

## RYCHLEJŠÍ PLYNOVÁ CHROMATOGRRAFIE A JEJÍ VYUŽITÍ V PIVOVARSTVÍ. ČÁST 3. – STANOVENÍ VYBRANÝCH SEMIVOLATILNÍCH SENZORICKY AKTIVNÍCH LÁTEK V PIVU

### FASTER GAS CHROMATOGRAPHY AND ITS UTILIZATION IN BREWING. PART 3. – THE DETERMINATION OF SOME LOW VOLATILE BEER FLAVOURS

TOMÁŠ HORÁK, JIŘÍ ČULÍK, MARIE JURKOVÁ, PAVEL ČEJKA, VLADIMÍR KELLNER, JOSEF DVOŘÁK, DA-  
NUŠA 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, 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 vyu-  
žití v pivovarství. Část 3. – Stanovení vybraných semivolatilních senzory aktivních látek v pivu. Kvasny Prum. 55, 2009, č. 11–12,  
s. 304–309.

Použití křemenných kapilárních kolon s novým rozměrem vnitřního průměru 0,18 mm umožňuje zkrátit dobu plynově chromatografické  
analýzy, aniž by došlo ke zhoršení účinnosti separace. Předložená studie se zabývá využitím těchto kolon v porovnání s běžně používa-  
nými kolonami o vnitřním průměru 0,32 mm při stanovení některých senzory aktivních látek v pivu, jako jsou mastné kyseliny (kyselina  
isomáselná, máselná, isovalerová, valerová, kapronová, kaprylová, pelargonová, kaprinová, laurová, myristová, palmitová, stearová, ole-  
jová, linolová, linoleová) a některé vyšší alkoholy. Tyto látky byly z matrice vyextrahovány extrakcí na pevné fázi nebo extrakcí v systému  
kapalina-kapalina po destilaci s vodní párou. 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 utilization  
in brewing. Part 3. – The determination of some low volatile beer flavours. Kvasny Prum. 55, 2009, No. 11–12, p. 304–309.

Shortening of gas chromatography run time without losing of separation efficiency is available by using of silica capillary columns with  
new size of internal diameter – 0.18 mm. This work is focussed on application of these narrow bore columns and their comparisons with  
usually applied columns with 0.32 mm of internal diameter for the determination of some beer flavours as fatty acids (isobutyric, butyric,  
isovaleric, valeric, caproic, caprylic, pelargonic, capric, lauric, myristic, palmitic, stearic, oleic, linoleic, linolenic acids) and some higher al-  
cohols. These compounds were extracted from beer matrix by solid phase extraction methods or by steam distillation followed liquid-liquid  
extraction procedures. 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 3. – Bestimmung von semihochflüchtigen sensorisch Aktivsubstanzen im Bier. Kvasny Prum.  
55, 2009, Nr. 11–12, S. 304–309.

Die Anwendung der quarzhaltigen Kapillarkolonnen mit dem neuen Abmessen inneres Diameters ID = 0,18 mm ermöglicht eine Verkür-  
zung der Gaschromatographieanalyse ohne irgendeiner Verschlechterung der Separationswirksamkeit. Der Artikel befasst sich mit einer Aus-  
nutzung von diesen Kolonnen im Vergleich mit den laufend benützten Kolonnen mit ID = 0,32 mm während der Feststellung von einigen sen-  
sorisch aktiven Substanzen im Bier, wie Fettsäuren (Isobuttersäure, Buttersäure, Isovaleriansäure, Valeriansäure, Capronsäure, Caprylsäure,  
Pelargonsäure, Caprinsäure, Laurinsäure, Myristinsäure, Palmitinsäure, Stearinsäure, Ölsäure, Linoleinsäure, Linolensäure) und einige  
höhere Alkohole. Aus der Matrice wurden diese Stoffe durch Extraktion auf der festen Phase oder durch die Extraktion im System Flüssig-  
keit – Flüssigkeit nach der Destillation mit Wasserdampf extrahiert. Zur Detektion wurde ein Flammenionisierbarer Detektor angewandt.

**Klíčová slova:** rychlejší plynová chromatografie, senzory aktivní  
látky, pivo

**Keywords:** faster gas chromatography, beer flavours, beer

## 1 ÚVOD

Urychlení celého analytického postupu při stanovení konkrétních  
látek je cílem prakticky všech laboratorí. Za tímto účelem se vyvíjejí  
nejednodušší, rychlejší, a pokud možno i levnější postupy pro  
přípravu vzorku, ale také i metody vlastního stanovení.

Pro stanovení senzory aktivních látek v pivu, jako jsou mastné  
kyseliny nebo vyšší alkoholy, se s výhodou používají plynově chro-  
matografické metody. Před vlastním plynově chromatografickým sta-  
novením je však nutné sledované látky z piva vyextrahovat, zakon-  
centrovat a případně odstranit interferující látky. K tomu se často  
používají destilační metody s následnou extrakcí destilátu organice-  
kým rozpouštědlem [1,2] nebo přímo extrakce v systému kapalina-  
kapalina [3]. Tyto především časově náročné postupy přípravy vzorků  
lze úspěšně nahradit extrakcí na pevné fázi [4,5], mikroextrakcí na  
pevné fázi [6–9] nebo extrakcí na míchací tyčince [10].

