

## Head-space analýzy v pivovarské analytice

### Head-space Analysis in Brewing Analytics

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

**Horák, T. – Čulík, J. – Jurková, M. – Čejka, P. – Kellner, V. – Dvořák, J. – Hašková, D.: Head-space analýzy v pivovarské analytice.** *Kvasny Prum.* 58, 2012, č. 1, s. 2–5.

Head-space metoda ve spojení s plynovou chromatografií představuje postup pro stanovení těkavých látek. Nalezla široké uplatnění při analýze potravin včetně piva. Tato práce je zaměřena na využití této techniky v pivovarské analytice a jsou diskutovány výhody a nevýhody různých způsobů provedení – statická head-space (provedení s plynotěsnou stříkačkou nebo v uspořádání ventil a dávkovací smyčka) a dynamická head-space metoda (purge and trap).

**Horák, T. – Čulík, J. – Jurková, M. – Čejka, P. – Kellner, V. – Dvořák, J. – Hašková, D.: Head-space analysis in brewing analytics.** *Kvasny Prum.* 58, 2012, No. 1, p. 2–5.

Head-space gas chromatography is a sample preparation method for determination of volatile compounds. This technique is very often used in food analyses including beer. This paper is focused on application of this procedure in brewing analytics. Advantages and disadvantages of this method in different modes – static head-space (gastight syringe based system or valve and loop based system) and dynamic head-space (purge and trap) are discussed.

**Horák, T. – Čulík, J. – Jurková, M. – Čejka, P. – Kellner, V. – Dvořák, J. – Hašková, D.: Head-space Analyse in der Brauerei Analytik.** *Kvasny Prum.* 58, 2012, Nr. 1, S. 2–5.

Die Head Space Methode in der Verbindung mit der Gaschromatographie stellt ein Verfahren zur Feststellung von flüchtigen Stoffen dar und hat eine Anwendung zur Lebensmittelanalyse einschließlich des Bieres gefunden. Der Artikel befasst sich mit der Verwendung dieser Technik in der Brauereianalytik, weiter werden Vor- und Nachteile verschiedener Durchführung – statische Head-Space (Durchführung mit einer gasdichten Spritze oder in Durchführung Ventil und Dosierschleife) und dynamische Head-Space (purge and trap) diskutiert.

**Klíčová slova:** *Head-space, plynová chromatografie, příprava vzorků, pivo, pivovarská analytika*

**Key words:** *Head-space, gas chromatography, sample preparation, beer, brewing analytics*

#### 1 ÚVOD

Head-space technika je základní a velmi často používaná technika pro stanovení těkavých látek. Je založena na rozdělení sledovaných analytů mezi netěkavou kapalnou nebo pevnou fází a parní fází nad kapalným nebo pevným vzorkem. Vzhledem k tomu, že parní fáze obsahuje obvykle podstatně méně látek než vlastní kapalnou nebo pevnou vzorek, jde o velmi šetrný postup, kterým se výrazným způsobem potlačuje zatížení chromatografického systému nežádoucími interferujícími nebo kontaminujícími látkami, což významně prodlužuje životnost kapilární kolony. Klíčovým faktorem ovlivňujícím účinnost head-space postupu je distribuční konstanta analytu mezi plynou a kapalnou fází. Čím více je rovnováha posunuta k plynné fázi, tím s větší citlivostí bude látka stanovena.

Myšlenka analyzovat parní fází nad kapalným nebo pevným vzorkem pochází ještě z doby před rozvojem plynové chromatografie. Snad první zmínka v odborné literatuře o analýze plynné fáze vytvořené nad kapalinou pochází z práce Harger, Bridwell a Raney z roku 1939, ve které se autoři pokoušeli stanovit obsah alkoholu ve vodných roztocích (Harger et al., 1939). První zpráva o spojení statické head-space a plynového chromatografu se datuje do roku 1958 (Bovin et al., 1958). Současný stav head-space techniky popisuje celá řada publikací, např. Kolb a Ettre, 2006, Snow a Slack, 2002, Kolb, 2000, Pawliszyn a Lord, 2010, Chaintreau, 2000, Dewulf, Van Langhove, 2002, Roose, Brinkham, 2005.

