácku vyrobených bomb, protože mají jednoduchou konstrukci [59,60,61].

Dále byla vyvinuta metoda VA-TV-SPME (*Vacuum Assisted – Total Vaporization Solid Phase Microextraction*), při které probíhá úplné odpařování vzorku za podmínek vakua. Připojení vakua k TV-SPME metodě vedlo k výraznému snížení extrakční teploty a zkrácení doby extrakce. Metoda VA-TV-SPME byla využita na stanovení a měření polycyklických aromatických uhlovodíků ze vzorků kontaminované vody [62].

1.4.8 Využití mikroextrakce tuhou fází při analýze potravin a rostlinných matric

Ověření chuti a aroma potravin je důležitou součástí spotřebitelské poptávky. Pro tento účel slouží metoda SPME jako cenný nástroj k prozkoumání přítomnosti nebo absence požadovaných aromatických sloučenin v potravinářských výrobcích. Výzkum aromatických (těkavých) látek v potravinách byl vyvíjen současně se zavedením prvních plynových chromatografů na počátku 60. let. Při výběru metody pro analýzu potravin je velmi důležité si uvědomit, že se jedná o složité heterogenní směsi složené z mnoha různých sloučenin. Analýza těkavých látek vyžaduje zejména extrakci z matrice potravin, protože je téměř nemožné analyzovat vzorky potravin bez jejich předešlé úpravy [50].

Pro analýzu rostlinných matric je stejně jako u potravin možné jako vhodnou metodu zvolit SPME. Znalost aromatického profilu rostliny umožňuje zlepšení kvality rostlinných produktů a zároveň vývoj nových produktů. Rostlinné matrice obecně obsahují sloučeniny, které jsou náchylné na rozklad procesy souvisejícími s teplotou, oxidací a fotolýzou. Aby bylo dosaženo spolehlivých výsledků, je důležitá minimální manipulace se vzorky a co nejkratší doba jejich přípravy. Pokud se stanovují těkavé látky, těchto vlastností je možné dosáhnout použitím HS-SPME v kombinaci s GC analýzou. Pro správné využití metody HS-SPME je důležité vhodně zvolit extrakční teplotu. Protože extrahované látky z rostlinných matric mají různou těkavost, je vhodné zvolit dvě rozdílné teploty ve stejném extrakčním postupu. První teplota musí být vždy vyšší, extrahují se při ní méně těkavé sloučeniny. Poté je možné teplotu snížit, čímž dojde k vytvoření příznivějších podmínek pro extrakci těkavějších sloučenin, zatímco méně těkavé sloučeniny zůstanou ještě více fixovány na SPME vlákne. Pokud by byl použit obrácený postup a jako první teplota byla zvolena nižší, došlo by při zvýšení teploty k významným ztrátám těkavějších složek a celý proces by se stal méně efektivním.

Mezi komerčně dostupná vlákna, které jsou vhodná pro analýzu těkavých látek v rostlinné matrici, patří CARTM/DVB/PDMS a DVB/PDMS. Tato vlákna jsou pravděpodobně vhodná z důvodu přítomnosti PDMS, které představuje absorpční mechanismus, a DVB, kde jde o mechanismus adsorpční [63].

1.5 Spojení mikroextrakce tuhou fází s plynovou chromatografií

1.5.1 Plynová chromatografie

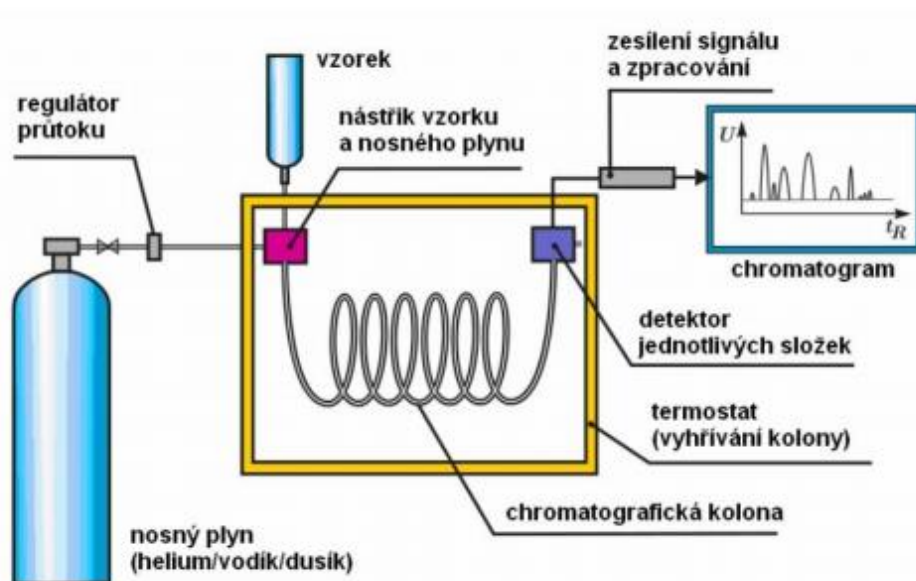
Moderní plynovou chromatografií (GC) v roce 1952 vynalezl A. J. P. Martin a A. T. James [64] a stala se jednou z nejdůležitějších a široce používaných analytických technik v moderní analytické chemii. Jedná se o standardní analytickou metodu, které tvoří základ výzkumu, vývoje a kontroly kvality v mnoha průmyslových odvětvích, zejména v petrochemické výrobě, v oblasti životního prostředí, v analýze potravin a rostlinných produktů a materiálů atd. [65,66].

GC je kolonová separační metoda, která své označení nese podle mobilní fáze, kterou je plyn. Chromatografií lze zjednodušeně považovat za sérii diskontinuálních rovnovážných kroků probíhajících během separace. Pomocí dávkovacího zařízení je vzorek zaveden do vyhřívaného bloku, kde dojde k jeho odpaření a společně s nosným plynem vstupuje do kolony. Za vhodně zvolených podmínek dochází na chromatografické koloně k rozdělení směsi na jednotlivé složky, které interagují se stacionární fází. Rozdělené složky jsou proudem nosného plynu převedeny z kolony do detektoru. Výsledkem je grafický záznam neboli chromatogram, který představuje závislost signálu detektoru na čase [67–69]

Při stanovování sensoricky aktivních látek je významnou analytickou metodou právě GC. Pro pivovarnictví a sladařství má GC význam při stanovení sensoricky aktivních látek, cizorodých látek, ale je používána i při kontrole finálního výrobku a vývoji nových technologických postupů. Pro tyto účely patří mezi nejpoužívanější detektory plamenový ionizační (FID), detektor elektronového záchytu (ECD) a plamenový fotometrický detektor (FPD) [70].

Klasický plynový chromatograf je složen z několika hlavních částí: tlaková nádoba s nosným plynem, regulátor průtoku nosného plynu, nástřiku vzorku a nosného plynu, termostatem vyhřívaná kolona, detektor a zařízení pro sběr a vyhodnocení dat (viz Obr. 18). Nástřik vzorku do kolony je možné realizovat dvěma způsoby. První způsob je pomocí děliče toku (*split injection*), který je vhodný pro menší kapilární kolony s malou kapacitou. Používá se zejména u hodně koncentrovaných vzorků, aby nedocházelo k velkému zatížení kolony. Do kolony se dostává pouze definovaný zlomek dávkovaného množství, které je odděleno nosným plynem. Druhý způsob je bez děliče toku (*splitless injection*), který se používá především pro stopové analýzy. Používá se stejné zařízení jako v předchozím případě, ale odvod děliče toku je uzavřen. Při této metodě je vzorek zakonzentrován v rozpouštědle s vyšší teplotou varu. Kondenzací kapaliny se vytvoří kapalný film v hlavě kolony, ve kterém jsou pohlceny všechny

analyty. Při zvýšení teploty se analyty odpařují a jsou převedeny dále na kolonu. Chromatografická kolona a její délka, průměr a tloušťka filmu stacionární fáze může výrazně ovlivnit rychlost analýzy. V GC se používají náplňové nebo kapilární kolony. Pro stanovení těkavých sloučenin se v dnešní době uplatňují spíše kolony kapilární. Použití menších průměrů vede sice k nižší kapacitě kolony, ale zároveň zvyšuje účinnost separace. Tyto kolony musí mít adekvátní délku, aby nedocházelo k přílišnému prodlužování času analýzy [71,72].



Obrázek 18: Schéma plynového chromatografu [73]

1.5.1.1 Plamenový ionizační detektor

Plamenový ionizační detektor (FID) se vyznačuje velmi širokým dynamickým rozsahem a vysokou citlivostí. Detekuje téměř všechny látky s uhlíkem s výjimkou několika nízkomolekulárních látek. Pravděpodobně se jedná o nejjednodušší, nejsnadnější a nejspolehlivější detektor. Jeho výhodou je samočištění, díky kterému dochází k minimální nebo žádné kontaminaci.

Vodík, který se směšuje s eluentem z GC kolony, hoří v malé trysce. Vzniklý plamínek obklopuje cylindrická elektroda a mezi trysku a elektrodu je vloženo relativně vysoké napětí, které sbírá ionty formující se v plameni. Pomocí vysokoimpedačního zesilovače je výsledný proud zesílen a na výstupu jsou data vedena do akvizičního systému. Jako nosný plyn se obvykle používá dusík nebo helium, pro hoření je použit vodík. Detektor je vybaven nezávislým vyhříváním, aby došlo k zabránění kondenzace v detekčním prostoru [74].

1.5.1.2 Spojení plynového chromatografu a hmotnostního detektoru

Hmotnostní spektrometr (MS) je univerzální detektor pro plynovou chromatografii. Spojení GC-MS se používá ke kvalitativní i kvantitativní analýze organických a některých anorganických sloučenin a zároveň k identifikaci složek ve směsi. Tato metoda je běžně používána v mnoha vědeckých oborech, své zastoupení nachází i při analýze potravin a nápojů při hodnocení jejich kvality nebo kontaminace.

Každá sloučenina, která může projít kolonou GC, je v hmotnostním spektrometru převedena na ionty. Díky vysoce ojedinělé povaze je hmotnostní spektrometr velmi specifickým detektorem. Kombinace GC a MS detektoru tvoří ideální celek, protože GC je ideálním separátorem a MS je vynikající pro identifikaci. Problémem spojení je rozdíl v tlaku potřebném pro provoz GC a MS. Zatímco GC pracuje za vysokého tlaku, MS vyžaduje systém vysokého vakua, proto je nezbytné vhodné rozhraní. Dále je potřeba odstranit nadbytek nosného plynu z prostoru ionizace pomocí např. vakuových pump. Ve chvíli, kdy molekuly opustí GC kolonu, vstupují do ionizační komory. V této části dochází k ionizaci (např.: elektronové, chemické atd.). Nejběžněji používanými ionizačními technikami v GC-MS jsou elektronová ionizace (EI) a chemická ionizace (CI). EI má značnou výhodu díky vysoké reprodukovatelnosti a charakteristické fragmentaci látek. EI je univerzálnější, má tedy větší rozsah použití než CI. Vzniklé ionty jsou zrychlovány a tříděny podle poměru m/z (kde m je molekulová hmotnost a z náboj) v hmotnostním analyzátoru, který je umístěn za iontovým zdrojem, pomocí magnetického nebo elektrického pole. Používané hmotnostní analyzátory jsou například kvadrupólový, průletový, iontová past atd. Po průchodu hmotnostním analyzátozem je vzniklý proud iontů směřován na detektor, který poskytuje signál úměrný počtu dopadajících iontů. Při spojení metod GC-MS se nejčastěji používají detektory využívající efekt násobení elektronů, které vznikají po dopadu iontů. Signál z detektoru je převeden do počítače, kde je zpracován do formy hmotnostních spekter, které slouží pro identifikaci struktury neznámých látek. Hmotnostní spektra je možné porovnat s knihovnou spekter, což usnadňuje identifikaci neznámých látek [70,75–78].

1.5.2 Kvalitativní analýza – vyhodnocení výsledků

V GC je možné pro identifikaci analytů využít několik technik, které je možné rozdělit do dvou skupin. Metody patřící do první skupiny jsou založené na retenčním chování látek. Druhá skupina využívá kombinaci GC s jinými metodami, jako např. GC-MS. Mezi nejobecnější patří systém retenčních indexů.

První práce, která definovala retenční indexy (RI), byla publikována v roce 1958 kde RI navrhl Kovats [79]. Od té doby došlo k jejich širokému uplatnění v běžné chromatografické praxi i při teoretických studiích zabývajících se předpovědí retenčního chování látek [78,80].

RI vztahuje retenční chování látek k celé řadě referenčních látek. Jedná se o nerozvětvené alkyly, kterým jsou přiřazeny hodnoty RI, odpovídající stonásobku počtu atomů uhlíku. RI nejsou závislé na pracovní teplotě a délce kolony, ale při použití různých polárních se jejich hodnoty liší. Výpočet RI se provádí dle rovnice (3) [80].

$$RI = 100 \frac{\log t'_{R,i} - \log t'_{R,z}}{\log t'_{R,z+1} - \log t'_{R,z}} + 100z \quad (3)$$

Kde $t'_{R,i}$, $t'_{R,z}$ a $t'_{R,z+1}$ jsou redukované retenční časy neznámé látky i , n -alkanu s z uhlíky a n -alkanu s $z+1$ uhlíky.

Další možností je využití RI při použití programovaného teplotního režimu na analýzu komplexních směsí. Používají se van den Doolovy a Kratzovy RI a jejich výpočet se provádí dle rovnice (4).

$$RI = 100 \frac{t'_{R,i} - t'_{R,z}}{t'_{R,z+1} - t'_{R,z}} + 100z \quad (4)$$

I zde jsou $t'_{R,i}$, $t'_{R,z}$ a $t'_{R,z+1}$ redukované retenční časy neznámé látky i , n -alkanu s z uhlíky a n -alkanu s $z+1$ uhlíky.

Pokud se identifikace provádí pomocí spojení GC-MS, jsou získány informace o výsledku separace komponent vzorku ve formě chromatogramu. V tomto případě se jedná o nespojitý záznam, ve kterém je hustota bodů dána rychlostí skenování hmotnostního analyzátoru a každému bodu na chromatogramu přísluší hmotnostní spektrum, které charakterizuje složení vzorku vstupující v daném čase do iontového zdroje. V nejjednodušším případě je získaný chromatogram časová závislost celkového iontového proudu (TIC – *Total ion current*) zaznamenaného detektorem. Uplatňuje se tzv. full scan mód a v tomto skenovacím režimu dochází k zaznamenání všech iontů ve vybraném rozsahu m/z . Ze získaného záznamu hmotnostního spektra lze pomocí knihovny spekter určit, o jaký analyt se jedná. Získané výsledky musí mít určitou procentuální shodu s látkami identifikovanými pomocí knihovny

hmotnostních spekter, pokud je tato shoda nižší než požadovaná procenta, musí být prověřena její věrohodnost a přistoupit k interpretaci spektra [80,81].

1.5.3 Princip spojení mikroextrakce tuhou fází a plynového chromatografu

Při spojení metod SPME a GC dochází k tepelné desorpci analytů v nástřikovém prostoru GC. Princip tedy spočívá v tom, že jehla SPME je zavedena přímo do nástřikového prostoru GC, kde je vysunuto vlákno a dochází k tepelné desorpci. Následkem rychle klesajícího rozdělovacího koeficientu (stacionární fáze-vlákno/plyn) dochází při vysokých teplotách k snížení kapacity vlákna a jeho schopnosti zadržovat sorbované analyty. Analyty se z vlákna uvolní do nosného plynu, kterým jsou unášeny na kolonu GC. Jedná se o rychlý proces, protože difúzní koeficienty jsou vyšší při zvýšených teplotách a proces desorpce je u většiny sloučenin v teplotním rozsahu 150 °C až 250 °C dokončen za méně než 1 s [82,83].

Spojení metod SPME a GC je vhodnou metodou například pro analýzu těkavých sloučenin v nápojích, potravinách nebo rostlinných silicích. Použití techniky HS-SPME snižuje zatížení kolony GC, protože pro extrakci není potřeba použití rozpouštědla. Výhodou této techniky je možná automatizace pomocí autosampleru [41,84].

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Přístroje a zařízení

- Plynový chromatograf s plamenovým ionizačním detektorem (GC-FID) HP 5890 (Hewlett-Packard, Avondale, PA, USA)
- Sběr dat: vyhodnocovací program Chromatography Station CSW32 (DataApex, s.r.o., Praha, ČR)
- Plynový chromatograf GC-2030 s kombinací FID a MS-QP2020 NX detekce (Shimadzu, Kyoto, Japonsko)
- Sběr dat: vyhodnocovací program GC Solution a GCMS Solution 4.20 (Shimadzu, Kyoto, Japonsko)
- Interpretace MS spekter: knihovna spekter Národního institutu pro standardy a technologii (NIST 17 Mass Spectral library) a knihovna FFNSC 2 (Flavour & Fragrance Natural & Synthetic Compounds GC/MS library)
- Kapilární kolona SLB-5MS 30 m × 0,25 mm, tloušťka filmu 0,25 μm (Supelco Bellefonte, PA, USA)
- Tlakové lahve s heliem – čistota 5.0 a vodíkem – čistota 5.0 (Linde Gas, Praha, ČR)
- Dusík z centrálního rozvodu Univerzity Pardubice
- Homogenizátor GRINDOMIX GM 200 (Fisher Scientific, Pardubice, ČR)
- Předvážky Kern 440-33, (Kern, Balingen, Německo)
- Šedé mikroextrakční vlákno 50/30 μm DVB/CAR/PDMS s manuálním SPME držákem (Supelco Bellefonte, PA, USA)
- Skleněné vzorkovací nádoby (20 ml) s propichovatelným uzávěrem z polytetrafluoroethylenu/silikonu (Supelco, Bellefonte, PA, USA)
- Plastová injekční stříkačka s jehlou (20 ml, Chirana, Slovensko)
- Termostaty na bázi vodní lázně (Julabo 5 a Julabo F12, Seelbach, Německo)
- Software Statistica 12 (StatSoft, Inc., Praha, ČR)

2.2 Vzorky a chemikálie

2.2.1 Vzorky

Pro analýzu a identifikaci látek bylo použito celkem 14 vzorků pivovarských sladů, které byly zakoupeny v obchodních řetězcích. Všechny vzorky byly skladovány v uzavíratelných plastových pytlících a umístěny na temném místě. Přehled všech použitých vzorků je uveden v tabulce 2.

Tabulka 2: Přehled použitých vzorků

Název	Typ sladu	Výrobce
Bavorský slad	Ječný	Humnová sladovna Záhlinice (ČR)
Caraaroma®	Ječný	Weyermann, Bamberg (Německo)
Carafa Special III®	Ječný	Weyermann, Bamberg (Německo)
Carahell®	Ječný	Weyermann, Bamberg (Německo)
Caramunich II®	Ječný	Weyermann, Bamberg (Německo)
Český slad	Ječný	Humnová sladovna Záhlinice (ČR)
Ječný slad Primátor	Ječný	Pivovar Primátor, Náchod (ČR)
Nakuřovaný slad	Ječný	Weyermann, Bamberg (Německo)
Karamelový slad	Ječný	Humnová sladovna Záhlinice (ČR)
Mnichovský slad	Ječný	Weyermann, Bamberg (Německo)
Slad Pale Ale	Ječný	Weyermann, Bamberg (Německo)
Pražený slad	Ječný	Humnová sladovna Záhlinice (ČR)
Wheat malt	Pšeničný	Humnová sladovna Záhlinice (ČR)
Pšeničný slad	Pšeničný	Humnová sladovna Záhlinice (ČR)

2.2.2 Chemikálie

- Homologická řada *n*-alkanů (C8-C40)
- *n*-pentan, *n*-hexan, *n*-heptan (Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika)

2.3 Pracovní postup

2.3.1 Příprava vzorku a extrakce

Před analýzou byl obsah sáčku důkladně promíchán a následně byl slad rozemlet na prášek pomocí homogenizátoru. Do měřicí nádoby o objemu 20 ml byly naváženy 3 g rozemletého sladu a nádoba byla ihned uzavřena víčkem se septem. V připravené nádobce se vzorkem bylo tvořeno vakuum pomocí plastové injekční stříkačky s jehlou o objemu 20 ml, a to opakovaným natažením celého objemu. Jakmile byla nádoba se vzorkem připravena, následovala extrakce, která probíhala na základě výsledků optimalizace. Připravená nádoba byla umístěna do termostatu s vodní lázní vyhřívaného na 90 °C, kde probíhala inkubace 30 minut. Po uplynutí doby inkubace bylo propíchnuto septum pomocí jehly SPME šedého vlákna 50/30 μm DVB/CAR/PDMS tak, aby bylo vlákno vysunuto přibližně 1 cm nad vzorek.

Vysunutím vlákna byla zahájena 45minutová mikroextrakce, která byla rozdělena do dvou kroků. V prvním kroku probíhala extrakce 30 minut při 90 °C. V druhém kroku byla skleněná lahvička i s vloženým vláknem přesunuta do ledové lázně, ve které byla udržována teplota 0 °C po dobu 15 minut. Extrakce byla ukončena zasunutím vlákna, které bylo takto připraveno pro následující GC analýzu.

2.3.2 Analýza extraktů

Analýza jednotlivých sloučenin sorbovaných na SPME vlákne pro jednotlivé vzorky byla prováděna na plynovém chromatografu s plamenovým ionizačním a hmotnostním detektorem MS-QP2020 NX. Separace analytů byla provedena na nepolárních kapilárních kolonách SLB-5MS. Vzorky byly zároveň dávkovány na obě kolony, a to pomocí dvou manuálních aplikátorů SPME.

Analytické podmínky (teplota nástřiku, teplotní program, nosný plyn a typ kolony) byly stejné pro GC-FID a GC-MS. Jako nosný plyn bylo použito helium 5.0 s konstantní lineární rychlostí toku (30 cm/s). Při měření byla teplota nástřiku nastavena na 250 °C. Byl použit teplotní gradient, kdy počáteční teplota byla 55 °C po dobu 3 minut, následoval lineární nárůst teploty rychlostí 6 °C/min až na konečnou teplotu 250 °C, která byla udržována 10 minut. Pro dávkování byl zvolen splitovací poměr 1:10. Optimalizované podmínky pro GC byly převzaty z diplomové práce L. Jiroutkové [81]. Desorpce trvala 1 minutu, před dalším použitím bylo vlákno čištěno při 200 °C po dobu 2 minut.

Hmotnostní spektrometr pracoval v režimu elektronové ionizace při 70 eV, měření probíhalo ve scan módu v rozsahu skenování m/z 19-600. Teplota převodníku byla 200 °C.

Pro FID detektor GC-2010 byla nastavena teplota na 260 °C. Dále byl nastaven průtok vodíku na 32 ml/min a průtok vzduchu na 200 ml/min. Doplnkovým detektorovým plynem byl dusík („make-up“) s průtokem 24 ml/min.

2.3.3 Vyhodnocování chromatografických dat

Získané chromatogramy v závislosti intenzity odezvy na retenčním čase byly vyhodnocovány pomocí programu GC Solution pro záznamy z FID detektoru a GSMS Solution 4.20 pro záznamy z MS detektoru. Pro výpočet RI podle van den Doola (viz rovnice 4) byla proměřena homologická řada n -alkanů (viz Tab. 3). RI sloužily k potvrzení identity sloučenin, které byly identifikovány pomocí hmotnostních spekter a jejich porovnám s knihovny NIST 17 a FFNSC 2, kdy jako nejmenší přijatelná shoda byla brána hodnota 80 %. Dále byly k potvrzení identity využívány online databáze (např. NIST WebBook).

Tabulka 3: Retenční časy a retenční indexy homologické řady *n*-alkanů

Název	Počet uhlíků	t_r FID [min]	t_r MS [min]	RI
<i>n</i> -pentan	5	2,53	2,14	500
<i>n</i> -hexan	6	2,91	2,44	600
<i>n</i> -heptan	7	3,83	3,18	700
<i>n</i> -oktan	8	3,80	3,21	800
<i>n</i> -nonan	9	5,48	4,74	900
<i>n</i> -dekan	10	7,93	7,09	1000
<i>n</i> -undekan	11	10,71	9,83	1100
<i>n</i> -dodekan	12	13,45	12,56	1200
<i>n</i> -tridekan	13	16,05	15,16	1300
<i>n</i> -tetradekan	14	18,49	17,60	1400
<i>n</i> -pentadekan	15	20,77	19,89	1500
<i>n</i> -hexadekan	16	22,93	22,05	1600
<i>n</i> -heptadekan	17	24,97	24,08	1700
<i>n</i> -oktadekan	18	26,90	26,01	1800
<i>n</i> -nonadekan	19	28,73	27,84	1900
<i>n</i> -ikosan	20	30,48	29,59	2000
<i>n</i> -henkosan	21	32,15	31,25	2100
<i>n</i> -dokosan	22	33,74	32,84	2200
<i>n</i> -trikosan	23	35,27	34,37	2300
<i>n</i> -tetrakosan	24	36,84	35,83	2400
<i>n</i> -pentakosan	25	38,66	37,45	2500
<i>n</i> -hexakosan	26	40,88	39,39	2600
<i>n</i> -heptakosan	27	43,67	41,79	2700
<i>n</i> -oktakosan	28	47,21	44,83	2800
<i>n</i> -nonakosan	29	51,77	48,73	2900
<i>n</i> -triokontan	30	57,70	53,78	3000
<i>n</i> -hentriakontan	31	65,39	60,33	3100

Pozn.: t_r – retenční čas, RI – retenční index vypočítaný dle van den Doola

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Optimalizace podmínek

Veškeré optimalizace vhodných podmínek probíhaly na GC-FID HP 5890, a to přímo na reálných vzorcích sladu z důvodu získání reálných informací o jeho chování během přípravy a samotné analýzy. V první fázi optimalizace byla porovnávána extrakce při konstantní teplotě a extrakce, která probíhala ve dvou krocích kde docházelo ke změně teplot při různých poměrech časových intervalů prvního a druhého kroku. Dalším parametrem bylo porovnání vlivu vytvořeného vakua na celkovou plochu a počet píků.

Příprava vzorku probíhala navážením 3 g rozdrčeného sladu do měřicí nádoby objemu 20 ml. Po navážení byla nádoba ihned uzavřena víčkem se septem. Poté následovala inkubace, která probíhala vždy 30 minut při 90 °C, po uplynutí doby inkubace byla na řadě extrakce, která probíhala ve dvou krocích vždy podle zvoleného časového poměru.

