

	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Testování odrůd	Vydání	1
	50247.1 – Stanovení podílu myrcenu a β -farnesenu v chmelové silici metodou kapilární plynové chromatografie	Revize	0

STANOVENÍ PODÍLU MYRCENU A β -FARNESENU V CHMELOVÉ SILICI METODOU KAPILÁRNÍ PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE

1 Účel a rozsah

Uvedeným postupem se stanoví podíl myrcenu a β -farnesenu v chmelových silicích a jejich složení v sušeném hlávkovém chmelu a dalších chmelových produktech ve formě pelet a granulí.

2 Princip

Silice vytěkají v průběhu destilace vzorku chmele vodní parou. Z destilační aparatury se získají pomocí směsi diethylether-hexan a zakoncentrují pod proudem dusíku na příslušný objem. V takto připraveném vzorku se hledané látky stanoví metodou kapilární plynové chromatografie s využitím plamenově-ionizačního detektoru.

3 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

- 1 Voda (deionizovaná, demineralizovaná nebo destilovaná).
- 2 Hexan, C_6H_{14} .
- 3 Diethylether, $C_4H_{10}O$.
- 4 Směs diethylether – hexan (1 : 1).

Příprava: V 1000ml odměrném válci se odměří 500 ml hexanu (2) a do 1000 ml se doplní diethyletherem (3). Připravená směs se přeleje do litrové tmavé lahve a skladuje se v temnu.

- 5 Síran sodný bezvodý, Na_2SO_4 anhydrous.
- 6 Myrcen, analytický standard, $C_{10}H_{16}$.
- 7 Farnesen, trans-beta, analytický standard, $C_{15}H_{24}$.

4 Přístroje a pomůcky

- 1 Aparatura na destilaci silic.
- 2 Topné hnízdo.
- 3 Plynový chromatograf s detektorem FID.

	Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Testování odrůd	Vydání	1
	50247.1 – Stanovení podílu myrcenu a β -farnesenu v chmelové silici metodou kapilární plynové chromatografie	Revize	0

- 4 Nepolární kapilární kolona s 5 % phenyl polydimethylsiloxanu ve stacionární fázi (např. ZB-5), 30 m $\times$ 0,25 mm, tloušťka filmu 0,25 μ m.
- 5 Varné baňky, 2000 ml
- 6 Injekční stříkačka, 10 μ l.
- 7 Vialky se šroubovacím uzávěrem, tmavé, 2 ml.
- 8 Laboratorní odstředivý mlýnek s délkou oka síta 1 mm.
- 9 Laboratorní váhy s přesností 1 g.
- 10 Odměrný válec, 1000 ml.

5 Postup

Chmel se upraví mletím tak, aby prošel sítím s velikostí ok 1 mm.

Do 2000ml varné baňky se zábrusem se naváží přibližně 50 g čerstvě pomletého vzorku chmele. Odměrným válcem se přidá 1000 ml vody (1). Baňka se umístí do topného hnízda, připojí k aparatuře na destilaci silice a začne se zahřívat. Od počátku varu se pokračuje v destilaci 15 až 30 min. Po ukončení destilace se vypne topné hnízdo a varná baňka se nechá zchladnout. Voda z aparatury se odpustí a vydestilované silice se zachytí do 50ml kádinky. Aparatura se vypláchne směsí diethyléter-hexan (4) do téže kádinky. Silice v kádince se zakoncentrují odpařením pod proudem dusíku na objem přibližně 2 ml. Zakoncentrovaný vzorek silic se přelije do vialky a uzavře se víčkem s teflonovým septem. Takto připravený vzorek se používá přímo k nástřiku do plynového chromatografu.

6 Měření

Vlastní analýza se provádí na plynovém chromatografu s plamenově-ionizačním detektorem. Pro separaci jednotlivých složek chmelové silice se použije kapilární kolona s nepolární stacionární fází na bázi dimethylpolysiloxanu s 5 % fenylu. Příklad nastavení chromatografických podmínek je uveden v tabulce č. 1. Uvedené podmínky jsou doporučené, mohou být použity i jiné podmínky za předpokladu, že poskytují rovnocenné výsledky.

	Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Testování odrůd	Vydání	1
	50247.1 – Stanovení podílu myrcenu a β -farnesenu v chmelové silici metodou kapilární plynové chromatografie	Revize	0

Tabulka č. 1. Chromatografické podmínky – příklad.

Plynový chromatograf	GC Agilent 6890N
Kapilární kolona	ZB-5 (30 m $\times$ 0,25 mm, film 0,25 μ m)
Nosný plyn	Dusík
Průtok nosného plynu	1 ml/min
Teplota injektoru	220 °C
Teplota detektoru	220 °C
Teplotní program	60 °C, 5 min (izotermie) 2 °C/min na 150 °C (gradient) 5 °C/min na 220 °C (gradient) 220°C, 15 min (izotermie)
Objem nástriku, dávkování	1 μ l, split 1 : 50

Tabulka 2. Retenční časy hlavních složek chmelové silice žateckého poloraného červeňáku za chromatografických podmínek uvedených v tabulce 1.

