

Výhody a nevýhody záměny helia jako nosného plynu v plynové chromatografii za vodík. Část II. – Retenční časy a selektivita

Advantages and Disadvantages of Substitution of Helium as Carrier Gas in Gas Chromatography by Hydrogen. Part II. – Retention Time and Selectivity

Tomáš HORÁK, Jiří ČULÍK, Karel ŠTĚRBA, Jana OLŠOVSKÁ

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

Recenzovaný článek / *Reviewed paper*

Horák, T. – Čulík, J. – Štěrba, K. – Olšovská, J.: Výhody a nevýhody záměny helia jako nosného plynu v plynové chromatografii za vodík. Část II. – Retenční časy a selektivita. *Kvasny Prum.* 59, 2013, č. 7–8, s. 198–202

V plynové chromatografii se jako nosný plyn nejčastěji používají helium, dusík a vodík. Nejrozšířenějším plynem je helium díky tomu, že umožňuje dobrou separaci, je inertní a bezpečné. V poslední době však dochází k problémům s jeho dostupností a jeho cena vzrůstá. Proto je nutné zvolit jeho vhodnou náhradu. V tomto článku je ukázáno, jak záměna helia za vodík nebo dusík ovlivní chromatografické parametry jako je retenční čas a selektivita.

Horák, T. – Čulík, J. – Štěrba, K. – Olšovská, J.: Advantages and disadvantages of substitution of helium as carrier gas in gas chromatography by hydrogen. Part II. – Retention time and selectivity. *Kvasny Prum.* 59, 2013, No. 7–8, p. 198–202

Gas chromatography often uses helium, hydrogen, and nitrogen as carrier gases. The most common carrier gas is helium since it provides good separations, is inert, and is safe to use. In recent years, the availability of helium has decreased and its cost has increased significantly. So, it is necessary to choose a suitable substitution. This article is focused on the chromatographic parameters such as retention time and selectivity after switching to the use of hydrogen or nitrogen.

Horák, T. – Čulík, J. – Štěrba, K. – Olšovská, J.: Die Vor- und Nachteile der Heliumumwechslung für Wasserstoff als Treibgas in der Gaschromatographie. Teil II. Retentionszeiten und Selektivität. *Kvasny Prum.* 59, 2013, Nr. 7–8, S. 198–202

Als Treibgas wird in der Gaschromatographie am meisten Helium, Stickstoff und Wasserstoff angewandt. Der meist angewandte Treibgas ist jedoch Helium, weil es inert, sicher und eine gute Separation ermöglicht. In der letzten Zeit sind Probleme durch den steigenden Preis und Zugänglichkeit mit Anwendung des Heliums erschienen worden, das verursacht Notwendigkeit einen geeigneten Gasersatz zu finden. Im Artikel wird beschrieben, wie der Umtausch des Heliums für Wasserstoff oder Stickstoff die chromatographische Parameter wie Retentionszeiten und Selektivität beeinflussen kann.

Klíčová slova: nosný plyn, helium, vodík, dusík, plynová chromatografie, retenční čas, pivovarská analytika

Keywords: carrier gas, helium, hydrogen, nitrogen, gas chromatography, retention time, brewing analysis

1 ÚVOD

Jak bylo ukázáno v předešlém článku, problémy s dostupností helia spolu s jeho vzrůstající cenou jsou důvodem, proč je nutné i v plynové chromatografii se zabývat otázkou záměny helia jakožto nosného plynu za jiný, vhodný plyn (Horák et al., 2013).

V tomto článku je porovnáno použití helia a vodíku v plynové chromatografii a poukázáno na praktické aspekty přechodu plynové chromatografických metod z helia na vodík s ohledem na uplatnění v pivovarské analytice.

2 TEORIE

K vyjádření účinnosti chromatografické kolony se používá počet teoretických pater kolony (N) nebo výškový ekvivalent teoretického patra ($H = L/N$, kde L je délka kolony). Výškový ekvivalent teoretického patra je funkcí průměrné lineární rychlosti nosného plynu (\bar{u}), kterou pro kapilární kolony popisuje Golayova-Giddingsova rovnice (Golay, 1958a; Giddings et al., 1960). Tato závislost je funkcí průměru kolony (d_c), tloušťky stacionární fáze (d_s), kapacitního faktoru (k) a difúzních koeficientů analytu v mobilní a stacionární fázi. Pro danou kolonu a daný analyt získáme pro různé plyny (vodík, dusík, helium) tři různé van Deemterovy křivky (obr. 1).

Z těchto závislostí vyplývají následující důležité skutečnosti.

Pro všechny nosné plyny je minimální hodnota H prakticky nezávislá na typu nosného plynu. Z toho plyne, že za předpokladu nastavení optimální průměrné rychlosti nosného plynu všechny tři plyny poskytují srovnatelnou účinnost a rozlišení.