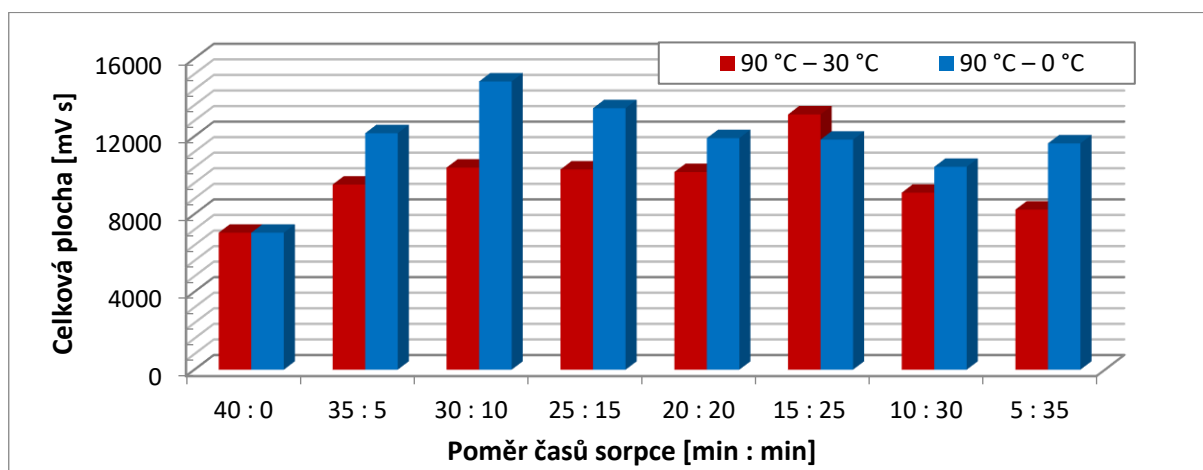
Analýza extraktů na GC-FID HP 5890 byla prováděna na nepolární kapilární koloně SLB-5MS. Při měření byla teplota nástřiku 250 °C a byl použit teplotní gradient, kdy počáteční teplota byla 55 °C po dobu 3 minut, následoval lineární nárůst teploty rychlostí 6 °C/min až na konečnou teplotu 250 °C, která byla udržována 10 minut.

3.1.1 Vliv změny teplot během extrakce

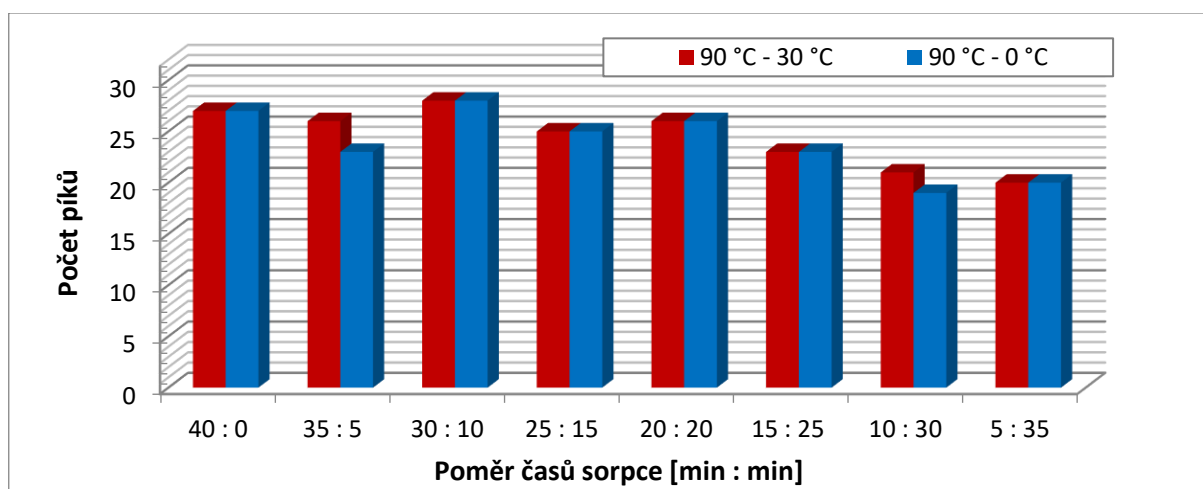
Dle poznatků zmíněných již v teoretické části má změna teplot během extrakce rostlinných matric své opodstatnění. Důvodem je rozdílná těkavost extrahovaných látek. Při extrakci, u které jsou zvoleny dvě různé extrakční teploty, musí být vždy druhá teplota nižší, aby zde nedocházelo ke ztrátám těkavějších složek [63]. Pro porovnání byla jako konstantní teplota zvolena 90 °C, kdy inkubace probíhala 30 minut a následná extrakce 40 minut. Při kombinaci dvou extrakčních teplot zůstala teplota a doba inkubace stejná. Celková doba extrakce byla opět 40 minut, ale byla rozdělena do dvou kroků. V prvním kroku docházelo vždy nejprve k extrakci při 90 °C a následně byla zvolena nižší teplota 30 °C nebo 0 °C. Poměry časů pro jednotlivé kroky byly zvoleny v poměru 35 : 5 minutám až na poměr 5 : 35 minutám.

V grafech na obrázcích 19 a 20 je zobrazeno porovnání celkových ploch a počtů píků pro Mnichovský slad. Při porovnání obou grafů je vidět, že kombinace dvou teplot extrakce je pro analýzu sladů vhodnější než konstantní teplota. Pokud je porovnán počet píků, nedochází pro teplotu 30 °C a 0 °C téměř k žádným změnám, kromě časového poměru 35 : 5 a 10 : 30, kde je nalezeno více látek pro teplotu 30 °C. V případě celkové plochy se jednoznačně jako lepší jeví prudké ochlazení v ledové lázni.

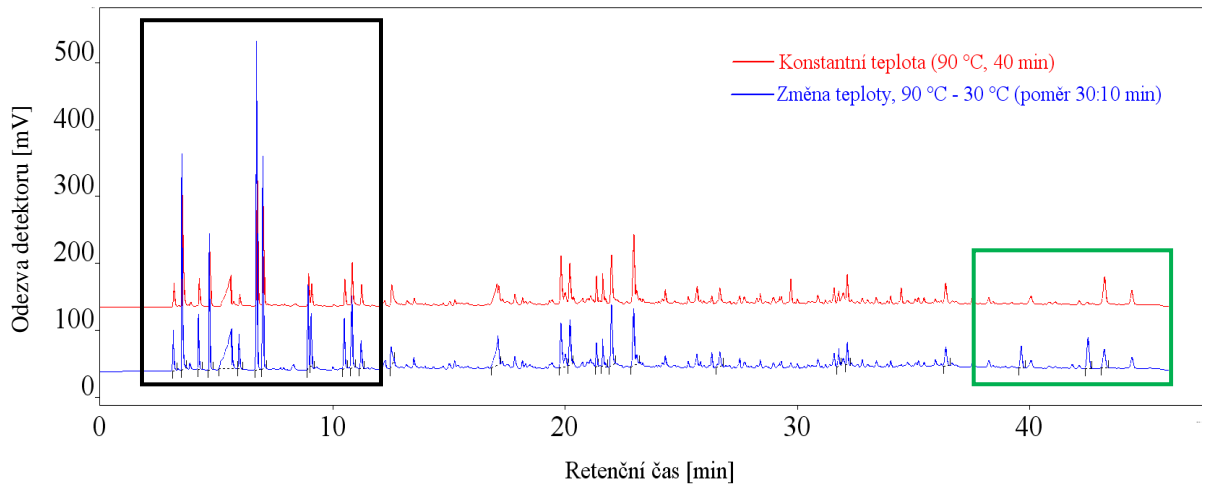
Dále je na obrázcích 21 až 23 znázorněno porovnání chromatogramů Mnichovského sladu. Obrázek 21 porovnává extrakci při konstantní teplotě a kombinaci teplot 90 °C a 30 °C. Z chromatogramů je patrné, že změna teploty na 30 °C je vhodnější pro látky s kratším retenčním časem (černé označení) a zároveň i pro látky eluované ke konci analýzy (zelené označení). Při porovnání konstantní teploty a prudkého ochlazení na 0 °C (viz Obr. 22) je na první pohled patrné zvětšení plochy látek eluovaných přibližně do 20. minuty analýzy (černé označení). Posledním chromatogramem, zobrazeném na obrázku 23 je porovnání obou změn teplot. Zde je v případě prudkého ochlazení vidět zvětšení plochy píků látek s kratším retenčním časem (černé zobrazení). Lze tedy říci, že látkám, které mají kratší retenční čas, vyhovují spíše nižší extrakční teploty. Naopak pro látky s delším retenčním časem se jeví jako lepší teplota 30 °C (zelené zobrazení). Po celkovém vyhodnocení byla jako vhodnější druhá teplota extrakce zvolena 0 °C, a to z důvodu větší celkové plochy píků.



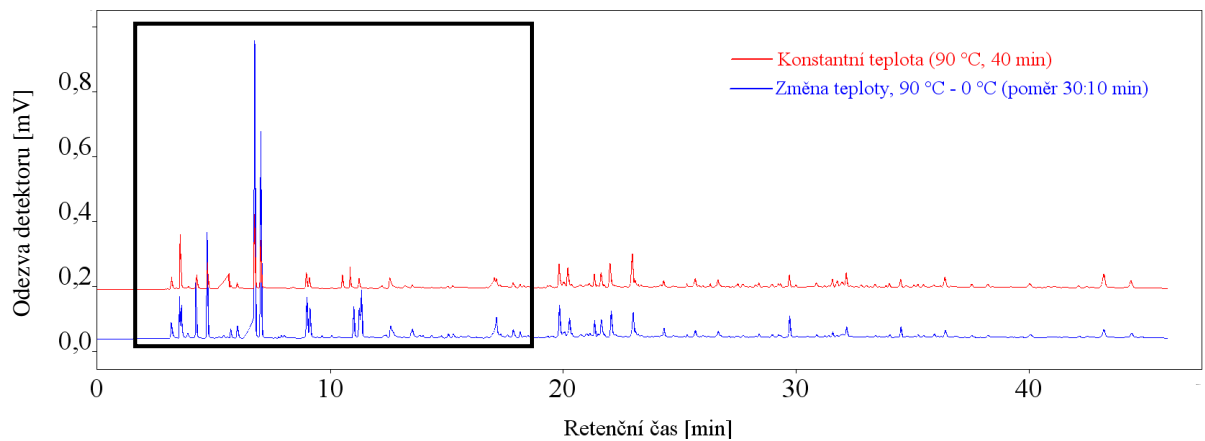
Obrázek 19: Porovnání celkových ploch pro Mnichovský slad (40 : 0 odpovídá konstantní teplotě)



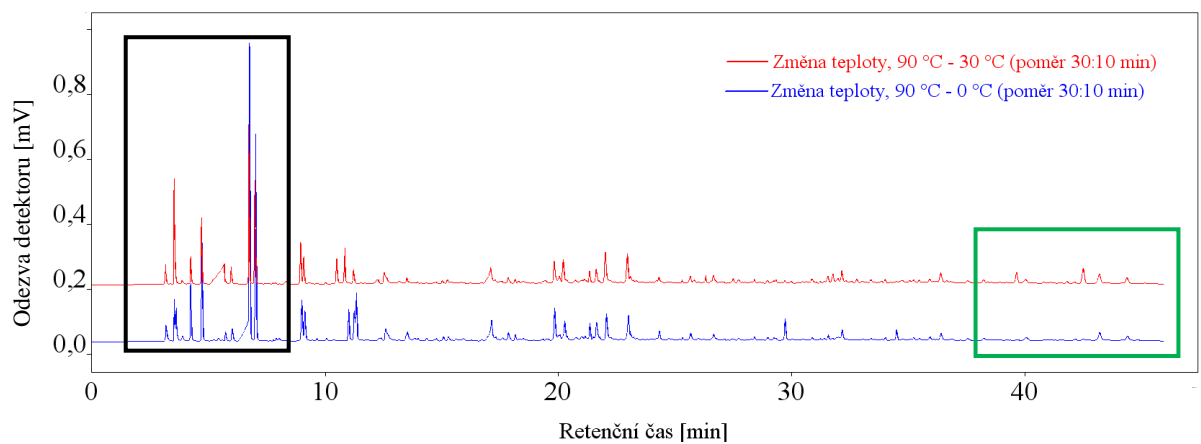
Obrázek 20: Porovnání počtu píků pro Mnichovský slad (40 : 0 odpovídá konstantní teplotě)



Obrázek 21: Mnichovský slad: porovnání konstantní teploty a změny 90/30 °C (poměr 30 : 10 min)



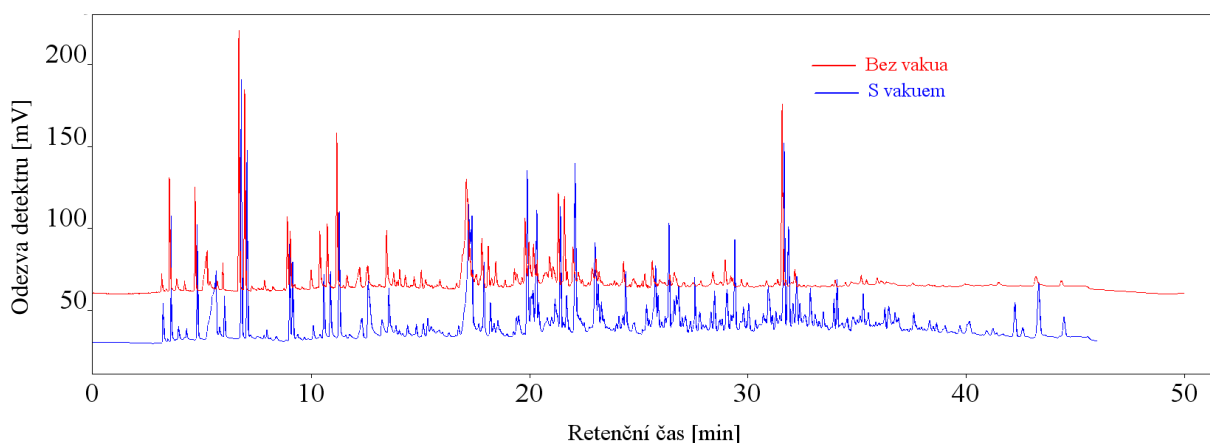
Obrázek 22: Mnichovský slad: porovnání konstantní teploty a změny 90/0 °C (poměr 30 : 10 min)



Obrázek 23: Mnichovský slad: porovnání změny teplot 90/30 °C a 90/0 °C (poměr 30 : 10 min)

3.1.2 Vliv vakua

Jak je již zmíněno v teoretické části, je u metody HS-SPME možné kinetiku extrakce těkavých látek urychlit použitím sníženého tlaku. V případě tuhého vzorku je podtlak tvořen přímo v přítomnosti vzorku [51]. Na obrázku 24 jsou zobrazeny dva chromatogramy porovnávající extrakci bez vakua, tedy klasické HS-SPME, a s vakuem (Vac-HSSPME) měřené za stejných podmínek. Pro porovnání byl použit Bavorský slad. Extrakce probíhala při konstantní teplotě 90 °C a po dobu 40 minut. Podtlak ve skleněné nádobce se vzorkem byl tvořen pomocí plastové injekční stříkačky s jehlou. Z porovnání obou chromatogramů je patrný pozitivní vliv vakua v celém čase analýzy, a to nejen na počet píků, který vzrostl z 20 na 35, ale i na jejich celkovou plochu, která se téměř dvojnásobně zvětšila.



Obrázek 24: Bavorský slad: porovnání extrakce bez vakua a s vakuem

3.2 Centrálně kompozitní plánování

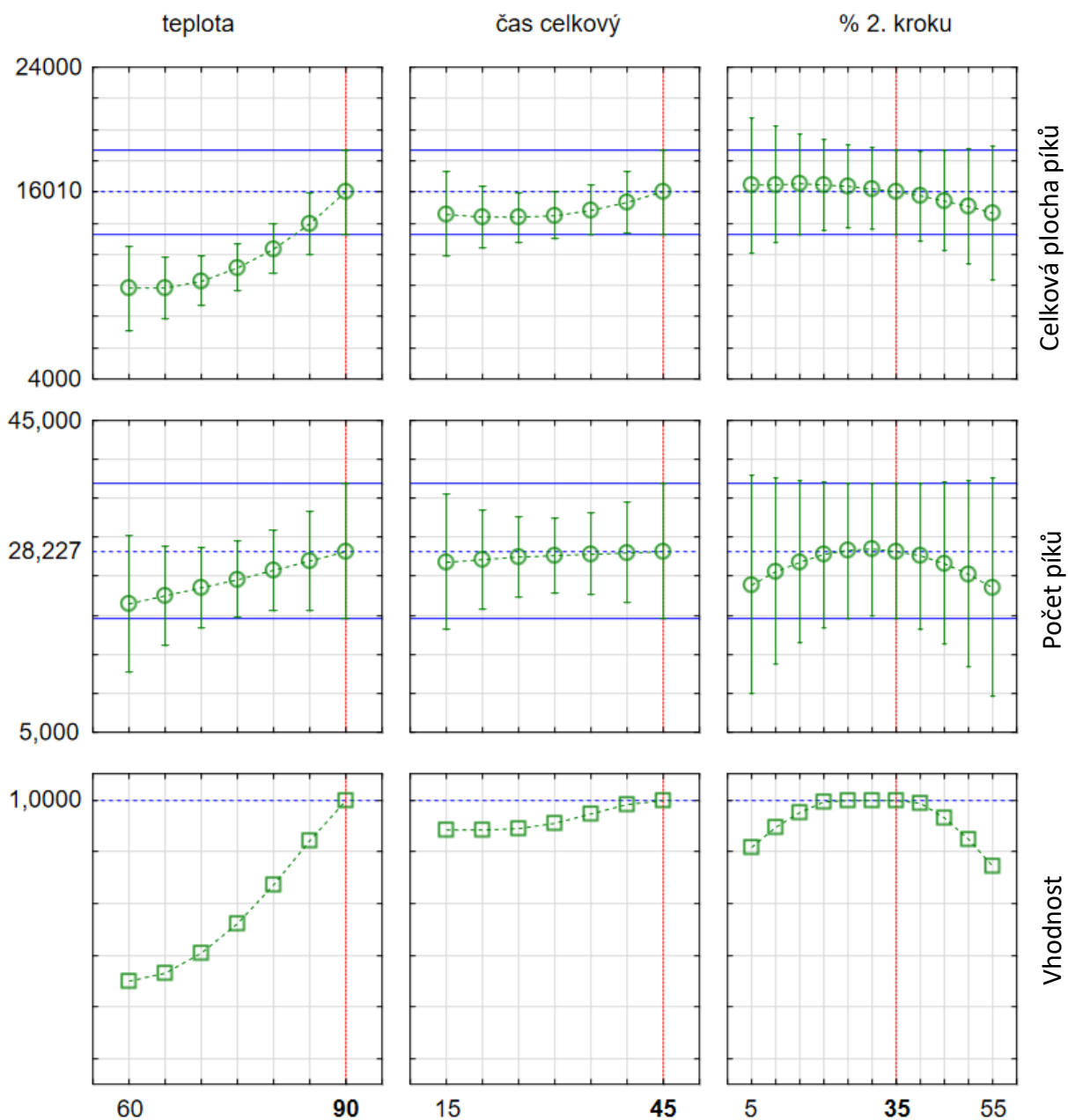
Z přechodících optimalizací byla jako druhá extrakční teplota zvolena 0 °C. Tato teplota se jevila jako vhodnější a byla dále použita pro další experimenty. Pro nalezení vhodných podmínek extrakce bylo využito principů centrálně kompozitního plánování. Pomocí softwaru Statistika 12 byl navržen experiment a pro optimalizaci byly zvolené následující parametry: celkový čas extrakce, teplota prvního kroku extrakce a procenta druhého kroku extrakce. V tabulce 4 je zobrazeno 17 navržených experimentů s třemi kontrolními body (modré označení).

Tabulka 4: Navržené podmínky podle centrálně kompozitního plánování

Číslo měření	Teplota 1. kroku [°C]	Čas extrakce [min]	% 2. kroku	1. krok [min]	2. krok [min]
1	58,3	30,0	30,0	21,0	9,0
2	65,0	20,0	15,0	17,0	3,0
3	65,0	40,0	45,0	22,0	18,0
4	65,0	20,0	45,0	11,0	9,0
5	65,0	40,0	15,0	34,0	6,0
6	75,0	30,0	30,0	21,0	9,0
7	75,0	30,0	30,0	21,0	9,0
8	75,0	13,3	30,0	9,3	4,0
9	75,0	46,7	30,0	32,7	14,0
10	75,0	30,0	4,9	28,5	1,5
11	75,0	30,0	55,1	13,5	16,5
12	75,0	30,0	30,0	21,0	9,0
13	85,0	20,0	45,0	11,0	9,0
14	85,0	40,0	15,0	34,0	6,0
15	85,0	20,0	15,0	17,0	3,0
16	85,0	40,0	45,0	22,0	18,0
17	91,7	30,0	30,0	21,0	9,0

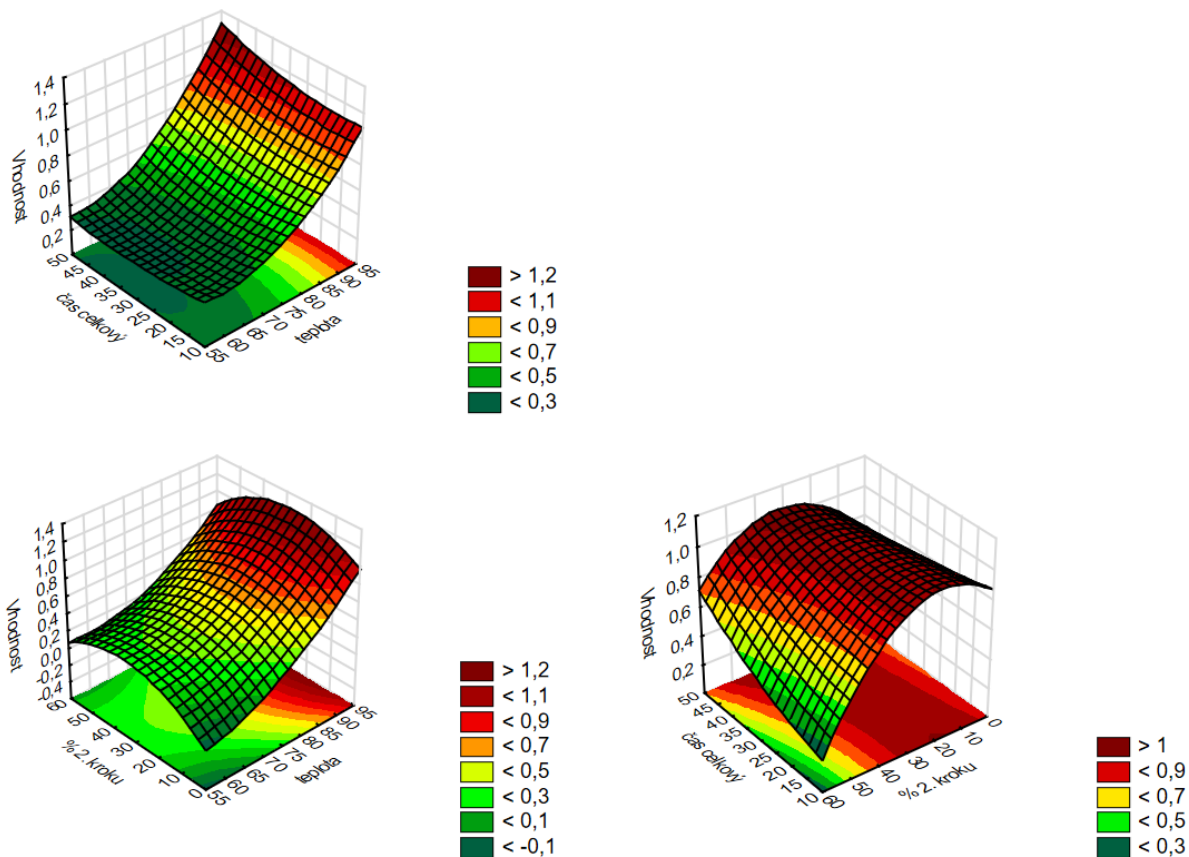
Pozn.: Modře jsou označeny centrální body návrhu

Obrázek 25 znázorňuje odezvoový profil, který popisuje vhodnost optimalizovaných parametrů (celkový čas extrakce, teplota prvního kroku extrakce a procenta druhého kroku extrakce). Ze získaných výsledků pro daný experiment lze konstatovat, že zvolené tři proměnné ovlivňují extrakci těkavých sloučenin, avšak jako statisticky nejvíc významný se jeví především vliv teploty 1. kroku extrakce. Naopak nejméně významným parametrem se jeví celková doba extrakce v rámci optimalizovaného rozsahu.



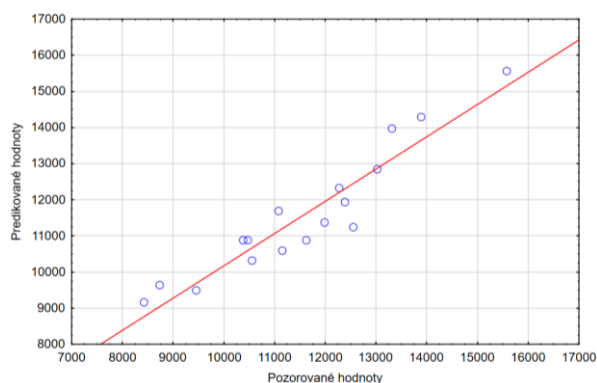
Obrázek 25: Profily pro vhodnost a předpovědi pro optimalizaci Vac-HSSPME

Obrázek 26 zobrazuje 3 odezvové plochy a vzájemný vztah mezi testovanými proměnnými. Tmavě červená barva na jednotlivých grafech znázorňuje maximální hodnoty optimalizovaných parametrů. Pomocí obrázků 24 a 25 byly vyhodnoceny vhodné konečné podmínky pro extrakci těkavých látek z jednotlivých vzorků sladů, které byly následující: extrakční teplota prvního kroku 90 °C, celková doba extrakce 45 minut a procenta 2. kroku 35 %, což odpovídá 15cti minutám.

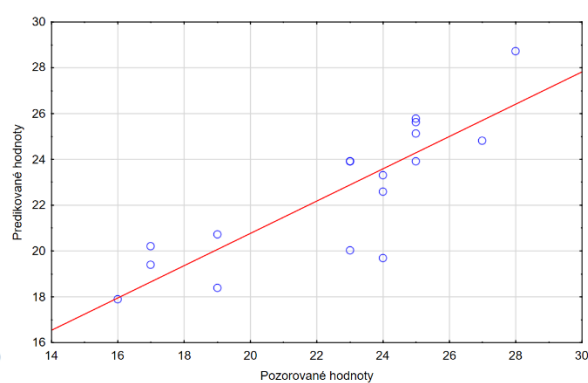


Obrázek 26: Metoda odezvodé plochy pro optimalizaci Vac-HSSPME

Obrázky 27 a 28 znázorňují grafické porovnání vhodnosti metody z pohledu celkové plochy píků a počtu píků, kdy za vhodnější jsou považovány body v grafu, které jsou přímo na červené křivce procházející grafem, nebo jí co nejbliže. Z toho důvodu se zvolené extrakční podmínky jeví jako vhodnější pro celkovou plochu píků nežli pro jejich počet.

