

Možnosti využití moderních metod přípravy vzorků pro plynově chromatografické analýzy při analýze nápojů a zejména piva. Část I. – Literární přehled

Possibilities of Utilization of Modern Sample Preparation Methods for Gas Chromatographic Analysis of Beverages and Especially beer. Part I. – Literature Review

TOMÁŠ HORÁK, JIŘÍ ČULÍK, MARIE JURKOVÁ, PAVEL ČEJKA, VLADIMÍR KELLNER, JOSEF DVOŘÁK, DANUŠA HAŠKOVÁ
Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s., Pivovarský ústav Praha, Lípová 15, 120 44 Praha 2 / *Research Institute of Brewing and Malting PLC, Brewing Institute Prague, Lípová 15, CZ-120 44 Prague 2, Czech Republic*
e-mail: horak@beerresearch.cz

Horák, T. – Čulík, J. – Jurková, M. – Čejka, P. – Kellner, V. – Dvořák, J. – Hašková, D.: Možnosti využití moderních metod přípravy vzorků pro plynově chromatografické analýzy při analýze nápojů a zejména piva. Část I. – Literární přehled. Kvasny Prum. 56, 2010, č. 9, s. 358–366.

Plynová chromatografie má významnou úlohu při stanovování sensoricky aktivních látek, jejichž obsah je důležitý nejen pro sledování kvality již finálního výrobku, ale též při testování nových technologických postupů. Před vlastním plynově chromatografickým stanovením je však nutné stanovené látky vyextrahovat, zkoncentrovat a eventuálně přečistit. Za tímto účelem bylo během posledních dvaceti let představeno mnoho technik pro přípravu vzorků, které mohou nahradit dosud používané klasické postupy. Tyto postupy zahrnují off-line a on-line metody a jsou založeny jak na důkladné extrakci látek, tak na principech ustanovení rovnováhy. Tento přehled diskutuje výhody a nevýhody sedmi moderních postupů pro přípravu vzorků (headspace, purge and trap, extrakce na pevné fázi, mikroextrakce na pevné fázi, mikroextrakce na jedné kapce, superkritická fluidní extrakce, extrakce pomocí ultrazvuku), které je možné použít při analýze nápojů, a zejména piva.

Horák, T. – Čulík, J. – Jurková, M. – Čejka, P. – Kellner, V. – Dvořák, J. – Hašková, D.: Possibilities of utilization of modern sample preparation methods for gas chromatographic analysis of beverages and especially beer. Part I. – Literature review. Kvasny Prum. 56, 2010, No. 9, p. 358–366.

Gas chromatography plays a significant role in the determination of flavours whose content is important not only for monitoring the quality of final product but also when testing new technological procedures. Sample preparation procedures including extraction, concentration and clean-up are often necessary before gas chromatographic determination. In the past two decades, numerous sample preparation techniques have been introduced that can gradually supersede the current classical methods. These procedures include off-line and on-line methods and they are based on thorough extraction as well as on equilibrium-setting approaches. This review discusses the advantages and disadvantages of seven modern sample preparation procedures (headspace, purge and trap, solid-phase extraction, solid-phase microextraction, single drop microextraction, supercritical fluid extraction, ultrasound assisted extraction) which can be used for analyzing beverages and especially beer.

Horák, T. – Čulík, J. – Jurková, M. – Čejka, P. – Kellner, V. – Dvořák, J. – Hašková, D.: Möglichkeiten der Ausnutzung von modernen Methoden der Mustervorbereitung für Gas – chromatografische Analysen der Getränke insbesondere des Bieres. Teil I. – Übersicht der Fachliteratur. Kvasny Prum. 56, 2010, Nr. 9, S. 358–366.

Bei der Bestimmung der sensorischen Aktivstoffe hat eine bedeutende Aufgabe das Gas – Chromatographie weil Gehalt an Aktivstoffe sehr wichtig nicht nur für die Qualitätsverfolgung des finalen Getränks aber auch für das Testen der neuen technologischen Verfahren wichtig ist. Vor dem Gas – Chromatographieverfahren müssen die Stoffe extrahiert, konzentriert und eventuell gereinigt werden. Im Zeitraum der letzten 20 Jahre wurden viele Mustervorbereitungsverfahren vorgestellt, die die klassischen Methoden ersetzen können. Diese Verfahren erfassen Off-line- und On-line Methoden, weiterhin wird sowohl auf Basis einer gründlichen Stoffextraktion als auch auf Prinzipien einer Einstellung ein Gleichgewicht gegründet. Im diesen Artikel werden Vor- und Nachteile von sieben modernen Mustervorbereitungsverfahren (headspace, purge und trap, Extraktion an der festen Phase, Mikroextraktion an der festen Phase, Mikroextraktion an einem Tropfen, superkritische Fluidextraktion, Extraktion mittels Ultraschall) diskutiert, die zur Getränkeanalyse vorzugsweise Bieranalyse geeignet sind.

Klíčová slova: plynová chromatografie, příprava vzorků, pivo, pivovarská analytika

Keywords: gas chromatography, sample preparation, beer, brewing analytics

1 ÚVOD

Příprava vzorků před vlastním stanovením sledovaných analytů je nutná především z následujících důvodů: zlepšení chromatografických vlastností analytů; zlepšení detekce látek; izolace sledovaných sloučenin z matrice.

Vzhledem k pokroku ve vývoji nových fází a celkové kvalitě dnešních kapilárních kolon první důvod není v současné době tím nejdůležitějším hlediskem. Zbývající dva aspekty (zlepšení detekce a účinnější odstranění interferujících látek) jsou však stále stejně důležité jako před několika desítkami let. Během let se také mnohokrát potvrdilo, že v průběhu celého analytického procesu je příprava vzorků většinou krokem, který je časově nejnáročnější, nejpracnější a také je nejnáchylnější ke vzniku chyb.

Během let se mnoho vědeckých týmů snažilo zavést nové postupy pro přípravu vzorků, které by nahradily tradiční soxhletovou extrakci nebo extrakci v systému kapalina-kapalina. Tyto moderní techniky pro přípravu vzorků tak zahrnují postupy od vysoce selektivních metod pro stanovení jedné nebo několika konkrétních látek, až po nepřímé

1 INTRODUCTION

Before the determination of the compounds of interest the sample preparation is necessary for several reasons: improvement of the chromatographic behavior of the analytes; improvement of detection of the analytes; isolation of the analytes from the matrix.

Due to the progress in the development of new phases and also due to quality of nowadays capillary columns, the first reason has become relatively unimportant. But the other two aspects (improved detection and efficient separation of interfering compounds) are as important as they were several decades ago. During the years, it has many times realized that sample preparation is mostly the most time-consuming, tedious and error-prone step of the total analytical procedure. Before the determination of the compounds of interest the sample preparation is necessary for several reasons: improvement of the chromatographic behavior of the analytes; improvement of detection of the analytes; isolation of the analytes from the matrix.

Over the years, many scientific groups have tried to introduce new sample preparation procedures to replace traditional methods such

selektivní postupy vhodné pro potreby screeningu. Pozornost je zaměřena zejména na miniaturizaci a zkrácení doby nutné pro přípravu vzorku, a tím urychlení celého analytického procesu. Hlavními cíli při vývoji těchto postupů bylo, a stále zůstává, zvýšit kapacitu laboratoře pro dané stanovení, celkově zlepšit kvalitu přípravy vzorků, dosáhnout lepších mezí detekce, snížit množství vzorku nutného k provedení analýzy, minimalizovat použití organických rozpouštědel a sorbentů a v konečném výsledku tak snížit i množství odpadu [1].

Tato přehledová studie je zaměřena na představení moderních technik pro přípravu vzorků, které se dají využít při analýze nápojů zejména piva. Každá technika je krátce popsána, jsou diskutovány její výhody a nevýhody a uvedeny vybrané aplikace. Pracovní a validační charakteristiky postupů nejsou v této studii porovnávány.