Optimální rychlost plynu je nejvyšší pro vodík ve srovnání s heliem nebo dusíkem. Pro standardní kapilární kolony (délka 10–50 m, vnitřní průměr 0,25–0,32 mm a tloušťka filmu 0,1–0,5 μm) při optimální rychlosti je vodík 1,5krát rychlejší než helium a 3,3krát

1 INTRODUCTION

The availability of helium has decreased and its cost has increased significantly, and chromatographers have therefore considered switching to the use of another suitable gas (Horák et al., 2013).

In this article the use of helium and hydrogen in gas chromatography is compared and practical aspects of switching to the use of hydrogen as carrier gas in gas chromatographic methods are discussed especially in brewing analysis applications.

2 THEORY

The number of theoretical plates (N) or the equivalent of column plate height ($H = L/N$, L means the column length) can express the efficiency of a chromatographic column. The equivalent of column plate height is the function of the speed average of carrier gas (\bar{u}) which is described by the Golay-Giddings equation (Golay, 1958a; Giddings et al., 1960). This dependence is the function of the column diameter (d_c), film thickness (d_s), capacity factor (k) and diffusion coefficients of a compound in mobile and stationary phases. Different H versus \bar{u} curves for different gases are obtained for a given column and a given compound (Fig. 1).

Several important facts ensue from these dependences.

For all carrier gases the value H is almost independent of the type of carrier gas. So when an optimal average speed of carrier gas is adjusted, all three types of gases give similar efficiency and resolution.

The optimal carrier gas speed is the highest for hydrogen in comparison with helium or nitrogen. For current capillary columns (length 10–50 m, internal diameter 0.25–0.32 mm and film thickness 0.1–0.5 μm) and using the optimal speed, hydrogen is 1.5 times faster than helium and 3.3 times faster than nitrogen. Importantly, the equivalent of column plate height is approximately the same.

rychlejší než dusík, přičemž výškový ekvivalent teoretického patra je přibližně stejný.

Strmost křivek klesá v pořadí dusík – helium – vodík. To znamená, že pokud použijeme dusík při práci s vyšší rychlostí plynu než je optimální rychlost, dochází k rychlému poklesu účinnosti. Naopak v případě vodíku lze rychlost plynu zvýšit bez výrazné ztráty účinnosti. Helium, jak je patrné z obrázku, má střední strmost. Při zmenšování průměru kolony klesá strmost této křivky, křivka se stává plošší a zvyšuje se hodnota optimální rychlosti. V důsledku je tedy možné zvyšovat rychlost nosného plynu bez výrazného snížení účinnosti (David, Sandra, 1999; Horák et al., 2009).

Z výše uvedených důvodů tedy vyplývá, že pro náhradu helia je vodík vhodnější než dusík.

3 RETENČNÍ ČASY

Obecně řečeno platí, že chromatogram (retenční časy, účinnost, rozlišení a selektivita) je ovlivněn výběrem mobilní fáze. V plynové chromatografii je však tento fakt podstatně méně významný než v kapalinové chromatografii. Nosný plyn v plynové chromatografii jen výjimečně interaguje se stacionární fází nebo s analyty. Hlavním úkolem nosného plynu je zajistit transport analytů kolonou, a tak zajistit interakce mezi unášenými analyty a stacionární fází kolony.

V procesu plynově chromatografické separace se uplatňují především dvě vlastnosti nosného plynu – difuzivita a viskozita plynu. Difuzivita vodíku a helia je zhruba stejná, ale viskozita vodíku je při stejné teplotě méně než poloviční. Z tohoto důvodu je k dosažení stejné optimální průměrné rychlosti jako u helia zapotřebí u vodíku nižšího tlaku.

I když vztah mezi lineární rychlostí a tlakem není v důsledku stlačitelnosti nosného plynu zcela lineární, všeobecně se dá říci, že při záměně helia za vodík se při nezměněném tlaku na hlavu kolony retenční časy zkrátí zhruba na polovinu.

Retenční časy v plynové chromatografii ovlivňuje řada faktorů. Distribuční koeficient látky procházející kolonou, ten však nezávisí na typu nosného plynu; parametry kolony jako je její délka, vnitřní průměr, tloušťka stacionární fáze; průměrná lineární rychlost nosného plynu (Chromacademy, online).

3.1 Izotermická separace

Lineární rychlost plynu je kromě rozměrů kolony a vstupního tlaku plynu ovlivněna viskozitou nosného plynu. Vodík se vyznačuje asi poloviční viskozitou než helium nebo dusík při dané teplotě. Z tohoto důvodu je u vodíku k dosažení dané konstantní průměrné lineární rychlosti jako u helia nebo dusíku potřebný podstatně nižší vstupní tlak. Pokud zůstane u vodíku stejná lineární rychlost jako u helia, potom se nezmění ani retenční časy, avšak vstupní tlak pro vodík bude zhruba poloviční ve srovnání s heliem.