Jinou možností zkrácení celkové doby analytického stanovení je  
urychlení plynově chromatografické separace využitím rychlejší ply-  
nové chromatografie. Předcházející články popisovaly teoretické  
možnosti použití rychlejší plynové chromatografie a jejího praktic-  
kého uplatnění při stanovení těkavých senzory aktivních látek  
v pivu [11,12]. K tomu byla využita kolona s novým rozměrem vnitř-  
ního průměru 0,18 mm, kterou je možné použít ve spojení se stá-  
vajícím vybavením plynových chromatografů. Pracovní podmínky na

## 1 INTRODUCTION

Quick getting of analytical results is the aim of almost all labora-  
tories. So new simply faster and preferably low cost sample prepa-  
ration procedures are developed together with new methods for proper  
determinations.

Gas chromatographic methods are often used for the determina-  
tion of beer flavours as fatty acids or higher alcohols. Sample pre-  
paration procedures are necessary for extraction concentration and  
or clean-up. Steam distillation followed liquid-liquid extraction by  
organic solvent [1,2] or direct liquid-liquid extraction are often used  
[3]. These sample preparation procedures are time consuming. Sol-  
id phase extraction [4,5], solid phase microextraction [6–9] or stir bar  
sorptive extraction methods could be used successfully instead of  
these above mentioned methods [10].

Another way for acceleration of the whole analytical procedure lies  
in using of faster gas chromatography. In previous articles theoretic-  
al aspects of contemporary utilization of faster gas chromatography  
together with practical applications in the determinations of volatile  
beer flavours were discussed [11,12]. The new gas chromatograp-  
hic capillary column with 0.18 mm of internal diameter was tested.  
This type of columns can be used with the current instrumentation  
of gas chromatographs. The working conditions of these narrow bore  
columns can be easy translating from operating conditions of con-  
ventional columns by the method translation software [13,14].

těchto velmi tenkých kolonách lze velmi jednoduše získat „přeložením“ podmínek na stávající konvenční koloně pomocí „překladačového“ software [13,14].

Tato práce se zabývá aplikací chromatografické kolony o vnitřním průměru 0,18 mm pro stanovení některých senzorycky aktivních látek v pivu, jako jsou nižší mastné kyseliny (kyselina isomáselná, máselná, isovalerová, valerová, kapronová, kaprylová, pelargonová, kaprinová), vyšší mastné kyseliny ve formě jejich methylesterů (kyselina laurová, myristová, palmitová, stearová, olejová, linolová, linoleová) a některé vyšší alkoholy. Pracovní podmínky a výsledky těchto nových 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. Analýzy probíhaly na plynovém chromatografu Chrompack CP 9001 s nástřikem v dělicím modu a plamenionizačním detektorem. Chromatograf byl osazen automatickým dávkovačem vzorků Labio ASG 40. Chromatografické kolony a pracovní podmínky pro jednotlivé druhy analýz jsou uvedeny dále v textu.

Kyseliny isomáselná, máselná, isovalerová, valerová, kapronová, heptanová, kaprylová, pelargonová, kaprinová, laurová, tridekanová, myristová, pentadekanová, palmitová, heptadekanová, stearová, olejová, linolová, linoleová, ethylhexanol, furfurylalkohol, β-fenyletanol, 4-ethylfenol byly zakoupeny od firmy Sigma Aldrich, USA. Derivatizační činidlo boron trifluorid – 10% v methanolu bylo získáno od firmy Aldrich, USA. Hexan, dichlormethan od firmy Merck, Německo. Vzorky piva byly z maloobchodní sítě.

## 3 VÝSLEDKY A DISKUSE

Pro analýzu senzorycky aktivních látek v pivu, jako jsou mastné kyseliny nebo vyšší alkoholy, se často používají kolony o délce 30

Tab. 1 Pracovní chromatografické podmínky pro stanovení nižších volných mastných kyselin a vyšších mastných kyselin ve formě methylesterů v pivu pro konvenční a velmi tenkou kapilární kolonu / *Experimental chromatographic parameters for the determination of free low-chain fatty acids and higher fatty acids as methylesters in beer on a conventional and on a narrow bore column*