2 METODY PŘÍPRAVY VZORKŮ

2.1 Headspace a Purge-and-Trap

Headspace technika je základní a velmi často používaná technika pro stanovení těkavých látek. K analýze na plynovém chromatografu se dávkuje plynná fáze, která je v rovnovážném stavu s kapalnou fází vzorku. Často se vhodným způsobem zajistí obohacení plynné fáze sledovanými analyty, čímž se zlepší citlivost. Díky tomu, že se nastříkne pouze plynná fáze, se tak výrazným způsobem potlačuje zatížení chromatografického systému nežádoucími interferujícími nebo znečišťujícími látkami, což výrazným způsobem prodlužuje životnost kapilární kolony. Metoda byla poprvé popsána v roce 1958 [2], a brzy poté firma Perkin Elmer uvedla na trh plně automatický headspace dávkovač spojený s plynovým chromatografem.

U headspace postupu je hlavní proměnnou distribuční konstanta analytu mezi plynnou fází a kapalnou fází. Čím více je rovnováha posunuta k plynné fázi, tím s větší citlivostí bude látka stanovena. Současný stav headspace techniky popisuje celá řada publikací, např. [3–8].

Headspace analýza může být prováděna dvěma způsoby. Pokud je vzorek v rovnovážném stavu s plynnou fází v uzavřeném prostoru (vialce), potom se tato metoda nazývá *statický headspace*, zkráceně *HS*. Pokud nosný plyn proudí nad hladinou vzorku nebo probublává vzorkem a extrahované těkavé látky se zachytávají v kryogenní nebo sorpční pastí, pak se tento postup označuje jako *dynamický headspace*, *gas-phase stripping* nebo *purge-and-trap*, zkráceně společně označení *P&T*.

HS analýzy

Při HS analýze se ustavuje rovnováha mezi těkavými látkami obsaženými ve vzorku a v parní fázi nad vzorkem v plynotěsně uzavřené vialce. Po určité době nutné k ustanovení rovnováhy je část plynné fáze odebrána z vialky a nastříknuta na kolonu plynového chromatografu. K podpoře vytěsnění látek z kapalného vzorku do parního prostoru (pro látky s nízkou distribuční konstantou, které z větší části zůstávají v kapalně fázi) je možno použít zvýšenou teplotu ekvilibrace nebo zvýšit iontovou sílu vzorku pomocí vysolení. Účinné je také míchání nebo třepání vzorku během ustavování rovnováhy.

Po ustanovení rovnováhy je plynná fáze nastříknuta na kolonu buď pomocí plynotěsné stříkačky, nebo je jí nejprve naplněna vyhřívaná dávkovací smyčka a po přepnutí dávkovacího ventilu je obsah smyčky nosným plynem vypláchnut na kolonu [5–9].

Stejná doba ustavování rovnováhy a přesná kontrola teploty během inkubace jak vzorků tak i standardů představují kritické kroky pro zajištění přesné kvantifikace a odpovídající opakovatelnosti/reprodukovatelnosti. Tyto požadavky bezesbytku splňují automatické HS dávkovače. S jejich využitím je celý postup přípravy vzorků velmi jednoduchý [1].

P&T analýzy

Během P&T analýzy je vzorek kontinuálně proplachován inertním plynem, většinou heliem, a těkavé látky jsou vytěšňovány ze vzorku do trapu s dostatečně velkou retenční kapacitou (např. Tenax, aktivní uhlí nebo křemelina) tak, aby nedošlo k průniku sledovaných látek. Po vypuzení látek se trap rychle zahřeje a zachycené analyty jsou uvolněny na chromatografickou kolonu často ještě s předřazenou studenou pastí z důvodu zaostření zón. Vzhledem k tomuto zakoncentrování látek dosahuje technika P&T podstatně lepších mezí detekce v porovnání s HS postupem založeným pouze na rovnovážném stavu kapalina-plyn.

K hlavním faktorům ovlivňujícím P&T analýzu patří optimalizace doby proplachování vzorku, průtok proplachovacího plynu a teplota. Prodloužení doby proplachování obecně zvyšuje výtěžnost. Na druhé

as Soxhlet or liquid-liquid extraction. The modern sample preparation techniques range from highly selective methods to be used for one, or a few, target analytes of special interest to wide-ranging usually rather non-selective procedures primarily meant for screening purposes. Attention has been especially focused on miniaturization and shortening time necessary for sample preparation and so the whole analytical procedure could be accelerated. The main aims were, and still are, to increase sample throughput in laboratory, improve the overall quality of the sample preparation procedures, improving detection limits, decrease the required sample sizes and minimize the use of organic solvents and sorbents and in final result also reduce the amount of waste [1].

This review is focused on the introduction of the modern sample preparation techniques which can be used in analyses of beverages and especially of beer. Each technique is briefly described. The merits and demerits are discussed and number of selected applications is given to illustrate of each of these. Working and validation parameters are not compared in this study.

SAMPLE PREPARATION METHODS

2.1 Headspace a Purge-and-Trap

Headspace technique is a primary and very often used procedure for the determination of volatile compounds. A gas phase in equilibrium with the sample material is sampled and analyzed by gas chromatographic method. In most cases, a considerable enrichment of the analytes can also be obtained in the gas phase, which improves analyte's detection. Due to only the gas phase is injected, the contamination of chromatographic system by interfering or polluting compounds is reduced and lifetime of capillary columns is expressively extended. The method was for the first time described in 1958 [2] and the fully automated headspace sampling in combination with gas chromatograph were marketed soon after by Perkin Elmer company.

The main variable in headspace procedure is the distribution constant of an analyte between the gas phase and the liquid phase. The more the equilibrium is shifted to the gas phase, the more sensitive the analyte can be determined. The state of the art of headspace analysis is documented in many publications, e.g. [3–8].

Headspace analysis can be practiced by two ways. If the sample is in equilibrium with the gas phase in closed vessel (vial), then the method is called as *static headspace*, shortly *HS*. If a carrier gas is passed over, or through, the sample and the extracted volatile compounds accumulated in a cryogenic or sorbent trap, then the procedure is generally referred to as *dynamic headspace*, *gas-phase stripping* or *purge-and-trap*, as common shortly *P&T*.

HS Analysis

In HS analysis, the volatiles in the sample are equilibrated with a gas phase above the sample in a gas-tight closed vial. After a predetermined equilibration time, part of the gas phase is withdrawn from the vessel, and injected into a gas chromatographic column. For compounds which, because of low distribution constants, largely remain in the liquid matrix, an obvious way to enhance the analyte concentration in the gas phase is to increase their vapour pressure by increasing the equilibration temperature or increase the ionic strength of the solution by salting out. Stirring or shaking is also efficient during equilibration.

After equilibrium has been established, the gas phase is sampled using a gas-tight syringe or a heated loop is filling by sample vapour and after switching of thermostated gas-sampling valve the content of loop is transferred by carrier gas in to the column [5–9].

The same equilibrium time and the accurate controlling of the temperature during incubation both during analysis, from sample to sample, and from sample to standard, become the overriding importance in order to ensure reliable quantification and also repeatability/reproducibility. These demands are solved by automated HS samplers. With using of autosamplers the whole sample preparation procedure is very simple [1].

P&T Analysis

During P&T analysis, a sample is continuously purged with an inert gas, usually helium, and volatiles are stripped from the sample to a trap with sufficiently high retention power (e.g. Tenax, activated carbon or silica) for the analytes to be collected without the risk of breakthrough. After purging, the trap is quickly heated and the trapped volatiles are release onto a chromatographic column, usually via

straně, pokud proplachovací doba je příliš dlouhá a trap nemá dostatečnou retenční kapacitu, může pro vysoce těkavé látky dojít k průniku látek, a tak k znemožnění přesné kvantifikace. Co se týče teploty, zejména při stanovování obsahu méně těkavých látek, které se ze vzorku vypudí jen částečně, je pro přesnou kvantifikaci nezbytně nutná její důsledná kontrola během celé P&T analýzy. Ze zřejmých důvodů zvýšení teploty vede ke zlepšení výtěžnosti. Avšak v důsledku toho se do trapu dostává hodně vodní páry. Toto je hlavní nevýhoda P&T techniky ve srovnání s HS metodou, kde objemy plynné fáze dávkované na kolonu jsou relativně malé. Vzhledem k tomu, že se pro zachytávání látek používá studený záchyt, může poměrně snadno dojít k jejich zablokování právě v důsledku velkého objemu vodní páry. Proto je důležité před vstupem do pastí vlhkost z proplachovacího plynu odstranit. Za tímto účelem se používají různá anorganická sušidla, kondenzátory nebo i selektivní permeační polymerové membrány (např. Nafion). Jejich použití však někdy může mít za následek nekontrolovatelnou ztrátu některých analytů [1, 10].