Naopak, pokud se zvolí konstantní vstupní tlak pro vodík jako pro helium, pak budou píky jednotlivých analytů eluovány v kratších retenčních časech, protože lineární rychlost vodíku bude větší než helia. Retenční časy se při stejném vstupním tlaku tedy zkrátí asi o polovinu.

Při použití konstantního průtoku bude výsledek mezi konstantní lineární rychlostí a konstantním tlakem (Chromacademy, online).

3.2 Teplotní program

Při použití teplotního programu je situace komplikovanější. Pokud se pomocí elektronického pneumatického systému podaří udržovat konstantní lineární rychlost, retenční časy zůstanou stejné. Ale ne každý pneumatický systém plynových chromatografů je schopen kontrolovat lineární rychlost nosného plynu.

Za použití módu konstantního tlaku se při použití vodíku budou látky eluovat rychleji. Současně se ale bude snižovat i jejich eluční teplota, což povede ke změnám v jejich relativních retenčních časech v závislosti na chemické povaze stanovovaných látek.

Podobného výsledku pouze s menším účinkem bude dosaženo při analýze při konstantním průtoku (Chromacademy, online).

The slope of the H versus \bar{u} curves drops in the order nitrogen – helium – hydrogen. This means that, when nitrogen is used in a speed higher than the optimal speed, fast degradation of efficiency is attained. On the other hand, in the case of hydrogen the gas speed can be increased without significant loss of efficiency. Helium is characterized by the middle slope (Fig. 1). With decreasing column diameter the slope of the curve drops, the curve becomes flatter and the optimal gas speed increases. Due to this a substantial speed of carrier gas can be used without considerable degradation of efficiency (David, Sandra, 1999; Horák et al., 2009).

For above reasons it is clear that hydrogen is more suitable as helium substitution than nitrogen.

3 RETENTION TIME

Generally, the chromatographic parameters such as retention time, efficiency, resolution, and selectivity are influenced by the choice of mobile phase. However, in gas chromatography this effect is much less important than in liquid chromatography. This is because the carrier gas in gas chromatography rarely interacts chemically with the stationary phase or with the analyte. The main role of carrier gas is to transport the analyte in the gas phase through the column and act as the second phase in the partitioning mechanism.

Two properties of the gas play a significant role in the gas chromatographic process – diffusivity and viscosity. The diffusivity of hydrogen and helium is roughly the same but hydrogen is slightly less than half as viscous as helium at the same temperature. For this reason hydrogen requires a lower pressure to achieve the same average carrier gas velocity than helium.

Due to the compressibility of the carrier gas the relationship between linear velocity and pressure is somewhat nonlinear, but in general, the switching from helium to hydrogen will reduce retention times roughly in half if the inlet pressure is unchanged.

Retention times in gas chromatography are influenced by several factors. The distribution coefficient of a solute in the column, which is not affected by the choice of carrier gas; the column parameters such as length, internal diameter and film thickness; and the average carrier gas linear velocity (Chromacademy, online).

3.1 Isothermal operation

The linear velocity is influenced by the column dimension, pressure drop, and viscosity of the carrier gas. Hydrogen is slightly less than half as viscous as helium or nitrogen at the same temperature. For this reason hydrogen requires a lower pressure drop to achieve the same average carrier gas velocity as for helium or nitrogen. If the velocity is unchanged with hydrogen versus helium carrier, then retention times remain also the same, while the hydrogen inlet pressure will be about half as much as with helium.

On the other hand, if the same pressure were applied with hydrogen as with helium, then the hydrogen carrier gas would cause peaks to be eluted in less time, because the linear velocity would be faster than with helium. Retention times at the same pressure would decrease by about half.

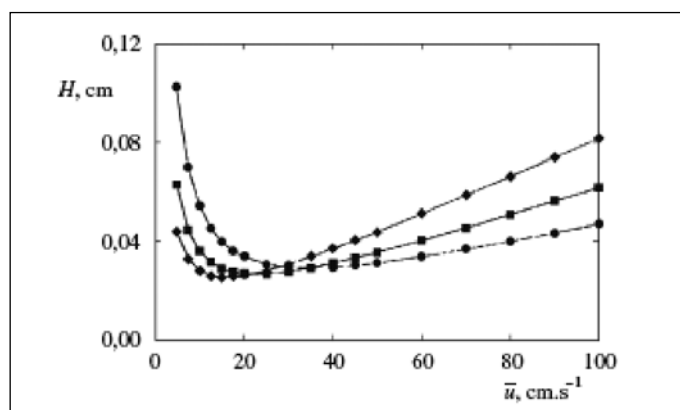
At constant flow rates, the situation is intermediate between the effects at constant velocity and those at constant pressure (Chromacademy, online).

