

RYCHLEJŠÍ PLYNOVÁ CHROMATOGRRAFIE A JEJÍ VYUŽITÍ V PIVOVARSTVÍ. ČÁST 2. – STANOVENÍ VYSOCE TĚKAVÝCH SENZORICKY AKTIVNÍCH LÁTEK V PIVU PO EXTRAKCI HEADSPACE METODOU

FASTER GAS CHROMATOGRAPHY AND ITS USE IN BREWING. PART 2. – THE DETERMINATION OF HIGH VOLATILE BEER FLAVOURS AFTER HEADSPACE EXTRACTION

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., Lipova 15, 120 44 Praha 2*, e-mail: horak@beerresearch.cz

Horák, T. – Čulík, J. – Jurková, M. – Čejka, P. – Kellner, V. – Dvořák, J. – Hašková, D.: Rychlejší plynová chromatografie a její využití v pivovarství. Část 2. – Stanovení vysoce těkavých sensoricky aktivních látek v pivu po extrakci headspace metodou. Kvasny Prum. 55, 2009, č. 10, s. 268–272.

Jedním ze způsobů, jak reagovat na požadavky brzkého získání výsledků analytických rozborů, je použití rychlejší chromatografie. Na trhu se nedávno objevily křemenné kapilární kolony s novým rozměrem vnitřního průměru 0,18 mm. Tato práce se zaměřuje na možnosti využití právě těchto kapilárních kolon v porovnání s běžně používanými kolonami o vnitřním průměru 0,32 mm pro stanovení velmi těkavých sensoricky aktivních látek v pivu. Tyto látky byly z matrice vyextrahovány metodou headspace, k detekci byl použit plamenionizační detektor.

Horák, T. – Čulík, J. – Jurková, M. – Čejka, P. – Kellner, V. – Dvořák, J. – Hašková, D.: Faster gas chromatography and its use in brewing. Part 2. – The determination of high volatile beer flavours after headspace extraction. Kvasny Prum. 55, 2009, No. 10, p.268–272.

Using of faster gas chromatography is one way how the requirement of quick getting of results could be solved. Silica capillary columns with new size of internal diameter – 0.18 mm – are now available on the market. This study is focussed on applications of these narrow bore columns and their comparisons with usually applied columns with 0.32 mm of internal diameter for determination of high volatile beer flavours. All of these compounds were extracted from beer matrix by headspace method. Flame ionization detector was used for the detection of these analytes.

Horák, T. – Čulík, J. – Jurková, M. – Čejka, P. – Kellner, V. – Dvořák, J. – Hašková, D.: Eine schnellere Gaschromatographie und ihre Ausnützung in der Brauindustrie. Teil 2. – Bestimmung von hochflüchtigen sensorisch Aktivsubstanzen im Bier nach der Headspace Extraktion. Kvasny Prum. 55, 2009, Nr. 10, S. 268–272.

Eine Möglichkeit, den Anforderungen an schnelle Resultate von analytischen Analysen entgegenkommen zu können, ist die Anwendung einer schnelleren Gaschromatographie. Vor einiger Zeit sind auf dem Markt eine quarzhaltige Kapillarkolonnen mit dem ID 0,18 mm erschienen worden, ihre Ausnützung und der Vergleich mit den laufend angewandten Kapillarkolonnen (ID 0,32 mm) zur Bestimmung von hochflüchtigen sensorisch Aktivsubstanzen im Bier werden in diesem Artikel beschrieben. Durch die Methode headspace wurden diese Aktivsubstanzen aus der Matrice extrahiert, zur Detektion wurde ein Flammenionisierbarer Detektor angewandt.

Klíčová slova: rychlejší plynová chromatografie, headspace metoda, velmi těkavé sensoricky aktivní látky, pivo

Key words: faster gas chromatography, headspace method, high volatile beer flavours, beer

1 ÚVOD

Požadavky na dnešní laboratorie zahrnují nejenom získání přesných a reprodukovatelných výsledků, ale také nutnost jejich dodání v co nejkratší době. Přitom vlastní rozbor v sobě většinou zahrnuje přípravu vzorku, následné vlastní stanovení a zpracování naměřených dat.

Při stanovení těkavých sensoricky aktivních látek v pivu se často používají plynové chromatografické metody v kombinaci s headspace technikou. Tyto postupy jsou součástí oficiálních metod řady institucí jako je EBC, MEBAK nebo IOB [1-3]. Jako alternativa k headspace metodám byly vypracovány další rychlé, levné a spolehlivé postupy využívající mikroextrakci na pevné fázi k izolaci těchto látek z piva. Např. polští autoři Jelen a kol. se zabývali porovnáním mikroextrakce na pevné fázi a headspace technikou při stanovení některých alkoholů a esterů v pivu [4]. Použití mikroextrakce na pevné fázi pro stanovení dimethylsulfidu v pivu popisuje Šulák a kol. [5].