Head-space analýza může být prováděna dvěma způsoby. Pokud je vzorek v rovnovážném stavu s plynou fází v uzavřeném prostoru, potom se tato metoda nazývá statická head-space. Pokud nosný plyn proudí nad hladinou vzorku nebo probublává vzorkem a extrahované těkavé látky se zachytávají v kryogenní nebo sorpční pasti, pak se tento postup označuje jako dynamická head-space, gas-phase stripping nebo purge-and-trap.

#### 2 STATICKÁ HEAD-SPACE METODA

Při statickém head-space postupu se ustavuje rovnováha mezi těkavými látkami obsaženými ve vzorku a v parní fázi nad vzorkem

#### 1 INTRODUCTION

Head-space technique is a primary and very often used procedure for the determination of volatile compounds. Head-space analysis can be generally defined as a vapor-phase extraction, involving the partitioning of analytes between a non-volatile liquid or solid phase and the vapor phase above the liquid or solid. It is expected that the vapor-phase mixture contains fewer components than the usually complex liquid or solid sample. So this procedure is a very clean method of introducing volatile analytes into a GC and the contamination of chromatographic system by interfering or polluting compounds is reduced and lifetime of capillary columns is expressively extended. The main factor in head-space 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 idea of analysing of the vapour phase above a solid or liquid sample originates long before the development of gas chromatograph. Perhaps the first mention of the analysis of the vapour above a liquid in the scientific literature occurred with the paper of Harger, Bridwell and Raney, 1939, in which they proposed determination of the alcohol content of aqueous solutions. The first reported use of static head-space with gas chromatograph occurred in 1958 (Bovin et al., 1958). The state of the art of head-space analysis is documented in many publications, e.g. Kolb a Ettre, 2006, Snow a Slack, 2002, Kolb, 2000, Pawliszyn a Lord, 2010, Chaintreau, 2000, Dewulf, Van Langhove, 2002, Roose, Brinkham, 2005.

Head-space analysis can be practiced by two ways. If the sample is in equilibrium with the gas phase in closed vessel, then the method is called as static head-space. 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 head-space, gas-phase stripping or purge-and-trap.

#### 2 STATIC HEAD-SPACE METHOD

In static head-space analysis, the volatiles in the sample are equi-

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 kapalné fázi) je možno použít zvýšenou teplotu ekvibrace nebo zvýšit iontovou sílu vzorku pomocí vysolení. Účinné je také míchání nebo třepání vzorku během ustavení rovnováhy.

Metoda statické head-space analýzy našla uplatnění při stanovování řady významných senzorycky aktivních látek v pivu a jeho mezioduktech a stala se součástí oficiálních metodik mezinárodních pivovarských institucí. Jedná se především o tyto látky – vicinální diketony (diacetyl a 2,3-pentandion), acetoin, dimethylsulfid a jeho prekurzory, acetaldehyd, ethyl-acetát, nižší alkoholy a estery (metodiky: EBC, 2005, An: 1996a-f, 1997a-d, 2005).

Dnes jsou na trhu automatické head-space dávkovače, které zaručují pro každý vzorek zachovat konstantní dobu temperace za přesně stanovené teploty, temperování dalšího vzorku v sekvenci během měření předcházejícího vzorku na plynovém chromatografu (tím se výrazně šetří čas a zvyšuje tak možné množství zpracovaných vzorků), inertnost systému, umožňují měnit objem parní fáze nastříkovaný na kolonu plynového chromatografu, umožňují třepání vzorku během temperace a v neposlední řadě volit různé parametry head-space metody (např. teplota inkubace vzorku, ekvilibrační doba) při optimalizačním postupu (Kolb, Ettre, 2006).