Aplikace

V průběhu let bylo publikováno ohromné množství prací využívajících tyto techniky v potravinářském průmyslu. Některé, zaměřené zejména na oblast pivovarské analytiky, jsou uvedeny v *tab. 1*. Využití HS postupu je součástí řady oficiálních metodik EBC, IOB, MEBAK. Použití P&T techniky při analýze piva velmi komplikuje pěnivost matrice [24].

2.2 Extrakce na pevné fázi

Extrakce na pevné fázi (SPE) jako metoda pro přípravu vodných vzorků byla představena v sedmdesátých letech. Metoda se využívá především k zakoncentrování a někdy také k přečištění stanovovaných analytů.

Díky jednoduchosti a snadnému použití SPE vyústil zájem o tuto techniku ke komerčnímu používání jednorázových minikolonek. Tyto kolonky jsou plněny různými sorbenty o různé velikosti částic. K přečištění vzorku a promývání roztoku skrze kolonku je díky velikosti částic možné použít nízkého tlaku. Jako sorbenty se nejčastěji používají modifikovaný i nemodifikovaný oxid křemičitý, oxid hlinitý, polymery atd. Pro obrácenou fázi jsou k dispozici oktadecyl (C_{18}), oktyl (C_8), ethyl (C_2), cyklohexyl, fenyl, butyl (C_4). Pro normální fázi se používá oxid křemičitý modifikovaný skupinami kyano (-CN), amino (-NH₂), dioly (-COHCOH). Pro adsorpci se využívá silikagel (-SiOH), florisil (Mg_2SiO_3), oxid hlinitý (Al_2O_3). K iontové výměně se využívá skupiny amino (-NH₂), kvarterního aminu (N⁺), karboxylové skupiny (-COOH), aromatické sulfonové kyseliny ($ArSO_2OH$) nebo polyethyleniminu [$-(CH_2CH_2NH)_n-$].

Velmi důležitým kritériem umožňujícím vysokou opakovatelnost analytických výsledků je zajištění konstantní kvality různých šarží jednorázových SPE kolonek. K tomuto účelu se jako charakteristika SPE kolonky používá kapacita kolonky. Kapacita se vyjadřuje jako poměr mg analytu/g sorbentu a znamená, že za stejných podmínek různé šarže kolonek adsorbují a desorbují stejné množství analytu. Stejnou kvalitou šarží dnes většinou firmy garantují certifikovaným procesem výroby SPE kolonek.

Před analýzou je nutné SPE kolonku nejprve kondicionovat. Poté se kolonkou prosaje vzorek, obvykle okolo 10 ml, rychlostí několika ml/min. Pak se kolonka propláchne několika mililitry vody, vysuší se

a cold trap for focusing of chromatographic zone. Due to this concentration step P&T technique reaches much better analyte detection limits than HS type based on equilibrium between liquid-gas phase.

The key parameters in P&T optimization are purge time, flow rate and temperature. Prolongation of the purge time will generally enhance the recovery of the analytes of interest. On the other hand highly volatile compounds may be partly lost if purge times are too prolonged and or the trap is characterized by insufficient retention. Due to this the correct quantification makes impossible. As regards the purge temperature, because less volatile and more water-soluble analytes will be removed only partly even under optimized conditions, careful control of the temperature of the sample vessel is required for precise quantification during the whole P&T analysis. For obvious reasons increasing of temperatures will enhance analyte recovery. However, in consequence this more water vapour will be carried over into trap. This is the main disadvantage of P&T technique in comparison of HS method where the gas volumes sampling onto the column are relatively small. Since cold traps, which are frequently used to collect the analytes, easily become blocked through the large amount of vapour. So, it is important to remove the moisture from the purge gas before it enters the cold trap. Inorganic desiccants, water condenser or selective permeation polymeric membrane (e.g. Nafion) are used to do this. However, each of these alternatives, has specific disadvantages which invariably cause the uncontrollable loss of particular classes of analytes [1, 10].

Applications

During years a lot of publications focused on application of these techniques in food industry were published. Some of them especially oriented on brewing analysis are shown in *Tab. 1*. Many official EBC, IOB or MEBAK methods use HS procedures. Utilization of P&T technique in beer analyses is complicated by strong formation of foam [24].

2.2 Solid-Phase Extraction

Solid-phase extraction (SPE) as a method for the sample preparation of aqueous samples was introduced in late 1970s. The method is used first of all for enrichment and sometimes also for clean-up of determined compounds.

The great interest in this simple and use-to-use technique led to the marketing of disposable minicolumns. These columns are packed with sorbents of different particle sizes. The particle size permits the use of low pressure to force the sample and wash the solution through the column. The sorbents mostly used include modified silica, unmodified silica, alumina, polymers etc. The reversed phase usually used as sorbents octadecyl (C_{18}), octyl (C_8), ethyl (C_2), cyclohexyl, phenyl, butyl (C_4). Sorbents for the normal phase involve silica modified by cyano (-CN), amino (-NH₂), diols (-COHCOH). Silica gel (-SiOH), florisil (Mg_2SiO_3), alumina (Al_2O_3) are used for adsorption. As ion-exchangers serve amino (-NH₂), quaternary amine (N⁺), carboxylic acid (-COOH), aromatic sulfonic acid ($ArSO_2OH$) or polyethyleneimine [$-(CH_2CH_2NH)_n-$].

The constant batch – to – batch quality of disposable cartridges is a very important criterion for the high precision of analytical results. The capacity is used as a characteristic of the SPE column. The ca-

Tab. 1 Vybrané aplikace použití HS technik / Selected applications using HS techniques

Analyty / Analytes	Vzorek / Sample	Detektor / Detector	Literatura / References
HS metoda / HS procedure			
Vicinální diketony / Vicinal diketones	Pivo / Beer	ECD	11–14
Dimethylsulfid / Dimethylsulfide (DMS)	Pivo, mladina, slad / Beet, Mash, Malt	FPD, FID	15–19
Vysoce těkavé látky / High volatile compounds	Pivo / Beer	FID	15, 20, 21
Acetoin / Acetoin	Pivo / Beer	FID	22
Aldehydy / Aldehydes	Vodka / Wodka	ECD	23
VHOCs	Pivo / Beer	ECD	27, 28
P&T metoda / P&T procedure			
Karbonyly / Carbonyls	Pivo / Beer	ECD	24
2,4,6-Trichloroanisol	Víno / Wine	AED	25
VHOCs	Nápoje / Beverages	MS, ECD	26, 27

jemným proudem dusíku za laboratorní teploty. Nakonec jsou zachycené analyty desorbovány malým množstvím (okolo 100 µl) organického rozpouštědla a analyzovány na plynovém chromatografu nebo po převedení do vhodného rozpouštědla, většinou mobilní fáze, nastříknuty na kolonu kapalinového chromatografu [1].

Celý proces SPE lze automatizovat a přímo propojit s dávkovačem vzorků na plynovém nebo kapalinovém chromatografu.

Aplikace

Typické využití SPE spočívá v analýze vody na stanovení pesticidů a jiných kontaminantů životního prostředí. S úspěchem lze však tento postup využít i v pivovarské analytice, jak vyplývá z tab. 2.

2.3 Mikroextrakce na pevné fázi

Mikroextrakce na pevné fázi – SPME – je adsorpčně/desorpční technika vyvinutá prof. Pawlizynem na University of Waterloo v první polovině 90. let a patentovaná firmou Supelco [45].

Nejdůležitější součástí je 1 cm nebo 2 cm dlouhé křemenné vlákno pokryté polymerem. Je spojeno s ocelovým pístem a umístěno v duté ocelové jehle, které chrání vlákno před mechanickým poškozením. Vlákno je zataženo dovnitř jehly, která propíchne septum v zátce vialky. Posunutím pístu se vlákno vysune do vzorku eventuálně do prostoru nad jeho hladinou (většinou se k extrakci používá 2–5 ml vzorku). Analyt se sorbuje do vrstvy pokrývající vlákno. Po dosažení sorpční rovnováhy (obvykle 2–30 min) se vlákno opět zasune dovnitř jehly a spolu s ní je vytaženo z vialky se vzorkem. Nakonec je jehla zavedena do injektoru plynového chromatografu, kde je analyt teplem desorbován a nesen na GC kolonu.