3.2 Temperature program

The above tenets can be applied also to isothermal operations. If column temperature program is used the situation is a little changed.

When a constant linear velocity can be maintained during the temperature program by an electronic pneumatic unit, the retention times will not change. But the control of linear velocity is not available for all pneumatic systems of gas chromatographs.

In the constant inlet pressure mode, hydrogen will cause peaks to be eluted earlier. Simultaneously their elution temperatures will also be reduced



Obr. 1 H – \bar{u} křivky pro nosné plyny vodík ●, helium ■, dusík ◆. / Fig. 1 H versus \bar{u} curves for carrier gases hydrogen ●, helium ■, nitrogen ◆. (Korytár, Matisová, 2001)

Tab. 1 Chromatografické podmínky separace některých těkavých senzory aktivních látek v pivu na koloně J&W DBWAX, 60 m, 0,32 mm, 0,25 µm při záměně nosného plynu helia za vodík nebo dusík ve dvou modelových příkladech – A) zachování retenčních časů; B) „překladač“ původní metody pomocí GC Method Translation Software v modu „translate only“ / *Chromatographic conditions for separation of selected volatile beer flavours on J&W DBWAX, 60 m, 0.32 mm, 0.25 µm column after switching from helium to hydrogen or nitrogen carrier gas in two model modes – A) constant retention times; B) “translation” of original method by GC Method Translation Software in “translate only” mode*

Nosný plyn / Carrier gas	A) Zachování retenčních časů / A) Constant Retention Times			B) „Překlad“ pomocí GC Method Translation Software / B) “Translation” by GC Method Translation Software		
	Helium / Helium	Vodík / Hydrogen	Dusík / Nitrogen	Helium / Helium	Vodík / Hydrogen	Dusík / Nitrogen
Vstupní tlak (kPa) / Head Pressure (kPa)	150	65	133	150	99	57
Průtok (ml/min) / Flow Rate (ml/min)	3	2.2	2.9	3	3.8	0.9
Lineární rychlost (cm/s) / Average Velocity (cm/s)	36.4	36.4	36.4	36.4	54.4	16.1
Teplotní program / Temperature program	45 °C (3 min), 10 °C/min → 140 °C (1 min)			45 °C (3 min), 10 °C/min → 140 °C (1 min)	45 °C (2 min), 15 °C/min → 140 °C (0.7 min)	45 °C (7 min), 4 °C/min → 140 °C (2.6min)
Látka / Compound	Retenční časy (min) / Retention Time (min)			Retenční časy (min) / Retention Time (min)		
Acetaldehyd / Acetaldehyde	2.4	2.4	2.4	2.4	1.6	5.4
Dimethylsulfid / Dimethyl sulfide	2.6	2.6	2.6	2.6	1.73	5.9
Mravenčan ethylnatý / Ethyl formate	2.92	2.92	2.92	2.92	1.95	6.6
Octan ethylnatý / Ethyl acetate	3.1	3.1	3.1	3.1	2.07	7.05
Octan propylnatý / Propyl acetate	4.19	4.19	4.19	4.19	2.8	9.52
Octan isobutylnatý / Isobutyl acetate	4.6	4.6	4.6	4.6	3.07	10.45
Máselnan ethylnatý / Ethyl butyrate	4.9	4.9	4.9	4.9	3.27	11.1
Propanol / Propanol	5.2	5.2	5.2	5.2	3.47	11.82
Octan butylnatý / Butyl acetate	5.9	5.9	5.9	5.9	3.9	13.4
Isobutanol / Isobutanol	6.2	6.2	6.2	6.2	4.1	14.1
Octan isoamylnatý / Isoamyl acetate	6.4	6.4	6.4	6.4	4.27	14.5
n-butanol / n-butanol	7.1	7.1	7.1	7.1	4.7	16.1
2+3-methylbutanol / 2+3-methylbutanol	8.2	8.2	8.2	8.2	5.47	18.6
Kapronan ethylnatý / Ethyl caproate	8.7	8.7	8.7	8.7	5.8	19.8
Kaprylan ethylnatý / Ethyl caprylate	12.1	12.1	12.1	12.1	8.1	27.5

4 PRAKTICKÝ PŘÍKLAD PŘI ANALÝZE PIVA

Vzhledem k tomu, že teorie plynové chromatografie je velmi dobře popsána, byly vyvinuty programy, které při použití kolony se stejnými parametry umožňují „přeložit“ pracovní podmínky chromatografické separace při změně nosného plynu (Snyder, et. al., 1992; Quimby et. al., 1995). Díky tomu odpadá složité a hlavně časově náročné hledání nových vhodných podmínek pro separaci při použití jiného nosného plynu. Jedním z takových překladačových programů je např. GC Method Translation Software volně přístupný na internetových stránkách firmy Agilent Technologies (Agilent, online).