Kolona / Column	DB WAX, 30 m, 0.32 mm, I.D. 0.25 μm	DB WAX, 10 m, 0.18 mm, I.D. 0.18 μm
Nástřik / Injection	Split 1:10, 250 °C	Split 1:130, 250 °C
Nosný plyn / Carrier gas	Helium	Helium
Vstupní tlak nosného plynu / Carrier head pressure	150 kPa	200 kPa
Průtok nosného plynu / Carrier flow rate	4.2 ml/min	1.4 ml/min
Výstupní průtoková rychlost / Outlet velocity	116 cm/s	125 cm/s
Průměrná průtoková rychlost / Average velocity	63 cm/s	65 cm/s
Teplotní program / Oven program	120 °C (2 min) – 30 °C/min – 200 °C (5 min)	120 °C (0,8 min) – 50 °C/min – 200 °C (2 min)
Detektor / Detector	FID, 220 °C	FID, 220 °C
Doba analýzy / Analysis time	6.67 min	3.19 min
Nižší mastné kyseliny / Low-chain fatty acids	8.12 min	1.05 min
Vyšší mastné kyseliny / High fatty acids		

This study is focused on application of the capillary column with 0.18 mm of internal diameter for the determination of some beer flavours as free medium-chain fatty acids (isobutyric, butyric, isovaleric, valeric, caproic, caprylic, pelargonic, capric acids) and methylesters of lauric, myristic, palmitic, stearic, oleic, linoleic, linolenic acids and some higher alcohols. 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 Chrompack CP 9001 gas chromatograph with split injection and flame ionization detector (FID) equipped with liquid autosampler unit Labio ASG 40. Columns and working parameters are discussed in the text.

Isobutyric, butyric, isovaleric, valeric, caproic, heptanoic, caprylic, pelargonic, capric, undecanoic, lauric, tridecanoic, myristic, pentadecanoic, palmitic, stearic, oleic, linoleic, linolenic acids, ethylhexanol, furfuryl alcohol, β-phenylethanol, 4-ethylphenol were obtained from Sigma Aldrich, USA. Derivatization agent boron trifluoride – 10% in methanol was purchased from Aldrich, USA. Hexane and dichloromethane were obtained from Merck, Germany. Bottled commercial lager beer samples were bought on market.