Další způsob, jak urychlit celý analytický proces, spočívá v použití rychlejší plynové chromatografie. Zájem o urychlení chromatografické separace se datuje již od prvního použití chromatografie v systému plyn-kapalina v roce 1952 [6]. Teoretické a praktické možnosti současného využití rychlé chromatografie byly rozebrány v předcházejícím článku [7]. Nevýhodou běžně dostupných „narrow bore“ kapilárních kolon s vnitřním průměrem 0,1 mm je nutnost vysokého tlaku na hlavě kolony (600 kPa nebo ještě vyššího), nezbytnost rychlého ohřevu chromatografické pece a požadavky na detektory s rychle skenující elektronikou. Ne všechny běžné plynové chromatografy jsou schopny vyhovět těmto zvýšeným nárokům. Proto je možné označit za vynikající nápad obohatit nabídku chromatografických kolon o vnitřní průměr 0,18 mm. Jde o rozumný kompromis, který umožní

1 INTRODUCTION

Laboratories nowadays must give not only accurate and reproducible results but giving results as soon as possible is also necessary. Analysis usually consists of sample preparation procedures followed by proper determination and processing of measured data.

The gas chromatographic methods in combination with headspace techniques are very often used for the determination of volatile beer flavours. These procedures are included in official methods of many institutions as EBC, MEBAK or IOB [1-3]. Another fast, cheap and reliable methods based on solid phase microextraction have been developed for the extraction of these compounds from beer as alternative to headspace procedures. For example polish authors Jelen etc. showed comparison of solid phase microextraction and headspace technique for the determination of some alcohols and esters in beer [4]. Šulák and etc. described utilization of solid phase microextraction for the determination of dimethyl sulphide in beer [5].

Using of faster gas chromatography is another way for acceleration of the whole analytical procedure. Since the first publication with description of gas-liquid chromatography in 1952 [6] an attention has been focused on improving separation speed. Theoretical and practical aspects of contemporary utilization of fast gas chromatography are discussed in previous article [7]. A great disadvantage of commonly available narrow bore capillary columns with 0.1 mm of internal diameter consists in the necessity of high head pressure (600 kPa or bigger), facilitation of fast heating of chromatographic oven and detectors with electronic enabling high sampling frequency. Not all gas chromatographs on the market are suitable for these requirements. From these reasons it is a good idea to extend offer of gas chromatographic columns with columns with 0.18 mm of internal di-

jednak zkrácení plynově chromatografických analýz, ale přitom je možné využít stávající instrumentaci.

Z výše uvedeného vyplývá, že při použití velmi tenkých kolon se zásadním způsobem mění téměř všechny pracovní parametry chromatografické separace (je nutný jiný vstupní tlak, teplotní program a jiný split poměr). Vzhledem k tomu, že teorie plynové chromatografie je velmi dobře popsána [8,9], byly vyvinuty programy, které umožňují "přeložit" pracovní podmínky na stávající konvenční koloně na podmínky vhodné pro velmi tenké kolony [10,11]. Díky tomu odpadá složité a hlavně časově náročné hledání nových vhodných podmínek pro separaci na novém typu kolony.

Cílem této práce bylo optimalizovat chromatografické separace na koloně s vnitřním průměrem 0,18 mm pro stanovení dimethylsulfidu a jeho prekurzorů a dále pro stanovení acetaldehydu a těkavých esterů a nižších alkoholů po extrakci headspace technikou. Parametry těchto metod včetně časových úspor jsou porovnány s charakteristikami metod získaných na konvenčních kapilárních kolonách o vnitřním průměru 0,32 mm.

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Helium v kvalitě 5.0, vodík v kvalitě 5.0, syntetický vzduch byly dodány firmou Messer, ČR. Analýza probíhala na plynovém chromatografu Carlo Erba 5300 Mega Series s nástřikem v split modu a plameňonizačním detektorem. K chromatografu byl připojen smyčkový headspace dávkovač Dani HSS 3950. Chromatografické kolony a pracovní podmínky jsou uvedeny dále v textu.

Dimethylsulfid, ethyldimethylsulfid, acetaldehyd, mravenčan ethylnatý, octan ethylnatý, octan propylnatý, octan isobutylnatý, máselnan ethylnatý, propanol, octan butylnatý, isobutanol, octan isoamylnatý, n-butanol, 2- a 3-methylbutanol, kapronan ethylnatý a kaprylan ethylnatý byly nakoupeny od firmy Sigma Aldrich, USA, ethanol od Lach-Ner, s. r. o., ČR, ultračistá voda – Milli-RO 5plus firmy Millipore, USA. Vzorky zakoupeného piva ležáckého typu byly před analýzou vychlazeny na 4 °C.