Rovnovážný stav SPME je závislý na koncentraci analytu ve vzorku a na typu a tloušťce polymeru, který pokrývá křemenné vlákno. Množství adsorbovaného analytu závisí na distribuční konstantě a na tloušťce vrstvy polymeru. Doba extrakce je dána časem potřebným pro extrakci dostatečné koncentrace analytu s nejvyšší distribuční konstantou. Distribuční konstanta obecně vzrůstá s rostoucí molekulovou hmotností a bodem varu analytu.

Selektivitu extrakčního postupu lze ovlivnit typem polymeru pokrývajícího vlákno. Obecně se dá říci, že těkavé látky vyžadují silnější vrstvu polymeru a slabší vrstva je zase účinnější pro sorpci a desorpci středně těkavých analytů. Extrakční proces lze ovlivnit také pomocí vysolovacího efektu a/nebo úpravou pH, mícháním vzorku nebo jeho zahříváním.

Přímé ponoření SPME vlákna do vzorku vede pochopitelně k podstatně vyšší účinnosti extrakce než expozice vlákna v headspace prostoru. Avšak ponoření vlákna do velmi komplexních matic, které navíc mohou obsahovat vysokou koncentraci solí použité k vysolení nebo extrémní pH, může vést k rychlému zničení vlákna. Proto se při analýze piva používá podstatně šetrnější extrakce v headspace prostoru.

Hlavní přednost tohoto postupu spočívá v tom, že není zapotřebí vůbec žádných rozpouštědel. Na druhé straně SPME vlákna jsou velmi křehká. Při manipulaci je třeba opatrného, zručného zacházení, jinak dojde snadno k jeho zničení [1,46].

SPME vlákna dodává na trh firma Supelco a celá řada firem dodává automatické dávkovače umožňující pracovat s SPME vlákny, což určitě přispělo k značnému rozšíření tohoto extrakčního postupu.

capacity, measured in mg analyte/g sorbent means that under identical test conditions, the various batches adsorb and desorb the same quantity of analyte. Today in most cases companies guarantee the uniform quality of the batches by the certificated production processes.

Before analysis a conditioning of SPE column is necessary. After that a sample volume often about 10 ml is loaded at speed of several ml/min. Then the cartridge is cleaned with a few milliliters of water, and dried by gently stream of nitrogen at ambient temperature. Finally, the enriched analytes are desorbed with as little as 100 µl of an organic solvent and gas chromatographic separation is followed or after conversion to a suitable solvent usually mobile phase injected into the column of liquid chromatograph [1].

The whole SPE procedure can be automated and directly connected through the gas or liquid chromatographic sampler.

Applications

The typical utilization of SPE is focused to analyses of water for pesticides and other environmental pollutants. This procedure can be successfully used also in brewing analytics (Tab. 2).

2.3 Solid-Phase Microextraction

Prof. Pawlizyn from the University of Waterloo has developed a solid phase microextraction – SPME – adsorption/desorption technique in the first part of 90th. This extraction procedure has been patented by Supelco Company [45].

A fused-silica fibre (1–2 cm long) coated with an appropriate polymer sorbent layer is the most important part. It is connected with steel plunger and situated in to concave steel needle which protected fibre against mechanical damage. The needle serves to pierce the septum of a sample vial when the fibre is inside of the needle. By moving of the plunger the fibre is exposed by the sample or by the headspace volume above the sample level (typically sample volume 2–5 ml is used). Analytes are sorptived in to the layer coated fibre. After the equilibrium is reached (usually 2–30 min) the fiber is push in to the needle again and together with the needle is taken out the sample vial. Finally the needle is inserted in to the gas chromatographic injector where the analytes are thermally desorptived and applied to GC column.

The SPME equilibrium depends on analyte concentration in the sample and on the polymer thickness layer covered fused-silica fibre. The amount of adsorbed compound depends on distribution constant and on the polymer thickness layer. Extraction time is influenced by the time necessary for extraction of sufficient concentration of compound with the highest distribution constant. Generally, distribution constant increases with increasing molecular weight and with boiling-point of analyte.

A selectivity of extraction procedure can be influenced by a different type of polymer covering the fibre. Generally, the high volatile compounds require thicker layer of polymer and on the other hand a weaker layer is more effective for sorption and desorption of medium volatile analytes. The process can be aided by salting-out and/or pH adjustment, sample agitation and heating.

The direct immersion of SPME fibre into the sample leads understandably to much more effective extraction in comparison with

Tab. 2 Vybrané aplikace použití SPE metody / Selected applications using SPE method

Analyty / Analytes	Vzorek / Sample	Detektor / Detector	Literatura / References
Pesticidy / Pesticides	Voda, pivo / Water, beer	MS	29–31
Chlorfenoly / Chlorinated Phenols	Pivo / Beer	ECD	32
Vyšší aromatické alkoholy / Higher aromatic alcohols	Pivo / Beer	FID	33–35
Iso- α -hořké kyseliny / Iso- α -bitter acids	Pivo / Beer	UV (HPLC)	36
Mastné kyseliny / Fatty acids	Pivo / Beer	FID	37, 38
Furfural, hydroxymethylfurfural	Pivo / Beer	UV (HPLC)	39
ATNC	Pivo / Beer	Chemiluminiscenční detektor / Chemiluminescence detector	340
Vicinální diketony / Vicinal diketones	Pivo / Beer	MS	41
Umělá sladidla / Artificial sweeteners	Nápoje, pivo / Beverages, beer	UV (HPLC)	42, 43
Polyfenoly / Polyphenols	Pivo / Beer	UV (HPLC)	44

Aplikace

SPME metoda byla zpočátku využívána pro stanovení těkavých látek v životním prostředí [47, 48]. Postupně však tento postup našel uplatnění i v biomedicině a analýze potravin [49, 50]. Použití při analýze piva dokládá tab. 3.

2.4 Extrakce na míchací tyčince

Ve výše popsané SPME technice se extrakce provádí poměrně malým množstvím fáze nanesené na vlákno, což v některých analýzách omezuje nebo i vylučuje využití této metody. Proto byla vyvinuta další mikroextrakční technika – sorpční extrakce na míchací tyčince (SBSE) – popsaná Baltussenem a kol. [64]. Na trh se tento postup dostal pod křídly německé firmy Gerstel pod komerčním označením Twister. Detailní popis principu a možnosti spolu s omezením využití tohoto extrakčního postupu bude popsáno v dalších částech této série článků.

2.5 Mikroextrakce na jedné kapce

V druhé polovině 90. let Liu a Dasgupta představili koncept mikroextrakce na jedné kapce – SDME [65]. Při tomto postupu se mikrostríkačka naplní extrakčním rozpouštědlem eventuálně s vnitřním standardem. Jehlou se propíchnou septum vialky se vzorkem a jehla se ponoří do vzorku. Přímou ve vzorku se na špičce jehly vyloučí kapka extrakčního rozpouštědla obvykle o objemu 1 µl. Po extrakci se kapka nasaje zpět do jehly a zavede se do injektoru plynového chromatografu.

Extrakci podporuje míchání vzorku, nicméně pokud se pracuje v režimu kapky vytvořené přímo ve vzorku, velkým nebezpečím se stává nestabilita vytvořené kapičky. Dalšími parametry ovlivňujícími extrakci jsou velikost kapky, doba extrakce, volba rozpouštědla, vysolování.

Jinou možností je umístění kapky těsně nad hladinou vzorku – headspace SDME. Tento postup je velmi podobný headspace-SPME pouze s tím rozdílem, že vlákno je nahrazeno mikrokapičkou. HS-SDME v porovnání s HS-SPME se vyznačuje podobnou opakovatelností a rychlostí extrakce a navíc přináší určité výhody. Jednak je výběr rozpouštědel mnohem širší než výběr komerčně dostupných SPME vláken. Zvolená rozpouštědla mohou mít bod varu vyšší nebo nižší než látky, které chceme extrahovat, a také rozsah polarit extrakčního rozpouštědla může být velmi široký. Dále cena použitého rozpouštědla je naprosto zanedbatelná vzhledem k ceně SPME vláken. Na druhé straně komplikace při HS-SDME způsobuje nebezpečí příliš rychlého odpaření kapky níže vroucího rozpouštědla v průběhu extrakce. Z tohoto důvodu se výběr vhodného rozpouštědla poněkud zužuje. Např. při analýze piva metodou HS-SDME se ze tří rozpouštědel (dekan, o-xylen a ethylenglykol) jako nejúčinnější prokázal ethylenglykol [66].