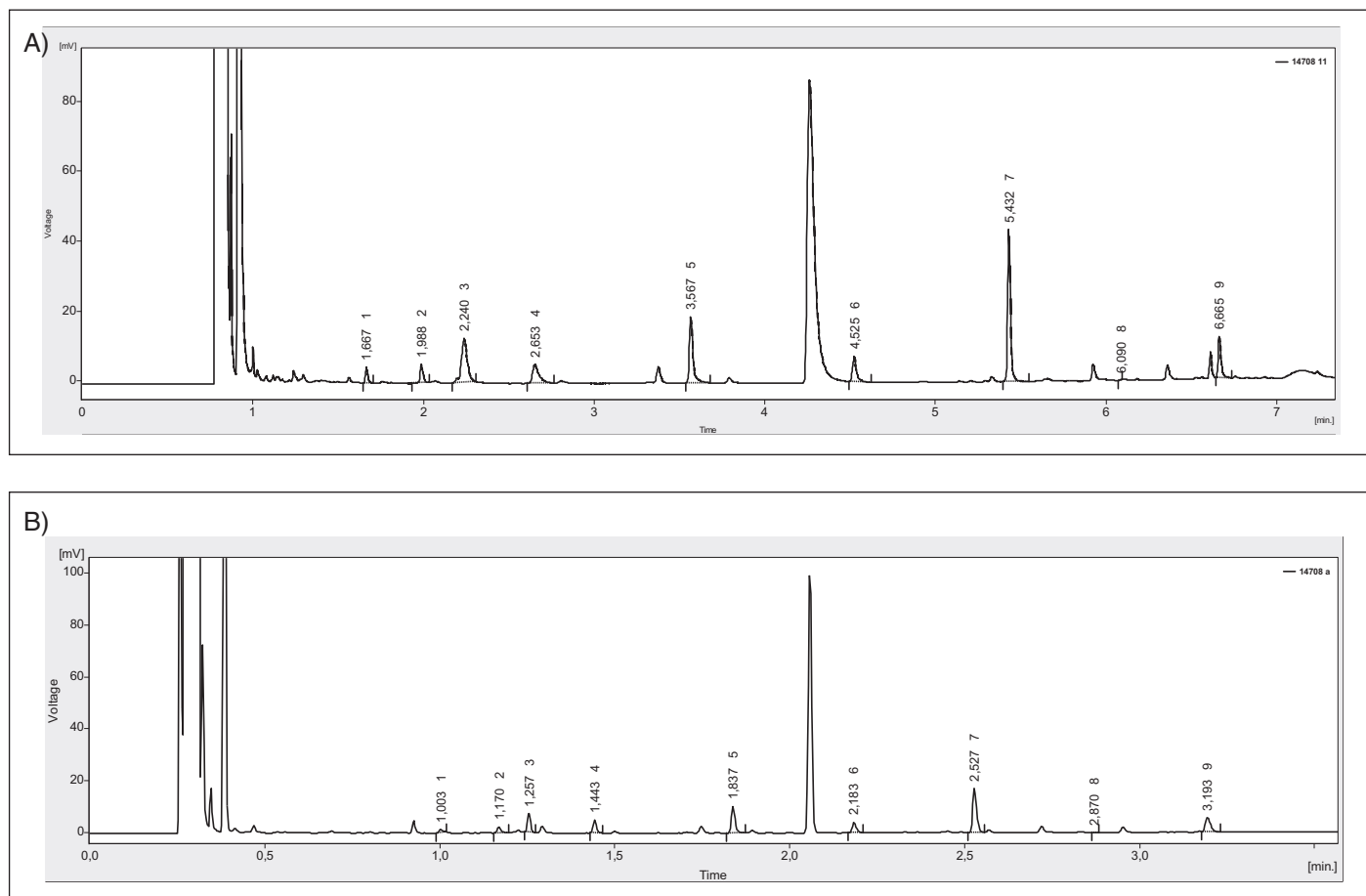
## 3 RESULTS AND DISCUSSION

To reach the satisfactory resolution the column with 30 up to 60 m length and very high plate numbers are often used for the determination of fatty acids and higher alcohols in beer. The fatty acids are determined in two separate analyses in our laboratory. At first the free low-chain fatty acids are determined and in another step the higher fatty acids are analyzed as methyl esters. 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 in both cases. The temperature program and other parameters of gas chromatographic determination are the same for both analyses. As narrow bore column the 10 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 cal-

Tab. 2 Pracovní chromatografické podmínky pro stanovení vyšších alkoholů v pivu pro konvenční a velmi tenkou kapilární kolonu / *Experimental chromatographic parameters for the determination of higher alcohols in beer on a conventional and on a narrow bore column*

Kolona / Column	DB WAX, 30 m, 0.32 mm, I.D. 0.25 μm	DB WAX, 10 m, 0.18 mm, I.D. 0.18 μm
Nástřik / Injection	Split 1:10, 240 °C	Split 1:200, 240 °C
Nosný plyn / Carrier gas	Helium	Helium
Vstupní tlak nosného plynu / Carrier head pressure	150 kPa	205 kPa
Průtok nosného plynu / Carrier flow rate	4.2 ml/min	2.4 ml/min
Výstupní průtoková rychlost / Outlet velocity	104 cm/s	185 cm/s
Průměrná průtoková rychlost / Average velocity	60 cm/s	85 cm/s
Teplotní program / Oven program	80 °C (1 min) – 8 °C/min – 240 °C (3 min)	80 °C (0.3 min) – 27 °C/min – –240 °C (0,9 min)
Detektor / Detector	FID, 250 °C	FID, 250 °C
Doba analýzy / Analysis time	11.14 min	4.43 min

**Obr. 1** Stanovení volných nižších mastných kyselin v pivu A) na koloně J&W Scientific DB WAX, 30 m, 0,32 mm vnitřního průměru a 0,25  $\mu\text{m}$  tloušťce filmu a B) na koloně J&W Scientific DB WAX, 10 m, 0,18 mm vnitřního průměru a 0,18  $\mu\text{m}$  tloušťce filmu. 1 – isomáselná kyselina, 2 – máselná kyselina, 3 – isovalerová kyselina, 4 – valerová kyselina, 5 – kapronová kyselina, 6 – heptanová kyselina (vnitřní standard), 7 – kaprylová kyselina, 8 – pelargonová kyselina, 9 – kaprinová kyselina / **Fig. 1** Determination of free low-chain fatty acids in beer A) on a 30 m x 0,32 mm i. d., 0,25  $\mu\text{m}$  film thickness, J&W Scientific DB-WAX column and B) on a 10 m x 0,18 mm i. d., 0,18  $\mu\text{m}$  film thickness, J&W Scientific DB-WAX column. 1 – isobutyric acid, 2 – butyric acid, 3 – isovaleric acid, 4 – valeric acid, 5 – caproic acid, 6 – heptanoic acid (internal standard), 7 – caprylic acid, 8 – pelargonic acid, 9 – capric acid



až 60 m s velmi vysokým počtem teoretických pater, aby bylo dosaženo uspokojivého rozlišení. V naší laboratoři se mastné kyseliny stanovují ve dvou analýzách. Nejprve nižší mastné kyseliny jako volné a dále pak vyšší mastné kyseliny ve formě jejich methylesterů. K oběma analýzám se používá konvenční kolona od výrobce J&W Scientific s fází typu DB-WAX o tloušťce filmu 0,25  $\mu\text{m}$ , délce 30 m a vnitřním průměru 0,32 mm. Také teplotní program a další parametry plynově chromatografického stanovení jsou pro oba typy analýzy stejné. Stanovení vyšších alkoholů probíhá rovněž na stejné koloně, ale za jiných podmínek. Jako „narrow bore“ kolona byla použita kolona J&W Scientific se stejnou fází DB-WAX o tloušťce filmu 0,18  $\mu\text{m}$ , délce 10 m a vnitřním průměru 0,18 mm. Pracovní podmínky pro tenkou kolonu byly vypočítány pomocí překladového softwaru volně přístupného na internetových stránkách firmy Agilent Technologies. Podmínky měření pro oba typy kolon jsou pro stanovení mastných kyselin uvedeny v tab. 1. Tab. 2 uvádí podmínky měření pro stanovení vyšších alkoholů v pivu.