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

Pro analýzu těkavých senzory aktivních látek v pivu se často používají kolony o délce 50 až 60 m s velmi vysokým počtem teoretických pater (200 000 a více), aby bylo dosaženo uspokojivého rozlišení. V naší laboratoři se používá pro rutinní analýzu konvenční kolona od výrobce J&W Scientific s fází typu DB-WAX o tloušťce filmu

Tab. 1 Pracovní chromatografické podmínky pro stanovení dimethylsulfidu v pivu pro konvenční a velmi tenkou kapilární kolonu / *Experimental chromatographic parameters for the determination of dimethyl sulphide in beer on a conventional and on a narrow bore column*

Kolona / Column	DB WAX, 60 m, 0,32 mm, I.D. 0,25 µm	DB WAX, 20 m, 0,18 mm, I.D. 0,18 µm
Nástřik / Injection	Split 1:100, 200 °C	Split 1:575, 200 °C
Nosný plyn / Carrier gas	Helium	Helium
Vstupní tlak nosného plynu / Carrier head pressure	150 kPa	250 kPa
Průtok nosného plynu / Carrier flow rate	1,5 ml/min	0,87 ml/min
Výstupní průtoková rychlost / Outlet velocity	47,9 cm/s	94,7 cm/s
Průměrná průtoková rychlost / Average velocity	26 cm/s	37 cm/s
Teplotní program / Oven program	45 °C (3 min) – 10 °C/min – 60 °C (0 min)	45 °C (1 min) – 34 °C/min – 60 °C (0 min)
Detektor / Detector	FID, 250 °C	FID, 250 °C
Doba analýzy / Analysis time	2,95 min	1,06 min

amer. It is reasonable compromise for time shortening of gas chromatographic analyses and also for simultaneous using of the current instrumentation.

From the above mention resulted that application of narrow bore columns changing by crucial way almost all experimental parameters of chromatographic separation (another head pressure, temperature program and split ratio are necessary). Due to the theory of gas chromatography has been described very carefully [8,9] the method translation software was developed for easy translating of operating conditions from conventional columns to very narrow bore columns [10,11]. Thank to this, no complicated and mainly time consuming searching of new acceptable conditions for the separation on the new type of column is necessary.

The aim of this work was to optimize chromatographic separations using column with 0.18 mm of internal diameter for the determination of dimethyl sulphide and its precursors and also for acetaldehyde and volatile esters and lower alcohols after headspace extraction. The parameters of these methods including speed gains are compared with parameters of procedures obtained by conventional capillary columns with 0.32 mm internal diameter.

2 EXPERIMENTAL

Helium 5.0 quality, hydrogen 5.0 quality, synthetic air (Messer, Czech Republic) were used. Analyses were performed on Carlo Erba 5300 Mega Series gas chromatograph with split injection and flame ionization detector (FID) equipped with loop headspace sampler unit Dani HSS 3950. Columns and working parameters are discussed in the text.

Dimethyl sulphide, ethylmethyl sulphide, acetaldehyde, ethyl formiate, ethyl acetate, propyl acetate, isobutyl acetate, isobutyl acetate, ethyl butyrate, propanol, butyl acetate, isobutanol, isoamyl acetate, isobutanol, isoamyl acetate, n-butanol, 2and3-methylbutanol, ethyl caproate, ethyl caprylate were purchased from Sigma Aldrich, USA, ethanol was obtained from Lach-Ner, s. r. o., ČR, ultrapure water was obtained from Milli-RO 5plus made by Millipore, USA. Bottled commercial lager beer samples were kept cool (4 °C) until they were analysed.