Statické head-space systémy jsou dvojího typu – buď k dávkování používají plynotěsnou stříkačku, nebo ventilový systém s dávkovací smyčkou.

### 2.1 Systém s plynotěsnou stříkačkou

Nespornou výhodou tohoto systému je skutečnost, že ho lze získat rychlou modifikací automatického dávkovače pro kapalné vzorky jednoduchou změnou klasické dávkovací stříkačky za plynotěsnou stříkačku. Nicméně v tomto případě stříkačka ani vialka se vzorkem nejsou vyhřívány. Proto toto uspořádání není vhodné pro analýzu pevných vzorků nebo výše vroucích analytů. Dnes se však dodávají automatické dávkovače, které umožňují jak vyhřívání stříkačky, tak vzorku. Navíc je možné po nadávkování vzorku nastavit i dobu proplachu stříkačky inertním plynem, a tak v případě vzorku s vysokým obsahem stanovených analytů zamezit jejich přenosu mezi vzorky (Kolb, Ettre, 2006).

Na trhu jsou dostupné stříkačkové head-space dávkovače např. firmem CTC (CombiPal), Thermo Scientific (TriPlus), HTA.

### 2.2 Ventilový systém s dávkovací smyčkou

Toto uspořádání se skládá z vícecestného ventilu, dávkovací smyčky obvykle o objemu 1 ml a propojovací kapiláry, která je zavedena do nástřikového prostoru plynového chromatografu. Analýza probíhá v několika krocích. Nejprve je vialka se vzorkem zahřívána po předem stanovenou dobu při určené teplotě. Poté je septum vialky propíchnuto jehlou a prostor vialky je natlakován inertním plynem. V dalším kroku se přepne ventil tak, že se dávkovací smyčka naplní párami head-space prostoru. Nato se ventil opět přepne, a to tak, aby se plyn z dávkovací smyčky vypláchnul do propojovací kapiláry a byl tak přenesen na chromatografickou kolonu (Kolb, Ettre, 2006).

Tento typ head-space dávkovačů dodávají např. firmy Agilent Technologies, Dani, Tekmar-Dohrmann.

Výhody a nevýhody obou výše uvedených systémů jsou uvedeny v tab. 1 (Pawliszyn, Lord, 2010).

liberated 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.

Head-space procedure plays a significant role in the determination of many important beer flavours not only in beer but also in intermediate products. Many official methods of international brewery institutions used head-space technique for the determination of many flavours as vicinal diketone (diacetyl, 2,3-pentanedione), acetoin, dimethylsulfide and its precursors, acetaldehyde, ethyl acetate, lower alcohols and esters (methods EBC, 2005, Anonymous: 1996a-f, 1997a-d, 2005).

Head-space autosamplers available at the market guarantee constant heating time at accurate temperature for each sample, heating of the next sample in a sequence during the gas chromatographic run of the current sample (so that there is no wasted time between runs and capacity of laboratory increases), an inert sample path, enables variable injection volume of vapour, enables shaking or mixing of the sample during temperature period, and also ability to download different methods in study the effect of varying parameters such as sample temperature or equilibration time during optimization of the procedure (Kolb, Ettre, 2006).

Static head-space systems are available in two different modes – syringe-based system or valve and loop-based system.

### 2.1 Syringe-based system

An unquestionable feature of this system is fact that can be simply obtained by modification of liquid autosampler only by simply substitution of classical syringe with gastight syringe. However, in this case the syringe and also sampling vials are unheated. For this reasons this arrangement is inadequate for analyzing solid samples or high-boiling analytes. But modern head-space autosamplers use as a heated syringe as heated vials. Moreover, the gastight syringe can be purged by inert gas for programmed period after injection of the sample. This is important when the samples with high concentration of compounds of interest are determined and so the carry-over can be eliminated (Kolb, Ettre, 2006).

Syringe-based head-space samplers are available from e.g. CTC (CombiPal), Thermo Scientific (TriPlus), HTA.