Na obr. 1 je porovnání chromatogramů analýzy nižších mastných kyselin v reálném vzorku piva na obou kolonách. Obr. 2 ukazuje chromatografické záznamy získané z obou typů kolon při analýze vyšších mastných kyselin jako jejich methylesterů v pivu. Obr. 3 porovnává chromatogramy naměřené na výše uvedených typech kolon při stanovení obsahu vyšších a aromatických alkoholů v pivu. 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 softwaru pro stanovení nižších mastných kyselin, vyšších mastných kyselin a vyšších alkoholů je uvedeno v tab. 3. Rozdíly mezi skuteč-

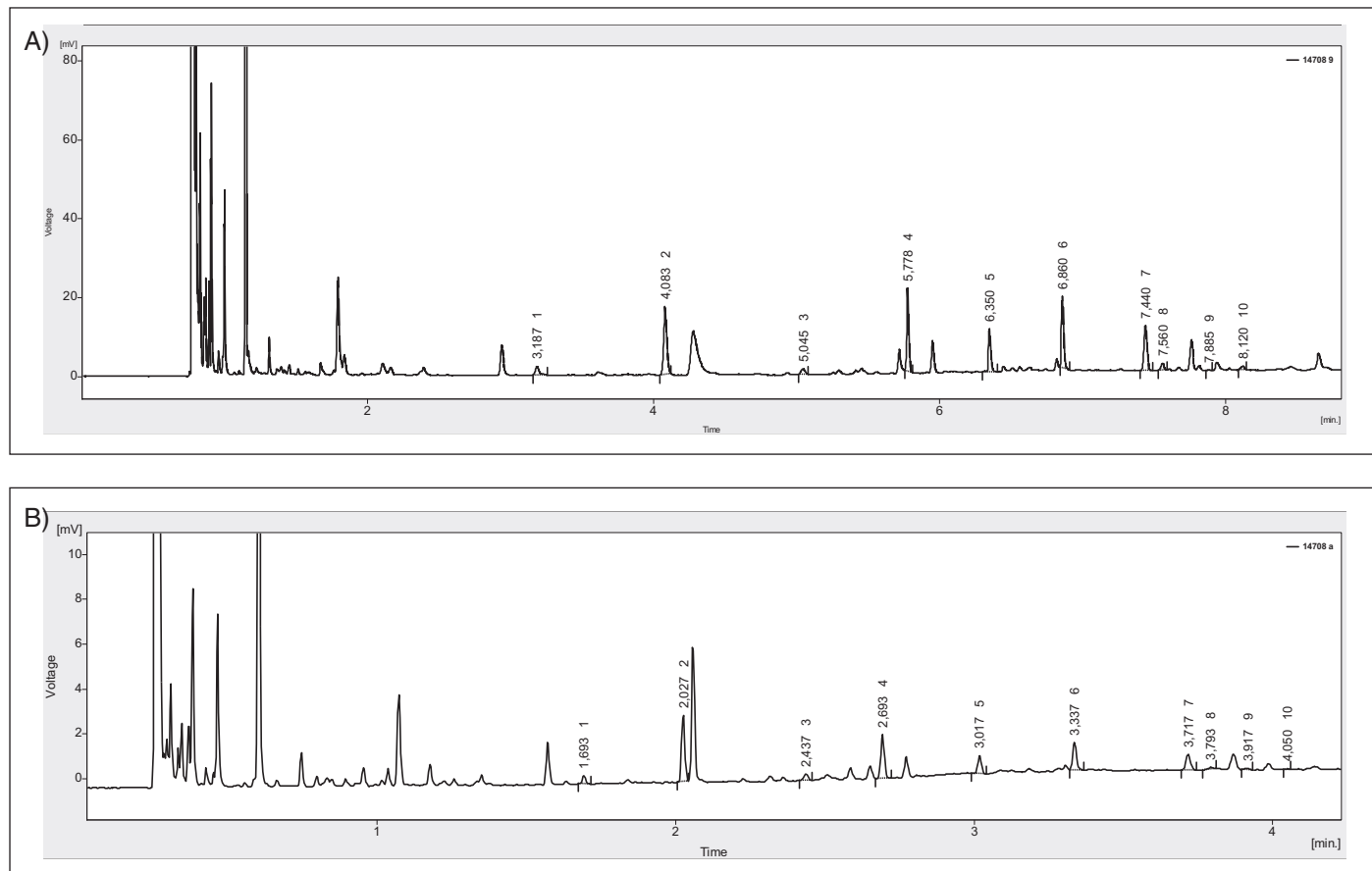
culated by using the method translation software free available on Agilent Technologies web sites. The experimental conditions for both types of columns for the determination of fatty acids are shown in Tab. 1. The experimental parameters for the determination of higher alcohols in beer are shown in Tab. 2.