Výhodou SDME postupu je minimální spotřeba rozpouštědel. Vzhledem k podobnosti metody SDME s SPME se dá tento postup lehce automatizovat a po malé úpravě se dají využít SPME autosamplery.

Aplikace

Metoda SDME byla využita především při analýze vzorků životního prostředí, biologických vzorků a potravin. Použití při analýze piva shrnuje tab. 4.

Tab. 3 Vybrané aplikace použití SPME metody / Selected applications using SPME method

Analyty / Analytes	Vzorek / Sample	Detektor / Detector	Literatura / References
Nižší alkoholy, estery / Lower alcohols and esters	Pivo / Beer	FID	5
Vicinální diketony / Vicinal diketones	Pivo / Beer	ECD	52
DMS a další sírné látky / DMS and other sulphur compounds	Pivo, víno / Beer, wine	FPD, MS	53–58
Mastné kyseliny / Fatty acids	Pivo / Beer	FID	38, 59
Karbonyly / Carbonyls	Pivo / Beer	MS	60, 61
Monoterpeny / Monoterpenes	Víno / Wine	MS	62
Fenoly, haloanisoly / Phenols, haloanisoles	Víno / Wine	MS	63

Tab. 4 Použití SDME při analýze piva / Using SDME in beer analyses

Analyty / Analytes	Vzorek / Sample	Detektor / Detector	Literatura / References
Nižší alkoholy / Lower alcohols	Pivo / Beer	FID, MS	66, 67
DMS a další sírné látky / DMS and other sulphur compounds	Pivo / Beer	FPD	68

headspace exposing of the fibre. However, immersion of a fibre to highly complex matrices which, in addition, can contain high salt concentrations used for salting-out effect or extreme pH, may cause fast fibre damage. So, from this reasons the headspace SPME extraction is used in beer analyses.

SPME is an elegant approach and the fact that no solvent is required is a distinct advantage. On the other hand, it is a disadvantage that the fibre is rather fragile and careful and competent manipulation is necessary to prevent it before damage [1, 46]

SPME fibres are available by Supelco and many companies supply automatic samplers working with SPME. Due to this extraction procedure becomes very popular and extended.

Applications

SPME method was used primarily for the determination of volatile compounds of environmental interest [47, 48]. Today, there are also many applications in the biomedical field and food analysis [49, 50]. Examples of utilization during beer analysis are shown in Tab. 3.

2.4 Stir Bar Sorptive Extraction

In the above described SPME technique, the relative small volume of bound stationary phase used for analyte extraction, was a main limitation of utilization of this procedure in some analyses. So another microextraction technique – stir bar sorptive extraction (SBSE) – was developed and described by Baltussen et al. [64]. This procedure was commercialized as the Twister and marketed by German company Gerstel. Detail explanation of principle and possibilities together with limitation of this procedure will be described in next articles of this series.

2.5 Single Drop Microextraction

In the second part of the nineties Liu and Dasgupta introduced single-drop microextraction – SDME [65]. In this technique microsyringe is filled with extraction solvent usually spiked with internal standard. The needle passed through the vial septum and the needle is immersed in the sample. Directly in the sample a drop of the extraction solvent was suspended from the needle tip usually about 1 µl volume. After the extraction was finished the drop was retracted back into the needle and injected directly into the GC column.

Extraction is supported by stirring but droplet instability can cause problems if drop suspended directly in the sample mode is used. Other parameters influenced SDME are drop size, sampling time, solvent selection, salt addition.

Another possibility consists in drop location nearly above the surface of the sample solution – headspace SDME. This procedure is very similar to headspace-SPME, the only difference being that the fibre used in SPME is replaced by a liquid microdrop. Compared with HS-SPME, HS-SDME appears to have similar repeatability and speed of analysis and in addition it offers some advantages. Partly, the choice of solvents is much wider as compared to the limited number of commercial available SPME fibres. Selected solvents can have boiling point below or above the compounds of interest and also can cover a wide range of polarities. Further the cost of used solvent is negligible compared to that of SPME fibres. On the other hand the

2.6 Superkritická extrakce

Superkritická extrakce kapalin (SFE) je založena na nízké vzájemné rozpustnosti vody a nadkritického CO₂. V oblasti nadkritického tlaku a teploty se chová nadkritický CO₂ jako organické rozpouštědlo. Fáze nadkritického CO₂ a kapalná fáze se v tomto případě odlišují dostatečnou polaritou i hustotou. I když je CO₂ nepolární sloučenina vhodná zejména k extrakci nepolárních a mírně polárních látek z vodných prostředí, lze přidavkem vhodného modifikátoru (např. ethanol) docílit i zlepšené extrakce látek s vyšší polaritou.

Z experimentálního hlediska jsou možné dva přístupy použití SFE.

První možností je statické uspořádání, kdy je vodný roztok umístěn do extrakční cely a nadkritický CO₂, zavedený ke dnu nádoby, prochází díky nižší hustotě sloupcem vzorku. V tomto případě je limitujícím faktorem objem vzorku a kinetika reakce je velmi často řízena rychlostí difuze analytů ve vodné fázi. Plocha mezifázového rozhraní je obvykle nízká, což vede k dlouhým extrakčním časům.

Druhou možností je využití dynamického způsobu extrakce. Při tomto způsobu se do určité míry neomezuje objem vzorku, a tím se výrazně zvyšuje citlivost metody. Systém tvoří dvě reciproční čerpadla, z nichž jedno dodává nadkritický CO₂, druhé dávkuje vodný vzorek.

Výhodou SFE je odstranění nutnosti použít v procesu extrakce toxická organická rozpouštědla. Postup také umožňuje plnou automatizaci [69,70].

Aplikace

SFE byla používána především pro stanovení PAH a PCB. Využití lze najít i ve stanovení analytů významných pro pivovarství (tab. 5).

2.7 Extrakce za pomoci ultrazvuku

Při extrakci za pomoci ultrazvuku – USE – se k extrakci látek využívá akustických vibrací s frekvencí nad 20 kHz. Zvukové vlny jsou odlišné od elektromagnetických. Zatímco elektromagnetické se šíří vakuem, zvukové vlny se musí šířit skrze medium. V kapalině vlny produkují tlaky, jejichž výsledkem jsou bubliny nebo dutiny. Když bublina není schopná dále absorbovat energii z ultrazvuku, imploduje. Tento proces proběhne asi během 400 μs. Rychlá adiabatická komprese plynů v dutinách má za následek extrémně vysoké teploty a tlaky, které mohou dosahovat až 5000 °C a 100 MPa. Když se dutina dostane k pevnému povrchu, zkolabuje a vytvoří vysokorychlostní proud kapaliny. Kapalina proudí k povrchu rychlostí blížící se 400 km/h. Takový prudký dopad může vytvořit nové exploze a konečně vede ke vzniku vysoce reaktivních povrchů. Velmi vysoké teploty, které zvyšují rozpustnost a difuzivitu, a tlaky, které usnadňují prostupnost a transport látek, výrazným způsobem zvyšují účinnost extrakce.

Extrakce pomocí ultrazvuku se nejčastěji provádí v ultrazvukových lázních. Zde ale dochází k rozptylu ultrazvukové energie. Účinnější jsou proto ultrazvukové sondy, kde je veškerá energie ultrazvukových vln zaostřena na vzorek [1, 72].

Aplikace

Extrakce pomocí ultrazvuku se používá pro izolaci širokého spektra látek v nejrůznějších matricích. Některé příklady z oblasti analýzy nápojů přináší tab. 6.