S pomocí tohoto software je možné ukázat, jak se změni podmínky při separaci některých významných senzory aktivních látek v pivu při záměně helia za vodík nebo dusík.

V tab. 1 jsou demonstrovány změny při separaci těkavých senzory aktivních látek v pivu na koloně J&W DB-WAX, 60 m, 0,32 mm, 0,25 µm.

Pokud bude cílem při změně nosného plynu zachovat retenční časy, je nutné zachovat u všech plynů stejnou lineární rychlost. Potom poklesne hodnota vstupního tlaku nosného plynu, u vodíku na méně než polovinu. Jak ale vyplývá z van Deemterovy křivky (obr. 1), lineární rychlost dusíku 36,4 cm/s je již nad minimální hodnotou výš-

and this can change the relative retention times of peaks with divergent chemical characteristic of determined compounds.

The same effects, but to a lesser degree, will occur when constant column flow-rate mode is used (Chromacademy, online).

4 PRACTICAL EXAMPLE IN BREWING ANALYSES

Following a very careful description of the theory of gas chromatography, a method translation software was developed for easy translating of operating conditions when carrier gas is changed (Snyder, et. al., 1992; Quimby et. al., 1995). Thanks to this, no complicated and time consuming search for new acceptable conditions for the separation with a new carrier gas is necessary. One of these forms of translating software is e.g. the GC Method Translation software free available on Agilent Technologies web sites (Agilent, online).

Using this software one can demonstrate the changing separation conditions for some beer flavors during switching from helium to hydrogen or nitrogen carrier gas.

Tab. 1 shows the changes during analysis of volatile beer flavors on J&W DBWAX, 60 m, 0,32 mm, 0,25 µm column.

If the goal is to keep the retention time constant, it is necessary to maintain the same linear velocity for all carrier gases. In this case the

Tab. 2 Chromatografické podmínky separace některých méně těkavých senzory aktivních látek v pivu na koloně J&W DB-WAX, 10 m, 0,18 mm, 0,18 μm při záměně nosného plynu helia za vodík nebo dusík ve dvou modelových příkladech – A) zachování retenčních časů; B) „překladu“ původní metody pomocí GC Method Translation Software v modu „translate only“ / *Chromatographic conditions for separation of selected low volatile beer flavours on J&W DB-WAX, 10 m, 0.18 mm, 0.18 μm column after switching from helium to hydrogen or nitrogen carrier gas in two model modes – A) constant retention times; B) “translation” of original method by GC Method Translation Software in “translate only” mode*

Nosný plyn / <i>Carrier gas</i>	A) Zachování retenčních časů / A) Constant Retention Times			B) „Překlad“ pomocí GC Method Translation Software / B) “Translation“ by GC Method Translation Software		
	Helium / <i>Helium</i>	Vodík / <i>Hydrogen</i>	Dusík / <i>Nitrogen</i>	Helium / <i>Helium</i>	Vodík / <i>Hydrogen</i>	Dusík / <i>Nitrogen</i>
Vstupní tlak (kPa) / <i>Head Pressure (kPa)</i>	200	86	178	200	135	80
Průtok (ml/min) / <i>Flow Rate (ml/min)</i>	2.3	1.6	2.2	2.3	2.9	0.72
Lineární rychlost (cm/s) / <i>Average Velocity (cm/s)</i>	84	84	84	84	129	39
Teplotní program / <i>Temperature program</i>	80 °C (0.5 min), 25 °C/min → 240 °C (1 min)			80 °C (0.5 min), 25 °C/min → 240 °C (1 min)	80 °C (0.3 min), 38 °C/min → 240 °C (0.6 min)	80 °C (1 min), 12 °C/min → 240 °C (0.5 min)
Látka / <i>Compound</i>	Retenční časy (min) / <i>Retention Time (min)</i>			Retenční časy (min) / <i>Retention Time (min)</i>		
Mléčnan ethylnatý / <i>Ethyl lactate</i>	0.99	0.99	0.99	0.99	0.65	2.12
Ethylhexanol / <i>Ethylhexanol</i>	1.53	1.53	1.53	1.53	0.99	3.26
Octan fenylatý / <i>Phenyl acetate</i>	2.02	2.02	2.02	2.02	1.32	4.31
Kaprinan ethylnatý / <i>Ethyl caprylate</i>	2.10	2.10	2.10	2.10	1.37	4.48
Furfurylalkohol / <i>Furfuryl alcohol</i>	2.20	2.20	2.20	2.20	1.44	4.69
Octan fenylethylnatý / <i>Phenylethyl acetate</i>	2.84	2.84	2.84	2.84	1.86	6.06
Lauran ethylnatý / <i>Ethyl laurate</i>	2.97	2.97	2.97	2.97	1.93	6.33
β -fenylalkohol / β -phenyl alcohol	3.27	3.27	3.27	3.27	2.14	6.97
Myristan ethylnatý / <i>Ethyl myristate</i>	3.81	3.81	3.81	3.81	2.49	8.12
4-ethylfenol / <i>4-ethylphenol</i>	4.29	4.29	4.29	4.29	2.80	9.15
Palmitan ethylnatý / <i>Ethyl palmitate</i>	4.59	4.59	4.59	4.59	3.00	9.80