Chromatograms of free low-chain fatty acids determined in real beer sample measured on both type of columns are compared in Fig. 1. Fig. 2 shows the comparison of chromatograms from both types of used columns for the determination of high fatty acids as well as their methyl esters in beer. Fig. 3 compares chromatograms measured on both type of columns for the analysis of higher alcohols in beer. These figures confirm expected fact that chromatographic resolution is very similar on both types of columns. Significant analyses 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 predicted speed gains from the method translation software for the determination of low and high chain fatty acids and higher alcohols 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. The conventional column with 0.32 mm of internal diameter has been used in our laboratory for long time and it 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 stand 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 fatty acid and higher alcohol determinations on both columns. Tab. 4 gives the retention times and chromatographic peaks areas. As we can see from this table the reproducibility of retention

Obr. 2 Stanovení vyšších mastných kyselin jako methylesterů v pivu A) na koloně J&W Scientific DB WAX, 30 m, 0,32 mm vnitřního průměru a 0,25  $\mu\text{m}$  tloušťce filmu a B) na koloně J&W Scientific DB WAX, 10 m, 0,18 mm vnitřního průměru a 0,18  $\mu\text{m}$  tloušťce filmu. 1 – laurová kyselina, 2 – tridekanová kyselina (vnitřní standard), 3 – myristová kyselina, 4 – pentadekanová kyselina (interní standard), 5 – palmitová kyselina, 6 – heptadekanová kyselina (vnitřní standard), 7 – stearová kyselina, 8 – olejová kyselina, 9 – linolová kyselina, 10 – linoleová kyselina / Fig. 2 Determination of high fatty acids as methylesters in beer A) on a 30 m x 0,32 mm i. d., 0,25  $\mu\text{m}$  film thickness, J&W Scientific DB-WAX column and B) on a 10 m x 0,18 mm i. d., 0,18  $\mu\text{m}$  film thickness, J&W Scientific DB-WAX column. 1 – lauric acid, 2 – tridecanoic acid (internal standard), 3 – myristic acid, 4 – pentadecanoic acid (internal standard), 5 – palmitic acid, 6 – heptadecanoic acid (internal standard), 7 – stearic acid, 8 – oleic acid, 9 – linoleic acid, 10 – linolenic acid



nou a teoretickou hodnotou lze vysvětlit tím, že při matematickém výpočtu se neuvažuje skutečná délka kolony, která se od deklarované může lišit. Konvenční kolona o vnitřním průměru 0,32 mm byla již 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 při opakované analýze téhož vzorku. Za tímto účelem bylo provedeno sedmkrát opakované měření stejného vzorku na obou kolonách pro stanovení nižších a vyšších mastných kyselin a vyšších alkoholů. 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 od-

times is better than 0.2 % for conventional column and better than 0.25 % in case of narrow bore column for both methods. The relative standard deviation on peak areas of compounds of interest are better than 5 % for conventional column and better than 7 % for the narrow bore column. The differences are statistically insignificant.