### 2.2 Valve and loop-based system

This arrangement has a multiway valve, a sample loop (usually 1 ml volume) and transfer line which is introduced into injector of gas chromatograph. The analysis includes several steps as follows. Initially the vial is heated for the length of time at specified temperature. Then the vial is pierced with a needle and pressurized with an inert gas. In next step the valve is turned so that the flow of gas changes direction and a portion of the head-space flows into the sample loop. After that the valve is turned again so that gas in the sample loop is flushed through the transfer line and into the gas chromatographic column (Kolb, Ettre, 2006).

These head-space samplers are supplied for example by Agilent Technologies, Dani, Tekmar-Dohrmann.

Advantages and disadvantages above mentioned systems are summarized in Tab. 1 (Pawliszyn, Lord, 2010).

Tab. 1 Porovnání statického head-space dávkovače vybaveného plynotěsnou stříkačkou a ventilového systému s dávkovací smyčkou / *Static head-space sampler - comparison of syringe-based system and valve and loop-based system*

Typ provedení / <i>Technique</i>	Výhody / <i>Advantages</i>	Nevýhody / <i>Disadvantages</i>
Provedení se stříkačkou / <i>Syringe based</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Inertní cesta vzorku / <i>Inert sample path</i></li> <li>◆ Snadná změna dávkovaného objemu / <i>Simple variation of injector volume</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Plynotěsná stříkačka má teflonové zakončení pístu a po čase se může objevit netěsnost / <i>Gastight syringes have Teflon-tipped plungers, which can leak</i></li> <li>◆ Možnost ohnutí jehly / <i>Occasion needle bending</i></li> <li>◆ Občasná nutnost výměny stříkačky / <i>Occasional syringe changing</i></li> </ul>
Provedení s ventilem a smyčkou / <i>Valve and loop-based</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Obvykle snadné přemístění head-space dávkovače z jednoho GC na druhý / <i>Usually easy to move from one GC to another</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Náročnější výměna dávkovací smyčky při změně dávkovaného objemu a omezené možnosti změny tohoto objemu / <i>Ability to change sample loop (and sample volume) is more complicated and limited</i></li> </ul>

### 3 DYNAMICKÁ HEAD-SPACE METODA

Při použití postupu dynamického head-space dochází k probublávání inertního plynu vzorkem a vytěsnění těkavé látky se zachytávájí v absorpční pasti. Poté je past prudce zahřáta a těkavé látky jsou tak uvolněny nebo desorbovány a nanášeny na kolonu plynového chromatografu. V další fázi je past vyhřáta na ještě vyšší teplotu, než při které došlo k uvolnění sledovaných analytů, a tím se odstraní rezidua látek a vlhkost. Systém je pak připraven pro další analýzu.

Tato technika je obecně citlivější než metoda statické head-space, protože probubláváním se podaří vytěsnit z matrice vzorku podstatně více analytů než u statického provedení. Na druhé straně zařízení pro dynamický head-space je komplikovanější a problémy může způsobovat i pění vzorku během probublávání. V pivovarské analytice se dynamický head-space obvykle nepoužívá jednak z důvodu problémů s pněním piva a jednak stanovené látky se nacházejí v koncentracích, které lze bez problémů stanovit technikou statického head-space (Čulík et al., 1997).

Porovnání statického a dynamického head-space je uvedeno v tab. 2 (Pawliszyn, Lord (2010)).

### 3 DYNAMIC HEAD-SPACE METHOD

With dynamic head-space an inert gas is bubbled through the sample and the volatiles are transferred to an absorbent trap. The trap is heated and the volatiles are released or desorbed and transferred to the gas chromatographic column. Then the trap is rapidly heated to a higher temperature than was used during the desorption step, to remove residual analytes and moisture, and the system is ready for another sampling.