kového ekvivalentu teoretického patra a v této oblasti již může docházet k poklesu účinnosti kolony.

V tab. 1 jsou dále ukázány výsledky vypočtených parametrů „přeložené“ původní metody pomocí software GC Method Translation Software. „Přeložená“ lineární rychlost u vodíku je asi 1,5krát větší než u helia, v případě dusíku 2,3krát menší než u helia. Při analýze s vypočteným teplotním programem je tedy analýza u vodíku 1,5krát rychlejší, zatímco při použití dusíku zhruba 2,3krát pomalejší.

V poslední době vzrůstá popularita rychlejší plynové chromatografie. V tab. 2 jsou ukázány změny podmínek při separaci některých méně těkavých senzory aktivních látek v pivu právě na koloně umožňující tuto rychlejší chromatografii – J&W DB-WAX, 10 m, 0,18 mm, 0,18 μm .

Při zachování požadavku na stejné retenční časy je nutné dodržet stejnou lineární rychlost u všech plynů, konkrétně 84 cm/s. Vzhledem k tomu, že při zmenšení průměru kolony na 0,18 mm se van Deemterovy křivky stávají plošší, je možné u helia i vodíku pracovat s touto rychlostí nosného plynu. Pro dusík už není možné doporučit takto vysokou hodnotu lineární rychlosti vzhledem ke snížení separační účinnosti kolony, která se projeví zhoršenou separací kritických párů analýtů.

V další části tab. 2 jsou dále ukázány výsledky vypočtených parametrů „přeložené“ původní metody pomocí software GC Method Translation Software. Díky malé strmosti van Deemterovy křivky pro vodík při tomto průměru kolony je možné v případě vodíku jako nosného plynu pracovat s vysokou hodnotou lineární rychlosti 129 cm/s, a tak dosáhnout dalšího výrazného zrychlení analýzy (1,53krát vzhledem k heliu). V případě použití dusíku se lineární rychlost 39 cm/s dostává do optimální oblasti separační účinnosti kolony, ale délka analýzy se prodlouží asi 2,1krát ve srovnání s heliem.

inlet pressure decreases for hydrogen carrier gas about half as much as with helium. But the nitrogen average velocity of 36.4 cm/s is above the minimum equivalent of column plate, as can be shown from van Deemter's curve (Fig. 1). So a decrease of efficiency can occur when nitrogen carrier gas is used.

Tab. 1 also includes the results of calculated parameters of the original method “translated” by GC Method Translation Software. “Translated” hydrogen average velocity is about 1.5 times faster than with helium but nitrogen average velocity is about 2.3 times lower than with helium. So, by using the calculated temperature program a 1.5 times faster analysis could be obtained by using hydrogen carrier gas in comparison with helium carrier gas. On the other hand, using nitrogen carrier gas leads to a 2.3 times slower analysis.

Faster gas chromatography has recently become more popular. The changes in separation conditions of selected low volatile beer flavors on a faster gas chromatographic column J&W DB-WAX, 10 m, 0,18 mm, 0,18 μm are shown in Tab. 2.

The same average velocities for all carrier gases are necessary for the unchanged retention times, specifically 84 cm/s. Due to using column with 0.18 mm internal diameter, van Deemter's curves become more flat and this high linear velocity can be applied for helium or hydrogen carrier gas. But this high linear velocity cannot be recommended for nitrogen carrier gas without a strong efficiency degradation.

Another part of Tab. 2 demonstrates the results of calculated parameters of “translated” original methods using GC Method Translation Software. Due to the shallow slope of van Deemter's curve for hydrogen for this column internal diameter it is possible to use high linear velocity (129 cm/s) for hydrogen carrier gas. So, another acceleration of analysis is reached (1.53 times relative to helium). When nitrogen carrier gas is used, linear velocity of 39 cm/s is in the optimal area of separation column efficiency but the run time increases about 2.1 times in comparison with helium carrier gas.