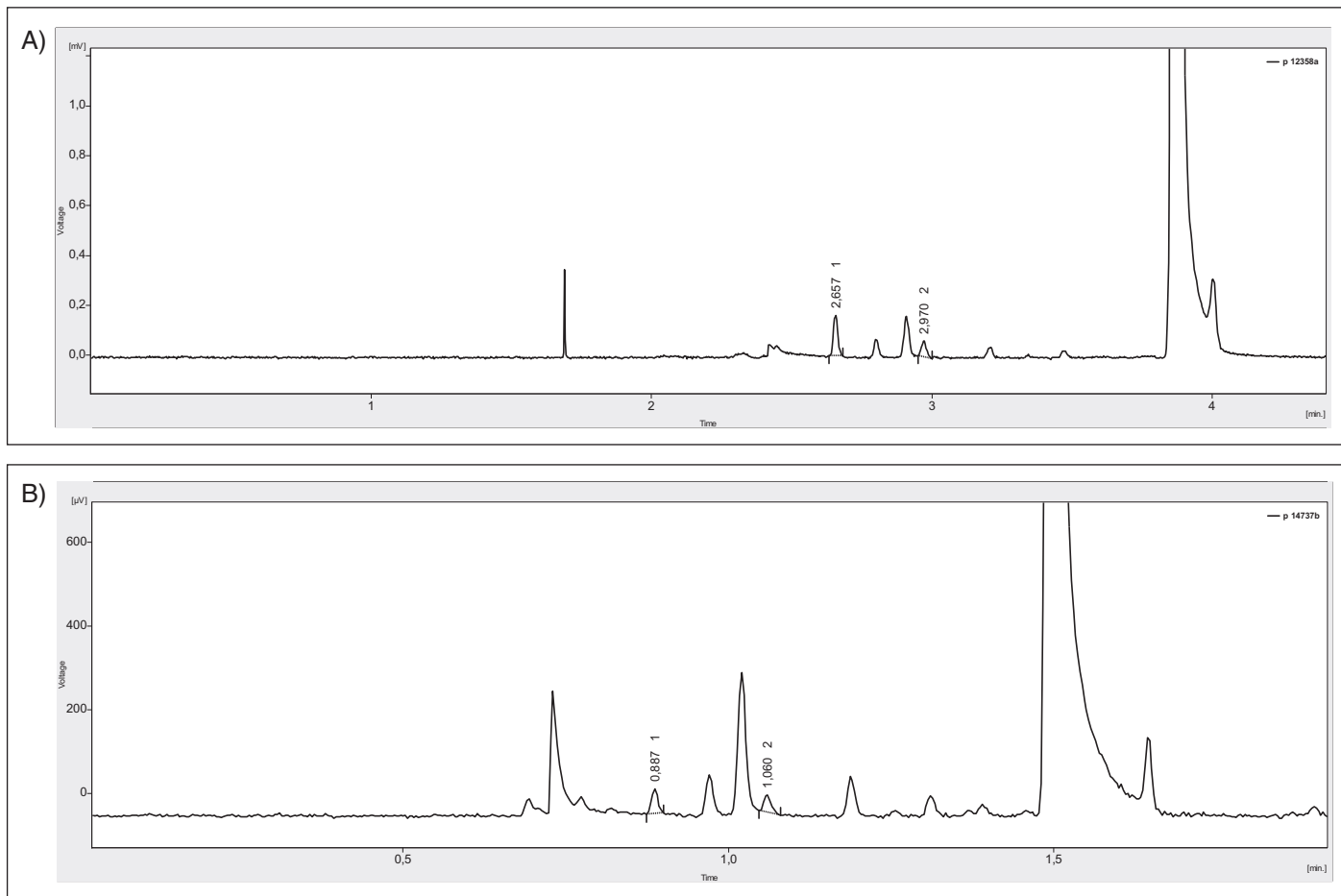
3 RESULTS AND DISCUSSION

To reach the satisfactory resolution the column with 50 up to 60 m length and very high plate numbers (200 000 and more) are often

Tab. 2 Pracovní chromatografické podmínky pro stanovení acetaldehydu a těkavých esterů a nižších alkoholů v pivu pro konvenční a velmi tenkou kapilární kolonu / *Experimental chromatographic parameters for the determination of acetaldehyde and the volatile beer flavours on a conventional and on a narrow bore column*

Kolona / Column	DB WAX, 60 m, 0,32 mm, I.D. 0,25 µm	DB WAX, 20 m, 0,18 mm, I.D. 0,18 µm
Nástřik / Injection	Split 1:100, 200 °C	Split 1:575, 200 °C
Nosný plyn / Carrier gas	Helium	Helium
Vstupní tlak nosného plynu / Carrier head pressure	150 kPa	235 kPa
Průtok nosného plynu / Carrier flow rate	1,5 ml/min	0,72 ml/min
Výstupní průtoková rychlost / Outlet velocity	47,9 cm/s	78,6 cm/s
Průměrná průtoková rychlost / Average velocity	26 cm/s	33,4 cm/s
Teplotní program / Oven program	45 °C (4 min) – 10 °C/min – 135 °C (0 min)	45 °C (1 min) – 30 °C/min – 135 °C (0 min)
Detektor / Detector	FID, 250 °C	FID, 250 °C
Doba analýzy / Analysis time	12,30 min	4,97 min