3 ZÁVĚR

Současný stav plynově chromatografické instrumentace zejména díky úžasným možnostem různých typů hmotnostních detektorů představuje mocný nástroj v analýze potravin. Umožňuje stanovit nejen konkrétní látky, ale také rychle fingerprinty, které mohou posloužit k potvrzení nebo vyvrácení tvrzení o původu potravin. Přesto příprava vzorků před vlastním chromatografickým měřením stále hraje klíčovou roli.

use of HS-SDME seems difficult due to the risk of quickly evaporation of drop formed from low boiling solvent during extraction. From this reason the choice of suitable solvents is rather limited. E.g. for beer analyses by HS-SDME three solvents were tested (decane, o-xylene and ethylene glycol). Ethylene glycol gave the best extraction efficiency [66].

The minimum solvent consumption is an advantage of the SDME procedure. Due to the similarity of SDME and SPME operations autosamplers that can be used for SPME should also work with SDME after small modification.

Applications

SDME methods were used in environmental, bio and food analysis. The utilization in beer analyses is summarized in Tab. 4.

2.6 Supercritical fluid extraction

The supercritical fluid extraction method is based on the low solubility of water in supercritical CO₂. It is based on the fact that the supercritical CO₂ under supercritical pressure and temperature behaves as an organic solvent. In this case, the supercritical CO₂ phase and liquid phase have significantly different polarity and density. Although CO₂ as a non-polar compound is suitable especially for the extraction of non-polar and low polar compounds from aqueous samples, an enhanced extraction of higher polarity analytes can be achieved by adding of modifier, e.g. ethanol.

SFE procedure can be used in two different ways.

The first choice is static mode. An aqueous sample is placed into the extractor chamber and due to the lower density the supercritical CO₂, delivered to the bottom of the chamber, passes through the sample column. In this case, the sample capacity limits the method and the reaction kinetics are very often determined by the speed of analyte diffusion in the aqueous phase. The surface area of the inter-phase boundary is often low so long extraction times are as result.

The second possibility is dynamic mode. This SFE configuration largely does not limit the sample capacity and therefore significantly increases the sensitivity of this procedure. The system consists from two reciprocal pumps. One pump supplies the supercritical CO₂ and the other pump sampling the aqueous sample.

SFE technique eliminates using of toxic and harmful organic solvents. The procedure can be also easily automated [69, 70].

Applications

SFE was used primary for the determination of PAH and PCB. Utilization of this method is also in the brewing analytics (Tab. 5).

2.7 Ultrasound assisted extraction

In ultrasound assisted extraction – USE – acoustic vibrations with frequencies above 20 kHz are applied for extraction of analytes. Sound waves are different from electromagnetic waves. While the electromagnetic waves can pass through vacuum, sound waves must travel in matter. In a liquid, waves produce pressure and bubbles or cavities are formed. When a bubble can no longer efficiently absorb the energy from the ultrasound, it implodes. The whole process takes within about 400 μs. Rapid adiabatic compression of gases in the cavities produces extremely high temperatures and pressures, about 5.000 °C and roughly 100 MPa. When cavitation occurs in a liquid close to a solid surface, cavity collapse and produces high-speed jets of liquid. Liquid jets driving into the surface have been observed at speeds close to 400 km/h. Such a strong impact can result in serious damage to impact zones and can produce newly exposed, highly reactive surfaces. The very high temperatures which increase solubility and diffusivity and pressures which favour penetration and transport result in high extractive power.

Ultrasound assisted extraction is often used by ultrasonic baths.

Tab. 5 Použití SFE při analýze piva / Using SFE in beer analyses

Analyty / Analytes	Vzorek / Sample	Detektor / Detector	Literatura / References
Alkoholy, estery, mastné kyseliny / Alcohols, esters, fatty acids	Pivo / Beer	FID	71

Tab. 6. Použití USE při analýze nápojů / Using USE in beverage analyses

Analyty / Analytes	Vzorek / Sample	Detektor / Detector	Literatura / References
Těkavé látky / Volatiles compounds	Víno / Wine	FID	73-75
Terpeny / Terpenoids	Víno / Wine	MS	62

vou roli. Z uvedeného přehledu vyplývá, že oblast přípravy vzorků je stále otevřená novým postupům, optimalizacím a/nebo modifikacím. Stále je prostor pro zjednodušení postupů, zlepšení jejich účinnosti, zvýšení možného počtu zpracovaných vzorků, usnadnění identifikace a kvantifikace látek.

Vysvětlivky

AED – atomově emisní detektor
 ATNC – zdánlivé celkové N-nitrososloučeniny
 DMS – dimethylsulfid
 ECD – detektor elektronového záchytu
 FID – plamenoionizační detektor
 FPD – plameno-fotometrický detektor
 MS – hmotnostní detektor
 PAH – polycyklické aromatické uhlovodíky
 PCB – polychlorované bifenylly
 VHOC – těkavé halogenované organické sloučeniny

Poděkování

Tato práce je součástí Výzkumného záměru MSM 6019369701. Autoři také děkují subjektům sdruženým v ČSPS za podporu při řešení tohoto úkolu.

Autoři si dále velmi vážící pomoci a rad kolegů, kteří tak přispěli k vytvoření skvělé atmosféry v laboratoři.

But by this way the dispersion of the distribution of ultrasound energy occurs. Ultrasonic probes provide more efficiency since all energy of ultrasound waves is focused on a localized sample zone [1, 72].

Applications

Ultrasound assisted extraction is used for isolation of wide range compounds and in a variety of matrices. Some examples from beverage analyses are shown in Tab. 6.

3 CONCLUSIONS

State-of-the-art gas chromatographic instrumentation especially due to great potentialities of variety types of mass selective detectors provides a powerful tool in food analyses. It allows determining not only target compounds but also very quickly fingerprints which are important for confirmation or negation of a traceability statement of foodstuffs. Despite of this the sample preparation is still necessary before the chromatographic determination. From above submitted review it results that in the field of sample preparation a variety of approaches is still opened for new procedures, optimizations and/or modifications. Methods can be oversimplified, efficiency can be improved and increasing sample throughput and simplification of analyte identification and quantification is still interesting.

Glossary

AED – Atomic emission detector
 ATNC – Apparent total N-nitroso compounds
 DMS – Dimethylsulphide
 ECD – Electron capture detector
 FID – Flame ionization detector
 FPD – Flame photometric detector
 MS – Mass detector
 PAH – Polycyclic aromatic hydrocarbons
 PCB – Polychlorinated biphenyl
 VHOC – Volatile halogenated organic compounds

Acknowledgements

The financial support by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (project MSM 6019369701) and by members of the Czech Beer and Malt Association is gratefully acknowledged.

The authors also thank to close colleagues for their help and friendly atmosphere in laboratory.