Dynamic head-space is generally more sensitive than static head-space, since due to sample bubbling more analytes are extracted in comparison with static head-space procedure. On the other hand dynamic head-space requires more maintenance and is subject to problems such as foaming of the sample. In brewing analytics dynamic head-space is not usually used partly for problems with foaming of beer sample, partly the concentrations of compounds of interest can be easily determined by static head-space technique (Čulík et al., 1997).

Comparison of static and dynamic head-space is given in Tab. 2 (Pawliszyn, Lord, 2010).

Tab. 2 Porovnání technik statického a dynamického head-space / Comparison of technique static and dynamic head-space

	Statický head-space / Static head-space	Dynamický head-space / Dynamic head-space
Koncentrační rozsah / Concentration range	ppb až jednotky procenta / ppb to low percent levels	ppt až ppm / ppt to ppm
Hardwarové požadavky / Hardware required	Od jednoduché plynotěsné stříkačky po sofistikovaný dávkovač / Ranges from a simple gastight syringe to a sophisticated instrument	Jednoučelový přístroj / Complex dedicated instrument
Automatizace / Automation	Od ručního provedení s plynotěsnou stříkačkou po automatické dávkovače o kapacitě 100 vzorků / Can be manual with a gastight syringe to automated samplers which can handle 100 samples	Automatické dávkovače do 70 vzorků / Autosamplers up to 70 samples
Kvantifikace / Quantitation	Velmi závislý od typu matrice v důsledku jen částečné výtěžnosti analytu / Highly matrix dependent since there is only partial recovery of the analyte	Menší závislost na matici, protože dochází k účinnější extrakci analytů / Less matrix dependent since most of the analyte is removed
Jednoduchost obsluhy / Ease of maintenance	Velmi snadné a jednoduché / Little maintenance required	Náročné, pasti se musí čistit, problémy s pněním / Labor intensive, traps must be cleaned, problem with foaming

### 4 KVANTIFIKACE PŘI HEAD-SPACE ANALÝZE

#### 4.1 Možné problémy

Nejčastější příčinou problémů spojených s kvantifikací je u head-space analýzy nebezpečí ztráty stanovených těkavých látek během manipulace se vzorkem. K problémům může dojít již při přípravě standardů. Při odběru vzorků je velmi důležité vzorkovnici naplnit až po okraj, vzorky skladovat v chladu, popřípadě, pokud je to možné, je zamrazit. K analýze vzorků by se mělo také přistoupit co nejdříve po odběru vzorku. Příprava kalibračních vzorků vyžaduje určitou zručnost a zkušenost a je nutno jí věnovat náležitou péči. Především je důležité po přenesení vzorku do head-space vialky ji neprodleně důkladně uzavřít vhodným víčkem se septem.

Nízká odezva nebo dokonce žádná odezva stanovených látek je často způsobena nesprávným uzavřením vialky. K uzavírání vialky víčkem se septem slouží speciální uzavírací kleště, které je zapotřebí mít dobře seřízené. Pozornost je nutné věnovat i volbě vhodných sept, aby nedocházelo k porušení těsnosti během inkubace vzorku při zvýšené teplotě.

Při používání automatických head-space dávkovačů je nutné dobře nastavit hloubku jehly tak, aby zcela propíchl septum a zároveň nezajížděla příliš hluboko a neohrozilo nasátí kapalnou fázi vzorku (Pawliszyn, Lord, 2010).

#### 4.2 Použití interního standardu

Interní standard je látka, která se přidává ve stejném množství do vzorků, slepých pokusů a kalibračních standardů. Tato látka se používá ke kalibraci vynesením závislosti poměru signálu stanoveného analytu k signálu interního standardu jako funkci koncentrace

### 4 QUANTITATION IN HEAD-SPACE ANALYSIS

#### 4.1 Possible problems

The most frequent cause of problems with quantitation in head-space is due to loss of determined volatile compounds during sample handling. This includes also losses during preparation of standards. It is very important to fill the sample container to the top when collecting samples, to store samples in the refrigerator or if it is possible to freeze the samples. The analyses of samples should start as soon as possible. Preparation of calibration standards requires some skillfulness and practice and stored with equal care. Primarily it is necessary to carefully close the vial with suitable cap and septum immediately after filling the vial with the sample.