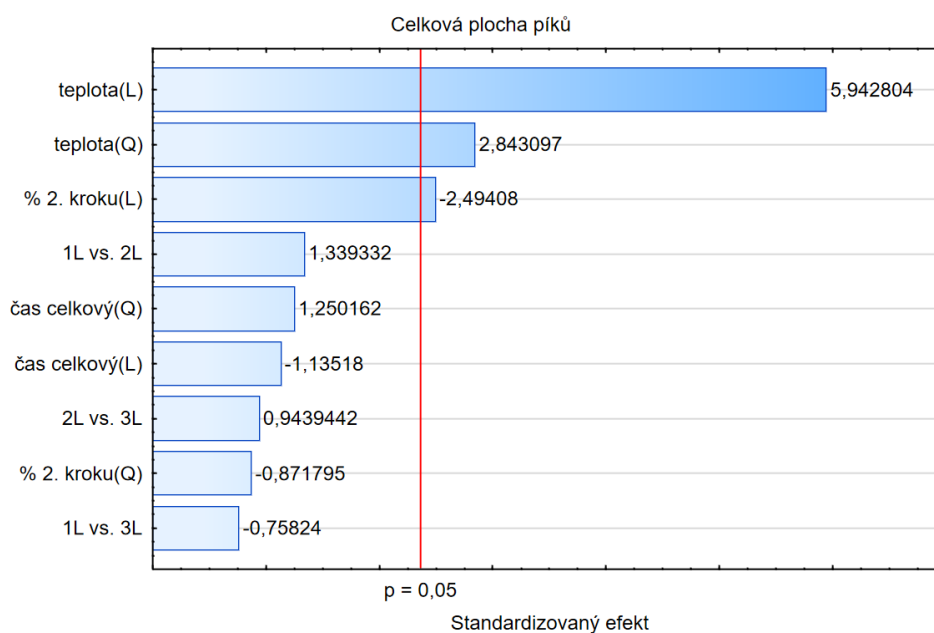


Obrázek 27: Porovnání pozorovaných a předpovězených hodnot pro celkovou plochu píků

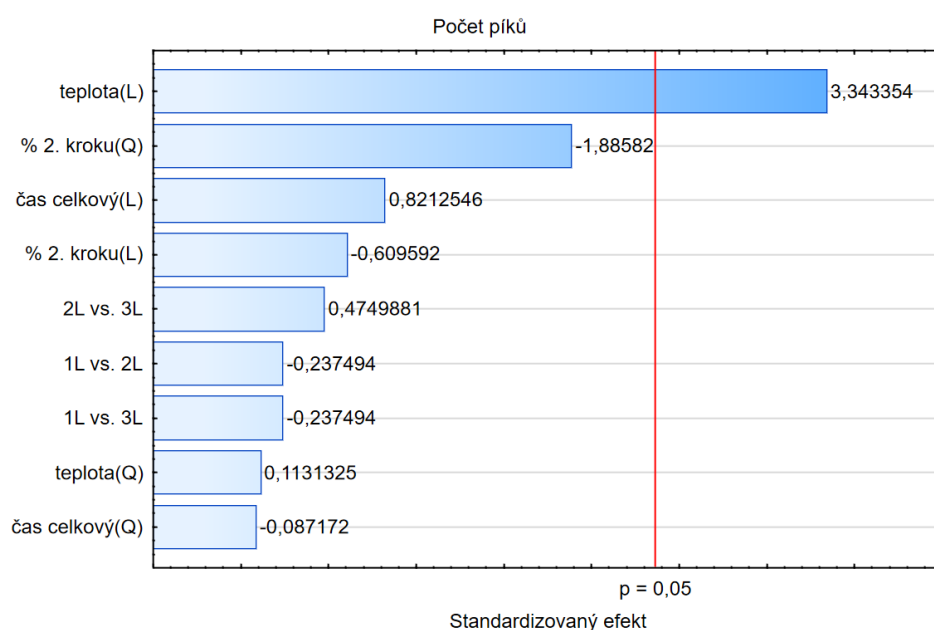


Obrázek 28: Porovnání pozorovaných a předpovězených hodnot pro počet píků

Na obrázcích 29 a 30 jsou zobrazeny Paretovy grafy standardizovaných efektů, které znázorňují význam vybraných experimentálních proměnných pro analýzu pivovarských sladů. Z obrázku 29 vyplývá, že pro celkovou plochu píků je nejdůležitějším parametrem teplota extrakce. Dále se mezi významné faktory řadí i délka druhého kroku extrakce (% 2. kroku). Obrázek 30 znázorňuje Paretův graf standardizovaných efektů pro počet píků, ze kterého vyplývá, že nejdůležitějším parametrem je opět teplota extrakce.



Obrázek 29: Paretův graf standardizovaných efektů pro celkovou plochu píků



Obrázek 30: Paretův graf standardizovaných efektů pro počet píků

3.3 Analýza reálných vzorků sladů a identifikace sloučenin

Cílem této diplomové práce byla analýza celkového profilu těkavých látek pivovarských sladů pomocí metody Vac-HSSPME ve spojení s GC a s kombinací dvou extrakčních teplot. Pro analýzu bylo použito celkem 14 vzorků sladů, které jsou uvedeny v tabulce 2. Na základě optimalizací byla celková doba extrakce 45 minut. V prvním kroku byla teplota 90 °C po dobu 30 minut a následně docházelo k ochlazení na 0 °C pomocí ledové lázně a k extrakci po dobu 15 minut. Celková úprava vzorku před extrakcí je již popsána v kapitole 2.3.1. Po ukončení extrakce následovala analýza pomocí GC, který byl vybaven FID i MS detektorem, podmínky měření jsou popsány v kapitole 2.3.2. Pomocí nástřikového prostoru GC byly uvolněny látky sorbované na vlákně. Analýza GC-MS sloužila k identifikaci látek a analýza pomocí GC-FID sloužila k určení a relativního zastoupení identifikovaných látek. Pro identifikaci látek byly u obou GC systémů rovněž využívány relativní retenční indexy.

V níže uvedených tabulkách jsou zobrazeny sloučeniny detekované a identifikované pomocí GC-MS analýzy a příslušných knihoven a online databáze NIST. Jednotlivé chromatogramy jsou uvedeny v přílohách na obrázcích I/1 až I/14. Dále jsou v přílohách v tabulkách II/1 až II/14 dostupná data ze všech GC-FID analýz.

3.3.1 Skupina ječných sladů

Pro analýzu bylo použito 12 vzorků ječných sladů. Většina pocházela ze sladovny Weyermann Bamberg (Německo), jednalo se o 7 vzorků. Další 4 vzorky pocházely z humnové sladovny v Záhlinicích (ČR). Z pivovaru Primátor Náchod (ČR) pocházel 1 vzorek.

3.3.1.1 Bavorský slad

Pomocí GC-MS analýzy se podařilo v Bavorském sladu z humnové sladovny v Záhlinicích (ČR) detekovat celkem 89 sloučenin, z nichž 37 se nepodařilo identifikovat. V tabulce 5 jsou zobrazeny všechny detekované a identifikované sloučeniny. V příloze I/1 je zobrazen chromatogram z GC-MS analýzy. Výsledky GC-FID analýzy jsou zaznamenány v příloze II/1. Pomocí GC-FID analýzy bylo detekováno celkem 70 sloučenin.

Tabulka 5: Bavorský slad, výsledek GC-MS analýzy

Pořadí	Název	CAS	RI ^a	RI ^k	Shoda [%]
1	NI	-	400*	-	-
2	NI	-	414*	-	-
3	NI	-	448*	-	-
4	Aceton	67-64-1	471*	455	81
5	NI	-	492*	-	-
6	2-Methylpropanal	78-84-2	526	543	96
7	Kyselina octová	64-19-7	560	576	97
8	2-Butanon	78-93-3	573	555	85
9	Ethylester kyseliny octové	141-78-6	599	586	95
10	2-Methylpropanol	78-83-1	614	597	96
11	3-Methylbutanal	590-86-3	639	643	97
12	2-Methylbutanal	96-17-3	650	643	96
13	NI	-	671	-	-
14	Pentanal	110-62-3	692	707	87
15	3-Methylbutylester kyseliny mravenčí	110-45-2	828	818	91
16	NI	-	831	-	-
17	NI	-	862	-	-
18	1-Chloro-3-methoxypropan-2-ol	4151-97-7	885	882	83
19	Glutaraldehyd	111-30-8	898	895	86
20	NI	-	933	-	-
21	NI	-	940	-	-
22	NI	-	949	-	-
23	Hexylester kyseliny mravenčí	629-33-4	971	981	81
24	2-Oktanon	111-13-7	990	989	85
25	Oktanal	124-13-0	1003	1005	85
26	NI	-	1009	-	-
27	2-Chloro-2,2-difluoro-1-phenylethanon	384-67-8	1067	1048	84
28	NI	-	1073	-	-
29	NI	-	1075	-	-
30	1-Nonen-3-ol	21964-44-3	1082	1068	91
31	NI	-	1087	-	-
32	NI	-	1090	-	-
33	NI	-	1104	-	-
34	NI	-	1112	-	-
35	Tetrahydrocarvon	499-70-7	1142	1148	81
36	Fenylethylalkohol	60-12-8	1149	1136	86
37	5-Methylundekan	1632-70-8	1154	1150	90
38	(E)-9-Methyl-3-undecen	74630-54-9	1162	1158	84
39	NI	-	1172	-	-
40	NI	-	1179	-	-
41	NI	-	1184	-	-
42	NI	-	1191	-	-
43	NI	-	1199	-	-
44	Ethyl linalool	92590-71-1	1202	1193	85
45	Dekanal	112-31-2	1207	1204	85
46	NI	-	1221	-	-
47	3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4H-pyran-4-on	28564-83-2	1251	1269	96
48	1-Dekanol	112-30-1	1264	1258	86
49	Kyselina nonanová	112-05-0	1275	1272	88
50	NI	-	1300	-	-
51	Undekanal	112-44-7	1308	1303	91
52	Tridekan	629-50-5	1312	1313	85
53	2,6,11-Trimethyldodekan	31295-56-4	1321	1320	85
54	2,6,10-Trimethyldodekan,	3891-98-3	1340	1320	91
55	4-Methyltridekan	26730-12-1	1353	1349	90
56	2-Methyltridekan	1560-96-9	1362	1349	87

Tabulka 5: Bavorský slad, vyhodnocení GC-MS analýzy – pokračování

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
57	Kyselina n-dekanová	334-48-5	1371	1372	86
58	NI	-	1375	-	-
59	Tetradekan	629-59-4	1383	1400	85
60	NI	-	1389	-	-
61	NI	-	1396	-	-
62	2-Butyloktanol	3913-02-8	1400	1393	92
63	Dodecylester kyseliny trifluoroctové	6222-00-0	1410	1414	88
64	2,6,10-Trimethyltridekan	3891-99-4	1421	1419	89
65	NI	-	1448	-	-
66	5-Heptyldihydro-2(3H)-furanon	104-67-6	1468	1483	87
67	NI	-	1475	-	-
68	Pentadekan	629-62-9	1500	1512	93
69	NI	-	1512	-	-
70	2,6,10-Trimethyltetradekan	14905-56-7	1515	1519	85
71	7-Methylpentadekan	6165-40-8	1556	1548	84
72	5-propyltridekan	55045-11-9	1560	1548	86
73	NI	-	1562	-	-
74	NI	-	1583	-	-
75	NI	-	1587	-	-
76	Hexadecen	629-73-2	1592	1602	86
77	Hexadekan	544-76-3	1600	1600	93
78	2,6,10,14-Tetramethylpentadekan	1921-70-6	1633	1653	82
79	Heptadecen	6765-39-5	1692	1702	91
80	Heptadekan	629-78-7	1700	1711	94
81	NI	-	1723	-	-
82	NI	-	1749	-	-
83	NI	-	1763	-	-
84	Oktadekan	593-45-3	1799	1810	87
85	Oktadekamethylcyklononasiloxan	556-71-8	1874	1860	95
86	NI	-	1906	-	-
87	Methylisostearát	5129-61-3	2027	2013	83
88	Kyselina heptadekanová	506-12-7	2064	2067	81
89	Ethylester kyseliny heptadekanové	14010-23-2	2094	2077	85

Pozn.: RIⁿ – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^k – retenční index nalezený v knihovnách, * – mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno

3.3.1.2 Slad Caraaroma®

Pomocí GC-MS analýzy se podařilo v karamelovém sladu Caraaroma® ze sladovny Weyermann Bamberg (Německo) detekovat celkem 90 sloučenin, z nichž 47 se nepodařilo identifikovat. V tabulce 6 jsou zobrazeny všechny detekované a identifikované sloučeniny. V příloze I/2 je zobrazen chromatogram z GC-MS analýzy. Výsledky GC-FID analýzy jsou zaznamenány v příloze II/2. Pomocí GC-FID analýzy bylo detekováno celkem 75 sloučenin.

Tabulka 6: Slad Caraaroma®, výsledky GC-MS analýzy

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
1	NI	-	413*	-	-
2	NI	-	435*	-	-
3	NI	-	458*	-	-
4	2-Methylpropanal	78-84-2	537	543	94
5	Octan amonný	631-61-8	616	630	96
6	3-Methylbutanal	590-86-3	645	643	97
7	2-Methylbutanal	96-17-3	654	643	95
8	2-Propenylester kyseliny octové	591-87-7	676	676	85
9	NI	-	699	-	-
10	NI	-	805	-	-
11	NI	-	820	-	-
12	NI	-	832	-	-
13	NI	-	839	-	-
14	Ethylenglykol monopropyléter	2807-30-9	847	837	82
15	2-Hydrazinoethanol	109-84-2	892	904	85
16	Glutaraldehyd	111-30-8	900	895	85
17	1-Hydrazino-2-propanol	18501-20-7	903	923	85
18	NI	-	932	-	-
19	NI	-	946	-	-
20	NI	-	955	-	-
21	NI	-	957	-	-
22	NI	-	972	-	-
23	Diethylenglykol	111-46-6	993	980	87
24	NI	-	1010	-	-
25	2-Isopropylimidazol	36947-68-9	1013	1031	82
26	NI	-	1018	-	-
27	1-Oktanol	111-87-5	1060	1159	85
28	NI	-	1065	-	-
29	NI	-	1073	-	-
30	NI	-	1076	-	-
31	1-Nonen-3-ol	21964-44-3	1082	1086	86
32	NI	-	1085	-	-
33	Kyselina heptanová	111-14-8	1089	1073	88
34	NI	-	1091	-	-
35	5-Methyl-5-nonanol	33933-78-7	1104	1107	81
36	NI	-	1113	-	-
37	Fenylethylalkohol	60-12-8	1149	1136	85
38	(E)-9-Methyl-3-undecene	74630-54-9	1162	1158	85
39	NI	-	1174	-	-
40	NI	-	1185	-	-
41	NI	-	1191	-	-
42	1-Dodecene	112-41-4	1207	1204	81
43	1-[(Z)-1-Butenyloxy]heptan	56052-79-0	1210	1199	81
44	NI	-	1220	-	-
45	NI	-	1241	-	-
46	3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4H-pyran-4-on	28564-83-2	1253	1269	97
47	1-Dekanol	112-30-1	1264	1258	85
48	1-Fenyl-1,2-propanolion	579-07-7	1273	1264	85
49	Kyselina nonanová	112-05-0	1277	1272	87
50	NI	-	1287	-	-
51	5-Hydroxy-2-hydroxymethyl-4H-pyran-4-on	501-30-4	1293	1306	82
52	NI	-	1296	-	-
53	Undekanal	112-44-7	1308	1303	88
54	NI	-	1333	-	-
55	2-Fenylethylester kyseliny propanové	122-70-3	1359	1355	84

Tabulka 6: Slad Caraaroma®, výsledky GC-MS analýzy – pokračování

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
56	Kyselina n-dekanová	334-48-5	1372	1372	83
57	NI	-	1376	-	-
58	NI	-	1401	-	-
59	NI	-	1415	-	-
60	NI	-	1421	-	-
61	2,4-Dodekandial	13162-47-5	1424	1418	82
62	2-(5-oxohexyl)-cyckopentanon	15674-93-8	1447	1465	80
63	NI	-	1455	-	-
64	5-Heptyldihydro-2(3H)-furanon	104-67-6	1468	1482	92
65	NI	-	1473	-	-
66	Ethylester kyseliny undekanové	627-90-7	1495	1481	86
67	2-Fenylethyl-2-methyl ester kyseliny butanové	24817-51-4	1498	1493	88
68	NI	-	1512	-	-
69	NI	-	1522	-	-
70	NI	-	1526	-	-
71	NI	-	1562	-	-
72	NI	-	1593	-	-
73	Hexadekan	544-76-3	1599	1612	93
74	Tetradekanol	112-72-1	1693	1680	86
75	Heptadekan	629-78-7	1700	1711	95
76	NI	-	1705	-	-
77	NI	-	1723	-	-
78	NI	-	1763	-	-
79	Oktadekan	593-45-3	1800	1810	83
80	NI	-	1836	-	-
81	Oktadekamethylcyklononasiloxan	556-71-8	1874	1860	88
82	Ethylester kyseliny pentadekanové	41114-00-5	1894	1878	88
83	NI	-	1906	-	-
84	2-Ethylhexylester kyseliny salicylové	118-60-5	1914	1913	92
85	NI	-	1930	-	-
86	Spiroxamin	118134-30-8	1992	1974	88
87	Kyselina heptadekanová	506-12-7	2064	2067	82
88	Ethylester kyseliny heptadekanové	14010-23-2	2094	2077	88
89	Oxacykloheptadec-8-en-2-on	123-69-3	2263	2246	81
90	NI	-	2518	-	-

Pozn.: RIⁿ – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^k – retenční index nalezený v knihovnách, * – mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno

3.3.1.3 Slad Carafa Special III®

Pomocí GC-MS analýzy se podařilo v praženém sladu Carafa Special III® ze sladovny Weyermann Bamberg (Německo) detekovat celkem 90 sloučenin, z nichž 42 se nepodařilo identifikovat. V tabulce 7 jsou zobrazeny všechny detekované a identifikované sloučeniny. V příloze I/3 je zobrazen chromatogram z GC-MS analýzy. Výsledky GC-FID analýzy jsou zaznamenány v příloze II/3. Pomocí GC-FID analýzy bylo detekováno celkem 64 sloučenin.

Tabulka 7: Slad Carafa Special III®, výsledky z GC-MS analýzy

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
1	NI	-	416*	-	-
2	NI	-	450*	-	-
3	Kyselina mravenčí	64-18-6	500	490	96
4	2-Methylpropanal	78-84-2	542	543	92
5	NI	-	570	-	-
6	Kyselina octová	65-19-7	581	576	96
7	3-Methylbutanal	590-86-3	647	643	93
8	2-Methylbutanal	96-17-3	657	643	88
9	NI	-	671	-	-
10	Kyselina propanová	79-09-4	683	676	92
11	Pentanal	110-62-3	698	707	92
12	NI	-	836	-	-
13	Pentylester kyseliny mravenčí	638-49-3	863	882	91
14	Glutaraldehyd	111-30-8	901	895	85
15	4,5-dimethyl-1H-Imidazole	2302-39-8	933	927	83
16	Ethylenglykol diacetát	111-55-7	966	952	96
17	NI	-	990	-	-
18	Oktanal	124-13-0	1003	1005	85
19	NI	-	1013	-	-
20	NI	-	1020	-	-
21	n-Pentylcyclopentan	3741-00-2	1060	1058	85
22	NI	-	1064	-	-
23	Heptylester kyseliny mravenčí	112-23-2	1074	1081	91
24	1-Nonen-3-ol	21964-44-3	1082	1068	92
25	2,5-Oktandion	585-25-1	1085	1088	81
26	NI	-	1091	-	-
27	Kyselina heptanová	111-14-8	1113	1116	85
28	(E,E)-2,4-Nonadienal	5910-87-2	1117	1120	85
29	Tetrahydrocarvon	499-70-7	1142	1148	82
30	NI	-	1159	-	-
31	(E)-9-Methyl-3-undecene	74630-50-5	1162	1158	85
32	Kyselina hexanohydroxamová	4312-93-0	1164	1157	83
33	NI	-	1174	-	-
34	Kyselina oktanová	124-07-2	1188	1173	86
35	NI	-	1191	-	-
36	NI	-	1198	-	-
37	Dekanal	112-31-2	1207	1204	86
38	NI	-	1221	-	-
39	n-Nonyl-cyclopropan	74663-85-7	1235	1216	80
40	NI	-	1264	-	-
41	1-Dekanol	112-30-1	1242	1258	86
42	NI	-	1279	-	-
43	Pentylester kyseliny hexanové	540-07-8	1291	1282	83
44	(E,E)-2,4-Undekadienal	30361-29-6	1300	1319	81
45	NI	-	1304	-	-
46	Undekanal	112-44-7	1309	1303	91
47	NI	-	1318	-	-
48	(E,E)-2,4-Dekadienal	25152-84-5	1321	1322	87
49	NI	-	1333	-	-
50	NI	-	1350	-	-
51	NI	-	1369	-	-
52	NI	-	1373	-	-
53	NI	-	1377	-	-
54	NI	-	1380	-	-
55	2-Butyl-2-oktenal	13019-16-4	1384	1388	85
56	Hexylester kyseliny Hexanové	6378-65-0	1389	1381	81
57	1-Tetradecyn	765-10-6	1400	1411	82

Tabulka 7: Slad Carafa Special III®, výsledky z GC-MS analýzy – pokračování

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
58	NI	-	1411	-	-
59	NI	-	1422	-	-
60	NI	-	1448	-	-
61	NI	-	1451	-	-
62	2-Bromododekan	13187-99-0	1459	1446	82
63	NI	-	1468	-	-
64	NI	-	1475	-	-
65	NI	-	1486	-	-
66	Pentadekan	629-62-9	1500	1512	92
67	Tridekanal	10486-19-8	1512	1502	88
68	NI	-	1522	-	-
69	NI	-	1562	-	-
70	NI	-	1573	-	-
71	Hexadecen	629-73-2	1593	1602	91
72	NI	-	1601	-	-
73	NI	-	1663	-	-
74	NI	-	1692	-	-
75	Heptadekan	629-78-7	1700	1711	80
76	NI	-	1711	-	-
77	6-Oktyltetrahydro-2H-pyran-2-on	7370-92-5	1716	1702	82
78	NI	-	1723	-	-
79	2,6,11,15-Tetramethylhexadekan	504-44-9	1764	1753	88
80	NI	-	1785	-	-
81	Oktadekan	593-45-3	1800	1810	88
82	Oktadekamethylcyklononasiloxan	556-71-8	1874	1860	93
83	Nonadekan	629-92-5	1900	1900	92
84	2-Ethylhexylester kyseliny salicylové	118-60-5	1914	1913	93
85	Butylisobutylester kyseliny ftalové	17851-53-5	1967	1973	93
86	Spiroxamin	118134-30-8	1992	1974	87
87	NI	-	2000	-	-
88	Methylisostearát	5129-61-3	2027	2013	82
89	Kyselina heptadekanová	506-12-7	2064	2067	80
90	Ethylester kyseliny heptadekanové	14010-23-2	2094	2077	85

Pozn.: RIⁿ – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^k – retenční index nalezený v knihovnách, * – mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno

3.3.1.4 Slad Carahell®

Pomocí GC-MS analýzy se podařilo v karamelovém sladu Carahell® ze sladovny Weyermann Bamberg (Německo) detekovat celkem 70 sloučenin, z nichž 32 se nepodařilo identifikovat. V tabulce 8 jsou zobrazeny všechny detekované a identifikované sloučeniny. V příloze I/4 je zobrazen chromatogram z GC-MS analýzy. Výsledky GC-FID analýzy jsou zaznamenány v příloze II/4. Pomocí GC-FID analýzy bylo detekováno celkem 70 sloučenin.

Tabulka 8: Slad Carahell®, výsledky z GC-MS analýzy

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
1	NI	-	406*	-	-
2	NI	-	430*	-	-
3	Ethanol	64-17-5	453*	463	96
4	NI	-	477*	-	-
5	NI	-	495*	-	-
6	NI	-	531	-	-
7	Vinylester kyseliny octové	108-05-4	566	576	91
8	NI	-	581	-	-
9	Ethylester kyseliny octové	141-78-6	602	586	91
10	3-Methylbutanal	590-86-3	642	643	97
11	2-Methylbutanal	96-17-3	652	643	94
12	NI	-	672	-	-
13	NI	-	679	-	-
14	Pentanal	110-62-3	695	707	84
15	Kyselina 2-oxopropanová	127-17-3	801	812	81
16	NI	-	829	-	-
17	NI	-	832	-	-
18	NI	-	857	-	-
19	Glutaraldehyd	111-30-8	900	895	86
20	NI	-	934	-	-
21	NI	-	953	-	-
22	Oktanal	124-13-0	1003	1005	85
23	(E)-3-Methyl-2-Nonen	17003-99-5	1018	1000	85
24	NI	-	1049	-	-
25	n-Pentylcyklopentan	3741-00-2	1060	1058	86
26	2-Chloro-2,2-difluoro-1-fenylethanon	384-67-8	1066	1048	82
27	1-Nonen-3-ol	21964-44-3	1082	1068	94
28	NI	-	1087	-	-
29	Kyselina heptanová	111-14-8	1089	1073	89
30	NI	-	1090	-	-
31	Nonanal	124-19-6	1105	1004	88
32	NI	-	1112	-	-
33	Tetrahydrocarvon	499-70-7	1142	1148	82
34	Fenylethylalkohol	60-12-8	1149	1136	86
35	(E)-9-Methyl-3-undecene	74630-54-9	1162	1158	86
36	NI	-	1173	-	-
37	Kyselina oktanová	124-07-2	1179	1173	85
38	NI	-	1184	-	-
39	NI	-	1193	-	-
40	Ethyl linalool	92590-71-1	1202	1193	85
41	Dekanal	112-31-2	1206	1204	-
42	5-Methylpyrimidin-4,6-diol	18337-63-8	1220	1222	80
43	NI	-	1226	-	-
44	NI	-	1231	-	-
45	3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4H-pyran-4-on	28564-83-2	1252	1269	97
46	1-Dekanol	112-30-1	1264	1258	86
47	Kyselina nonanová	112-05-0	1275	1272	83
48	Undekanal	112-44-7	1308	1303	90
49	2-(1-methyl-2-oxopropyl)-cyklohexanon	67722-25-2	1336	1322	80
50	2-Fenylethylester kyseliny propanové	122-70-3	1359	1355	84
51	Kyselina dekanová	334-48-5	1371	1372	87
52	NI	-	1376	-	-
53	Tetradekan	629-59-4	1400	1413	87
54	NI	-	1448	-	-
55	5-Heptyldihydro-2(3H)-furanon	104-67-6	1468	1483	87

Tabulka 8: Slad Carahell®, výsledky z GC-MS analýzy – pokračování

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
56	NI	-	1473	-	-
57	Pentadekan	629-62-9	1499	1512	83
58	Tridekanal	10486-19-8	1512	1502	88
59	NI	-	1551	-	-
60	NI	-	1562	-	-
61	NI	-	1592	-	-
62	Hexadekan	544-76-3	1599	1612	92
63	NI	-	1692	-	-
64	Heptadekan	629-78-7	1700	1711	94
65	NI	-	1723	-	-
66	NI	-	1763	-	-
67	Oktadekan	593-45-3	1800	1810	81
68	Oktadekamethylcyklononasiloxan	556-71-8	1874	1880	93
69	NI	-	1906	-	-
70	Ethylester kyseliny heptadekanové	14010-23-2	2094	2077	86

Pozn.: RIⁿ – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^k – retenční index nalezený v knihovnách, * – mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno

3.3.1.5 Slad Caramunich II®

Pomocí GC-MS analýzy se podařilo v karamelovém sladu Caramunich II® ze sladovny Weyermann Bamberg (Německo) detekovat celkem 76 sloučenin, z nichž 43 se nepodařilo identifikovat. V tabulce 9 jsou zobrazeny všechny detekované a identifikované sloučeniny. V příloze I/5 je zobrazen chromatogram z GC-MS analýzy. Výsledky GC-FID analýzy jsou zaznamenány v příloze II/5. Pomocí GC-FID analýzy bylo detekováno celkem 68 sloučenin.