#### 4 CONCLUSIONS

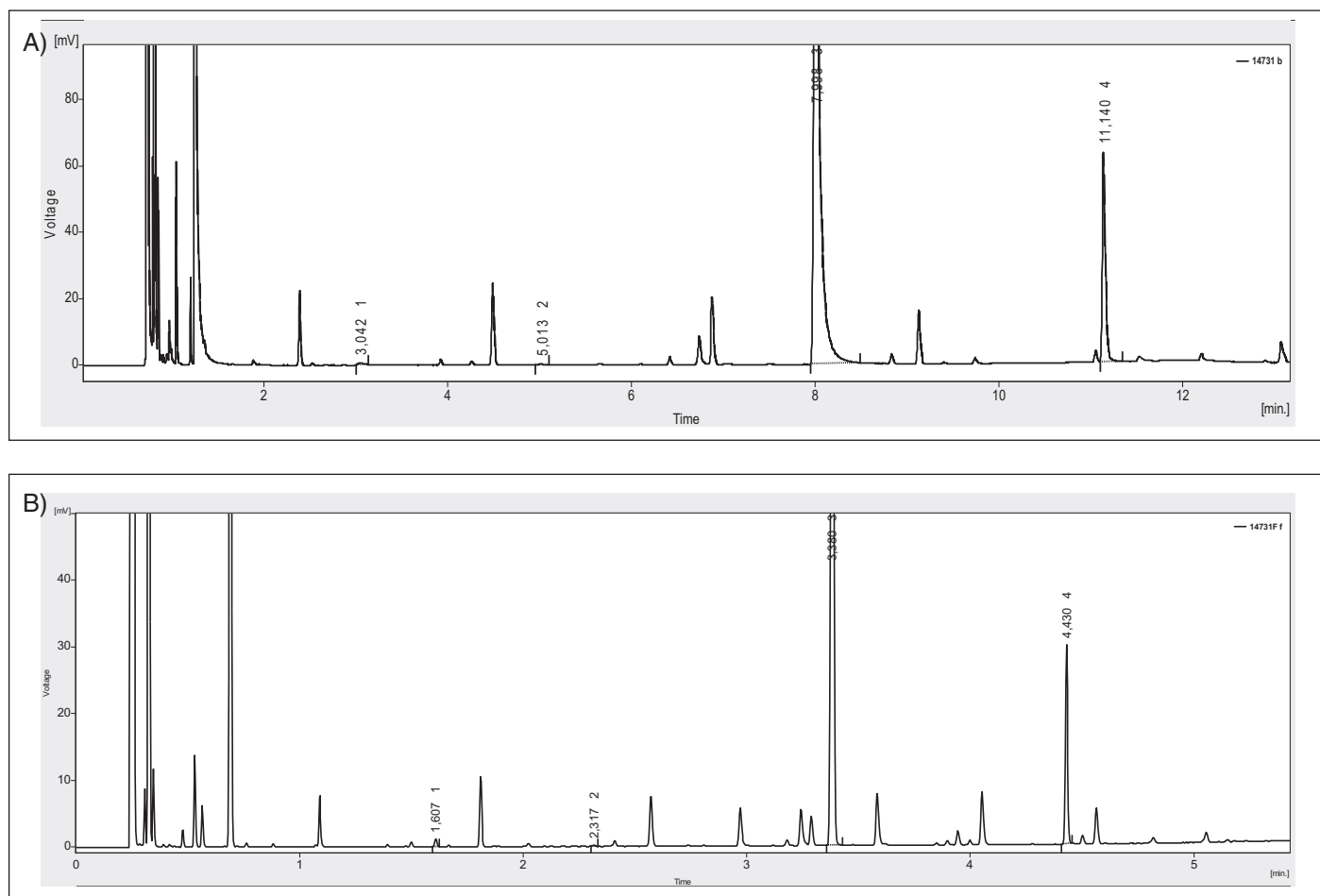
This study has showed that the fused silica capillary columns for gas chromatography with new internal diameter – 0.18 mm – could be successfully used also for other brewing determinations as low or higher chain fatty acids or higher alcohols in beer. These capillary columns give similar working characteristics as conventional columns with 0.32 mm of internal diameter but the run time is reduced

Tab. 3 Porovnání skutečných a teoretických časových zisků vyjadřujících zrychlení analýzy při stanovení nižších a vyšších mastných kyselin a vyšších alkoholů v pivu / The comparison of real and predicted speed gains for the determination of free low-chain fatty acids and higher fatty acids and higher alcohols in beer

	Skutečný zisk / Real speed gain	Vypočtený zisk / Calculated speed gain
Stanovení nižších mastných kyselin / Determination of free low-chain fatty acids DB WAX, 30 m, 0.32 mm I.D. 0.25 $\mu\text{m}$ versus DB WAX, 10 m, 0.18 mm I.D. 0.18 $\mu\text{m}$	2.08	2.4
Stanovení vyšších mastných kyselin / Determination of higher fatty acids DB WAX, 30 m, 0.32 mm I.D. 0.25 $\mu\text{m}$ versus DB WAX, 10 m, 0.18 mm I.D. 0.18 $\mu\text{m}$	2.01	2.4
Stanovení vyšších alkoholů / Determination of higher alcohols DB WAX, 30 m, 0.32 mm I.D. 0.25 $\mu\text{m}$ versus DB WAX, 10 m, 0.18 mm I.D. 0.18 $\mu\text{m}$	2.51	3.33



Obr. 3 Stanovení vyšších alkoholů v pivu A) na koloně J&W Scientific DB WAX, 30 m, 0,32 mm vnitřního průměru a 0,25  $\mu$ m tloušťce filmu a B) na koloně J&W Scientific DB WAX, 10 m, 0,18 mm vnitřního průměru a 0,18  $\mu$ m tloušťce filmu. 1 – ethylhexanol, 2 – furfurylalkohol, 3 –  $\beta$ -fenylethanol, 4 – 4-ethylfenol (vnitřní standard) / Fig. 3 Determination of higher alcohols in beer A) on a 30 m x 0,32 mm i. d., 0,25  $\mu$ m film thickness, J&W Scientific DB-WAX column and B) on a 10 m x 0,18 mm i. d., 0,18  $\mu$ m film thickness, J&W Scientific DB-WAX column. 1 – ethylhexanol, 2 – furfurylalkohol, 3 –  $\beta$ -phenylethanol, 4 – 4-ethylphenol (internal standard)



chykla (RSD %), retenčních časů je lepší než 0,2 % pro konvenční kolonu a lepší než 0,25 % v případě tenké kolony pro obě metody stanovení. Relativní směrodatná odchylka pro plochu stanovených látek vykazuje hodnoty lepší než 5 % pro konvenční kolonu a lepší než 7 % pro tenkou kolonu. Rozdíly jsou tedy statisticky nevýznamné.