Low responses or no responses are usually due to improper sealing of the vials. A special hand crimper for vial closing must be carefully adjusted. Attention must be focused also for the choice of suitable septum. Some septum may leak at higher temperature during sample incubation.

With automated head-space samplers the needle position is required to set to the correct deep, so the septum is fully punctured and at the same time the liquid sample is not be taken to the syringe (Pawliszyn, Lord, 2010).

#### 4.2 Using of internal standard

An internal standard is a chemical substance that is added in a constant amount to samples, the blank and calibration standards in a chemical analysis. This substance can then be used for calibration by plotting the ratio of the analyte signal to the internal standard signal as a function of the analyte concentration of the standards. This



Tab. 3 Přehled látek používaných jako vnitřní standardy v hlavních pivovarských head-space metodách / Overview of compounds used as internal standard in main brewing head-space analyses

Pivovarská analýza / Brewing analysis	Látka / Compound
Nižší alkoholy a estery / Low alcohols and esters	n-butanol
Vicinální diketony / Vicinal diketones	2,3-hexandion / 2,3-hexanedione
Dimethylsulfid a jeho prekurzory / Dimethylsulfide and its precursors	Ethylmethylsulfid / Ethylmethylsulfide

analytů. Použitím vnitřního standardu se eliminují ztráty analytu během přípravy vzorku. Jako vnitřní standard se volí látka, která se vyznačuje podobnými fyzikálně chemickými vlastnostmi jako stanovované látky, ale při chromatografické separaci se sledovanými analyty neinterferuje. Vzhledem k možným komplikacím při kvantitativním stanovení popsáným v předcházející kapitole, je použití interního standardu velmi výhodné, neboť tak do značné míry může tyto problémy eliminovat.

V pivovarské analytice se při head-space analýze interní standardy využívají. Jejich přehled u těch nejvýznamnějších metod uvádí tab. 3.

## 5 ZÁVĚR

I přes rozvoj nových, zejména mikroextrakčních technik jako mikroextrakce na pevné fázi (SPME), sorpční extrakce na míchací tyčince (SBSE) a dalších, zaujímá head-space metoda stále pevné místo při analýze těkavých látek, a to především díky své jednoduchosti a možnosti plně automatizace. Své stálé místo si našla i při běžných pivovarsko-sladařských analýzách, kde se uplatňuje její statické provedení s využitím interních standardů.

### 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 tvůrčí atmosféry v laboratoři.

### Literatura / References

- Anonymous, 1996a: Brautechnische Analysenmethoden, 1.2.1. – Vicinale Diketone – Headspace-Methode, Band III, MEBAK Freising-Weihenstephan: Germany.
- Anonymous, 1996b: Brautechnische Analysenmethoden, Band III, Methode 1.3.1.1. – Freies DMS in Würze und Bier – Headspace-Methode, MEBAK Freising-Weihenstephan: Germany.
- Anonymous, 1996c: Brautechnische Analysenmethoden, 1.3.2. – DMS – Vorstufen in Würze, Band III, MEBAK Freising-Weihenstephan: Germany.
- Anonymous, 1996d: Brautechnische Analysenmethoden, 1.3.3. – DMS – Vorstufen in Malz, Band III, MEBAK Freising-Weihenstephan: Germany.
- Anonymous, 1996e: Brautechnische Analysenmethoden, 1.1.1. – Leichtflüchtige Gärungsnebenprodukte – Headspace-Methode, Band II, MEBAK Freising-Weihenstephan: Germany.
- Anonymous, 1996f: Brautechnische Analysenmethoden, 1.2.4.3. – 3-hydroxy-2-butanon (acetoin) – Headspace-Methode, Band II, MEBAK Freising-Weihenstephan: Germany.
- Anonymous, 1997a: IOB methods of analysis, Vol. 1. Method 9.22 – Vicinal diketones in beer by gas chromatography: capillary column. The Institute of Brewing: London, England.
- Anonymous, 1997b: IOB methods of analysis, 9.23 – Vicinal diketones in beer by gas chromatography: packed column. The Institute of Brewing, Vol. 1, The Institute of Brewing: London, England.
- Anonymous, 1997c: IOB methods of analysis, 9.33 – Dimethyl sulphide in beer by gas chromatography. The Institute of Brewing, Vol. 1, The Institute of Brewing: London, England.
- Anonymous, 1997d: IOB methods of analysis, 9.32 – Lower boiling point volatile compounds in beer by headspace gas chromatography. The Institute of Brewing, Vol. 1, The Institute of Brewing: London, England.
- Anonymous, 2005: Analytica EBC, 9.24.2 – Dimethyl sulphide and other lower boiling point volatile compounds in beer by gas chromatography. European Brewery Convention, 5<sup>th</sup> update, Verlag Hans Carl Getränke-Fachverlag: Nürnberg, Germany.