Tabulka 9: Slad Caramunich II®, detekované a identifikované sloučeniny z GC-MS analýzy

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
1	NI	-	406*	-	-
2	NI	-	432*	-	-
3	Ethanol	64-17-5	455*	463	95
4	NI	-	481*	-	-
5	NI	-	498*	-	-
6	2-Methylpropanal	78-84-2	532	543	96
7	Octová kyselina	64-19-7	595	576	95
8	3-Methylbutanal	590-86-3	642	643	96
9	2-Methylbutanal	96-17-3	652	643	93
10	NI	-	671	-	-
11	NI	-	806	-	-
12	Ethylenglykol monopropyléter	2807-30-9	847	837	85
13	(S)-2-Heptanol	6033-23-4	886	879	86
14	Glutaraldehyd	111-30-8	900	895	85
15	4,5-Dimethyl-1H-Imidazol	2302-39-8	932	927	81
16	NI	-	946	-	-
17	NI	-	955	-	-
18	NI	-	972	-	-
19	NI	-	1009	-	-
20	NI	-	1013	-	-
21	(E)-3-Methyl-2-nonen	17003-99-5	1018	1000	80
22	NI	-	1049	-	-
23	NI	-	1052	-	-

Tabulka 9: Slad Caramunich II®[®], výsledky z GC-MS analýzy – pokračování

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
24	1-Okanol	111-87-5	1060	1059	84
25	NI	-	1066	-	-
26	NI	-	1073	-	-
27	1-Nonen-3-ol	21964-44-3	1082	1068	88
28	NI	-	1085	-	-
29	NI	-	1087	-	-
30	NI	-	1091	-	-
31	NI	-	1104	-	-
32	5-Methyl-5-nonanol	33933-78-7	1113	1107	80
33	Non-3-en-2-on	14309-57-0	1142	1137	81
34	Fenylethylalkohol	60-12-8	1149	1136	86
35	(E)-9-Methyl-3-undecen	74630-54-9	1162	1158	84
36	NI	-	1172	-	-
37	NI	-	1185	-	-
38	NI	-	1191	-	-
39	NI	-	1198	-	-
40	Ethyl linalool	92590-71-1	1202	1193	82
41	1-Dodecen	112-41-4	1207	1204	81
42	NI	-	1210	-	-
43	NI	-	1215	-	-
44	NI	-	1220	-	-
45	3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4H-pyran-4-on	28564-83-2	1252	1269	96
46	1-Dekanol	112-30-1	1264	1258	86
47	NI	-	1276	-	-
48	5-Hydroxy-2-hydroxymethyl-4H-pyran-4-on	501-30-4	1292	1306	85
49	Undekanal	112-44-7	1308	1303	89
50	NI	-	1315	-	-
51	NI	-	1323	-	-
52	NI	-	1336	-	-
53	N-(2-fenylethyl)formamid	23069-99-0	1359	1379	85
54	Kyselina n-dekanová	334-48-5	1371	1372	86
55	NI	-	1376	-	-
56	NI	-	1400	-	-
57	NI	-	1447	-	-
58	5-Heptyldihydro-2(3H)-furanon	104-67-6	1468	1483	90
59	NI	-	1473	-	-
60	Pentadekan	629-62-9	1500	1512	92
61	Tridekanal	10486-19-8	1512	1502	85
62	NI	-	1562	-	-
63	NI	-	1587	-	-
64	NI	-	1593	-	-
65	Hexadekan	544-76-3	1600	1612	92
66	Heptadekan	629-78-7	1700	1711	94
67	NI	-	1705	-	-
68	NI	-	1723	-	-
69	NI	-	1763	-	-
70	Oktadekan	593-45-3	1800	1810	80
71	NI	-	1835	-	-
72	Oktadekamethylcyklononasiloxan	556-71-8	1874	1860	93
73	NI	-	1906	-	-
74	NI	-	1930	-	-
75	Kyselina heptadekanová	506-12-7	2064	2067	81
76	Ethylester kyseliny heptadekanové	14010-23-	2094	2077	85

Pozn.: RIⁿ – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^k – retenční index nalezený v knihovnách, * – mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno

3.3.1.6 Český slad

Pomocí GC-MS analýzy se podařilo v Českém sladu z humnové sladovny v Záhlinicích (ČR), detekovat celkem 69 sloučenin, z nichž 31 se nepodařilo identifikovat. V tabulce 10 jsou zobrazeny všechny detekované a identifikované sloučeniny. V příloze I/6 je zobrazen chromatogram z GC-MS analýzy. Výsledky GC-FID analýzy jsou zaznamenány v příloze II/6. Pomocí GC-FID analýzy bylo detekováno celkem 71 sloučenin.

Tabulka 10: Český slad, výsledky z GC-MS analýzy

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
1	NI	-	411*	-	-
2	NI	-	434*	-	-
3	NI	-	458*	-	-
4	NI	-	502	-	-
5	2-Methylpropanal	78-84-2	537	543	96
6	NI	-	586	-	-
7	Ethylester kyseliny octové	141-78-6	606	586	81
8	NI	-	618	-	-
9	3-Methylbutanal	590-86-3	645	643	97
10	2-Methylbutanal	96-17-3	655	643	95
11	NI	-	670	-	-
12	NI	-	679	-	-
13	Pentanal	110-62-3	698	707	85
14	3-Methylbutylester kyseliny mravenčí	110-45-2	830	818	88
15	NI	-	833	-	-
16	NI	-	864	-	-
17	(S)-2-Heptanol	6033-23-4	896	879	81
18	Heptanal	111-71-7	901	905	86
19	1-Hydrazino-2-propanol	18501-20-7	905	923	83
20	NI	-	934	-	-
21	NI	-	942	-	-
22	NI	-	951	-	-
23	1,2-Epoxycyklooktan	286-62-4	956	970	84
24	Hexylester kyseliny mravenčí	629-33-4	970	981	95
25	2-Oktanon	111-13-7	991	989	86
26	Oktanal	124-13-0	1004	1005	83
27	NI	-	1010	-	-
28	1-Heptyl-2-methylcyklopropan	74663-91-5	1061	1078	85
29	NI	-	1067	-	-
30	NI	-	1074	-	-
31	1-Nonen-3-ol	21964-44-3	1083	1068	92
32	Kyselina heptanová	111-14-8	1088	1073	91
33	NI	-	1091	-	-
34	Nonanal	124-19-6	1105	1104	80
35	Tetrahydrocarvon	499-70-7	1143	1148	83
36	Fenylethylalkohol	60-12-8	1149	1136	84
37	(E)-9-Methyl-3-undecen	74630-54-9	1163	1158	84
38	NI	-	1175	-	-
39	Kyselina oktanová	124-07-2	1179	1173	83
40	NI	-	1199	-	-
41	Dekanal	112-31-2	1207	1204	87
42	NI	-	1231	-	-
43	1-Dekanol	112-30-1	1265	1258	86
44	Kyselina nonanová	112-05-0	1275	1272	87
45	Undekanal	112-44-7	1309	1303	90

Tabulka 10: Český slad, výsledky z GC-MS analýzy – pokračování

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
46	Kyselina n-dekanová	334-48-5	1371	1372	86
47	NI	-	1397	-	-
48	NI	-	1448	-	-
49	5-Heptyldihydro-2(3H)-furanon	104-67-6	1468	1483	89
50	NI	-	1475	-	-
51	Pentadekan	629-62-9	1500	1512	93
52	Tridekanal	10486-19-8	1512	1502	89
53	NI	-	1551	-	-
54	NI	-	1562	-	-
55	Hexadecen	629-73-2	1593	1602	86
56	Hexadekan	544-76-3	1600	1612	92
57	Heptadekan	629-78-7	1700	1711	95
58	NI	-	1723	-	-
59	NI	-	1749	-	-
60	NI	-	1763	-	-
61	Oktadekan	593-45-3	1800	1810	84
62	Oktadekamethylcyklononasiloxan	556-71-8	1874	1860	94
63	NI	-	1944	-	-
64	Butylisobutylester kyseliny ftalové	17851-53-5	1967	1973	90
65	NI	-	2000	-	-
66	NI	-	2018	-	-
67	Methylisostearát	5129-61-3	2027	2013	82
68	Kyselina heptadekanová	506-12-7	2064	2067	83
69	Ethylester kyseliny heptadekanové	14010-23-2	2094	2077	84

Pozn.: RIⁿ – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^k – retenční index nalezený v knihovnách, * – mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno

3.3.1.7 Ječný slad Primátor

Pomocí GC-MS analýzy se podařilo v Ječném sladu z Pivovaru Primátor (Náchod), detekovat celkem 80 sloučenin, z nichž 34 se nepodařilo identifikovat. V tabulce 11 jsou zobrazeny všechny detekované a identifikované sloučeniny. V příloze I/7 je zobrazen chromatogram z GC-MS analýzy. Výsledky GC-FID analýzy jsou zaznamenány v příloze II/7. Pomocí GC-FID analýzy bylo detekováno celkem 57 sloučenin.

Tabulka 11: Ječný slad Primátor, výsledky z GC-MS analýzy

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
1	NI	-	411*	-	-
2	NI	-	427*	-	-
3	NI	-	460*	-	-
4	NI	-	484*	-	-
5	NI	-	505	-	-
6	2-Methylpropanal	78-84-2	539	543	96
7	NI	-	558	-	-
8	Octová kyselina	64-19-7	578	576	94
9	NI	-	618	-	-
10	3-Methylbutanal	590-86-3	645	643	96
11	2-Methylbutanal	96-17-3	654	643	95
12	3,3-Dimethyl-2-butanon	75-97-8	661	669	83
13	NI	-	671	-	-
14	Pentanal	110-62-3	697	707	84
15	3-Methylbutylester kyseliny mravenčí	110-45-2	830	818	90

Tabulka 11: Ječný slad Primátor, výsledky z GC-MS analýzy – pokračování

Pořadí	Název	CAS	RI ^a	RI ^k	Shoda [%]
16	2-Methylbutylester kyseliny mravenčí	35073-27-9	832	818	83
17	Pentylester kyseliny mravenčí	638-49-3	865	882	87
18	(S)-2-Heptanol	543-49-7	887	879	85
19	4-Hydroxy-3-methylbutanal	56805-34-6	900	885	81
20	Glutaraldehyd	111-30-8	901	895	86
21	NI	-	934	-	-
22	NI	-	940	-	-
23	NI	-	949	-	-
24	n-Butylcyklopentan	2040-95-1	955	959	85
25	Hexylester kyseliny mravenčí	629-33-4	970	981	95
26	Kyselina hexanová	142-62-1	985	974	89
27	2-Oktanon	111-13-7	991	989	85
28	Oktanal	124-13-0	1004	1005	86
29	n-Pentylcyclopentan	3741-00-2	1060	1058	85
30	NI	-	1067	-	-
31	Heptylester kyseliny mravenčí	112-23-2	1074	1081	83
32	1-Nonen-3-ol	21964-44-3	1082	1068	92
33	NI	-	1091	-	-
34	NI	-	1094	-	-
35	Nonanal	124-19-6	1105	1104	88
36	NI	-	1142	-	-
37	Fenylethylalkohol	60-12-8	1149	1136	86
38	NI	-	1159	-	-
39	(E)-9-Methyl-3-undecen	74630-54-9	1162	1158	86
40	NI	-	1174	-	-
41	Kyselina oktanová	124-07-2	1180	1173	85
42	NI	-	1198	-	-
43	Dekanal	112-31-2	1207	1204	87
44	NI	-	1221	-	-
45	NI	-	1231	-	-
46	1-Dekanol	112-30-1	1264	1258	87
47	Kyselina nonanová	112-05-0	1276	1272	88
48	Tridekan	629-50-5	1300	1313	93
49	Undekanal	112-44-7	1308	1303	90
50	Kyselina n-dekanová	334-48-5	1373	1372	88
51	NI	-	1447	-	-
52	5-Heptyldihydro-2(3H)-furanon	104-67-6	1468	1483	91
53	NI	-	1475	-	-
54	Pentadekan	629-62-9	1500	1512	94
55	Tridekanal	10486-19-8	1512	1502	91
56	NI	-	1551	-	-
57	NI	-	1562	-	-
58	NI	-	1587	-	-
59	Hexadecen	629-73-2	1593	1602	90
60	Hexadekan	544-76-3	1600	1612	93
61	Heptadecen	6765-39-5	1693	1701	91
62	7,9-dimethylhexadecan	21164-95-4	1700	1682	90
63	NI	-	1723	-	-
64	NI	-	1763	-	-
65	Oktadekan	593-45-3	1800	1810	90
66	Nonadekan	629-92-5	1900	1910	91
67	NI	-	1906	-	-
68	2-Ethylhexylester kyseliny salicylové	118-60-5	1913	1913	94
69	NI	-	1930	-	-
70	NI	-	1944	-	-
71	Mono-4-methylpentylester kyseliny ftalové	848131-14-6	1967	1963	86
72	NI	-	2000	-	-

Tabulka 11: Ječný slad Primátor, výsledky z GC-MS analýzy – pokračování

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
73	NI	-	2016	-	-
74	Methylisostearát	5129-61-3	2027	2013	83
75	Kyselina heptadekanová	506-12-7	2064	2067	83
76	Ethylester kyseliny heptadekanové	14010-23-2	2094	2077	86
77	Dokosan	629-97-0	2200	2008	90
78	Oxacykloheptadec-8-en-2-on	123-69-3	2237	2246	87
79	NI	-	2264	-	-
80	NI	-	2294	-	-

Pozn.: RIⁿ – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^k – retenční index nalezený v knihovnách, * – mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno

3.3.1.8 Nakuřovaný slad

Pomocí GC-MS analýzy se podařilo v Nakuřovaném sladů ze sladovny Weyermann Bamberg (Německo), detekovat celkem 69 sloučenin, z nichž 38 se nepodařilo identifikovat. V tabulce 12 jsou zobrazeny všechny detekované a identifikované sloučeniny. V příloze I/8 je zobrazen chromatogram z GC-MS analýzy. Výsledky GC-FID analýzy jsou zaznamenány v příloze II/8. Pomocí GC-FID analýzy bylo detekováno celkem 70 sloučenin.

Tabulka 12: Nakuřovaný slad, detekované a identifikované sloučeniny z GC-MS analýzy

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
1	NI	-	353*	-	-
2	NI	-	377*	-	-
3	NI	-	401*	-	-
4	NI	-	422*	-	-
5	NI	-	445*	-	-
6	Dimethyl sulfid	75-18-3	466*	471	95
7	Isobutylen epoxid	558-30-5	481*	483	86
8	NI	-	505	-	-
9	NI	-	531	-	-
10	NI	-	552	-	-
11	Ethylester kyseliny octové	141-78-6	573	586	95
12	NI	-	591	-	-
13	Butanal	123-72-8	620	607	84
14	2,2-Dimethylpropanal	630-19-3	630	622	87
15	2-Methylbutanal	96-17-3	639	643	96
16	NI	-	671	-	-
17	NI	-	682	-	-
18	3-Methylbutylester kyseliny mravenčí	110-45-2	820	818	89
19	2-Okten	111-67-1	823	824	85
20	1-Chlorohexan	544-10-5	858	843	83
21	4-Hydroxy-3-methylbutanal	56805-34-6	892	885	83
22	Glutaraldehyd	111-30-8	895	895	86
23	NI	-	929	-	-
24	NI	-	937	-	-
25	NI	-	946	-	-
26	NI	-	952	-	-
27	1-Heptanol	111-70-6	972	960	88
28	2-Oktanon	111-13-7	988	989	85
29	Oktanal	124-13-0	1001	1005	82
30	NI	-	1007	-	-
31	NI	-	1015	-	-

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

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
32	NI	-	1022	-	-
33	2-Chloro-2,2-difluoro-1-fenylethanon	384-67-8	1065	1048	83
34	NI	-	1076	-	-
35	Kyselina heptanová	111-14-8	1085	1073	88
36	NI	-	1089	-	-
37	Ethylester kyseliny heptanové	106-30-9	1098	1083	82
38	NI	-	1110	-	-
39	Fenylethylalkohol	60-12-8	1148	1136	85
40	NI	-	1178	-	-
41	NI	-	1183	-	-
42	NI	-	1190	-	-
43	NI	-	1198	-	-
44	Dekanal	112-31-2	1206	1204	86
45	NI	-	1231	-	-
46	Kyselina nonanová	112-05-0	1274	1272	85
47	NI	-	1294	-	-
48	Undekanal	112-44-7	1308	1303	90
49	Kyselina n-dekanová	334-48-5	1371	1372	85
50	NI	-	1376	-	-
51	NI	-	1397	-	-
52	NI	-	1447	-	-
53	2,6-Dimethoxyfenylacetát	944-99-0	1454	1439	87
54	5-Heptyldihydro-2(3H)-furanon	104-67-6	1468	1483	86
55	NI	-	1475	-	-
56	Pentadekan	629-62-9	1500	1512	91
57	NI	-	1549	-	-
58	NI	-	1562	-	-
59	NI	-	1592	-	-
60	Hexadekan	544-76-3	1599	1612	92
61	NI	-	1612	-	-
62	NI	-	1626	-	-
63	Heptadekan	629-78-7	1700	1711	92
64	NI	-	1723	-	-
65	NI	-	1763	-	-
66	Octadekamethylcyklononasiloxan	556-71-8	1874	1618	93
67	Kyselina heptadekanová	506-12-7	2064	2067	83
68	Ethylester kyseliny heptadekanové	14010-23-2	2094	2077	85
69	Oxacykloheptadec-8-en-2-on	123-69-3	2264	2246	81

Pozn.: RIⁿ – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^k – retenční index nalezený v knihovnách, * – mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno

3.3.1.9 Karamelový slad

Pomocí GC-MS analýzy se podařilo v Karamelovém sladu z humnové sladovny v Záhlnicích (ČR), detekovat celkem 90 sloučenin, z nichž 42 se nepodařilo identifikovat. V tabulce 13 jsou zobrazeny všechny detekované a identifikované sloučeniny. V příloze I/9 je zobrazen chromatogram z GC-MS analýzy. Výsledky GC-FID analýzy jsou zaznamenány v příloze II/9. Pomocí GC-FID analýzy bylo detekováno celkem 59 sloučenin.

Tabulka 13: Karamelový slad, výsledky z GC-MS analýzy

Pořadí	Název	CAS	RI ^a	RI ^k	Shoda [%]
1	NI	-	406*	-	-
2	NI	-	426*	-	-
3	Ethanol	64-17-5	451*	463	94
4	NI	-	474*	-	-
5	2-Methylpropanal	78-84-2	531	543	97
6	Kyselina mravenčí	64-18-6	549	490	96
7	Vinylester kyseliny octové	108-05-4	565	576	86
8	NI	-	579	-	-
9	Octan amonný	631-61-8	614	630	96
10	3-Methylbutanal	590-86-3	642	643	97
11	2-Methylbutanal	96-17-3	652	643	95
12	NI	-	673	-	-
13	Hydroxypropanon	116-09-6	681	698	86
14	Pentanal	110-62-3	694	707	83
15	NI	-	800	-	-
16	Pentylester kyseliny mravenčí	638-49-3	863	882	89
17	Glutaraldehyd	111-30-8	899	895	86
18	1-Hydrazino-2-propanol	18501-20-7	905	923	85
19	NI	-	908	-	-
20	NI	-	932	-	-
21	NI	-	957	-	-
22	NI	-	985	-	-
23	NI	-	990	-	-
24	Oktanal	124-13-0	1003	1005	84
25	NI	-	1010	-	-
26	2-Isopropylimidazol	36947-68-9	1013	1031	84
27	4-Decen	19398-89-1	1018	1023	84
28	1-Oktanol	111-87-5	1060	1059	86
29	NI	-	1066	-	-
30	NI	-	1073	-	-
31	1-Nonen-3-ol	21964-44-3	1082	1068	93
32	NI	-	1087	-	-
33	NI	-	1091	-	-
34	Kyselina heptanová	111-14-8	1093	1073	89
35	5-Methyl-5-nonanol	33933-78-7	1104	1107	82
36	(E,E)-2,4-Nonadienal	5910-87-2	1117	1120	82
37	Tetrahydrocarvon	499-70-7	1142	1148	83
38	Fenylethylalkohol	60-12-8	1149	1136	86
39	(E)-9-Methyl-3-undecen	74630-54-9	1162	1158	86
40	Kyselina hexanohydroxamová	4312-93-0	1165	1157	83
41	NI	-	1172	-	-
42	NI	-	1179	-	-
43	NI	-	1185	-	-
44	NI	-	1191	-	-
45	(E)-2-Hexenylester kyseliny butanové	53398-83-7	1197	1191	84
46	1-Dodecen	112-41-4	1207	1204	85
47	NI	-	1210	-	-
48	NI	-	1220	-	-
49	NI	-	1224	-	-
50	NI	-	1231	-	-
51	3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4H-pyran-4-on	28564-83-2	1252	1269	97
52	1-Dekanol	112-30-1	1264	1258	87
53	NI	-	1276	-	-
54	5-Hydroxy-2-hydroxymethyl-4H-pyran-4-on	501-30-4	1292	1306	83
55	3,5-Dimethyldodekan	107770-99-0	1300	1285	80
56	Undekanal	112-44-7	1308	1303	90

Tabulka 13: Karamelový slad, výsledky z GC-MS analýzy – pokračování

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
57	NI	-	1321	-	-
58	NI	-	1332	-	-
59	6-Dodekanon	6064-27-3	1349	1350	82
60	5-Methyltridecan	25117-31-1	1362	1349	82
61	Kyselina n-dekanová	334-48-5	1372	1372	87
62	2,5-Dimethyltridecane	56292-66-1	1375	1384	86
63	NI	-	1377	-	-
64	NI	-	1400	-	-
65	Dodekanal	112-54-9	1410	1402	89
66	2,6,10-Trimethyltridekan	3891-99-4	1421	1419	84
67	NI	-	1424	-	-
68	NI	-	1447	-	-
69	5-Heptyldihydro-2(3H)-furanon	104-67-6	1468	1483	85
70	NI	-	1473	-	-
71	Pentadekan	629-62-9	1500	1512	91
72	Tridekanal	10486-19-8	1512	1502	90
73	NI	-	1551	-	-
74	NI	-	1562	-	-
75	NI	-	1588	-	-
76	Hexadecen	629-73-2	1593	1602	86
77	Hexadekan	544-76-3	1600	1612	92
78	NI	-	1633	-	-
79	Tetradekanol	112-72-1	1693	1680	88
80	Heptadekan	629-78-7	1700	1711	95
81	NI	-	1705	-	-
82	NI	-	1723	-	-
83	NI	-	1763	-	-
84	Octadekan	593-45-3	1800	1810	86
85	NI	-	1835	-	-
86	Oktadekamethylcyklononasiloxan	556-71-8	1874	1860	94
87	NI	-	1906	-	-
88	NI	-	1930	-	-
89	Kyselina heptadekanová	506-12-7	2063	2067	81
90	Ethylester kyseliny heptadekanové	14010-23-2	2094	2077	85

Pozn.: RIⁿ – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^k – retenční index nalezený v knihovnách, * – mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno

3.3.1.10 Mnichovský slad

Pomocí GC-MS analýzy se podařilo v Mnichovském sladu ze sladovny Weyermann Bamberg (Německo), detekovat celkem 87 sloučenin, z nichž 34 se nepodařilo identifikovat. V tabulce 14 jsou zobrazeny všechny detekované a identifikované sloučeniny. V příloze I/10 je zobrazen chromatogram z GC-MS analýzy. Výsledky GC-FID analýzy jsou zaznamenány v příloze II/10. Pomocí GC-FID analýzy bylo detekováno celkem 55 sloučenin.