Obr. 1 Stanovení dimethylsulfidu v pivu A) na koloně J&W Scientific DB WAX, 60 m, 0,32 mm vnitřního průměru a 0,25 μm tloušťce filmu a B) na koloně J&W Scientific DB WAX, 20 m, 0,18 mm vnitřního průměru a 0,18 μm tloušťce filmu. 1 – dimethylsulfid, 2 – ethylmethylsulfid (vnitřní standard) / Fig. 1 Determination of dimethyl sulphide in beer A) on a 60 m x 0.32 mm i. d., 0.25 μm film thickness, J&W Scientific DB-WAX column and B) on a 20 m x 0.18 mm, i. d. 0.18 μm film thickness, J&W Scientific DB-WAX column. 1 – dimethyl sulphide, 2 – ethylmethyl sulphide (internal standard)



0,25 μm , délce 60 m a vnitřním průměru 0,32 mm. Jako „narrow bore“ kolona byla použita kolona J&W Scientific se stejnou fází DB-WAX o tloušťce filmu 0,18 μm , délce 20 m a vnitřním průměru 0,18 mm. Pracovní podmínky pro tenkou kolonu byly vypočítány pomocí překladového software volně přístupného na internetových stránkách firmy Agilent Technologies. Podmínky měření pro oba typy kolon jsou pro stanovení dimethylsulfidu uvedeny v *tab. 1*. *Tab. 2* uvádí podmínky měření pro stanovení acetaldehydu a dalších těkavých esterů a nižších alkoholů v pivu.

Na *obr. 1* je porovnání chromatogramů analýzy dimethylsulfidu v reálných vzorcích piv na obou kolonách. *Obr. 2* ukazuje chromatografické záznamy získané z obou typů kolon při analýze piva na acetaldehyd a těkavé estery a alkoholy. Uvedené obrázky dokládají očekávanou skutečnost, že chromatografické rozlišení je na obou kolonách velmi podobné. Z uvedených chromatogramů je také jasně patrné výrazné zkrácení doby analýzy.

Z retenčních časů posledního píku na chromatogramu lze určit faktor, který vyjadřuje časový zisk při použití tenké kapilární kolony. Srovnání skutečného časového zisku určeného z retenčních časů posledních píků a teoreticky vypočítaného pomocí překladového software pro obě headspace metody je uvedeno v *tab. 3*. Rozdíly mezi

used for the determination of volatile beer flavours. In our laboratory the 60 m x 0.32 mm of internal diameter fused silica capillary column of J&W Scientific DB-WAX with 0.25 μm film thickness is used for routine analyses. As narrow bore column the 20 m x 0.18 mm of internal diameter column of J&W Scientific DB-WAX with 0.18 μm film thickness was used. The working conditions for narrow bore column were calculated by using the method translation software free available on Agilent Technologies web sites. The experimental conditions for both type of columns for the determination of dimethyl sulphide are shown in *Tab. 1*. The experimental parameters for the determination of acetaldehyde and other volatile esters and lower alcohols in beer are shown in *Tab. 2*.