LITERATURA / REFERENCES

- De Koning, S., Janssen, H. G., Brinkman, U. A.T.: Modern methods of sample preparation for GC analysis. *Chromatographia* **69**, 2009, 33–78.
- Bovijn, L., Pirotte, J., Berger, A.: *Gas chromatography*. Desty DH, Butterworths, London, 1958, 310.
- Kolb, B., Ettre, L. S.: *Static headspace-gas chromatography: theory and practice*, 2nd edn., Wiley, Chichester, 2006.
- Snow, N. H., Slack, G. C.: Head-space analysis in modern gas chromatography. *Trends Anal. Chem.* **21**, 2002, 608–617.
- Kolb, B.: Headspace gas chromatography. In: Wilson ID (ed) *Encyclopedia of separation science*. Academic Press, London, 2000, 489.
- Chaintreau, A.: Sample preparation, headspace techniques. In: Meyers RA (ed) *Encyclopedia of analytical chemistry*. Wiley, Chichester, 2000, 4229.
- Dewulf, J., van Langenhove, H.: Analysis of volatile organic compounds using gas chromatography. *Trends Anal. Chem.* **21**, 2002, 637–646.
- Roose, P., Brinkman, U. A. Th.: Monitoring organic microcontaminants in the marine environment: principles, programmes and progress. *Trends Anal. Chem.* **24**, 2005, 897–926.
- Kolb, B.: Headspace sampling with capillary columns. *J. Chromatogr. A.* **842**, 1999, 163–205.
- Poole, C.: *The essence of chromatography*. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, Chapter 3.7.3, 2003.
- European Brewery Convention. *Analytica EBC*, 5th update, Method 9.24.2 – Vicinal diketones in beer: gas chromatographic method. Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, Germany, 2005.
- The Institute of Brewing. *IOB methods of analysis*, Vol. 1. Method 9.22 – Vicinal diketones in beer by gas chromatography: capillary column. The Institute of Brewing: London, England, 1997.
- The Institute of Brewing. *IOB methods of analysis*, Vol. 1. Method 9.23 – Vicinal diketones in beer by gas chromatography: packed column. The Institute of Brewing, London, England, 1997.
- MEBAK. *Brautechnische Analysenmethoden*, Band III., Methode 1.2.1. – Vicinal Diketone – Headspace-Methode, MEBAK Freising-Weihenstephan: Germany, 1996.
- European Brewery Convention. *Analytica EBC*, 5th update, Method 9.24.2 – Dimethyl sulphide and other lower boiling point volatile compounds in beer by gas chromatography. Verlag Hans Carl Getränke-Fachverlag: Nürnberg, Germany, 2005.
- The Institute of Brewing. *IOB methods of analysis*, Vol. 1, Method 9.33 – Dimethyl sulphide in beer by gas chromatography. The Institute of Brewing, London, England, 1997.
- MEBAK, *Brautechnische Analysenmethoden*, Band III, Methode 1.3.1.1. – Freies DMS in Würze und Bier – Headspace-Methode, MEBAK Freising-Weihenstephan: Germany, 1996.
- MEBAK, *Brautechnische Analysenmethoden*, Band III, Methode 1.3.2. – DMS – Vorstufen in Würze, MEBAK Freising-Weihenstephan: Germany, 1996.
- MEBAK, *Brautechnische Analysenmethoden*, Band III, Methode 1.3.3. – DMS – Vorstufen in Malz, MEBAK Freising-Weihenstephan: Germany, 1996.
- The Institute of Brewing, *IOB methods of analysis*, Vol. 1, Method 9.32 – Lower boiling point volatile compounds in beer by headspace gas chromatography. The Institute of Brewing, The Institute of Brewing: London, England, 1997.
- MEBAK, *Brautechnische Analysenmethoden*, Band II, Methode 1.1.1. – Leichtflüchtige Gärungsnebenprodukte – Headspace-Methode, MEBAK Freising-Weihenstephan: Germany, 1996.
- MEBAK. *Brautechnische Analysenmethoden*, Band II, Methode 1.2.4.3. – 3-hydroxy-2-butanon (acetoin) – Headspace-Methode, MEBAK Freising-Weihenstephan: Germany, 1996.

Navštivte nás na
Brau Bevale
v hale 5, stánek 127

RUČÍME ZA TO, ŽE VAŠE ZAŘÍZENÍ BUDE V PROVOZU.

Dlouhá životnost, jistota, efektivita: originální náhradní díly od KHS.

Další informace jsou uvedeny na www.khs.com/service

Competence in Solutions.



23. Sowiński, P., Wardencki, W., Partyka, M.: Development and evaluation of headspace gas chromatography method for the analysis of carbonyl compounds in spirits and vodka. *Anal. Chim. Acta* **539**, 2005, 17–22.
24. Čulík, J., Jurková, M., Čejka, P., Kellner, V.: Zkušenosti s využitím nových technik plynové chromatografie při analýze senzory aktivních látek. Část I. Aplikace Purge and Trap Injektoru (PTI) a Thermal Desorption Cold Trap Injektoru (TCT) při analýze karbonylových sloučenin v pivu. *Kvasný Prum.* **43**, 1997, 300–304.
25. Campillo, N., Aguinaga, N., Viñas, P., López-García, I., Hernández-Córdoba, M.: Purge-and-trap preconcentration system coupled to capillary gas chromatography with atomic emission detection for 2,4,6-trichloroanisole determination in cork stoppers and wines. *J. Chromatogr. A.* **1061**, 2004, 85–91.
26. Campillo, N., Aguinaga, N., Viñas, P., López-García, I., Hernández-Córdoba, M.: Purge-and-trap capillary gas chromatography with atomic emission detection for volatile halogenated organic compounds determination in waters and beverages. *J. Chromatogr. A.* **1035**, 2004, 1–8.
27. Čulík, J., Kellner, V., Frantík, F., Jurková, M.: Stanovení nižších alifatických halogenuhlovdiků v pivu pomocí statické a dynamické headspace analýzy. *Kvasny Prum.* **41**, 1995, 105–110.
28. Horák, T., Čulík, J., Jurková, M., Kellner, V.: Stanovení chlorovaných alifatických uhlovdiků v pivu. *Kvasny Prum.* **45**, 1999, 317–320.
29. Aguilar, C., Peñalver, S., Pocerull, E., Borrull, F., Marcé, R. M.: Solid-phase microextraction and gas chromatography with mass spectrometric detection for the determination of pesticides in aqueous symplexes. *J. Chromatogr. A.* **795**, 1998, 105–115.
30. Verma, K. K., Louter, A. J. H., Jain, A., Pocerull, E., Vreuls, J. J., Brinkman, U. A.Th.: On-line solid-phase extraction-gas chromatography-ion trap tandem mass spectrometric detection for the nanogram per liter analysis of trace pollutants in aqueous symplex. *Chromatographia* **44**, 1997, 372–380.
31. Čulík, J., Jurková, M., Kellner, V.: Stanovení halogenoctových kyselin v pivě pomocí kapilární plynové chromatografie. *Kvasny Prum.* **44**, 1998, 168–171.
32. Horák, T., Čulík, J., Kellner, V., Jurková, M., Čejka, P.: Využití SPE při stanovení chlorfenolů ve varní vodě a pivu. *Kvasny Prum.* **54**, 2008, 2–5.
33. Čulík, J., Figalla, K., Horák, T., Kellner, V.: Stanovení vyšších senzory aktivních alkoholů v pivě pomocí extrakce na pevné fázi a kapilární plynové chromatografie. *Kvasny Prum.* **45**, 1999, 4–7.
34. Čulík, J., Horák, T., Jurková, M., Čejka, P., Kellner, V., Dvořák, J.: Stanovení aromatických alkoholů v pivu s využitím metody extrakce na pevné fázi (SPE) a detekce pomocí spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS). Část I. – Vypracování a validace vhodné analytické metody. *Kvasny Prum.* **55**, 2009, 177–186.
35. Čulík, J., Horák, T., Jurková, M., Čejka, P., Kellner, V., Dvořák, J.: Stanovení aromatických alkoholů v pivu s využitím metody extrakce na pevné fázi (SPE) a detekce pomocí spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS). Část II. – Obsah aromatických alkoholů v českých pivech. *Kvasny Prum.* **55**, 2009, 273–277.
36. Jurková, M., Kellner, V., Čulík, J., Horák, T., Čejka, P.: Rychlá a účinná izolace iso- α -hořkých kyselin z piva metodou SPE. *Kvasny Prum.* **49**, 2003, 258–259.
37. Hage, T.: Free fatty acids in beer – the use of a Binder-phase column in the extraction of free fatty acids for gas chromatographic essay. *Proc. Fourth European Conference on Food Chemistry*, Volume 1, Loen, Norway, June 1–4, 1987, s. 106–110.
38. Horák, T., Čulík, J., Jurková, M., Čejka, P., Kellner, V.: Využití SPE a SPME při analýze piva. *Kvasny Prum.* **52**, 2006, 78–82.
39. Gomis, D. B., Alvarez, M. D., Naredo, L. S., Alonso, J. J. M.: High – Performance Liquid Chromatographic Determination of Furfural and Hydroxymethylfurfural in Apple Juices and Concentrates, *Chromatografia* **32**, 1991, 45–48.
40. Massey, R., Dennis, M. J., Pointer, M., Key, P. E.: An investigation of the levels of N-nitrosodimethylamine, apparent total N-nitroso compounds and nitrate in beer. *Food Additives and Contaminants* **7**, 1990, s. 605–615.
41. Pejín, J., Grujic, O., Markov, S., Kocic-Tanackov, S.: Application of GC/MS Metod using SPE columns for quantitative determina-