Tabulka 14: Mnichovský slad, výsledky z GC-MS analýzy

Pořadí	Název	CAS	RI ^a	RI ^k	Shoda [%]
1	NI	-	406*	-	-
2	NI	-	429*	-	-
3	NI	-	451*	-	-
4	NI	-	495*	-	-
5	2-Methylpropanal	78-84-2	531	543	97
6	NI	-	601	-	-
7	Octan amonný	631-61-8	610	630	95
8	2-Methylpropanol	78-83-1	615	597	93
9	3-Methylbutanal	590-86-3	641	643	97
10	2-Methylbutanal	96-17-3	652	643	95
11	NI	-	673	-	-
12	3-Methylbutylester kyseliny mravenčí	110-45-2	828	818	89
13	2,2'-Azoisobutan	927-83-3	832	817	86
14	NI	-	875	-	-
15	NI	-	877	-	-
16	(S)-2-Heptanol,	6033-23-4	892	879	85
17	Glutaraldehyd	111-30-8	900	895	86
18	2-Hydroxyethylhydrazin	109-84-2	902	904	86
19	NI	-	933	-	-
20	Hexylester kyseliny mravenčí	629-33-4	970	981	91
21	2-Oktanon	111-13-7	991	989	87
22	NI	-	1009	-	-
23	1-Decen	872-05-9	1018	1005	81
24	NI	-	1066	-	-
25	NI	-	1073	-	-
26	1-Nonen-3-ol	21964-44-3	1082	1068	90
27	Kyselina heptanová	111-14-8	1087	1073	90
28	NI	-	1091	-	-
29	NI	-	1113	-	-
30	Fenylethylalkohol	60-12-8	1149	1136	86
31	NI	-	1154	-	-
32	(E)-9-Methyl-3-undecene	74630-50-5	1162	1158	83
33	NI	-	1172	-	-
34	NI	-	1184	-	-
35	NI	-	1191	-	-
36	1-Dodecen	112-41-4	1207	1204	84
37	NI	-	1210	-	-
38	NI	-	1220	-	-
39	3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4H-pyran-4-on	28564-83-2	1251	1259	97
40	1-Dekanol	112-30-1	1264	1258	86
41	Kyselina nonanová	112-05-0	1275	1272	87
42	Tridekan	629-50-5	1300	1313	91
43	Undekanal	112-44-7	1308	1303	90
44	NI	-	1334	-	-
45	2-Methyltridekan	1560-96-9	1341	1349	85
46	NI	-	1352	-	-
47	5-Methyltridecan	25117-31-1	1362	1349	87
48	Kyselina n-dekanová	334-48-5	1371	1372	87
49	2,5-Dimethyltridekan	56292-66-1	1375	1384	83
50	Tetradekan	629-59-4	1400	1413	90
51	Dodekanal	112-54-9	1410	1402	89
52	NI	-	1418	-	-
53	2,6,10-Trimethyltridekan	3891-99-4	1421	1419	89
54	NI	-	1447	-	-
55	5-Heptyldihydro-2(3H)-furanon	104-67-6	1468	1483	89
56	NI	-	1473	-	-

Tabulka 14: Mnichovský slad, výsledky z GC-MS analýzy – pokračování

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
57	2-Methyl-6-propyl-dodekan	55045-08-4	1500	1483	90
58	Tridekanal	10486-19-8	1512	1502	82
59	Pentadekan	629-62-9	1515	1512	86
60	NI	-	1551	-	-
61	7-methylpentadekan	6165-40-8	1556	1548	83
62	5-Propyltridekan	55045-11-9	1560	1548	83
63	NI	-	1562	-	-
64	NI	-	1593	-	-
65	Hexadekan	544-76-3	1600	1612	93
66	NI	-	1633	-	-
67	2,6,10,14-Tetramethylpentadekan	1921-70-6	1664	1653	85
68	1,1'-Oxybisoktan	629-82-3	1692	1688	83
69	Heptadekan	629-78-7	1700	1711	95
70	NI	-	1723	-	-
71	NI	-	1763	-	-
72	2-Hexyldekanol,	2425-77-6	1794	1790	83
73	Oktadekan	593-45-3	1800	1810	88
74	NI	-	1835	-	-
75	Oktadekamethylcyklononasiloxan	556-71-8	1874	1860	93
76	Ethylester kyseliny pentadekanové	41114-00-5	1894	1878	85
77	Nonadekan	629-92-5	1900	1910	92
78	NI	-	1906	-	-
79	2-Ethylhexylester kyseliny salicylové	118-60-5	1913	1913	94
80	Butylisobutylester kyseliny ftalové	17851-53-5	1967	1973	90
81	NI	-	2000	-	-
82	Methylisostearát	5129-61-3	2027	2013	83
83	Kyselina heptadekanová	506-12-7	2064	2067	84
84	Ethylester kyseliny heptadekanové	14010-23-2	2094	2077	86
85	Ethylester kyseliny linolové	544-35-4	2196	2193	88
86	Dokosan	629-97-0	2200	2208	89
87	Oxacykloheptadec-8-en-2-on	123-69-3	2237	2246	88

Pozn.: RIⁿ – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^k – retenční index nalezený v knihovnách, * – mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno

3.3.1.11 Slad Pale Ale

Pomocí GC-MS analýzy se podařilo v sladu Pale Ale ze sladovny Weyermann Bamberg (Německo), detekovat celkem 75 sloučenin, z nichž 35 se nepodařilo identifikovat. V tabulce 15 jsou zobrazeny všechny detekované a identifikované sloučeniny. V příloze I/11 je zobrazen chromatogram z GC-MS analýzy. Výsledky GC-FID analýzy jsou zaznamenané v příloze II/11. Pomocí GC-FID analýzy bylo detekováno celkem 65 sloučenin.

Tabulka 15: Slad Pale Ale, detekované a identifikované sloučeniny z GC-MS analýzy

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
1	NI	-	414*	-	-
2	NI	-	440*	-	-
3	Ethanol	64-17-5	463*	463	93
4	NI	-	485*	-	-
5	NI	-	506	-	-
6	2-Methylpropanal	78-84-2	542	543	96
7	Kyselina octová	64-19-7	574	576	96

Tabulka 15: Slad Pale Ale, výsledky z GC-MS analýzy – pokračování

Pořadí	Název	CAS	RI ^a	RI ^b	Shoda [%]
8	Ethylester kyseliny octové	141-78-6	606	586	88
9	NI	-	621	-	-
10	3-Methylbutanal	590-86-3	646	643	96
11	2-Methylbutanal	96-17-3	656	643	95
12	NI	-	671	-	-
13	NI	-	771	-	-
14	3-Methylbutylester kyseliny mravenčí	110-45-2	831	818	86
15	NI	-	833	-	-
16	Pentylester kyseliny mravenčí	638-49-3	866	882	85
17	Glutaraldehyd	111-30-8	901	895	86
18	NI	-	933	-	-
19	NI	-	941	-	-
20	Hexylester kyseliny mravenčí	629-33-4	971	981	95
21	2-Oktanon	111-13-7	991	989	87
22	Oktanal	124-13-0	1004	1005	85
23	NI	-	1024	-	-
24	NI	-	1067	-	-
25	Kyselina heptanová	111-14-8	1087	1073	91
26	NI	-	1091	-	-
27	Nonanal	124-19-6	1105	1104	87
28	NI	-	1142	-	-
29	Fenylethylalkohol	60-12-8	1149	1136	86
30	(E)-9-Methyl-3-undecene	74630-50-5	1163	1158	85
31	NI	-	1172	-	-
32	NI	-	1178	-	-
33	NI	-	1184	-	-
34	NI	-	1191	-	-
35	NI	-	1199	-	-
36	Ethyl linalool	92590-71-1	1202	1193	83
37	Dekanal	112-31-2	1207	1204	87
38	Benzylhydrazin	555-96-4	1228	1235	82
39	NI	-	1231	-	-
40	3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4H-pyran-4-on	28564-83-2	1251	1269	92
41	1-Dekanol	112-30-1	1265	1258	88
42	Kyselina nonanová	112-05-0	1274	1272	87
43	Tridekan	629-50-5	1300	1313	87
44	Undekanal	112-44-7	1308	1303	90
45	NI	-	1313	-	-
46	Kyselina n-dekanová	334-48-5	1371	1372	87
47	2,5-Dimethyltridekan	56292-66-1	1375	1355	85
48	NI	-	1398	-	-
49	NI	-	1423	-	-
50	NI	-	1448	-	-
51	5-Heptyldihydro-2(3H)-furanon	104-67-6	1468	1483	86
52	NI	-	1475	-	-
53	Pentadekan	629-62-9	1500	1512	93
54	Tridekanal	10486-19-8	1512	1502	82
55	NI	-	1551	-	-
56	NI	-	1562	-	-
57	NI	-	1588	-	-
58	NI	-	1593	-	-
59	Hexadekan	544-76-3	1600	1612	92
60	NI	-	1633	-	-
61	Heptadekan	629-78-7	1700	1711	94
62	NI	-	1723	-	-

Tabulka 15: Slad Pale Ale, výsledky z GC-MS analýzy – pokračování

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
63	NI	-	1749	-	-
64	NI	-	1763	-	-
65	Oktadekan	593-45-3	1800	1810	85
66	Octadecamethylcyklononasiloxan	556-71-8	1874	1860	93
67	Butylisobutylester kyseliny ftalové	17851-53-5	1967	1973	90
68	Spiroxamin	118134-30-8	1991	1974	88
69	NI	-	2018	-	-
70	Methylisostearát	5129-61-3	2027	2013	80
71	Kyselina heptadekanová	506-12-7	2064	2067	82
72	Ethylester kyseliny heptadekanové	14010-23-2	2094	2077	85
73	Dokosan	629-97-0	2200	2208	86
74	Oxacykloheptadec-8-en-2-on	123-69-3	2237	2246	85
75	NI	-	2300	-	-

Pozn.: RIⁿ – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^k – retenční index nalezený v knihovnách, * – mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno

3.3.1.12 Pražený slad

Pomocí GC-MS analýzy se podařilo v Praženém sladu z humnové sladovny v Záhlinicích (ČR), detekovat celkem 81 sloučenin, z nichž 43 se nepodařilo identifikovat. V tabulce 16 jsou zobrazeny všechny detekované a identifikované sloučeniny. V příloze I/12 je zobrazen chromatogram z GC-MS analýzy. Výsledky GC-FID analýzy jsou zaznamenány v příloze II/12. Pomocí GC-FID analýzy bylo detekováno celkem 68 sloučenin.

Tabulka 16: Pražený slad, detekované a identifikované sloučeniny z GC-MS analýzy

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
1	NI	-	414*	-	-
2	NI	-	440*	-	-
3	NI	-	487*	-	-
4	Kyselina octová	64-19-7	570	576	96
5	NI	-	583	-	-
6	NI	-	597	-	-
7	3-Methylbutanal	590-86-3	645	643	93
8	2-Methylbutanal	96-17-3	656	643	89
9	NI	-	671	-	-
10	Kyselina propanová	79-09-4	683	676	91
11	Pentanal	110-62-3	698	707	92
12	NI	-	835	-	-
13	Pentylester kyseliny mravenčí	638-49-3	863	882	91
14	Glutaraldehyd	111-30-8	901	895	85
15	NI	-	928	-	-
16	4,5-dimethyl-1H-Imidazole	2302-39-8	932	927	82
17	NI	-	954	-	-
18	Ethylenglykol diacetát	111-55-7	966	952	96
19	2-Kctanon	111-13-7	990	989	83
20	Oktanal	124-13-0	1003	1005	86
21	NI	-	1013	-	-
22	NI	-	1019	-	-
23	1-Oktanol	111-87-5	1060	1059	85
24	NI	-	1064	-	-
25	1-Nonen-3-ol	21964-44-3	1082	1068	92

Tabulka 16. Pražený slad, výsledky z GC-MS analýzy – pokračování

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
26	NI	-	1091	-	-
27	Kyselina heptanová	111-14-8	1105	1116	82
28	NI	-	1110	-	-
29	NI	-	1136	-	-
30	Tetrahydrocarvon	499-70-7	1142	1148	82
31	NI	-	1159	-	-
32	(E)-9-Methyl-3-undecen	74630-54-9	1162	1158	85
33	Kyselina hexanohydroxamová	4312-93-0	1164	1157	82
34	NI	-	1174	-	-
35	NI	-	1183	-	-
36	Kyselina oktanová	124-07-2	1187	1173	83
37	NI	-	1190	-	-
38	(E)-2-Hexenylester kyseliny butanové,	53398-83-7	1197	1191	84
39	Dekanal	112-31-2	1207	1204	86
40	NI	-	1220	-	-
41	NI	-	1261	-	-
42	1-Dekanol	112-30-1	1264	1258	85
43	NI	-	1268	-	-
44	NI	-	1283	-	-
45	(E,E)-2,4-Undekadienal	30361-29-6	1304	1319	82
46	Undekanal	112-44-7	1308	1303	91
47	NI	-	1316	-	-
48	(E,E)-2,4-Dekadienal	25152-84-5	1321	1322	86
49	NI	-	1333	-	-
50	NI	-	1335	-	-
51	NI	-	1350	-	-
52	NI	-	1369	-	-
53	NI	-	1373	-	-
54	NI	-	1380	-	-
55	Hexylester kyseliny hexanové	6378-65-0	1388	1381	81
56	(E,E)-2,4-Dodekadienal	21662-16-8	1400	1418	83
57	NI	-	1421	-	-
58	NI	-	1424	-	-
59	2-(5-Oxoohexyl)-cyklopentanon	15674-93-8	1448	1465	80
60	NI	-	1451	-	-
61	2-Bromododekan	13187-99-0	1459	1446	82
62	NI	-	1463	-	-
63	(E)-2-Dodekenal	20407-84-5	1468	1469	81
64	NI	-	1473	-	-
65	NI	-	1485	-	-
66	NI	-	1522	-	-
67	NI	-	1562	-	-
68	Hexadecen	629-73-2	1593	1602	88
69	NI	-	1601	-	-
70	NI	-	1663	-	-
71	Heptadecan	629-78-7	1700	1711	88
72	NI	-	1723	-	-
73	NI	-	1749	-	-
74	2,6,11,15-Tetramethylhexadekan	504-44-9	1764	1753	87
75	NI	-	1785	-	-
76	Cyklopentadekan	295-48-7	1794	1799	86
77	Oktadekan	593-45-3	1800	1810	88
78	Butylisobutylester kyseliny ftalové	17851-53-5	1967	1973	90
79	Methylisostearát	5129-61-3	2027	2013	82
80	Kyselina heptadekanová	506-12-7	2064	2067	81
81	Ethylester kyseliny heptadekanové	14010-23-2	2094	2077	85

Pozn.: RIⁿ – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^k – retenční index nalezený v knihovnách, * – mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno

3.3.2 Skupina pšeničných sladů

3.3.2.1 Wheat malt

Pomocí GC-MS analýzy se podařilo ve sladu Wheat Malt z humnové sladovny v Záhlnicích (ČR) detekovat celkem 70 sloučenin, z nichž 21 se nepodařilo identifikovat. V tabulce 17 jsou zobrazeny všechny detekované a identifikované sloučeniny. V příloze I/13 je zobrazen chromatogram z GC-MS analýzy. Výsledky GC-FID analýzy jsou zaznamenány v příloze II/13. Pomocí GC-FID analýzy bylo detekováno celkem 72 sloučenin.

Tabulka 17: Wheat malt, detekované a identifikované sloučeniny z GC-MS analýzy

Pořadí	Název	CAS	RI ^a	RI ^k	Shoda [%]
1	NI	-	369*	-	-
2	NI	-	392*	-	-
3	NI	-	414*	-	-
4	NI	-	437*	-	-
5	Isobutylen epoxid	558-30-5	495*	483	84
6	2-Butanon	78-93-3	544	555	90
7	Ethylester kyseliny octové	141-78-6	566	586	86
8	Kyselina octová	64-19-7	587	576	96
9	2-Methylpropanol	78-83-1	600	597	94
10	3-Methylbutanal	590-86-3	627	643	97
11	2-Methylbutanal	96-17-3	637	643	96
12	NI	-	669	-	-
13	NI	-	679	-	-
14	NI	-	689	-	-
15	3-Methylbutylester kyseliny mravenčí	110-45-2	822	818	89
16	NI	-	826	-	-
17	NI	-	857	-	-
18	NI	-	862	-	-
19	2-Heptanol	543-49-7	889	879	84
20	Glutaraldehyd	111-30-8	894	895	86
21	2-Hydrazinoethanol	109-84-2	901	904	84
22	Hexylester kyseliny mravenčí	629-33-4	967	981	95
23	2-Oktanon	111-13-7	988	989	86
24	Oktanal	124-13-0	1001	1005	85
25	Heptylester kyseliny mravenčí	112-23-2	1072	1081	90
26	1-Nonen-3-ol	21964-44-3	1081	1068	89
27	Kyselina heptanová	111-14-8	1087	1073	92
28	NI	-	1089	-	-
29	Nonanal	124-19-6	1104	1104	85
30	R-(+)-1-Fenylpropanol	1565-74-8	1141	1155	82
31	Fenylethylalkohol	60-12-8	1148	1136	82
32	1-Nonanol	143-08-8	1174	1159	88
33	Kyselina oktanová	124-07-2	1178	1173	85
34	NI	-	1198	-	-
35	Dekanal	112-31-2	1206	1204	86
36	Benzylhydrazin	555-96-4	1220	1235	89
37	NI	-	1231	-	-
38	1-Dekanol	112-30-1	1264	1258	85
39	Kyselina nonanová	112-05-0	1274	1272	82
40	Methylcyklodekan	13151-43-4	1277	1260	86
41	Tridekan	629-50-5	1299	1313	92
42	Undekanal	112-44-7	1308	1303	91
43	Kyselina n-dekanová	334-48-5	1371	1372	87

Tabulka 17: Wheat malt, výsledky z GC-MS analýzy – pokračování

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
44	2,5-Dimethyltridekan	56292-66-1	1374	1384	85
45	NI	-	1384	-	-
46	Hexylester kyseliny hexanové	6378-65-0	1388	1381	83
47	NI	-	1448	-	-
48	5-Heptyldihydro-2(3H)-furanon	104-67-6	1468	1483	92
49	NI	-	1475	-	-
50	Pentadekan	629-62-9	1500	1512	94
51	NI	-	1551	-	-
52	NI	-	1562	-	-
53	Hexadecen	629-73-2	1592	1602	93
54	Hexadekan	544-76-3	1600	1612	93
55	2,6,10,14-Tetramethylpentadekan	1921-70-6	1663	1653	82
56	Heptadecen	6765-39-5	1692	1701	89
57	Heptadekan	629-78-7	1700	1711	95
58	NI	-	1723	-	-
59	2,6,11,15-Tetramethylhexadekan	504-44-9	1763	1753	85
60	Oktadekan	593-45-3	1800	1810	90
61	Oktadekamethylcyklononasiloxan	556-71-8	1874	1860	92
62	Nonadekan	629-92-5	1900	1910	92
63	NI	-	1906	-	-
64	Butylisobutylester kyseliny ftalové	17851-53-5	1967	1973	92
65	NI	-	2000	-	-
66	Methylisostearát	5129-61-3	2027	2013	83
67	Kyselina heptadekanová	506-12-7	2064	2067	83
68	Ethylester kyseliny heptadekanové	14010-23-2	2094	2077	85
69	Oxacykloheptadec-8-en-2-on	123-69-3	2237	2246	87
70	Isopropyl linoleát	22882-95-7	2265	2228	83

Pozn.: RIⁿ – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^k – retenční index nalezený v knihovnách, * – mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno

3.3.2.2 Pšeničný slad

Pomocí GC-MS analýzy se podařilo v Pšeničném sladu z humnové sladovny v Záhlnicích (ČR), detekovat celkem 91 sloučenin, z nichž 36 se nepodařilo identifikovat. V tabulce 18 jsou zobrazeny všechny detekované a identifikované sloučeniny. V příloze I/14 je zobrazen chromatogram z GC-MS analýzy. Výsledky GC-FID analýzy jsou zaznamenány v příloze II/14. Pomocí GC-FID analýzy bylo detekováno celkem 64 sloučenin.

Tabulka 18: Pšeničný slad, detekované a identifikované sloučeniny z GC-MS analýzy

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
1	NI	-	417*	-	-
2	NI	-	443*	-	-
3	Ethanol	64-17-5	464*	463	96
4	NI	-	489*	-	-
5	NI	-	508	-	-
6	2-Methylpropanal	78-84-2	544	543	96
7	Kyselina octová	64-19-7	573	576	95
8	Ethylester kyseliny octové	141-78-6	608	606	85
9	NI	-	620	-	-
10	3-Methylbutanal	590-86-3	647	643	96
11	2-Methylbutanal	96-17-3	658	643	96
12	NI	-	671	-	-
13	NI	-	681	-	-

Tabulka 18: Pšeničný slad, výsledky z GC-MS analýzy – pokračování

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
14	NI	-	729	-	-
15	3-Methylbutylester kyseliny mravenčí	110-45-2	831	818	88
16	2,2'-Azoisobutan	927-83-3	834	817	84
17	Pentylester kyseliny mravenčí	638-49-3	864	882	89
18	2-Heptanol	543-49-7	885	879	84
19	1-Chloro-3-methoxypropan-2-ol	4151-97-7	897	882	82
20	Glutaraldehyd	111-30-8	901	895	86
21	Hexylester kyseliny mravenčí	629-33-4	970	981	95
22	Kyselina hexanová	142-62-1	987	974	83
23	2-Oktanon	111-13-7	991	989	95
24	Oktanal	124-13-0	1003	1005	84
25	Heptylester kyseliny mravenčí	112-23-2	1074	1081	86
26	1-Nonen-3-ol	21964-44-3	1082	1068	93
27	NI	-	1087	-	-
28	Kyselina heptanová	111-14-8	1090	1073	89
29	NI	-	1091	-	-
30	Nonanal	124-19-6	1105	1104	86
31	Non-3-en-2-on	14309-57-0	1142	1137	83
32	Fenylethylalkohol	60-12-8	1149	1136	85
33	5-Methylundekan	1632-70-8	1154	1150	92
34	NI	-	1160	-	-
35	(E)-9-Methyl-3-undecene	74630-54-9	1162	1158	85
36	NI	-	1172	-	-
37	1-Nonanol	143-08-8	1175	1159	90
38	NI	-	1189	-	-
39	NI	-	1193	-	-
40	NI	-	1198	-	-
41	Dekanal	112-31-2	1207	1204	86
42	NI	-	1221	-	-
43	NI	-	1225	-	-
44	NI	-	1231	-	-
45	3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4H-pyran-4-on	28564-83-2	1251	1269	97
46	NI	-	1255	-	-
47	(E)-2-Decen-1-ol	18409-18-2	1264	1266	85
48	Kyselina nonanová	112-05-0	1276	1272	85
49	Tridekan	629-50-5	1300	1313	92
50	Undekanal	112-44-7	1308	1303	89
51	2,7,10-Trimethyldodekan	74645-98-0	1313	1320	82
52	Anhydrid kyseliny pentanové	2082-59-9	1324	1319	82
53	NI	-	1335	-	-
54	5-Methyltridekan	25117-31-1	1362	1349	86
55	Kyselina n-dekanová	334-48-5	1371	1372	83
56	2,5-Dimethyltridekan	56292-66-1	1375	1384	83
57	NI	-	1377	-	-
58	NI	-	1384	-	-
59	Hexylester kyseliny Hexanové	6378-65-0	1388	1381	81
60	NI	-	1392	-	-
61	NI	-	1397	-	-
62	2-Butyloktanol	3913-02-8	1400	1393	91
63	NI	-	1415	-	-
64	2,6,10-Trimethyltridekan	3891-99-4	1421	1419	85
65	NI	-	1448	-	-
66	5-Heptyldihydro-2(3H)-furanon	104-67-6	1468	1483	91
67	NI	-	1475	-	-
68	Pentadekan	629-62-9	1500	1512	94
69	NI	-	1506	-	-

Tabulka 18: Pšeničný slad, výsledky z GC-MS analýzy – pokračování

Pořadí	Název	CAS	RI ⁿ	RI ^k	Shoda [%]
70	Tridekanal	10486-19-8	1512	1502	91
71	NI	-	1557	-	-
72	NI	-	1562	-	-
73	Hexadecen	629-73-2	1593	1602	92
74	Hexadekan	-	1600	-	-
75	NI	-	1643	-	-
76	Cyklotetradekan	295-17-0	1693	1679	89
77	Heptadekan	629-78-7	1700	1711	95
78	NI	-	1723	-	-
79	2,6,11,15-Tetramethylhexadekan	504-44-9	1763	1753	83
80	Oktadekan	593-45-3	1800	1810	90
81	Oktadekamethylcyklononasiloxan	556-71-8	1874	1860	92
82	NI	-	1894	-	-
83	Nonadekan	629-92-5	1900	1910	92
84	NI	-	1907	-	-
85	Butylisobutylester kyseliny ftalové	17851-53-5	1966	1973	89
86	NI	-	2000	-	-
87	Methylisostearát	5129-61-3	2027	2013	83
88	Kyselina heptadekanová	506-12-7	2064	2067	83
89	Ethylester kyseliny heptadekanové	14010-23-2	2094	2077	85
90	Oxacykloheptadec-8-en-2-on	123-69-3	2237	2246	88
91	NI	-	2295	-	-

Pozn.: RIⁿ – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^k – retenční index nalezený v knihovnách, * – mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno

3.4 Zhodnocení dosažených výsledků

Na základě výsledků GC-MS analýz byly jednotlivé slady mezi sebou porovnány. Nejvíce látek v ječných sladech se podařilo identifikovat v Mnichovském sladu ze sladovny Weyermann a Bavorském sladu z humnové sladovny v Záhlnicích. V případě Mnichovského sladu se jednalo o 53 sloučenin a u Bavorského sladu bylo identifikováno 52 sloučenin. Naopak nejméně látek bylo identifikováno v Nakuřovaném sladu z humnové sladovny v Záhlnicích a sladu Caramunich II® ze sladovny Weyermann, v prvním případě bylo identifikováno pouze 31 a u druhého sladu pouze 33 sloučenin. Při porovnání pšeničných sladů se nejvíce sloučenin podařilo identifikovat v sladu Wheat malt z humnové sladovny v Záhlnicích, a to celkem 55.

Mezi nejčastěji identifikovanými sloučeninami byly aldehydy, organické kyseliny a jejich estery a dále alkoholy. V menší míře byly ve sladech identifikovány heterocyklické sloučeniny obsahující dusík nebo kyslík. Nejčastěji identifikovanými aldehydy byly 2-methylpropanal, 2-methylbutanal a 3-methylbutanal, které jsou typickými těkavými látkami pro slady. Tyto tři aldehydy byly identifikovány celkem v 10 sladech. Ve sladech Carahell®, Praženém sladu a sladu Wheat malt nebyl z těchto tří aldehydů identifikován 2-methylpropanal. V Nakuřovaném sladu byl identifikován pouze 2-methylbutanal. Mezi kyseliny a jejich estery, které byly identifikované téměř ve všech vzorcích sladů, patří např. kyselina heptadekanová a ethylester kyseliny heptadekanové. Pouze ve sladu Carahell® nebyla identifikována kyselina heptadekanová. Nejčastěji zastoupenými

alkoholy byly 1-dekanol a fenylethylalkohol. 1-dekanol byl identifikován celkem ve 12 sladech kromě Nakuřovaného sladu a sladu Wheat malt. Fenylethylalkohol nebyl identifikován pouze v Bavorském sladu, sladu Carafa Special III® a Praženém sladu.

3.4.1 Porovnání ječných a pšeničných sladů

Při porovnání identifikovaných sloučenin v ječných a pšeničných sladech byl nalezen rozdíl pouze v několika sloučeninách, které byly identifikovány jen v pšeničných nebo naopak ječných sladech. Například sloučeniny isopropyl linoleát a methylcyklodekan byly nalezeny pouze v pšeničném sladu. Naopak sloučeniny, které se objevily pouze v ječných sladech, jsou např. (S)-2-heptanol, dokosan, 2-ethylhexylester kyseliny salicylové a 1-dodecen.

3.4.2 Porovnání klasických a speciálních sladů

Pokud budou porovnány klasické a speciální slady, mohou zejména speciální slady obsahovat navíc jiné sloučeniny, které se mohou tvořit při rozdílných krocích výroby a tvoří pak specifické sensorické vlastnosti piva.

Skupina karamelových sladů (Caraaroma®, Caramunich II® a Carahell® ze sladovny Weyermann a Karamelový slad ze sladovny v Záhlnicích) obsahovaly navíc ethylenglykol monopropyléter, diethylenglykol, 2-isopropylimidazol, 2-fenylethylester kyseliny propanové a vinyléster kyseliny octové. Další skupinou jsou pražené slady (Carafa special III® ze sladovny Weyermann a Pražený slad ze sladovny v Záhlnicích). Tyto slady navíc oproti klasickým obsahovaly 4,5-dimethyl-1H-imidazole, ethylenglykol diacetát, (E,E)-2,4-dekadienal, 2-bromododekan a (E,E)-2,4-undekadienal. Nakuřovaný slad ze sladovny v Záhlnicích navíc obsahoval dimethyl sulfid, 1-chlorohexan a 2,6-dimethoxyfenylacetát.