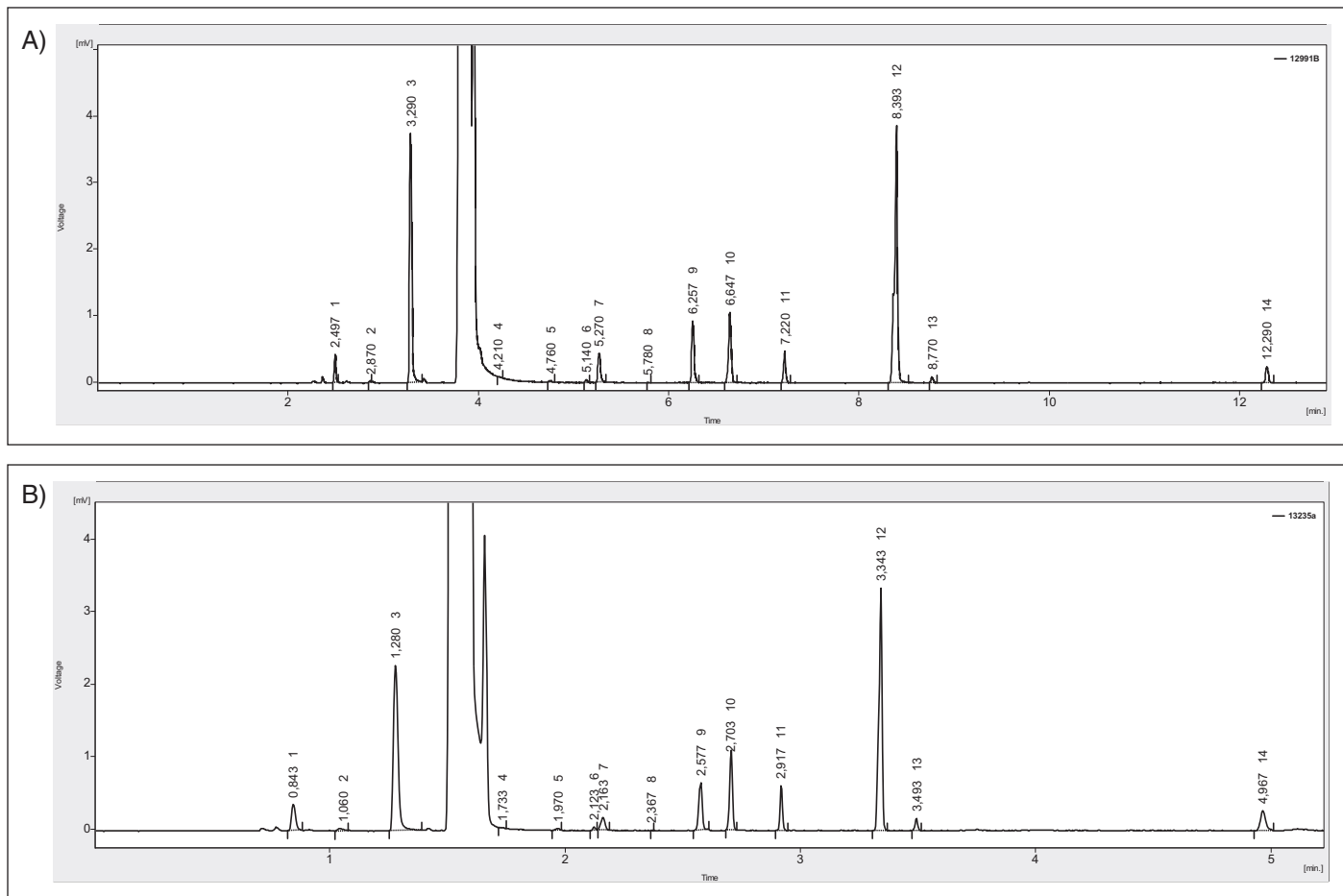
Chromatograms of dimethyl sulphide determination in beer measured on both type of columns are compared in *Fig. 1*. *Fig. 2* shows the comparison of chromatograms from both type of used columns for the determination of acetaldehyde and volatile esters and alcohols in beer. These figures confirm expected fact that chromatographic resolution is very similar on both type of columns. Significant analysis time shortening is clearly evident from these chromatograms.

From the retention time of the last eluting peak in chromatogram, a speed gain factor can be calculated. The comparisons of real and

Tab. 3 Porovnání skutečných a teoretických časových zisků vyjadřujících zrychlení analýzy při stanovení vysoce těkavých látek v pivu headspace metodou / The comparison of real and predicted speed gains for the headspace determination of some volatile beer flavours

	Skutečný zisk / Real speed gain	Vypočtený zisk / Calculated speed gain
Stanovení dimethylsulfidu / Determination of dimethylsulphide DB WAX, 60 m, 0,32 mm I.D. 0,25 μm versus DB WAX, 20 m, 0,18 mm I.D. 0,18 μm	2,8	3,3
Stanovení acetaldehydu a těkavých esterů a alkoholů / Determination of acetaldehyde and volatile beer flavours DB WAX, 30 m, 0,32 mm I.D. 0,25 μm versus DB WAX, 10 m, 0,18 mm I.D. 0,18 μm	2,5	3,0

Obr. 2 Stanovení těkavých látek v pivu A) na koloně J&W Scientific DB WAX, 60 m, 0,32 mm vnitřního průměru a 0,25 µm tloušťce filmu a B) na koloně J&W Scientific DB WAX, 20 m, 0,18 mm vnitřního průměru a 0,18 µm tloušťce filmu. 1 – acetaldehyd, 2 – mravenčan ethylnatý, 3 – octan ethylnatý, 4 – octan propylnatý, 5 – octan isobutylnatý, 6 – máselnan ethylnatý, 7 – propanol, 8 – octan butylnatý, 9 – isobutanol, 10 – octan isoamylnatý, 11 – n-butanol (vnitřní standard), 12 – 2 a 3-methylbutanol, 13 – kapronan ethylnatý, 14 – kaprylan ethylnatý / Fig. 2 Determination of volatile beer flavours A) on a 60 m x 0.32 mm i. d., 0.25 µm film thickness, J&W Scientific DB-WAX column and B) on a 20 m x 0.18 mm i. d., 0.18 µm film thickness, J&W Scientific DB-WAX column. 1 – acetaldehyde, 2 – ethyl formiate, 3 – ethyl acetate, 4 – propyl acetate, 5 – isobutyl acetate, 6 – ethyl butyrate, 7 – propanol, 8 – butyl acetate, 9 – isobutanol, 10 – isoamyl acetate, 11 – n-butanol (internal standard), 12 – 2 and 3-methylbutanol, 13 – ethyl caproate, 14 – ethyl caprylate



skutečnou a teoretickou hodnotou lze vysvětlit tím, že při matematickém výpočtu se neuvažuje se skutečnou délkou kolon, která se od deklarované může lišit. Zejména konvenční kolona o vnitřním průměru 0,32 mm byla mnohokrát zkracována. Pokud bychom počítali s opravdovou délkou použitých kolon, shoda by byla lepší.