5 ZÁVĚR

Při záměně helia jako nosného plynu v plynové chromatografii je jednoznačně výhodnější zvolit vodík než dusík. Díky výhodnému průběhu van Deemterovy křivky umožňuje vodík poskytnout nejvyšší separační účinnost kolony při nejvyšší lineární rychlosti z porovnávaných plynů. Díky tomu je možné dosáhnout nejrychlejších analýz při nižším vstupním tlaku než u ostatních srovnávaných plynů.

Poděkování

Výsledky byly získány využitím poskytnuté institucionální podpory Ministerstva zemědělství České republiky na dlouhodobý koncepční rozvoj VÚPS.

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

LITERATURA / REFERENCES

- Agilent [online]. <http://www.chem.agilent.com/en-US/Technical-Support/Instruments-Systems/Gas-Chromatography/utilities/Pages/gcmethodtranslation.aspx>, [cit. 2013-02-28]
- David, F., Sandra P., 1999: Use of hydrogen as carrier gas in capillary GC. *Am. Lab.*, 31: 18–19.
- Giddings, J.C., Seager, S.L., Stucki, L.R., Stewart, G.H., 1960: Plate height in gas chromatography. *Anal. Chem.*, 32: 867–870.
- Golay, M.J.E., 1958: *Gas Chromatography*, Butterworths, London, 36.
- Horák, T., Čulík, J., Štěrba, K., Olšovská, J., 2013: Advantages and disadvantages of substitution of helium as carrier gas in gas chromatography by hydrogen. Part I. – Technical and safety aspects. *Kvasny Prum.*, 59: 162–166.
- Horák, T., Čulík, J., Jurková, M., Čejka, P., Kellner, V., Dvořák, J., Hašková, D.: 2009: Faster gas chromatography and its utilization

5 CONCLUSIONS

Hydrogen is the best choice when switching from helium to another carrier gas in gas chromatography. Due to the advantageous course of van Deemter's curve hydrogen provides the highest separation column efficiency at the highest linear velocity in comparison with helium or nitrogen. Hydrogen therefore provides faster analysis at lower inlet pressures than any other compared carrier gases.

Acknowledgements

The results were obtained using the institutional support of the Ministry of Agriculture of the Czech Republic for a long-term conceptual development of the RIBM.

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

in brewing. Part 1. – Theoretical and practical aspects. *Kvasny Prum.*, 55: 250–254.

Chromacademy [online]. <http://www.chromacademy.com/Translating-GC-Methods-from-Helium-to-Hydrogen-Carrier-Gas>, [cit. 2012-11-30]

Korytár, P., Matisová, E., 2001: Inštrumentácia pre rýchlu plynovú chromatografiu. *Chem. Listy*, 95: 783–790.

Quimby, B.D., Giarrocco, V., Klee, M.S., 1995: Hewlett-Packard Application Note 228–294, February 1995, publication number (43) 5963–5190E.

Snyder, W.D., Blumberg, L., 1992: in: Sandra, P., Lee, M.L. (Eds.), *Proc. 14th Int. Symp. on Capillary Chromatography*, Baltimore, May 1992, 28.

Do redakce došlo / Manuscript received: 17. 4. 2013
Přijato k publikování / Accepted for publication: 2. 5. 2013

81. zasedání
MEBAK ve
Freibergu

Ve dnech 11. až 13. dubna 2013 se uskutečnilo ve Freibergu 81. zasedání komise MEBAK.

Jednání se zúčastnilo 17 delegátů a tři hosté. Dr. Jacob přivítal jménem MEBAK hosty Dr. Pahla (VLB Berlin), Dr. Pöschla (BASF) a paní Deutschmann.

Přítomní uctili minutou ticha svého zesnulého kolegu a dlouholetého člena MEBAK prof. Geigera.

V úvodu Dr. Jacob krátce zhodnotil činnost MEBAK za uplynulé období. Na podzimním zasedání VLB Berlín přednesl Dr. Jacob souhrnnou přednášku o aktivitách MEBAK. V roce 2012 byl vydán v anglické verzi svazek MEBAK Mladina, pivo a míchané nápoje. Dále pracovaly subkomise MEBAK na úseku filtrace, mikropivovarů, in-line měřících technik, surovin a mikrobiologie.

V současné době má MEBAK 24 řádných členů a 8 čestných členů.

Díky úspěšné ediční činnosti a prodeji příruček MEBAK se podařilo udržet vyrovnaný rozpočet a přitom zajistit překlad žádaných svazků MEBAK do angličtiny.