4 ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce byla analýza těkavých složek pivovarských sladů za využití kombinace sorpčních teplot ve spojení s modifikovanou vakuem asistovanou SPME metodou. Záměrem byla jejich identifikace pomocí knihoven hmotnostních spekter a naměřených retenčních indexů.

V teoretické části jsou popsány jak klasické, tak speciální slady a technologický postup jejich výroby od příjmu ječmene až po skladování hotového sladu. Další kapitoly byly věnovány vonným látkám obsažených v potravinách a zejména ve sladech a v pivu. Následující kapitoly byly zaměřeny na metodu mikroextrakce tuhou fází, její princip, optimalizaci podmínek extrakce a využití při analýze rostlinných matric. Je zde popsána i vakuem asistovaná mikroextrakce tuhou fází a stručně jsou popsány i možnosti další modifikace SPME. Nakonec byla popsána mikroextrakce tuhou fází ve spojení s plynovou chromatografií a možnosti kvalitativního vyhodnocování získaných dat.

Experimentální část diplomové práce je zaměřena na použití kombinace sorpčních teplot ve spojení s modifikovanou SPME metodou využívající podtlaku. Nejprve bylo v předběžných experimentech zkoumáno, zda bude jako vhodnější druhá teplota extrakce 0 °C (ledová lázeň), nebo pokojová teplota 30 °C. Po porovnání byla jako vhodnější zvolena ledová lázeň. Dále byl zkoumán i vliv vakua, který byl vyhodnocen jako pozitivní jak na celkovou plochu píků, tak na jejich počet. Po zvolení vhodné teploty extrakce byly optimalizovány další parametry pomocí centrálně kompozitního plánování experimentů. Na základě výsledků byla jako nejefektivnější zvolena teplota extrakce v prvním kroku 90 °C po dobu 30 minut a v druhém kroku 0 °C po dobu 15 minut. Před procesem extrakce bylo vždy tvořeno vakuum přímo ve skleněné nádobce se vzorkem.

Jednotlivé vzorky pivovarských sladů byly analyzovány pomocí konečných optimalizovaných podmínek. Z výsledků GC-MS analýzy a následné identifikace pomocí knihoven hmotnostních spekter byly sestaveny aromaprofily jednotlivých sladů. Při porovnání jednotlivých druhů sladů byly nalezeny rozdíly. Lze tedy říci, že způsob výroby má vliv na jejich celkových aromaprofil.

Pokud bude srovnána klasická HS-SPME a Vac-HSSPME při použití kombinace extrakčních teplot, má vytvořené vakuum pozitivní vliv na celkovou plochu píků i počet píků získaných během extrakce. Nevýhodou použití kombinace sorpčních teplot byla nemožnost využití automatizace, kterou přístroj GC-2030 s kombinací FID a MS-QP2020 NX detekce, vybavený též autosamplerem, poskytuje.

Na závěr byla porovnána náročnost použití druhé teploty extrakce 30 °C a 0 °C. V případě 30 °C byla celková manipulace velmi jednoduchá, protože pro tuto teplotu byl použit druhý termostat, a tak byla celá nádobka i s vloženým vláknem jednoduše přesunuta bez nutnosti sundávání ze stojanu, na kterém byla připevněna. Při použití ledové lázně byla manipulace s nádobkou se vzorkem, ve které bylo vloženo vlákno, lehce náročnější a také náchylnější k poškození vlákna. V případě 30 °C bylo třeba použít dva termostaty, zatímco u 0 °C stačil jeden termostat a pro přípravu ledové lázně byla použita kádinka. Z hlediska náročnosti je jednodušší použití 30 °C jako druhé teploty extrakce. Zvoleno bylo ale 0 °C, protože při porovnání s 30 °C byla získána větší celková plocha.

5 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] BASAŘOVÁ, Gabriela. *Pivovarství: teorie a praxe výroby piva*. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2010. ISBN 978-80-7080-734-7.
- [2] ZDANIEWICZ, Marek, Aneta PATER, Olga HRABIA, Robert DULINSKY a Monika CIOCH-SCONECZNY. Tritordeum malt: An innovative raw material for beer production. *Journal of Cereal Science*. 2020, **96**(1), 103095.
- [3] ARENDT, E. K. a E. ZANNINI. *Cereal grains for the food and beverage industries*. Cambridge: Woodhead publishing, 2013. ISBN 978-0-85709-413-1.
- [4] TICHÁ, Markéta a Petra VYZÍNOVÁ. *Ječmen* [online]. 2006 [cit. 2019-05-21]. Dostupné z: <https://cit.vfu.cz/vegetabilie/plodiny/czech/jecmen.htm>.
- [5] *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Volume 5, 7th edition. Weinheim, Wiley-VCH. 2009.
- [6] HOYLE, Aaron, Maree BRENNAN, Nicholas PITTS, Gail E. JACKSON a Steve HOAD. Relationship between specific weight of spring barley and malt quality. *Journal of Cereal Science*. 2020, **95**(1), 103006
- [7] BASAŘOVÁ, Gabriela. *Sladařství: teorie a praxe výroby sladu*. Praha: Havlíček Brain Team, 2015. ISBN 978-80-87109-47-2.
- [8] SACHAMBULA, Lenka, Vratislav PSOTA, Markéta MUSILOVÁ, Vladimíra HORÁKOVÁ, Aleš PŘINOSIL, František ŠMÍD, Karolína ADÁMKOVÁ a Martin ADAM. Malting Quality of Spring Wheat Varieties. *Kvasný průmysl*. 2017, **63**(6), 314–322.
- [9] BRIGGS, Dennis E, Chris A BOULTON, Peter A BROOKES a Roger STEVENS. *Brewing Science and Practice*. Cambridge: Woodhead Publishing, 2004. ISBN 978-1-85573-490-6.
- [10] CEPPI, Elena L. M. a Oreste V. BRENNA. Brewing with Rice Malt — A Gluten-free Alternative. *Journal of the Institute of Brewing*. 2012, **116**(3), 275–279.
- [11] CECCARONI, Dayana, Valeria SILEONI, Ombretta MARCONI, Giovanni DE FRANCESCO, Eung GWAN LEE a Giuseppe PERRETTI. Specialty rice malt optimization and improvement of rice malt beer aspect and aroma. *LWT: Food Science and Technology*. 2019, **99**(4), 299–305.

- [12] Rice malt. In: *Gluten Free Home Brewing* [online]. [cit. 2021-02-09]. Dostupné z: <https://www.glutenfreehomebrewing.com/>.
- [13] MULDER, Chris J. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology: Malts and Malting*. John Wiley, 2005. ISBN 9780471484943.
- [14] KÜCK, Ulrich a Nicole FRANKENBERG-DINKEL. *Biotechnology*. Berlin: De Gruyter, 2015. ISBN 978-3-11-034110-2.
- [15] KADLEC, Pavel. *Technologie potravin*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002. ISBN 80-708-0510-2.
- [16] KOSAŘ, Karel. *Technologie výroby sladu a piva*. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2000. ISBN 80-902-6586-3.
- [17] MURAMATSU, Yoshiki, Akio TAGAWA, Takamasa KASAI a Kei TAKEYA. Volume changes of wheat and barley soaking in water. *Journal of Food Engineering*. 2006, **73**(4), 364–369.
- [18] BENEŠOVÁ, Karolína, Sylvie BĚLÁKOVÁ, Renata MIKULÍKOVÁ a Zdeněk SVOBODA. Determination of proteolytic enzyme activity during malting. *Kvasný průmysl*. 2018, **64**(6), 318–322.
- [19] KOK, Yee Jiun, Lijuan YE, Jeroen MULLER a Dave Siak Wei OW. Brewing with malted barley or raw barley: what makes the difference in the processes? *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2019, **103**(4), 1059–1067
- [20] KLEINWÄCHTER, Maik, Ann-Kathrin MEYER a Dirk SELMAR. Malting revisited: Germination of barley (*Hordeum vulgare* L.) is inhibited by both oxygen deficiency and high carbon dioxide concentrations. *Food Chemistry*. 2012, **132**(1), 476–481.
- [21] ROSENTRATER, Kurt A a Anthony D. EVERS. *Kent's Technology of Cereals*. 5th edition. Cambridge: Elsevier, 2018. ISBN 978-0-08-100529-3.
- [22] SOARES, Maiara Aparecida Bomfim, Luiz Mario de Matos JORGE a Flávia Daiana MONTANUCI. Drying kinetics of barley grains and effects on the germination index. *Food Science and Technology*. 2016, **36**(4), 638–645.
- [23] RYNIECKI, Antoni, Marzena GAWRYSIAK-WITULSKA a Jolanta WAWRZYŃIAK. Correlation for the automatic identification of drying endpoint in near-ambient dryers: Application to malting barley. *Biosystems Engineering*. 2007, **98**(4), 437–445.

- [24] HOFF, Signe, Marianne N. LUND, Mikael A. PETERSEN, Birthe M. JESPERSEN a Mogens L. ANDERSEN. Quality of pilsner malt and roasted malt during storage. *Journal of the Institute of Brewing*. 2014, **120**(4), 331–340.
- [25] MOŠTEK, Josef. *Sladařství: Biochemie a technologie sladu*. Praha: SNTL, 1975.
- [26] GRUMEZESCU a Alexandru MIHAI. *Food Packaging - Nanotechnology in the Agri-Food Industry*. Cambridge: Elsevier, 2017. ISBN 978-0-12-804302-8.
- [27] LINDEN, Guy a Denis LORIENT. *New Ingredients in Food Processing*. Cambridge: Woodhead Publishing, 1999. ISBN 978-1-85573-443-2.
- [28] CEJPEK, Karel. Vonné a chuťové látky sladů. *Chemické listy*. 2014, **108**(5), 426–435.
- [29] DONG, Lian, Xiao ZHANG, Yingmin HOU, Zhongping SHI a Yongzhe PIAO. Analysis of volatile compounds from a malting process using headspace solid-phase microextraction and GC-MS. *Food Research International*. 2013, **51**(2), 783–789.
- [30] CRAMER, Anne Chrystelle J., Dennis Scott MATTINSON, John Keegan FELLMAN a Byung-kee BAIK. Analysis of volatile compounds from various types of barley cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005, **53**(19), 7526–7531.
- [31] LIU, Mingming, Zhaorui ZENG a Bo XIONG. Preparation of novel solid-phase microextraction fibers by sol–gel technology for headspace solid-phase microextraction-gas chromatographic analysis of aroma compounds in beer. *Journal of Chromatography A*. 2005, **1065**(2), 287–299.
- [32] BASAŘOVÁ, Gabriela. Význam těkavých látek v pivovarské výrobě. *Kvasný průmysl*. 1967, **13**(2), 26–30.
- [33] KLEINOVÁ, Jana a Bořivoj KLEIDUS. Determination of Volatiles in Beer using Solid-Phase Microextraction in Combination with Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Czech Journal of Food Sciences*. 2014, **32**(3), 241–248.
- [34] PROCHÁZKOVÁ, Dana. Mikroextrakce na tuhou fázi a stanovení obsahu analytů. *Chemické listy*. 2002, **96**(10), 827–852.
- [35] CHEN, Guo-Sheng, Zhen-Hai XIONG, Yu-Xia FAN, Xi-Chang WANG a Yuan LIU. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2016, **80**(1), 12–29.
- [36] ANDERSON, Jared L., Alain BERTHOD, Verónica PINO a Apryll STALCUP. *Analytical Separation Science*. Weinheim: Wilie-VCH, 2016. ISBN 978-3-527-33374-5.

- [37] GÓRECKI, Tadeusz, Xiaomei YU a Janusz PAWLISZYN. Theory of analyte extraction by selected porous polymer SPME fibres. *Analyst*. 1999, **124**(5), 643–649.
- [38] KUMAR, Ashwini, GAURAV, Ashok Kumar MALIK, Dhananjay Kumar TEWARY a Baldev SINGH. A review on development of solid phase microextraction fibers by sol-gel methods and their applications. *Analytica Chimica Acta*. 2008, **610**(1), 1–14.
- [39] SPME-Adsorption versus Absorption: Which Fiber is Best for Your Application? Sigmaaldrich [online]. 1999 [cit. 2021-03-01]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/Graphics/Supelco/objects/8000/7943.pdf>.
- [40] TANKIEWICZ, Maciej, Calum MORRISON a Marek BIZIUK. Application and optimization of headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) coupled with gas chromatography-flame-ionization detector (GC-FID) to determine products of the petroleum industry in aqueous samples. *Microchemical Journal*. 2013, **108**(1), 117–123.
- [41] KATAOKA, Hiroyuki, Heather L. LORD a Janusz PAWLISZYN. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography A*. 2000, **880**(1–2), 35–62.
- [42] Solid Phase Microextraction: Theory and Optimization of Conditions. Sigmaaldrich [online]. [cit. 2021-03-01]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/Graphics/Supelco/objects/4600/4547.pdf>.
- [43] HADDADI, Shokouh Hosseinzadeh. *Cold fiber solid-phase microextraction*. Disertační práce, Waterloo: University of Waterloo, 2008.
- [44] ZHAKUPBEKOVA, Aray, Nassiba BAIMATOVA a Bulat KENESSOV. A critical review of vacuum-assisted headspace solid-phase microextraction for environmental analysis. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*. 2019, **22**(1), e00065.
- [45] THEODORIDIS, Georgios, Emilie H. M KOSTER a Gerhardus DE JONG. Solid-phase microextraction for the analysis of biological samples. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 2000, **745**(1), 49–82.
- [46] ULRYCH, Sven. Solid-phase microextraction in biomedical analysis. *Journal of Chromatography A*. 2000, **902**(1), 167–194.
- [47] POPIEL, Stanisław a Monika SANKOWSKA. Determination of chemical warfare agents and related compounds in environmental samples by solid-phase microextraction with gas chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2011, **1218**(47), 8457–8479.

- [48] MA, Q.L., N. HAMID, A.E.D BEKHIT, J. ROBERTSON a T.F. LAWA. Optimization of headspace solid phase microextraction (HS-SPME) for gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) analysis of aroma compounds in cooked beef using response surface methodology. *Microchemical Journal*. 2013, **111**(1), 16–24.
- [49] TORRES-PADRÓN, María Esther, Zoraida Sosa FERRERA a Jose Juan SANTANA RODRIGUEZ. Optimisation of solid-phase microextraction coupled to HPLC-UV for the determination of organochlorine pesticides and their metabolites in environmental liquid samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2006, **386**(2), 332–340.
- [50] MERKLE, Sybille, Kim Karen KLEEBOEG a Jan FRITSCHKE. Recent Developments and Applications of Solid Phase Microextraction (SPME) in Food and Environmental Analysis—A Review. *Chromatography*. 2015, **2**(3), 293–381.
- [51] PSILLAKIS, Eleftheria. Vacuum-assisted headspace solid-phase microextraction: A tutorial review. *Analytica Chimica Acta*. 2017, **986**(1), 12–24.
- [52] TRUJILLO-RODRÍGUEZ, María J., Verónica PINO, Eleftheria PSILLAKIS, Jared L. ANDERSON, Juan H. AYALA, Evangelia YIANTZI a Ana M. AFONSO. Vacuum-assisted headspace-solid phase microextraction for determining volatile free fatty acids and phenols. Investigations on the effect of pressure on competitive adsorption phenomena in a multicomponent system. *Analytica Chimica Acta*. 2017, **962**(1), 41–51.
- [53] BRUNTON, Nigel P., Frank MONAHAN a Denis A. CRONIN. The effects of temperature and pressure on the performance of Carboxen/PDMS fibres during solid phase microextraction (SPME) of HS volatiles from cooked and raw turkey breast. *Flavour and Fragrance Journal*. 2001, **16**(4), 294–302.
- [54] DARROUZÈS, Jérôme, Maïté BUENO, Christophe PÉCHEYRAN, Michel HOLEMAN a Martine POTIN-GAUTIER. New approach of solid-phase microextraction improving the extraction yield of butyl and phenyltin compounds by combining the effects of pressure and type of agitation. *Journal of Chromatography A*. 2005, **1072**(1), 19–27.
- [55] PSILLAKIS, Eleftheria, Evangelia YIANTZI, Lucia SANCHEZ-PRADO a Nicolas KALOGERAKIS. Vacuum-assisted headspace solid phase microextraction: Improved extraction of semivolatiles by non-equilibrium headspace sampling under reduced pressure conditions. *Analytica Chimica Acta*. 2012, **742**(1), 30–36.

- [56] MENEZES, Helvécio C., Maria José N. PAIVA, Rosimeire R. SANTOS, Luciano P. SOUSA, Susana F. RESENDE, Juliano A. SATURNINO, Breno P. PAULO a Zenilda L. CARDEAL. A sensitive GC/MS method using cold fiber SPME to determine polycyclic aromatic hydrocarbons in spring water. *Microchemical Journal*. 2013, **110**(1), 209–214.
- [57] HADDADI, Shokouh Hosseinzadeh a Janusz PAWLISZYN. Cold fiber solid-phase microextraction device based on thermoelectric cooling of metal fiber. *Journal of Chromatography A*. 2009, **1216**(14), 2783–2788.
- [58] KOZIEL, Jacek A., Shokouh Hosseinzadeh HADDADI, Wolfgang KOCH a Janusz PAWLISZYN. Sampling and analysis of nanoparticles with cold fibre SPME device. *Journal of Separation Science*. 2009, **32**(11), 1975–1980.
- [59] BORS, Dana a John GOODPASTER. Mapping explosive residues on galvanized pipe bomb fragments using total vaporization solid phase microextraction (TV-SPME). *Analytical Methods*. 2015, **7**(23), 9756–9762.
- [60] HICKEY, Logan D. *Automated derivatization and identification of controlled substances via total vaporization solid phase microextraction (TV-SPME) and gas chromatography mass-spectrometry (GC-MS)*. Thesis (Master of Science), Indianapolis, Indiana University-Purdue University Indianapolis, School of Science 2018.
- [61] RAINEY, Christina L., Dana E. BORS a John V. GOODPASTER. Design and Optimization of a Total Vaporization Technique Coupled to solid-phase microextraction. *Analytical Chemistry*. 2014, **86**(22), 11319–11325.
- [62] BEIRANVAND, Mohammad a Alireza GHIASVAND. Design and optimization of the VA-TV-SPME method for ultrasensitive determination of the PAHs in polluted water. *Talanta*. 2020, **212**(1), 120809.
- [63] MARTENDAL, Edmar, Cristine Durante DE SOUZA SILVEIRA, Giuliana Stael NARDINI a Eduardo CARASEK. Use of different sample temperatures in a single extraction procedure for the screening of the aroma profile of plant matrices by headspace solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*. 2011, **1218**(24), 3731–3736.
- [64] JAMES, Anthony Trafford. a Archer John Porter MARTIN. Gas-liquid partition chromatography; the separation and micro-estimation of volatile fatty acids from formic acid to dodecanoic acid. *The Biochemical Journal*. 1952, **50**(5), 679–690.

- [65] BARTLE, Keith D. a Peter MYERS. History of gas chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2002, **21**(9-10), 547–557.
- [66] JANÁK, Jaroslav. Zamyšlení nad chromatografií. *Chemické listy*. 2011, **105**(4), 292–294
- [67] DETTMER-WILDE, Katja a Werner ENGEWALD. *Practical Gas chromatography*. Regensburg: Springer, 2014. ISBN 978-3-642-54639-6.
- [68] DORMAN, Frank L., Joshua J. WHITING, Jack W. COCHRAN a Jorge GARDEA-TORRESDEY. Gas Chromatography. *Analytical Chemistry*. 2010, **82**(12), 4775–4785.
- [69] SMOLKOVÁ, Eva, Věra PACÁKOVÁ a Ladislav FELTL. *Plynová chromatografie 1. díl. Teoretické základy*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1976.
- [70] SAHIL, Kataria, Beniwal PRASHANT, Middha AKANKSHA, Sandhu PREMJEET a Rathore DEVASHISH. Gas Chromatography-Mass Spectrometry: Applications. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*. 2011, **2**(6), 1544–1560.
- [71] GROP, Konrad. *Split and splitless injection for quantitative gas chromatography: concepts, processes, practical guidelines, sources of error*. Fourth edition. Weinheim: Wiley WCH, 2001. ISBN 3-527-29879-7.
- [72] HORÁK, Tomáš, Jiří ČULÍK, Marie JURKOVÁ, Pavel ČEJKA, Vladimír KELLNER, Josef DVOŘÁK a Danuša HAŠKOVÁ. Rychlejší plynová chromatografie a její využití v pivovarství. Část 1. - Teoretické a praktické aspekty. *Kvasný průmysl*. 2009, **55**(9), 250–254.
- [73] OPLETAL, Lubomír a Pavel DRAŠAR. *Fytochemické metody*. Praha: Karolinum, 1994. ISBN 80-706-6912-8.
- [74] HORÁK, Tomáš, Jiří ČULÍK, Marie JURKOVÁ, Pavel ČEJKA, Vladimír KELLNER, Josef DVOŘÁK a Danuša HAŠKOVÁ. Main Gas Chromatographic Detectors Used in Brewing Analytics. *Kvasný průmysl*. 2011, **57**(6), 138–142.
- [75] DOWNEY, Gerard. *Advances in Food Authenticity Testing*. Cambridge: Elsevier science & technology, 2016. ISBN 978-0-08-100220-9.
- [76] BRUNO, Thomas J., Ryan DEACON, Jeffrey A. JANSEN, Neal MAGDEFRAU, Erik MUELLER, George F. VANDER VOORT a Dehua YANG. *ASM Handbook®, Volume 10 - Materials Characterization*. Tenth edition. Cleveland: ASM International, 2019. ISBN 978-1-62708-211-2.

- [77] HURTADO-FERNÁNDEZA, Elena, Tiziana PACCHIAROTTA, Enrique LONGUEIRA-SUÁREZ, Oleg A. MAYBORODA, Alberto FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ a Alegría CARRASCO-PANCORBO. Evaluation of gas chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry as an alternative to gas chromatography-electron ionization-mass spectrometry: Avocado fruit as example. *Journal of Chromatography A*. 2013, **1313**, 228–244.
- [78] ŠTULÍK, Karel. *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0852-9.
- [79] KOVÁTS, Ervin. Characterization of organic compounds by gas chromatography. Part 1. Retention indices of aliphatic halides, alcohols, aldehydes and ketones. *Helvetica Chimica Acta*. 1958, **41**(7), 1915-1932.
- [80] PACÁKOVÁ, Věra a Ladislav FECHTL. *Retenční indexy v plynové chromatografii*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1986. ISBN 04-604-86.
- [81] JIROUTKOVÁ, Lucie. *Analýza profilu těkavých látek pivovarských sladů s využitím vakuem asistované mikroextrakce tuhou fází*. Diplomová práce, Pardubice, Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, 2020.
- [82] PROSEN, Helena a Lucija ZUPANČIČ-KRALJ. Solid-phase microextraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 1999, **18**(4), 272–282.
- [83] HORÁK, Tomáš, Jiří ČULÍK, Marie JURKOVÁ, Pavel ČEJKA, Vladimír KELLNER, Josef DVOŘÁK a Danuša HAŠKOVÁ. Possibilities of Utilization of Modern Sample Preparation Methods for Gas Chromatographic Analysis of Beverages and Especially beer. Part I. – Literature Review. *Kvasný průmysl*. 2010, **56**(9), 358–366.
- [84] DA SILVA, Gisele C., Abner A. S. DA SILVA, Larissa S. N. DA SILVA a Ronoel Luiz DE OLIVEIRA GODOY. Method development by GC–ECD and HS-SPME–GC–MS for beer volatile analysis. *Food Chemistry*. 2015, **167**(1), 71–77.