Při chromatografické analýze je velmi důležité z hlediska kvalitativního rozboru, aby byly dobře reprodukovatelné retenční časy jednotlivých látek. Pro kvantitativní analýzu je podstatné, aby zůstal konstantní poměr jednotlivých látek u téhož analyzovaného vzorku. Za tímto účelem bylo provedeno sedmkrát opakované měření stejného vzorku na obou kolonách pro obě headspace analýzy. V tab. 4 jsou uvedeny retenční časy a relativní plochy (vzhledem k celkové ploše integrovaných píků) chromatografických píků. Jak je vidět z této tabulky, reprodukovatelnost, vyjádřená jako relativní směrodatná odchylka (RSD %), retenčních časů je menší než 0,4 % pro konvenční kolonu a lepší než 0,5 % v případě tenké kolony pro obě metody stanovení. Relativní směrodatná odchylka ploch jednotlivých stanovených látek vykazuje hodnoty lepší než 3 % pro konvenční kolonu a lepší než 4 % pro tenkou kolonu. Rozdíly jsou tedy statisticky nevýznamné.

4 ZÁVĚR

Bylo dokázáno, že kapilární kolony pro plynovou chromatografii s novým rozměrem vnitřního průměru 0,18 mm je možné s úspěchem použít pro headspace stanovení velmi těkavých sensoricky aktivních látek v pivu. Tento typ kolon poskytuje v porovnání s klasickými kapilárními kolonami s vnitřním průměrem 0,32 mm srovnatelné pracovní charakteristiky a přitom vlastní čas analýzy zkracují o 65 % v případě stanovení dimethylsulfidu a o 60 % v případě stanovení

predicted speed gains from the method translation software for all headspace methods are given in Tab. 3. The differences between real and theoretical values can be probably explained by this: for the theoretical calculation it does not consider that the real column length could be different from the declared column. Especially conventional column with 0.32 mm of internal diameter has been cut down several times. If calculations have been done with real lengths the correlation could be better.

During chromatographic analyses it is very important that retention times should stay constant for qualitative data as also the relative sample composition need for quantitative data. To test this seven times repeating analyses of the same beer sample were done for each headspace methods on both columns. Tab. 4 gives the retention times and peak areas. As we can see from this table the reproducibility (expressed as RSD %) of retention times is better than 0.4 % for conventional column and better than 0.5 % in case of narrow bore column for both methods. The relative standard deviation on peak areas of compounds of interest are better than 3 % for conventional column and better than 4 % for the narrow bore column. The differences are statistically insignificant.

4 CONCLUSIONS

The fused capillary columns for gas chromatography with new internal diameter – 0.18 mm – could be successfully used for headspace determination of very volatile beer flavours. These capillary columns give similar working parameters as convention columns with 0.32 mm of internal diameter but the run time is reduced by 65 % and by 60 % for the determination of dimethyl sulphide and acetaldehyde and volatile esters and alcohols, respectively. Though the to-

Tab. 4 Srovnání retenčních časů (t_r) a relativních ploch sledovaných těkavých látek v pivu na obou typech kapilárních kolon / Comparison of retention times (t_r) and relative peak areas of volatile beer flavours obtained on both type of capillary column