Zvláštní pozornost byla věnována dalšímu zajištění ediční činnosti MEBAK. Dr. Reil informoval přítomné o organizačních změnách v této oblasti. Centrální prodej bude, s ohledem na rostoucí zájem o příručku MEBAK, zajišťován nakladatelstvím Hans Carl Verlag. Prodej pro studenty a frekventy pivovarských kurzů bude dále zajišťován svépomocí (Dr. Reil/TU München, Dr. Harms/VLB Berlin, Dr. Stempf/Doemens, Fr. Deutschmann/HSWT a v budoucnu případně Dr. Patz/Geisenheim).

Prof. Miedaner referoval o prvním setkání pracovní skupiny pracující na směrnici pro

varnu. Otázkou zůstává, zda bude lepší použít dosud publikované údaje nebo použít údaje získané přímo z provozu. Při kontrole vyluhovatelného extraktu z mláta bude potřebné rozšířit hodnoty o 22% mladinu.

Účetní uzávěrka byla přítomnými přijata bez připomínek.

Dr. Stempf informoval přítomné, že je v současné době v tisku svazek MEBAK věnovaný senzoricé. Vzhledem ke zvýšenému zájmu se počítá, pokud to finanční situace dovolí, s překladem svazku Sensorika do anglického jazyka.

Dle informací Dr. Gressera by měla být do podzimu připravena k tisku směrnice pro mikropivovary.

Do podzimního zasedání MEBAK by měly být dokončeny i práce na novém vydání svazku MEBAK Suroviny. Dojde přitom k hloubkové revizi uvedených metod a k jejich případné aktualizaci.

Obdobně jsou těsně před dokončením směrnice pro filtrace (Dr. Pahl) a publikace věnovaná přehledu situace na trhu s in-line měřícími přístroji (Dr. Harms a Dr. Folz).

O posledních výsledcích společného zasedání EBC/AHA (skupiny pro analýzu chmele) referoval Ing. Schmidt. Z výsledků poslední kruhové analýzy hořkých látek vyplynuly zhoršené hodnoty mezilaboratorní reprodukovatelnosti. Je proto doporučeno využívat při vyhodnocení dosažených výsledků předešlé přísnější kritérium. Co se týče velkého testu 500 vzorků chmele na obsah pesticidů, nebylo u žádného vzorku zaregistrováno překročení nejvyšších přípustných množství sledovaných látek. Monitoring bude dále pokračovat i v roce 2013.

Dr. Pöschl (Merck) seznámil ve své přednášce přítomné s vlastnostmi a využitím filtračního materiálu Crosspure, tvořeného PVPP a polystyrenem. Crosspure je výhodnou alternativou k běžně používaným filtračním materiálům. K stabilizaci a filtrace zde dochází v jednom kroku a materiál je regenerovatelný.

V současnosti je Crosspure testován na TU München a v pivovaru Freiburger Brauhaus.

V oblasti analýzy stopových prvků v přírodních materiálech informoval Dr. Patz o využití Roentgenové totální reflexní fluorescenční spektroskopie. Na přístroji firmy Bruker lze dosáhnout při stanovení As meze stanovení 1 µg/l piva. Avšak v případě Ag, Cd, a Sb byly meze několikanásobně vyšší. Výhodou přístroje je možnost zpracovávat velmi malá množství vzorků (až 5 µg). Cena přístroje činí cca 70 000 Euro.

O výsledcích testování stability barvy u míchaných nápojů na bázi piva referoval Dr. Harms. K vyhodnocení byl využit L-a-b barevný model (barva v 3D prostoru neboli CIELAB). Vzorky byly podrobeny umělému staření při 60 °C (modifikovaný Forcier test). Byl zjištěn významný vliv teploty na změny barvy míchaných nápojů. Na vývoji metody se dále pracuje.

Dr. Klein se ve své přednášce věnoval úskalím při měření vzduchu v hrdlovém prostoru. K tomuto účelu se běžně používá metoda tzv. „napichovací“, s plněním pod vodou nebo kombinovaná s měřením CO₂. Kruhová analýza mezi laboratořemi nevedla k žádným smysluplným závěrům. Velké rozdíly nebyly způsobeny chybnou prací laborantů ale značnou nehomogenitou vzorků. Na řešení problému se dále pracuje.

Dr. Ludwig upozornil na přetrvávající problémy spojené s testy na přepěňování piva (gushing). Z přibližně 150 vzorků sladu bylo za standardních podmínek připraveno pivo a naplněno do lahví (typ Bonaqua). Piva vykazovala různý stupeň gushingu. Ke sledování příčin byla nasazena nejmodernější technika hmotnostní spektrometrie (MALDI-TOF). Zatím získané výsledky byly zpracovány multivariací statistickou analýzou a nepotvrdily spojitost mezi zvýšeným obsahem hydrofobinů a přepěňováním piva.

Příští zasedání MEBAK se uskuteční 10. až 12. října v Geisenheimu.

Ing. Jiří Čulík, CSc., člen MEBAK