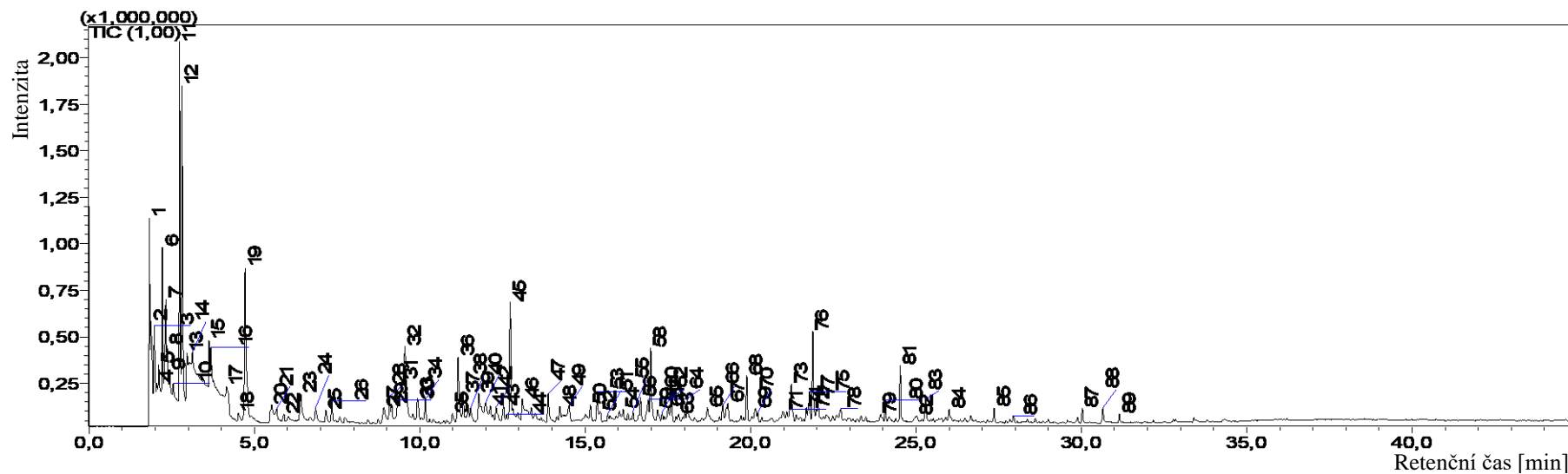
6 PŘÍLOHY

Příloha I: Chromatogramy GC-MS analýz reálných vzorků pivovarských sladů

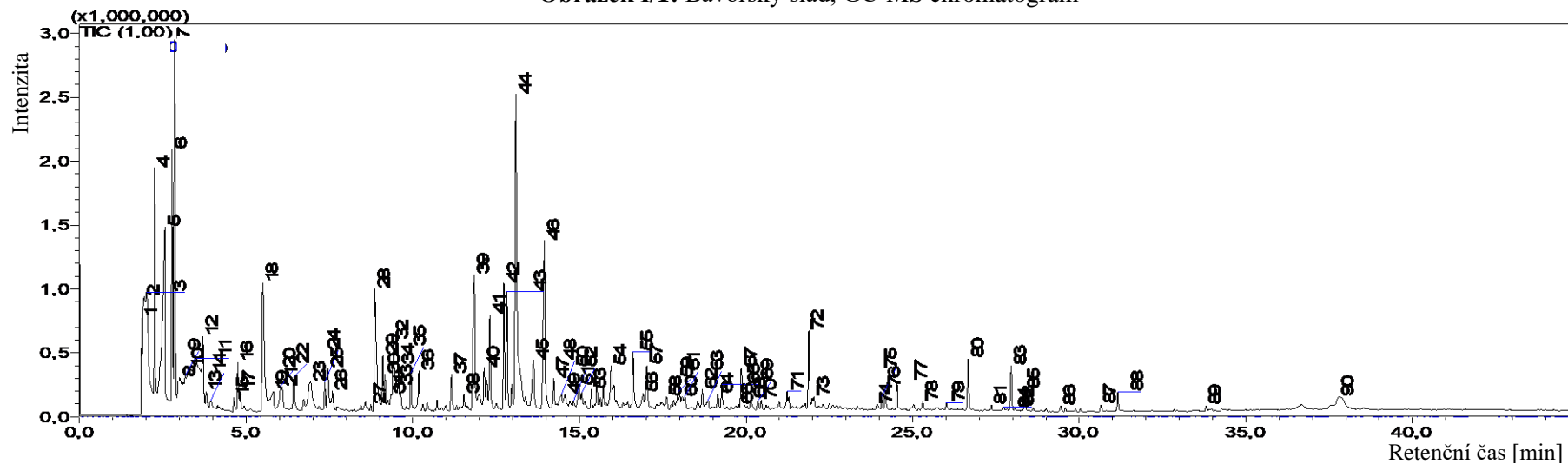
Příloha II: Tabulky s výsledky GC-FID analýzy reálných vzorků pivovarských sladů

Příloha I: Chromatogramy GC-MS analýz reálných vzorků pivovarských sladů

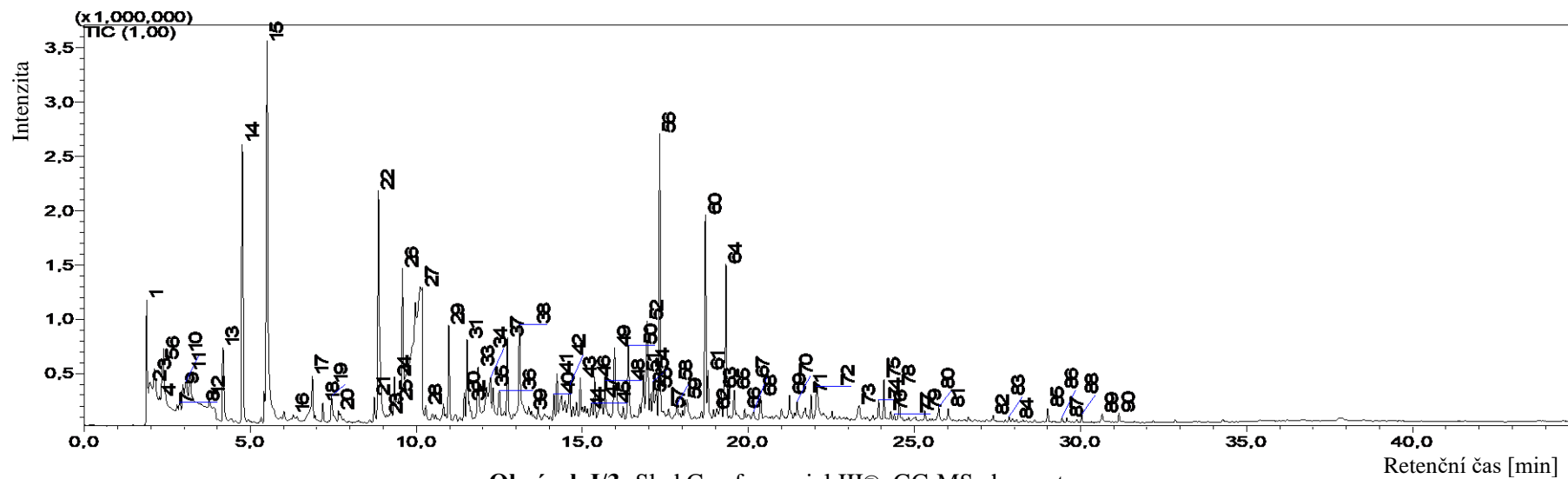
Identifikace píků v chromatogramech je uvedena v kapitolách 3.3.1 a 3.3.2 v tabulkách 5 až 18



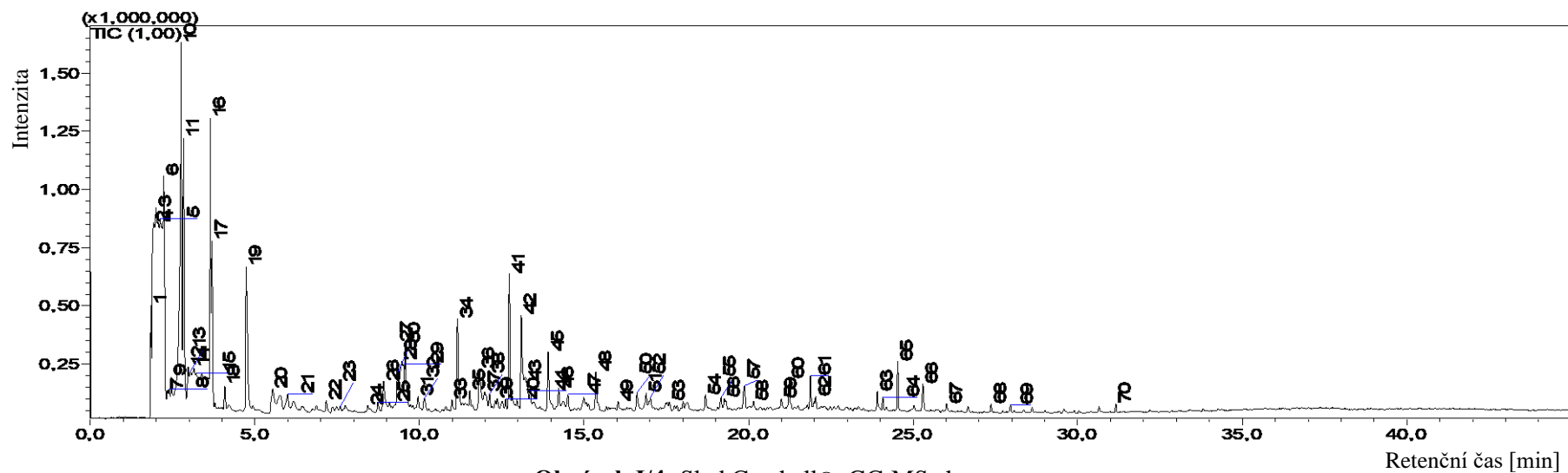
Obrázek I/1: Bavorský slad, GC-MS chromatogram



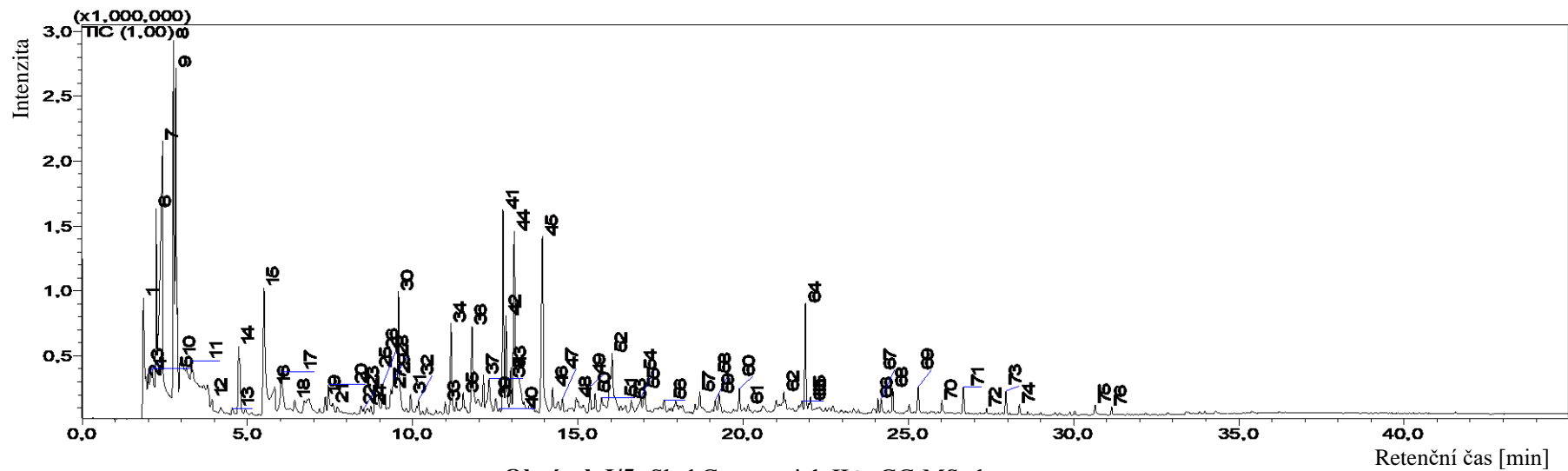
Obrázek I/2: Slad Caraaroma®, GC-MS chromatogram



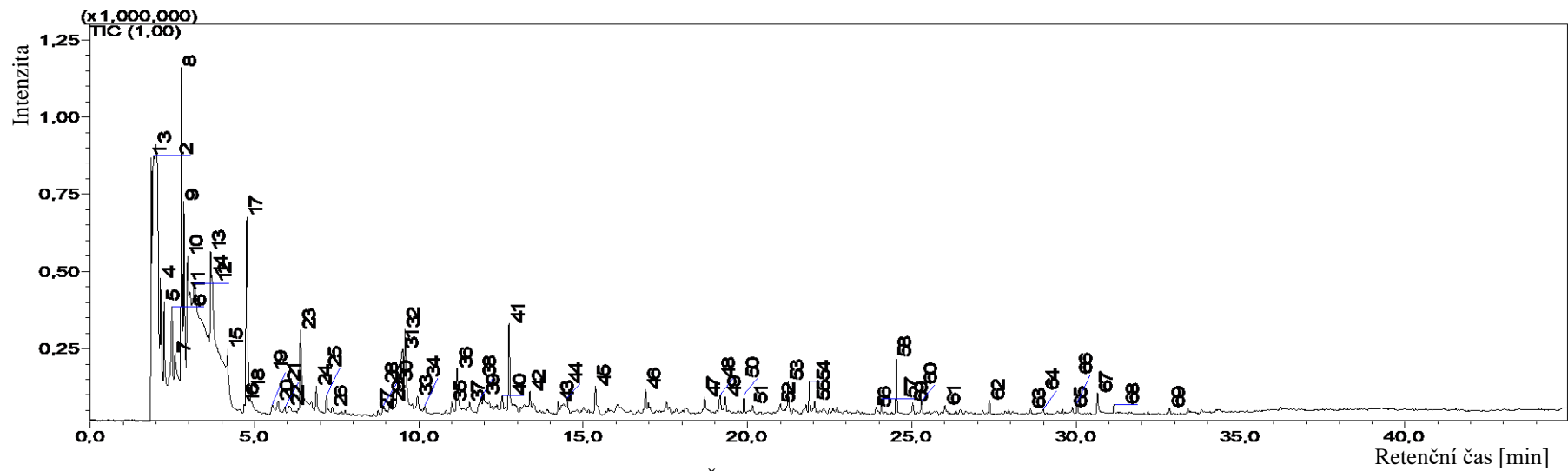
Obrázek I/3: Slad Carafa special III®, GC-MS chromatogram



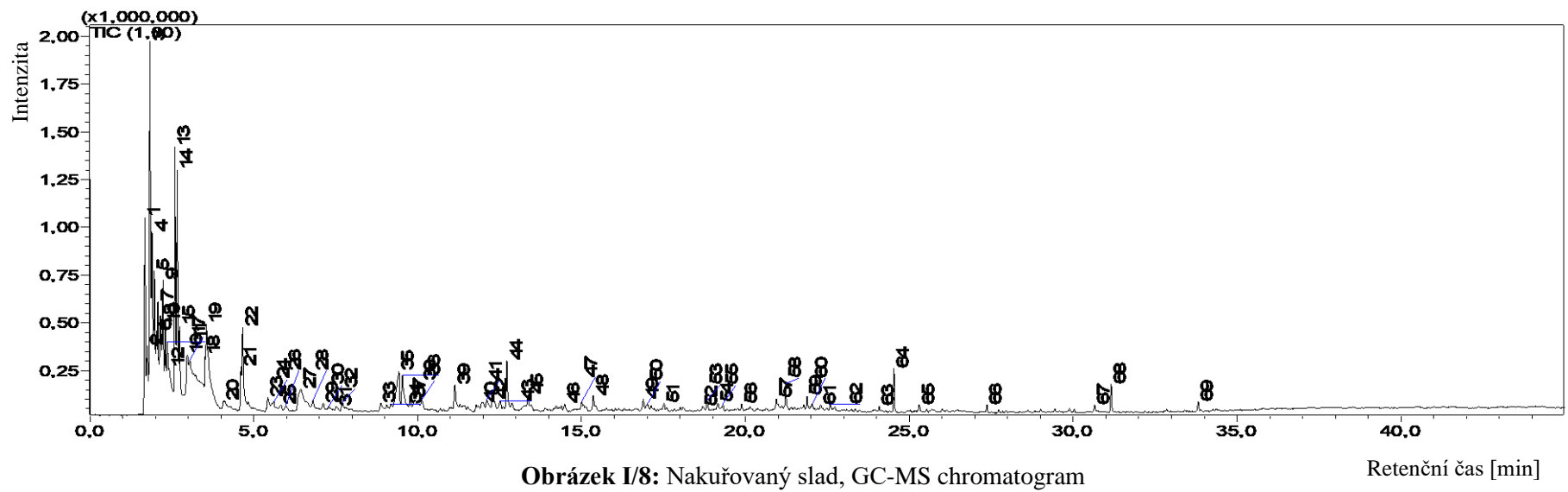
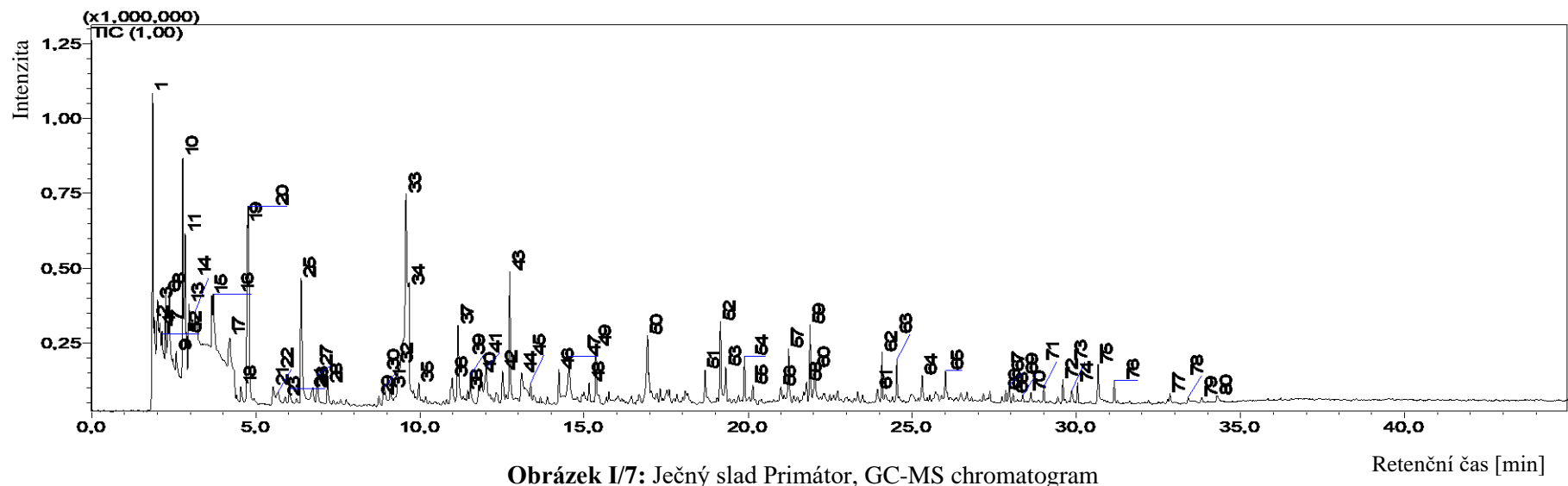
Obrázek I/4: Slad Carahell®, GC-MS chromatogram

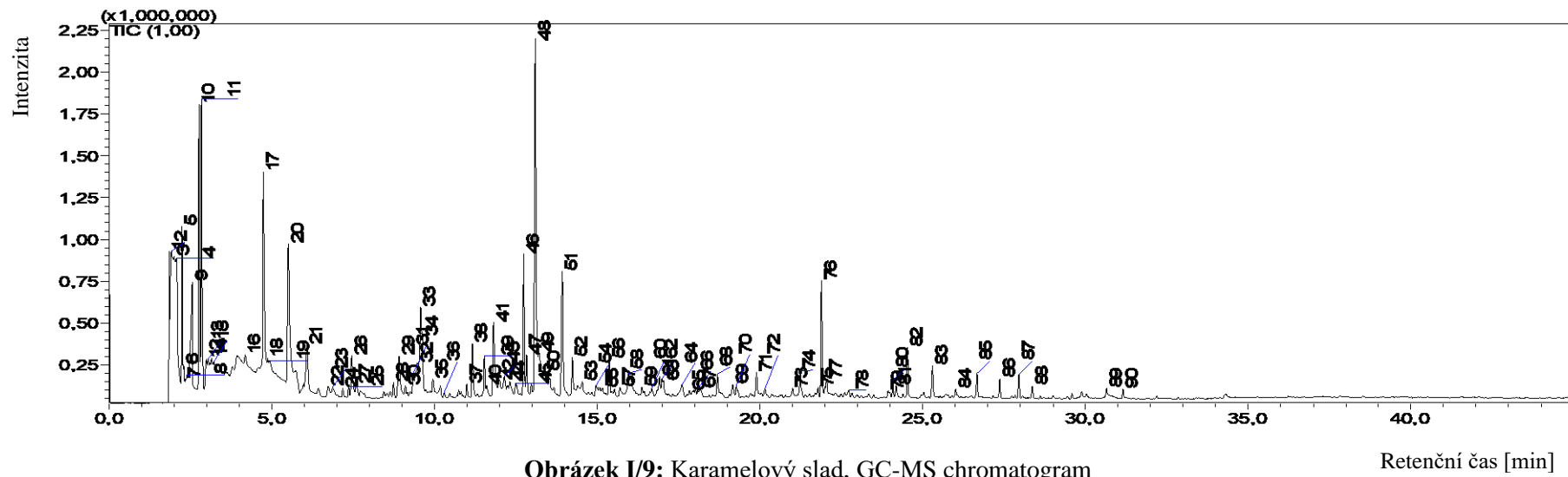


Obrázek I/5: Slad Caramunich II®, GC-MS chromatogram

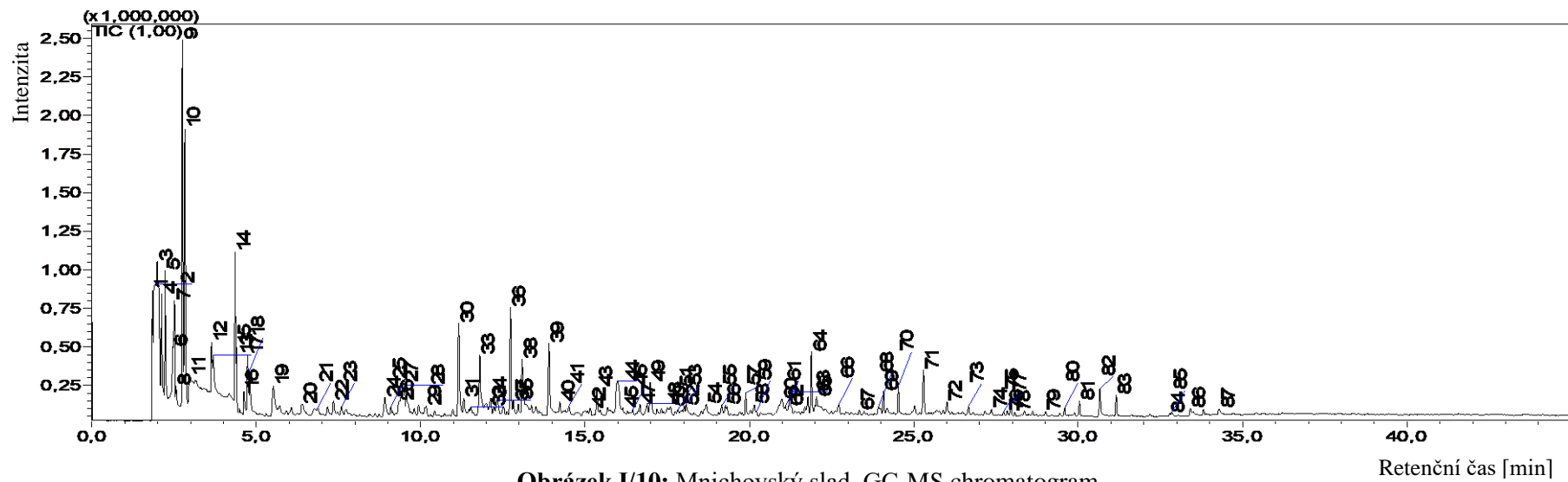


Obrázek I/6: Český slad, GC-MS chromatogram

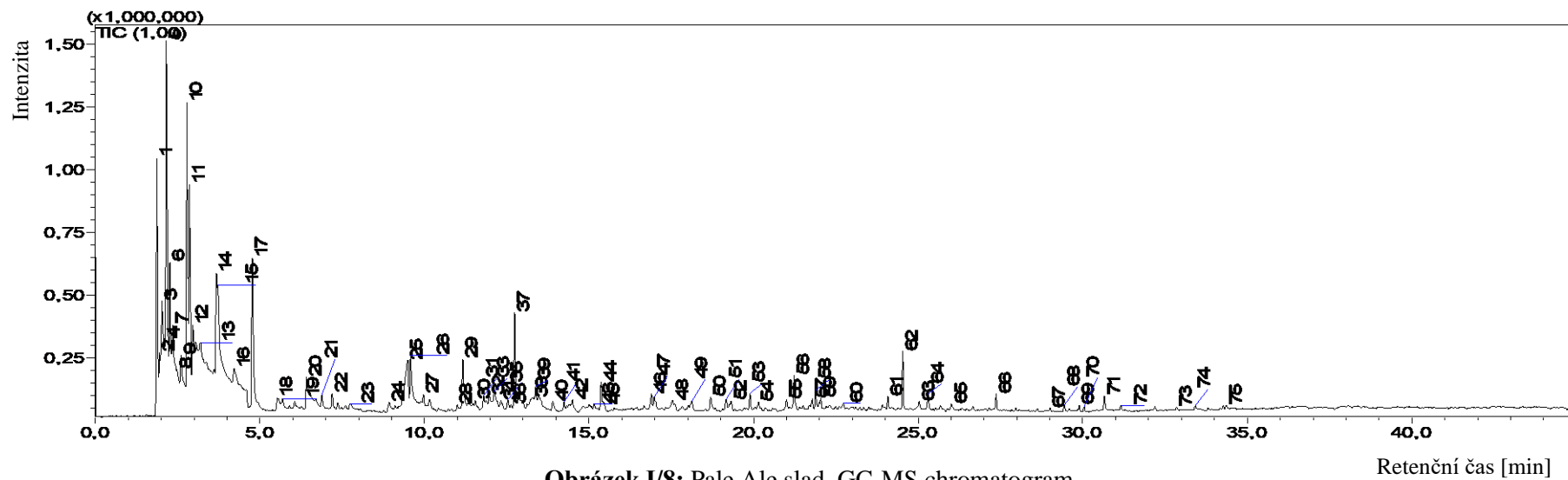




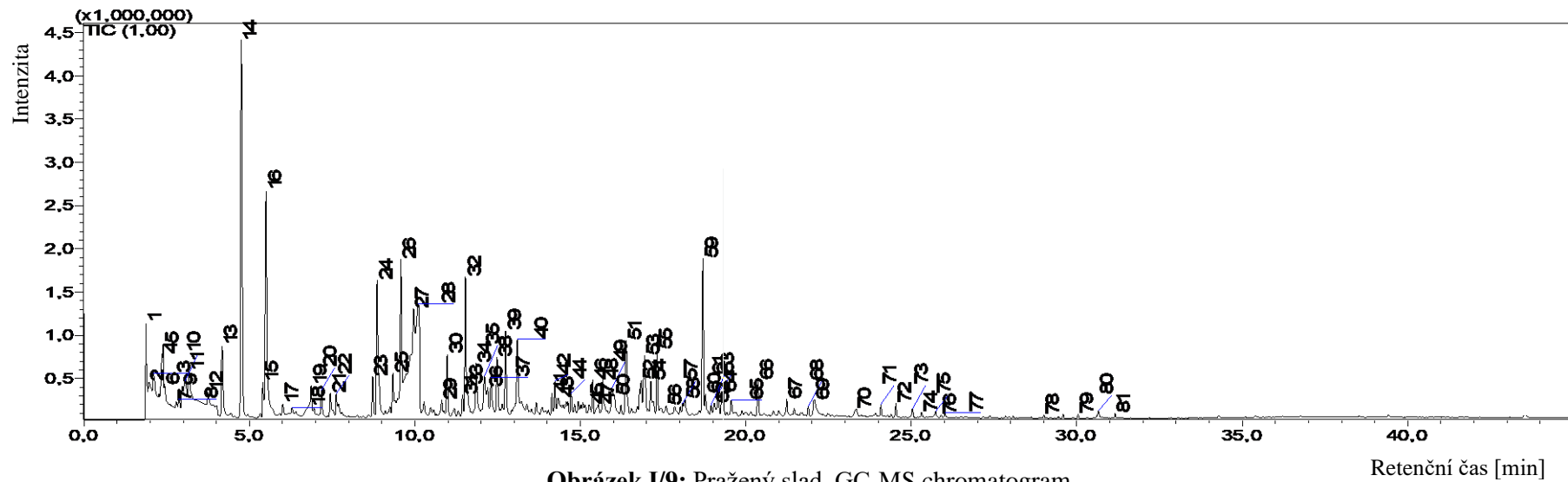
Obrázek I/9: Karamelový slad, GC-MS chromatogram