Analyt	t_R (min)
myrcen	13,5
karyofylen	40,9
β -farnesen	43,0
α -humulen	43,3
α -selinen	45,0
β -selinen	45,5

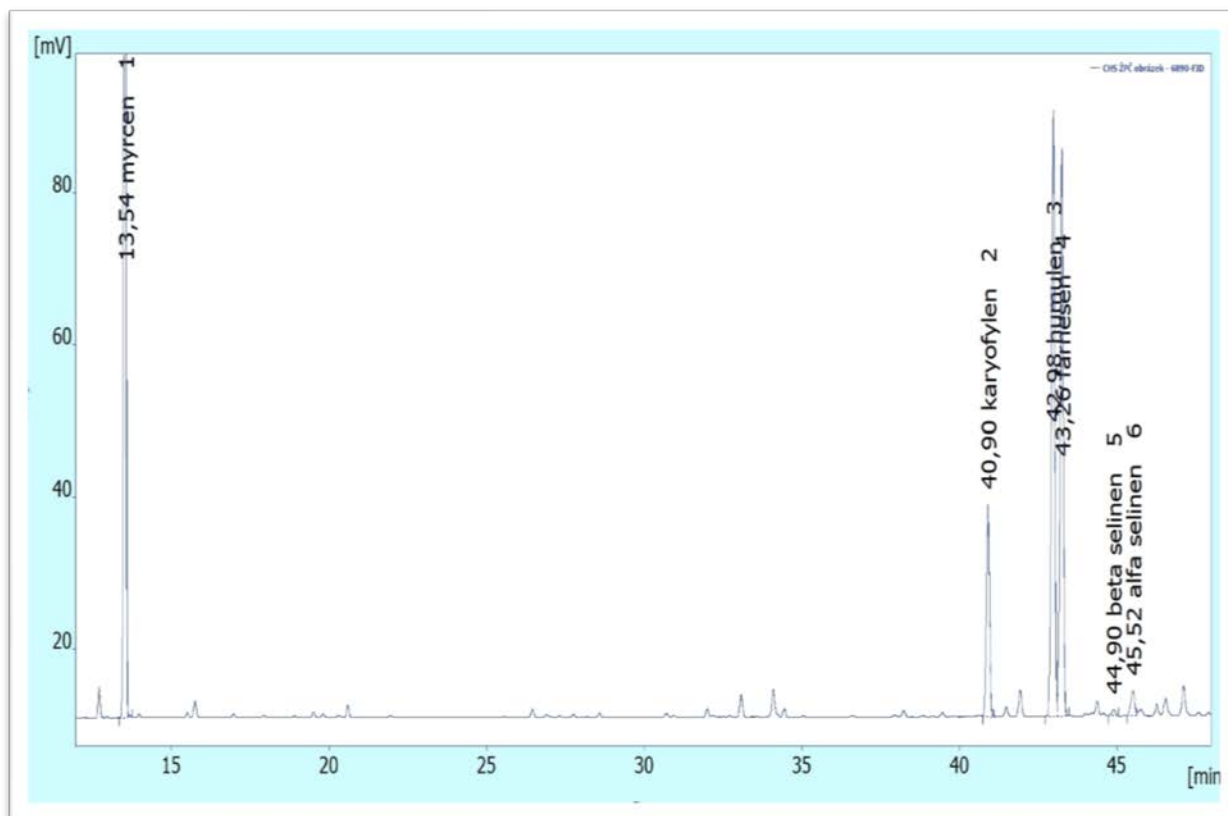
7 Kvalitativní a kvantitativní analýza

Píky myrcenu, β -farnesenu, případně dalších látek obsažených v chmelové silici (α -humulen, α + β selinen, β -karyofylen atd.), se identifikují na základě jejich retenčních časů porovnáním s retenčními časy píků standardních látek.

Pro kvantitativní vyhodnocení se používá metoda vnitřní normalizace, tj. za předpokladu, že všechny složky vzorku jsou zaznamenány na chromatogramu, představuje celková plocha píků 100 % (celková eluce). Podíl myrcenu a β -farnesenu podle obsahu jejich píků vypočítá řídicí chromatografický software.

Příklad chromatogramu získaného při analýze vzorku chmelové silice je na obrázku č. 1.

	Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Testování odrůd	Vydání	1
	50247.1 – Stanovení podílu myrcenu a β -farnesenu v chmelové silici metodou kapilární plynové chromatografie	Revize	0



Obrázek č. 1. Chromatogram reálného vzorku chmelové silice Žateckého poloraného červeňáku.

8 Literatura

- 1 Nesvadba, V., Polončíková, Z., Henychová, A., Krofta, K., Patzak J., 2012. Atlas českých odrůd chmele. CHI Žatec. ISBN 978-80-87357-11-8.
- 2 Pokorná, T.: Diplomová práce: Chmelové silice a možnosti jejich využití, MU Brno-Fakulta agronomická, 2015.
- 3 Zlochová, T.: Bakalářská práce: Stanovení senzoricky aktivních látek ve chmelu metodou GC-MS, UK Praha, Přírodovědecká fakulta, 2017.
- 4 Centner, V.: Uživatelská příručka EffiValidation 3.0.
- 5 ČSN 46 2520, část 12 – Zkoušení chmele. Stanovení chmelových silic a z toho farnesenu.
- 6 Krofta, K., Patzak, J.: Zjišťování autenticity českých odrůd chmele pomocí chemických a molekulárně genetických analýz. Kvasný průmysl 57/2011 (7-8).