is done to correct the loss of analyte during sample preparation or sample inlet. The internal standard is a compound that is very similar, but not identical to the chemical species of interest in the samples, as the effects of sample preparation should, relative to the amount of each species, be the same for the signal from the internal standard as for the signal(s) from the species of interest in the ideal case.

In brewing analytics head-space methods internal standards are successfully used. Overview of these compound used in frequently brewing analysis is shown in Tab. 3.

## 5 CONCLUSIONS

Despite development of new special microextraction techniques e.g. solid phase microextraction (SPME), stir bar sorptive extraction (SBSE) and other, the head-space procedure is permanently the main method for the determination of volatile compounds due to its simplicity and easy automation. The head-space method is also very often used in brewing and malting analytics. Static mode of head-space technique is preferred and internal standard is used for quantitation.

### 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.

- Bovijn, L., Piroette, J., Berger, A., 1958: Gas chromatography 1958 (Amsterdam Symposium), in Desty D.H. (Editor), Butterworths, London, 310.
- Chaintreau, A., 2000: Sample preparation, headspace techniques. In: Encyclopedia of analytical chemistry (Meyers R. A., ed.), p. 4229. Wiley, Chichester.
- Čulík, J., Jurková, M., Čejka, P., Kellner, V., 1997: Zkušenosti s využitím nových technik plynové chromatografie při analýze senzorycky 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**: 300–304.
- Dewulf, J., van Langenhove, H., 2002: Analysis of volatile organic compounds using gas chromatography. Trends Anal. Chem., **21**: 637–646.
- European Brewery Convention, 2005: Analytica EBC, 5<sup>th</sup> update, Method 9.24.2 – Vicinal diketones in beer: gas chromatographic method. Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, Germany.
- Harger, R. N., Bridwell, E. G., Raney, B. B., 1939: Proc. Am. Soc. Biol. Chem., J. Biol. Chem., 128.
- Kolb, B., 2000: Headspace gas chromatography. In: Encyclopedia of separation science (Wilson I. D., ed.), p. 489. Academic Press, London.
- Kolb, B., Ettre, L.S., 2006: Static headspace-gas chromatography: theory and practice, 2<sup>nd</sup> ed., Wiley, Chichester.
- Pawliszyn, J., Lord, H. L., 2010: Headspace gas chromatography. In: Sample preparation, Wiley, Chichester, 25.
- Roose, P., Brinkman, U. A. Th., 2005: Monitoring organic microcontaminants in the marine environment: principles, programmes and progress. Trends Anal. Chem., **24**: 897–926.
- Snow, N. H., Slack, G. C., 2002: Head-space analysis in modern gas chromatography. Trends Anal. Chem., **21**: 608–617.

Recenzovaný článek / Reviewed paper

Do redakce došlo / Manuscript received: 5. 8. 2011

Přijato k publikování / Accepted for publication: 7. 11. 2011