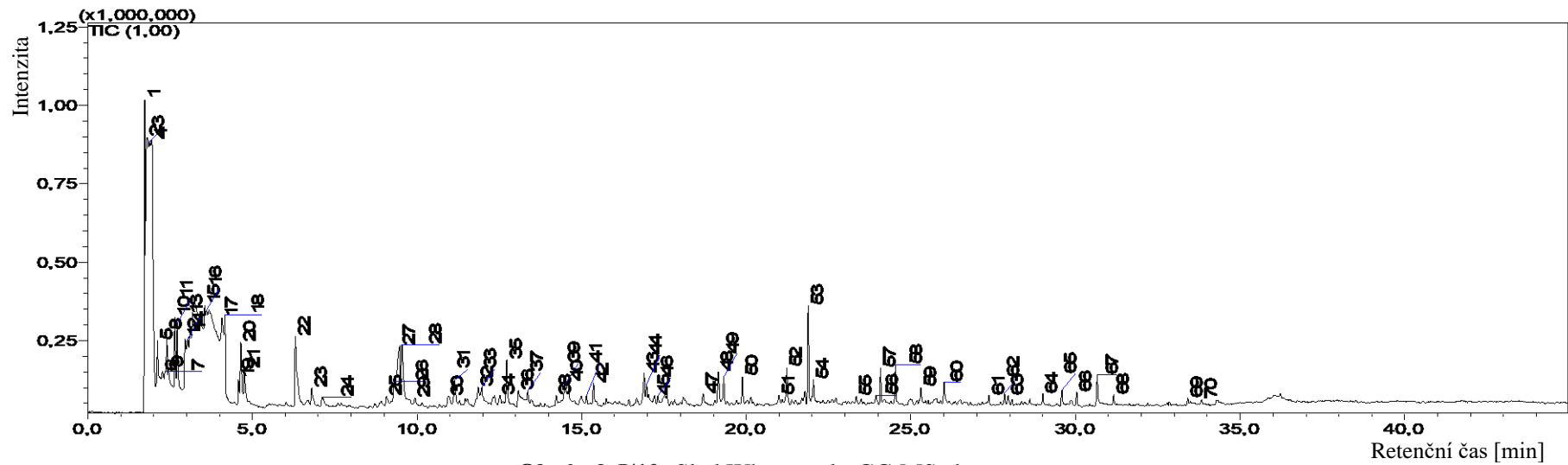
Obrázek I/10: Mnichovský slad, GC-MS chromatogram



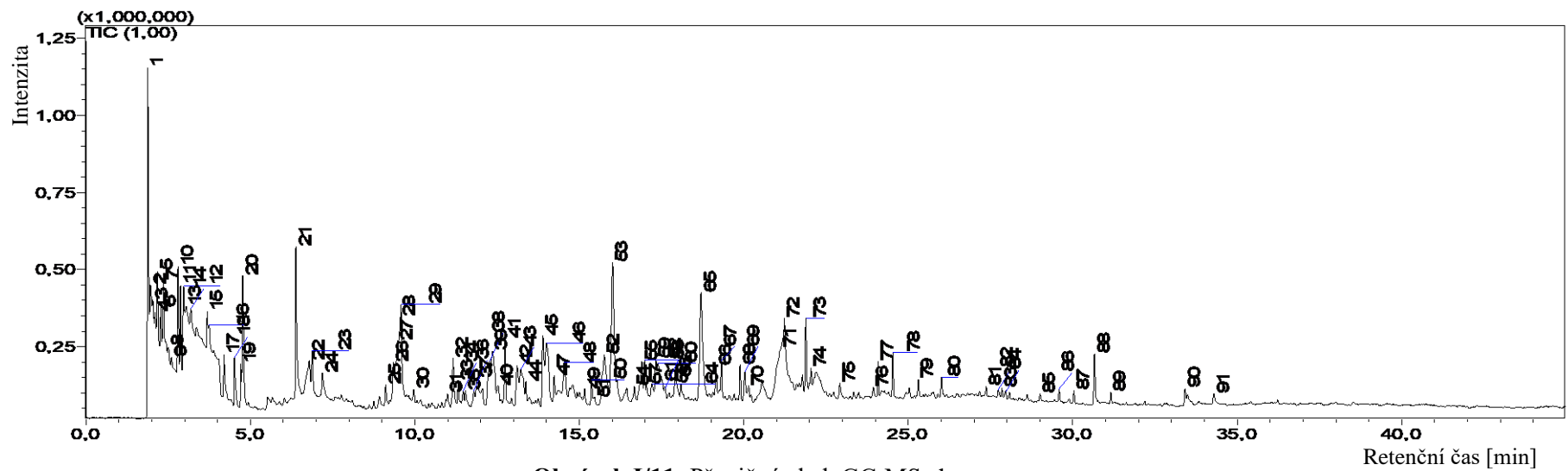
Obrázek I/8: Pale Ale slad, GC-MS chromatogram



Obrázek I/9: Pražený slad, GC-MS chromatogram



Obrázek I/10: Slad Wheat malt, GC-MS chromatogram



Obrázek I/11: Pšeničný slad, GC-MS chromatogram

Příloha II: Výsledky GC-FID analýz reálných vzorků

Tabulka II/1: Bavorský slad, výsledky GC-FID analýzy

Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]
1	437*	1,36	25	1075	1,08	49	1421	0,28
2	459*	2,28	26	1080	3,72	50	1445	0,30
3	479*	0,74	27	1090	1,53	51	1466	0,22
4	501	0,38	28	1103	0,58	52	1472	0,42
5	535	4,74	29	1112	0,30	53	1474	0,39
6	574	8,08	30	1141	0,20	54	1500	0,88
7	602	0,38	31	1148	2,93	55	1511	0,38
8	615	0,83	32	1155	0,22	56	1563	0,65
9	640	12,29	33	1161	0,41	57	1588	0,27
10	650	11,63	34	1166	0,90	58	1592	2,40
11	689	0,25	35	1172	0,82	59	1600	0,20
12	828	1,82	36	1189	0,19	60	1693	0,35
13	831	1,75	37	1196	0,33	61	1700	0,32
14	862	0,22	38	1205	3,34	62	1722	0,26
15	881	1,80	39	1217	2,01	63	1748	0,31
16	893	1,29	40	1248	1,14	64	1763	0,50
17	898	4,66	41	1263	0,27	65	1799	0,21
18	932	1,88	42	1268	0,55	66	1858	0,26
19	968	0,75	43	1307	0,74	67	2025	0,45
20	989	0,45	44	1327	3,28	68	2060	2,44
21	1002	0,27	45	1365	1,10	69	2093	0,24
22	1009	0,27	46	1375	1,45	70	2233	0,84
23	1066	0,59	47	1400	0,49			
24	1072	0,67	48	1409	0,48			

Pozn.: * - mimo homologickou řadu, RI – retenční index vypočítaný dle van den Doola, A – procenta plochy

Tabulka II/2: Slad Caraaroma®, vyhodnocení GC-FID výsledků

Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]
1	447*	0,94	26	1080	0,16	51	1313	0,39
2	467*	0,89	27	1084	0,75	52	1321	0,32
3	490*	0,34	28	1090	0,68	53	1328	1,44
4	545	6,15	29	1103	0,41	54	1330	0,48
5	628	9,26	30	1112	0,34	55	1335	0,15
6	644	7,41	31	1116	0,27	56	1346	0,38
7	654	11,04	32	1129	0,20	57	1358	0,95
8	686	0,16	33	1148	0,62	58	1365	0,42
9	831	0,15	34	1161	0,30	59	1375	0,82
10	843	0,83	35	1169	3,13	60	1400	0,18
11	895	0,48	36	1172	0,25	61	1445	0,35
12	900	1,05	37	1183	0,22	62	1466	0,24
13	904	0,35	38	1184	0,21	63	1472	0,48
14	931	6,25	39	1186	0,39	64	1498	0,52
15	946	0,38	40	1189	1,37	65	1592	1,41
16	954	0,97	41	1206	1,83	66	1704	0,80
17	972	0,37	42	1208	2,50	67	1723	0,17
18	981	0,99	43	1215	0,21	68	1836	1,31
19	1009	0,27	44	1217	10,17	69	1906	1,29
20	1011	0,79	45	1234	0,53	70	1930	0,57
21	1017	0,31	46	1251	5,22	71	1992	0,15
22	1063	2,39	47	1263	0,42	72	2061	1,18
23	1066	0,81	48	1270	0,30	73	2093	0,83
24	1073	0,48	49	1289	0,55	74	2234	0,19
25	1075	0,36	50	1307	0,25	75	2262	0,36

Pozn.: * - mimo homologickou řadu, RI – retenční index vypočítaný dle van den Doola, A – procenta plochy

Tabulka II/3: Slad Carafa special III®, vyhodnocení GC-FID výsledků

Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]
1	450*	0,48	23	1091	3,04	45	1320	0,71
2	495*	0,62	24	1104	0,79	46	1328	2,45
3	583	3,59	25	1108	2,56	47	1341	0,21
4	646	0,28	26	1136	0,47	48	1347	1,10
5	655	0,52	27	1140	2,21	49	1367	1,77
6	675	0,80	28	1161	2,24	50	1372	1,66
7	693	1,17	29	1172	0,82	51	1376	0,23
8	835	0,59	30	1182	1,72	52	1379	0,28
9	862	2,79	31	1189	0,35	53	1384	0,15
10	895	0,20	32	1196	0,74	54	1387	4,19
11	900	15,01	33	1206	1,40	55	1420	0,23
12	927	0,64	34	1218	2,88	56	1423	0,24
13	931	16,26	35	1230	0,24	57	1446	3,81
14	951	0,36	36	1241	0,18	58	1450	0,56
15	989	0,82	37	1261	0,70	59	1466	0,44
16	1002	0,52	38	1263	1,21	60	1472	0,57
17	1011	0,37	39	1271	0,28	61	1474	2,19
18	1018	0,20	40	1278	0,19	62	1485	0,35
19	1058	0,68	41	1285	0,27	63	1521	0,31
20	1063	6,29	42	1290	0,50	64	2060	0,41
21	1066	1,13	43	1303	0,24			
22	1080	0,81	44	1307	1,00			

Pozn.: * - mimo homologickou řadu, RI – retenční index vypočítaný dle van den Doola, A – procenta plochy

Tabulka II/4: Slad Carahell®, vyhodnocení GC-FID analýzy

Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]
1	444*	0,92	25	1103	0,27	49	1408	0,41
2	464*	2,37	26	1140	0,17	50	1416	0,33
3	507	0,54	27	1147	3,87	51	1424	0,51
4	541	5,12	28	1160	0,42	52	1445	0,48
5	617	9,98	29	1167	1,36	53	1466	0,49
6	643	16,03	30	1172	0,67	54	1472	0,68
7	652	10,89	31	1191	0,46	55	1497	0,29
8	830	0,80	32	1196	0,38	56	1550	0,20
9	863	0,51	33	1200	0,33	57	1592	0,83
10	894	0,30	34	1205	2,38	58	1599	0,25
11	899	4,16	35	1216	4,27	59	1690	0,19
12	904	0,34	36	1218	2,78	60	1700	0,25
13	932	2,64	37	1222	0,36	61	1722	0,26
14	936	0,96	38	1229	0,33	62	1763	0,872
15	945	0,98	39	1248	2,36	63	1799	0,214
16	955	1,36	40	1262	0,56	64	1835	0,219
17	1002	0,21	41	1268	0,55	65	1858	0,201
18	1012	0,26	42	1295	0,22	66	1906	0,248
19	1017	0,20	43	1307	0,97	67	1943	0,241
20	1042	0,30	44	1327	0,72	68	2060	0,96
21	1059	0,29	45	1335	0,15	69	2093	0,279
22	1065	1,26	46	1358	0,57	70	2233	0,287
23	1080	4,64	47	1364	0,64			
24	1090	1,09	48	1375	0,40			

Pozn.: * - mimo homologickou řadu, RI – retenční index vypočítaný dle van den Doola, A – procenta plochy

Tabulka II/5: Slad Caramunich II®, vyhodnocení GC-FID analýzy

Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]
1	444*	0,83	24	1075	0,46	47	1335	0,39
2	465*	0,53	25	1080	1,57	48	1345	0,32
3	487*	0,43	26	1083	0,20	49	1358	0,16
4	507	0,17	27	1086	0,21	50	1365	0,36
5	541	6,09	28	1090	1,46	51	1375	0,52
6	620	11,70	29	1103	0,32	52	1400	0,17
7	643	13,96	30	1148	1,81	53	1445	0,35
8	652	11,38	31	1161	0,27	54	1466	0,18
9	846	0,54	32	1168	2,12	55	1472	0,36
10	863	0,21	33	1184	0,49	56	1500	0,12
11	891	0,32	34	1189	0,43	57	1550	0,15
12	900	2,20	35	1196	0,30	58	1564	0,27
13	931	6,54	36	1206	3,03	59	1592	2,19
14	948	1,55	37	1208	2,19	60	1703	0,30
15	955	0,78	38	1216	7,99	61	1763	0,73
16	972	0,19	39	1231	0,38	62	1799	0,37
17	982	0,33	40	1250	3,89	63	1835	0,68
18	1012	0,36	41	1263	0,76	64	1906	0,63
19	1017	0,26	42	1269	0,31	65	1930	0,27
20	1053	0,26	43	1307	0,31	66	2060	0,88
21	1063	0,39	44	1313	0,35	67	2092	0,21
22	1066	1,06	45	1321	0,26	68	2233	0,19
23	1073	0,47	46	1327	0,59			

Pozn.: * - mimo homologickou řadu, RI – retenční index vypočítaný dle van den Doola, A – procenta plochy

Tabulka II/6: Český slad, výsledky GC-FID analýzy

Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]
1	443*	0,84	25	1059	0,30	49	1446	0,50
2	465*	1,41	26	1066	0,37	50	1461	0,21
3	476*	0,50	27	1080	7,86	51	1466	0,43
4	486*	0,38	28	1085	0,20	52	1474	0,35
5	507	1,32	29	1091	2,79	53	1500	0,26
6	540	1,93	30	1104	0,33	54	1511	0,26
7	552	1,12	31	1138	0,36	55	1550	0,22
8	567	2,02	32	1141	0,58	56	1562	0,35
9	604	0,19	33	1148	2,79	57	1592	1,17
10	617	0,80	34	1161	0,44	58	1600	0,22
11	643	11,57	35	1170	0,57	59	1700	0,31
12	652	6,45	36	1173	1,13	60	1723	0,49
13	691	1,07	37	1192	0,32	61	1763	0,48
14	829	2,91	38	1196	0,80	62	1799	0,30
15	831	5,29	39	1206	3,48	63	1858	0,35
16	864	1,79	40	1218	1,63	64	1991	0,31
17	883	1,36	41	1263	0,66	65	2025	0,48
18	895	0,80	42	1267	0,74	66	2060	4,24
19	900	7,88	43	1273	0,58	67	2092	0,42
20	932	1,35	44	1307	1,09	68	2200	0,45
21	954	0,86	45	1364	1,37	69	2233	1,26
22	968	3,64	46	1375	0,52	70	2239	0,62
23	990	0,70	47	1384	0,16	71	2262	0,26
24	1003	0,51	48	1409	0,35			

Pozn.: * - mimo homologickou řadu, RI – retenční index vypočítaný dle van den Doola, A – procenta plochy

Tabulka II/7: Ječný slad Primátor, výsledky GC-FID analýzy

Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]
1	442*	1,11	20	967	5,16	39	1307	1,47
2	465*	0,65	21	989	0,98	40	1366	2,95
3	486*	0,38	22	1002	0,73	41	1445	0,89
4	507	0,21	23	1066	0,57	42	1461	0,70
5	540	1,94	24	1080	0,65	43	1466	1,43
6	554	0,90	25	1084	2,01	44	1474	0,69
7	568	2,90	26	1090	3,61	45	1499	0,81
8	617	0,47	27	1104	0,35	46	1592	1,52
9	642	7,52	28	1138	0,66	47	1692	0,52
10	647	2,66	29	1140	0,62	48	1700	0,75
11	652	4,43	30	1147	3,23	49	1763	0,37
12	656	1,57	31	1161	1,00	50	1800	0,52
13	690	0,38	32	1172	2,66	51	1858	0,55
14	829	1,29	33	1196	1,33	52	2001	1,45
15	831	1,61	34	1205	3,45	53	2025	0,50
16	863	2,09	35	1217	1,85	54	2061	6,47
17	883	1,15	36	1262	1,04	55	2093	0,51
18	900	11,67	37	1268	1,65	56	2200	0,42
19	931	1,35	38	1273	0,41	57	2234	1,28

Pozn.: * - mimo homologickou řadu, RI – retenční index vypočítaný dle van den Doola, A – procenta plochy

Tabulka II/8: Nakuřovaný slad, výsledky GC-FID analýzy

Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]
1	401*	1,31	25	948	0,55	49	1365	1,12
2	422*	14,53	26	965	1,91	50	1375	0,38
3	438*	6,70	27	987	0,26	51	1379	0,19
4	465*	2,28	28	1000	0,20	52	1416	0,33
5	481*	0,62	29	1077	2,43	53	1445	0,22
6	498*	2,00	30	1079	2,25	54	1452	0,47
7	522	2,63	31	1089	1,35	55	1466	0,18
8	542	4,00	32	1103	0,41	56	1474	0,19
9	567	1,37	33	1140	0,40	57	1500	0,33
10	583	0,47	34	1147	2,39	58	1511	0,18
11	598	1,15	35	1152	0,27	59	1547	0,39
12	606	0,34	36	1160	0,18	60	1592	0,81
13	625	6,96	37	1172	0,48	61	1600	0,20
14	635	6,11	38	1181	0,47	62	1700	0,30
15	641	1,35	39	1189	0,43	63	1723	0,26
16	820	3,61	40	1196	0,34	64	1763	0,35
17	823	5,00	41	1205	2,24	65	1991	0,24
18	827	1,27	42	1213	0,26	66	2026	0,16
19	858	0,59	43	1217	1,65	67	2061	1,47
20	874	1,42	44	1262	0,21	68	2093	1,38
21	886	1,22	45	1268	0,37	69	2234	0,31
22	892	1,34	46	1272	0,34	70	2262	0,41
23	895	1,61	47	1293	0,86			
24	928	1,25	48	1307	0,81			

Pozn.: * - mimo homologickou řadu, RI – retenční index vypočítaný dle van den Doola, A – procenta plochy

Tabulka II/9: Karamelový slad, výsledky GC-FID analýzy

Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]
1	441*	0,84	21	1080	0,31	41	1307	0,50
2	463*	0,84	22	1083	0,38	42	1327	1,16
3	485*	0,44	23	1090	0,79	43	1347	0,18
4	505	0,21	24	1103	0,26	44	1366	0,89
5	538	4,75	25	1115	0,26	45	1375	0,40
6	581	7,16	26	1140	0,18	46	1445	0,58
7	642	8,79	27	1147	1,01	47	1499	0,30
8	651	8,66	28	1160	0,88	48	1511	0,18
9	862	0,36	29	1167	2,03	49	1592	2,41
10	883	0,35	30	1172	0,40	50	1700	0,19
11	893	0,40	31	1182	0,34	51	1722	0,38
12	899	4,85	32	1196	0,26	52	1763	1,36
13	930	6,70	33	1205	1,95	53	1835	0,50
14	950	2,50	34	1208	0,70	54	1906	0,45
15	981	0,29	35	1217	21,17	55	1930	0,25
16	1011	0,66	36	1231	0,34	56	2001	0,23
17	1052	0,19	37	1250	5,90	57	2060	1,43
18	1058	0,30	38	1262	1,01	58	2092	0,30
19	1063	0,36	39	1269	0,23	59	2233	0,24
20	1065	0,84	40	1287	0,25			

Pozn.: * - mimo homologickou řadu, RI – retenční index vypočítaný dle van den Doola, A – procenta plochy

Tabulka II/10: Mnichovský slad, výsledky GC-FID analýzy

Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]
1	438*	1,37	20	1065	0,58	39	1693	0,31
2	459*	4,38	21	1090	0,71	40	1700	0,26
3	477*	1,11	22	1103	0,29	41	1715	0,15
4	501	3,23	23	1147	3,52	42	1722	0,15
5	535	6,13	24	1167	1,55	43	1748	0,50
6	603	2,35	25	1172	0,28	44	1762	1,06
7	610	4,14	26	1205	2,18	45	1799	0,15
8	614	0,79	27	1218	1,78	46	1835	0,19
9	640	19,46	28	1248	2,52	47	1858	0,20
10	650	13,72	29	1262	0,19	48	1905	0,27
11	689	0,19	30	1267	0,24	49	2001	0,21
12	827	2,24	31	1307	0,60	50	2025	0,30
13	831	1,90	32	1328	4,69	51	2061	3,00
14	877	0,55	33	1363	0,53	52	2093	0,41
15	888	1,11	34	1375	0,86	53	2234	0,83
16	899	3,61	35	1499	0,38	54	2239	0,15
17	932	1,91	36	1511	0,58	55	2262	0,23
18	1008	0,36	37	1592	0,91			
19	1016	0,33	38	1599	0,42			

Pozn.: * - mimo homologickou řadu, RI – retenční index vypočítaný dle van den Doola, A – procenta plochy

Tabulka II/11: Slad Pale Ale, výsledky GC-FID analýzy

Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]
1	446*	1,90	23	1090	1,62	45	1460	0,29
2	468*	3,04	24	1104	0,31	46	1466	0,28
3	490*	0,68	25	1141	0,34	47	1474	0,52
4	510	10,47	26	1147	3,48	48	1500	0,40
5	544	3,58	27	1161	0,30	49	1511	0,28
6	564	1,65	28	1166	0,35	50	1550	0,30
7	618	2,35	29	1170	0,27	51	1561	0,50
8	644	11,19	30	1172	0,86	52	1592	0,48
9	654	8,08	31	1182	0,40	53	1599	0,23
10	693	0,47	32	1196	0,37	54	1700	0,43
11	829	5,80	33	1205	4,14	55	1722	0,45
12	833	4,89	34	1218	2,27	56	1763	0,75
13	864	0,66	35	1248	0,49	57	1799	0,24
14	884	0,40	36	1263	0,51	58	1858	0,42
15	900	4,80	37	1267	0,53	59	1943	0,22
16	932	1,22	38	1273	0,36	60	1991	0,39
17	952	0,27	39	1307	1,36	61	2025	0,38
18	968	2,29	40	1364	1,16	62	2060	3,64
19	990	0,38	41	1375	0,37	63	2093	0,40
20	1002	0,42	42	1409	0,26	64	2200	0,37
21	1066	0,32	43	1417	0,30	65	2233	0,49
22	1078	3,17	44	1445	0,51			

Pozn.: * - mimo homologickou řadu, RI – retenční index vypočítaný dle van den Doola, A – procenta plochy

Tabulka II/12: Pražený slad, výsledky GC-FID analýzy

Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]
1	417*	0,36	24	1058	0,49	47	1282	0,39
2	461*	0,61	25	1062	3,35	48	1307	1,11
3	541	2,55	26	1079	0,90	49	1319	0,94
4	577	2,59	27	1090	3,38	50	1327	2,25
5	632	0,14	28	1103	0,89	51	1341	0,25
6	641	0,30	29	1107	1,76	52	1347	2,24
7	660	0,44	30	1114	0,24	53	1365	0,27
8	680	1,01	31	1135	0,41	54	1371	1,51
9	855	2,90	32	1140	1,65	55	1379	0,73
10	863	0,91	33	1148	0,21	56	1382	0,40
11	894	16,80	34	1160	4,96	57	1387	1,20
12	900	4,59	35	1172	0,83	58	1419	0,20
13	924	0,43	36	1180	1,45	59	1422	0,29
14	927	4,21	37	1189	0,93	60	1446	5,25
15	931	7,63	38	1195	1,79	61	1450	0,34
16	986	0,17	39	1205	1,96	62	1454	0,21
17	1000	0,41	40	1217	2,54	63	1467	0,71
18	1002	0,22	41	1230	0,29	64	1471	0,38
19	1009	0,23	42	1240	0,25	65	1474	0,37
20	1011	0,82	43	1248	0,22	66	1484	0,40
21	1016	0,16	44	1262	1,65	67	1521	0,89
22	1018	0,49	45	1270	0,27	68	2060	0,73
23	1057	0,44	46	1278	0,20			

Pozn.: * - mimo homologickou řadu, RI – retenční index vypočítaný dle van den Doola, A – procenta plochy

Tabulka II/13: Wheat malt, výsledky GC-FID analýzy

Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]
1	409*	1,97	25	1071	1,47	49	1374	1,09
2	432*	1,16	26	1076	5,44	50	1383	0,47
3	454*	1,35	27	1079	0,89	51	1445	0,43
4	474*	2,08	28	1084	0,46	52	1460	0,56
5	507	1,74	29	1090	3,66	53	1466	1,08
6	545	1,18	30	1103	0,51	54	1474	1,24
7	603	0,54	31	1129	0,32	55	1499	0,81
8	629	3,19	32	1137	0,70	56	1511	0,47
9	639	4,15	33	1140	0,40	57	1550	0,44
10	649	1,11	34	1147	2,03	58	1561	0,74
11	678	0,65	35	1160	0,62	59	1592	4,85
12	823	0,96	36	1169	1,25	60	1600	0,52
13	827	1,76	37	1172	2,11	61	1700	0,76
14	831	0,55	38	1191	0,72	62	1723	0,39
15	856	0,99	39	1196	0,59	63	1763	0,39
16	860	1,25	40	1205	3,00	64	1800	0,49
17	880	1,30	41	1217	2,00	65	1858	0,42
18	894	3,50	42	1229	0,39	66	1900	0,36
19	898	2,44	43	1262	0,84	67	1914	0,46
20	965	1,38	44	1266	1,17	68	2001	1,04
21	966	4,57	45	1272	2,32	69	2026	0,36
22	988	1,27	46	1307	1,27	70	2060	4,52
23	1001	0,95	47	1328	0,64	71	2234	1,33
24	1065	0,59	48	1364	2,12	72	2239	0,74

Pozn.: * - mimo homologickou řadu, RI – retenční index vypočítaný dle van den Doola, A – procenta plochy

Tabulka II/14: Pšeničný slad, výsledky GC-FID analýzy

Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]	Pořadí	RI	A [%]
1	441*	1,11	23	1138	0,55	45	1511	0,40
2	463*	0,37	24	1147	3,42	46	1540	0,76
3	485*	0,30	25	1161	0,76	47	1550	0,39
4	505	1,01	26	1172	2,53	48	1592	1,80
5	539	1,29	27	1205	2,64	49	1634	0,47
6	550	1,47	28	1217	3,02	50	1658	0,28
7	564	2,78	29	1248	1,04	51	1692	0,53
8	617	0,47	30	1262	0,81	52	1700	0,85
9	642	4,69	31	1268	2,11	53	1722	0,37
10	652	3,95	32	1272	2,63	54	1748	0,70
11	690	0,71	33	1307	1,14	55	1763	0,37
12	832	3,17	34	1327	5,85	56	1800	0,50
13	863	1,89	35	1365	4,02	57	1858	0,54
14	880	2,95	36	1374	1,52	58	1900	0,39
15	892	2,56	37	1383	0,47	59	1913	0,38
16	900	3,88	38	1386	0,41	60	2001	0,80
17	967	5,53	39	1408	0,88	61	2025	0,51
18	989	0,89	40	1445	0,85	62	2060	6,00
19	1002	0,56	41	1461	0,51	63	2093	0,30
20	1066	0,56	42	1466	1,17	64	2234	1,64
21	1080	0,73	43	1474	1,30			
22	1090	2,73	44	1499	0,85			

Pozn.: * - mimo homologickou řadu, RI – retenční index vypočítaný dle van den Doola, A – procenta plochy