Sloučenina / Compound	DB WAX, 60 m, 0,32 mm I.D. 0,25 μ m				DB WAX, 20 m, 0,18 mm I.D. 0,18 μ m			
	tr (min)	RSD (%)	Plocha / Area (%)	RSD (%)	tr (min)	RSD (%)	Plocha / Area (%)	RSD (%)
Dimethylsulfid / Dimethyl sulphide	2.65	0.16	–	1	0.89	0.29	–	2.4
Ethylmethylsulfid / Ethylmethyl sulphide	2.96	0.20	–	2.5	1.06	0.19	–	2.8
Acetaldehyd / Acetaldehyde	2.49	0.18	10.9	0.9	0.84	0.10	9.4	0.9
Mravenčan ethylnatý / Ethyl formiate	2.87	0.17	0.9	2.3	1.04	0.40	0.7	2.5
Octan ethylnatý / Ethyl acetate	3.29	0.18	10.8	0.6	1.28	0.24	11.4	0.5
Octan propylnatý / Propyl acetate	4.21	0.25	0.1	2.8	1.73	0.13	0.1	2.7
Octan isobutylnatý / Isobutyl acetate	4.76	0.21	0.1	2.4	1.97	0.21	0.1	2.6
Máseľnan ethylnatý / Ethyl butyrate	5.14	0.18	0.1	2.7	2.12	0.26	0.1	2.5
Propanol	5.27	0.20	8.3	1.1	2.16	0.19	8.4	1.2
Octan butylnatý / Butyl acetate	5.78	0.34	<0.1	3.5	2.37	0.35	<0.1	3.8
Isobutanol	6.26	0.46	11.2	1.8	2.58	0.14	10.6	1.6
Octan isoamylnatý / Isoamyl acetate	6.65	0.12	1.1	1.9	2.70	0.23	1.2	1.8
n-butanol (vnitřní standard) / (internal standard)	7.25	0.16	–	1.9	2.92	0.45	–	2.1
2 and 3-methylbutanol	8.39	0.15	55.2	0.8	3.34	0.16	57.2	0.6
Kapronan ethylnatý / Ethyl caproate	8.77	0.17	0.5	1.7	3.49	0.45	0.2	1.8
Kaprylan ethylnatý / Ethyl caprylate	12.29	0.10	0.8	2.1	4.97	0.21	0.6	2.2

acetaldehydu a těkavých esterů a alkoholů. I když celková časová úspora je menší vzhledem k době nutné ke zchlazení chromatografické pece na původní teplotu – tato doba se změnou kolony nemění – i tak jde o významné zrychlení analýzy. Tím se zvyšuje kapacita laboratoře a navíc je možné využít stávajících plynových chromatografů na rozdíl od nasazení velmi tenkých kapilárních kolon s vnitřním průměrem 0,10 mm.

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.

Recenzovaný článek
Do redakce došlo 5. 7. 2009

LITERATURA / REFERENCES

1. Analytica EBC, 9.39 – Dimethyl sulphide and other lower boiling point volatile compounds in beer by gas chromatography. European Brewery Convention, 5th update, Verlag Hans Carl Getränk-Fachverlag: Nürnberg, Germany, 2005.
2. Brautechnische Analysenmethoden, 1.1.1. – Leichtflüchtige Gärungsnebenprodukte – Headspace-Methode, Band II, MEBAK Freising-Weihenstephan: Germany, 1996.
3. Institute of Brewing, Methods of Analysis, 9.32 – Lower boiling point volatile compounds in beer by headspace gas chromatography. Institute of Brewing: London, 1997.
4. Jelen, H. H., Wlazly, K., Wasowicz, E., Kaminski, E.: Solidphase microextraction for the analysis of some alcohols and esters in beer: Comparison with static headspace method. J. Agric. Food Chem. **46**, 1998, 1469–1473.
5. Šulák, M., Šmogrovičová, D., Leitner, E.: Comparison of the content of volatile sulphur-containing compounds in Slovak beer by the SPME. Kvasny Prum. **54**, 2008, 70–74.

tal time savings are smaller due to cooling time of chromatographic oven to initial temperature – this cooling time is not be influenced by changing of column length – the significant acceleration of gas chromatographic procedure is reached. So the laboratory throughput is increased and utilization of existing conventional gas chromatographs is possible in contrast to using of very narrow bore columns with 0.10 mm of internal diameter.

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, worth advice and friendly atmosphere in laboratory.

6. James, A. T., Martin, J. A. P.: Gas-liquid partition chromatography: the separation and micro-estimation of volatile fatty acids from formic acid to dodecanoic acid. Biochem. J. **50**, 1952, 679–690.
7. Horák, T., Čulík, J., Jurková, M., Čejka, P., Kellner, V., Dvořák, J., Hašková, D.: Rychlejší plynová chromatografie a její využití v pivovarství. Část 1. – teoretické a praktické aspekty / Faster gas chromatography and its utilization in brewing. Part 1. – Theoretical and practical aspects. Kvasny Prum. **55**, 2009, 250–254.
8. Cramers, C. A., Janssen, H. G., van Deursen, M. M., Leclercq, P. A.: High-speed gas chromatography: an overview of various concepts. J. Chromatogr. A, **856**, 1999, 315–329.
9. Korytář, P., Matisová, E.: Rychlá plynová chromatografie. Chem. Listy **95**, 2001, 470–476.
10. Snyder, W. D., Blumberg, L. in: Sandra, P., Lee, M. L. (Eds.), Proc. 14th Int. Symp. on Capillary Chromatography, Baltimore, May 1992, 28.
11. Quimby, B. D., Giarrocco, V., Klee, M. S.: Hewlett-Packard Application Note 228–294, February 1995, publication number (43) 5963-5190E.