- tion of diacetyl and 2,3-pentanedione during beer fermentation. *J. Am. Soc. Chem.* **64**, 2006, 52–60.
42. Moors, M., Teixeira, C. R. R., Jimidar, M., Massart, D. L.: Solid-phase extraction of the preservatives sorbic acid and benzoic acid and the artificial sweeteners aspartame and sacharin. *Anal. Chim. Acta* **255**, 1991, 177–186.
43. Čadková, D., Čulík, J., Jurková, M.: Stanovení umělých sladidel v pivu. *Kvasny Prum.* **42**, 1996, 243–244.
44. Dvořáková, M., Hulín, P., Karabin, M., Dostálek, P.: Determination of polyphenols in beer by an effective method based on solid-phase extraction and high performance liquid chromatography with diode-array detection. *Czech J. Food Sci.* **25**, 2007, 182–188.
45. Arthur, C. L., Pawliszyn, J.: Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Anal. Chem.* **62**, 1990, 2145–2148.
46. Procházková, D.: Mikroextrakce tuhou fází – SPME. *Kvasny Prum.* **45**, 1999, 321–322.
47. Hook, G. L., Kimm, G. L., Hall, T., Smith, Ph. A.: Solid-phase microextraction (SPME) for rapid field sampling and analysis by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *Trends Anal. Chem.* **21**, 2002, 534–543.
48. Koziel, J. A., Novak, I.: Sampling and sample-preparation strategies based on solid-phase microextraction for analysis of indoor air. *Trends Anal. Chem.* **21**, 2002, 840–850.
49. Augusto, F., Valente, A. L. P.: Applications of solid-phase microextraction to chemical analysis of live biological symplex. *Trends Anal. Chem.* **21**, 2002, 428–438.
50. Aulakh, J. S., Malik, A. K., Kaur, V., Schmidt-Kopplin, P.: A review on solid phase micro extraction—high performance liquid chromatography (SPME-HPLC) analysis of pesticides. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **35**, 2005, 71–85.
51. Jelen, H. H., Wlazly, K., Wasowicz, E., Kaminski, E.: Solid-phase microextraction for the analysis of some alcohols and esters in beer: Comparison with static headspace Metod. *J. Agric. Food. Chem.* **46**, 1998, 1469–1473.
52. Horák, T., Čulík, J., Čejka, P., Jurková, M., Kellner, V.: Stanovení vicinálních diketonů v pivu metodou SPME. *Kvasny Prum.* **47**, 2001, 316–321.
53. Hill, P. G., Smith, R. M.: Determination of sulphur compounds in beer using headspace solid-phase microextraction and gas chromatographic analysis with pulsed flame photometric detection. *J. Chromatogr. A* **872**, 2000, 203–211.
54. Fang, Y., Qian, M. C.: Sensitive quantification of sulphur compounds in wine by headspace solid-phase microextraction technique. *J. Chromatogr. A* **1080**, 2005, 177–185.
55. Vermeulen, C., Lejeune, I., Tran, T. T. H., Collin, S.: Occurrence of polyfunctional thiols in fresh lager beer. *J. Agric. Food. Chem.* **54**, 2006, 5001–5068.
56. Pinho, O., Ferreira, I. M. P. L. V. P., Santos, L. H. M. L. M.: Method optimization by solid-phase microextraction in combination with gas chromatography with mass spectrometry for analysis of beer volatile fraction. *J. Chromatogr. A* **1121**, 2006, 145–153.
57. Šulák, M., Šmogrovičová, D., Leitner, E.: Porovnanie obsahu prchavých sírnych zlúčenín v slovenských pivách motódou SPME. *Kvasny Prum.* **54**, 2008, 70–74.
58. Scarlata, C. J., Ebeler, S. E.: Headspace solid-phase microextraction for the analysis of dimethyl sulphide in beer. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 199, 2505–2508.
59. Horák, T., Čulík, J., Jurková, M., Čejka, P., Kellner, V.: Stanovení mastných kyselin v pivu technikou SPME. *Kvasny Prum.* **51**, 2005, 374–377.
60. Veselý, P., Lusk, L., Basařová, G., Seabrooks, J., Ryder, D.: Analysis of aldehydes in beer using solid-phase microextraction with on-fiber derivatization and gas chromatography/mass spectrometry. *J. Agri. Food Chem.* **51**, 2003, 6941–6944.
61. Saison, D., De Schutter, D. P., Delvaux, F., Delvaux, F. R.: Determination of carbonyl compounds in beer by derivatisation and headspace solid-phase microextraction in combination with gas chromatography and mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **1216**, 2009, 5061–5068.
62. Peña, R. M., Barciela, J., Herrero, C., García-Martín, S.: Comparison of ultrasound-assisted extraction and direct immersion solid-phase microextraction methods for the analysis of monoterpenoids in wine. *Talanta* **67**, 2005, 129–135.
63. Pizarro, C., Pérez-del-Notario, N., González-Sáiz, J. M.: Optimisation of a headspace solid-phase microextraction with on-fiber derivatisation method for the direct determination of haloanisoles and halophenols in wine. *J. Chromatogr. A* **1166**, 2007, 26–35.
64. Baltussen, E., Sandra, P., David, F., Cramers, C.: Stir bar sorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: Theory and principles. *J. Microcolumn Sep.* **11**, 1999, 737–747.
65. Liu, H., Dasgupta, L. H.: Analytical chemistry in a drop. *Trends in Analytical Chem.* **15**, 1996, 468–475.
66. Tankeviciute, A., Kazlauskas, R., Vickackaite, V.: Headspace extraction of alcohols into a single drop. *Analyst* **126**, 2001, 1674–1677.
67. Saraji, M.: Dynamic headspace liquid-phase microextraction of alcohols. *J. Chromatogr. A* **1062**, 2005, 15–21.
68. Xiao, Q., Yu, Ch., Xing, J., Hu, B.: Comparison of headspace and direct single-drop microextraction and headspace solid-phase microextraction for the measurement of volatile sulfur compounds in beer and beverage by gas chromatography with flame photometric detection. *J. Chromatogr. A* **1125**, 2006, 133–137.
69. Janda, V., Mikešová, M., Vejrosta, J.: Direct supercritical fluid extraction of water-based matrices. *J. Chromatogr. A* **733**, 1996, 35–40.
70. Čulík, J., Horák, T., Čejka, P., Jurková, M., Kellner, V., Karásek, P., Vostrá, E.: Superkritická extrakce kapalin – nova progresivní metoda v pivovarské analytice Část I. – Teoretické základy superkritické extrakce kapalin a příklady jejího využití. *Kvasny Prum.* **52**, 2006, 106–110.
71. Čulík, J., Horák, T., Čejka, P., Jurková, M., Kellner, V., Karásek, P., Varadová-Ostrá, E.: Superkritická extrakce kapalin – nova progresivní metoda v pivovarské analytice Část II. – Možnosti uplatnění superkritické extrakce kapalin při analýze senzorycky aktivních látek v pivě. *Kvasny Prum.* **52**, 2006, 142–147.
72. Luque-García, J. L., Luque de Castro, M. D.: Ultrasound: a powerful tool for leaching *Trends Anal. Chem.* **22**, 2003, 41–47.
73. Cabredo-Pinillos, S., Cedrón-Fernández, T., González-Briongos, M., Puente-Pascual, L., Sáenz-Barrio, C.: Ultrasound-assisted extraction of volatile compounds from wine samples: Optimization of the metod. *Talanta* **69**, 2006, 1123–1129.
74. Vila, D. H., Mira, F. J. H., Lucena, R. B., Recamales, M. A. F.: Optimization of an extraction method of aroma compounds in white wine using ultrasound. *Talanta* **50**, 1999, 413–421.
75. Palma, M., Barroso, C. G.: Ultrasound-assisted extraction and determination of tartaric and malic acids from grapes and winemaking by-products. *Analytica Chim. Acta* **458**, 2002, 119–130.

Recenzovaný článek / Reviewed paper

Do redakce došlo / Manuscript arrived: 15. 3. 2010

Přijato k publikování / Accepted for publication: 3. 5. 2010

Dne 1. září 2010 po těžké nemoci zemřel pivovarský odborník, vysokoškolský učitel, dlouholetý vedoucí Ústavu kvasné chemie a bioinženýrství VŠCHT v Praze a stálý spolupracovník redakce *Kvasného průmyslu*, pan docent Ing. Jaroslav Čepička, CSc. Smutnou zprávu jsme dostali až po uzavěrcce tohoto čísla, podrobněji se k této významné osobnosti naší pivovarské současnosti vrátíme v čísle 10.