#### 4 ZÁVĚR

Předložená práce ukázala, že kapilární kolony pro plynovou chromatografii s novým rozměrem vnitřního průměru 0,18 mm je možné s úspěchem využít i v dalších pivovarských rozbořech jako je stanovení nižších a vyšších mastných kyselin stejně jako vyšších alkoholů v pivu. Tento typ kolon poskytuje srovnatelné pracovní charakteristiky jako klasické kapilární kolony s vnitřním průměrem 0,32 mm a přitom vlastní čas analýzy zkracuje o 52 % v případě stanovení nižších mastných kyselin, o 50 % v případě vyšších mastných kyselin a o 60 % při určení obsahu vyšších alkoholů v pivu. Výsledná časová úspora je sice menší vzhledem k době nutné ke zchlazení chromatografické pece na původní teplotu – tato doba se změnou kolony nikterak nemění – i tak ale jde o významné zrychlení analýzy. V důsledku toho 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, které vyžadují speciální instrumentaci.

#### 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.

by 52 % and by 50 % for the determination of low and higher chain fatty acids, respectively. For the determination of higher alcohols the time reduction involves 60 %. Though the total time savings are less due to cooling time of chromatographic oven to initiative temperature – this time does not be influenced by changing of column – the significant acceleration of gas chromatographic procedure is reached. So the laboratory throughput increased and utilization of existing conventional gas chromatographs is possible in contrast with 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.

Recenzovaný článek  
Do redakce došlo 3. 9. 2009

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

Sloučenina / Compound	DB WAX, 30 m, 0.32 mm I.D. 0.25 $\mu$ m				DB WAX, 10 m, 0.18 mm I.D. 0.18 $\mu$ m			
	$t_r$ (min)	RSD (%)	Plocha / Area (%)	RSD (%)	$t_r$ (min)	RSD (%)	Plocha / Area (%)	RSD (%)
Isomásečná kyselina / Isobutyric acid	1.67	0.11	4.3	2.7	1.00	0.11	4.0	4.5
Másečná kyselina / Butyric acid	1.99	0.09	6.1	1.9	1.17	0.09	6.9	2.0
Isovalerová kyselina / Isovaleric acid	2.24	0.09	17.5	3.0	1.26	0.10	17.0	3.2
Valerová kyselina / Valeric acid	2.65	0.07	8.6	0.5	1.44	0.09	10.2	1.9
Kapronová kyselina / Caproic acid	3.57	0.04	22.3	0.3	1.84	0.08	23.5	0.7
Heptanová kyselina (vnitřní standard) / Heptanoic acid (internal standard)	4.52	0.04	–	0.5	2.18	0.06	–	0.7
Kaprylová kyselina / Caprylic acid	5.43	0.02	36.2	2.0	2.53	0.08	31.6	1.0
Pelargonová kyselina / Pelargonic acid	6.09	0.05	0.2	0.7	2.87	0.04	0.1	1.2
Kaprinová kyselina / Capric acid	6.67	0.04	4.8	2.1	3.19	0.02	6.6	2.7
Laurová kyselina / Lauric acid	3.19	0.04	11.1	5.0	1.69	0.09	11.3	6.4
Tridekanová kyselina (vnitřní standard) / Tridecanoic acid (internal standard)	4.08	0.02	–	1.2	2.03	0.05	–	2.2
Myristová kyselina / Myristic acid	5.05	0.03	6.2	0.5	2.44	0.10	6.6	1.2
Pentadekanová kyselina (vnitřní standard) / Pentadecanoic acid (internal standard)	5.78	0.03	–	0.4	2.69	0.10	–	0.8
Palmitová kyselina / Palmitic acid	6.35	0.02	12.3	2.4	3.02	0.04	17.7	1.2
Heptadekanová kyselina (vnitřní standard) / Heptadecanoic acid (internal standard)	6.86	0.02	–	3.1	3.34	0.03	–	2.8
Stearová kyselina / Stearic acid	7.44	0.02	49.8	3.8	3.72	0.04	46.5	3.5
Olejevá kyselina / Oleic acid	7.56	0.03	9.6	0.9	3.79	0.03	7	1.6
Linolová kyselina / Linoleic acid	7.89	0.03	3.5	2.5	3.92	0.05	2.2	2.3
Linolenová kyselina / Linolenic acid	8.12	0.03	7.4	4.8	4.05	0.03	10.7	4.6
Ethylhexanol	3.04	0.17	1.9	0.9	1.61	0.12	1.2	1.1
Furfurylalkohol / Furfuryl alcohol	5.01	0.04	0.9	2.4	2.32	0.11	0.8	2.6
$\beta$ -fenylethanol / $\beta$ -phenylethanol	7.99	0.03	97.2	1.6	3.38	0.09	87.5	1.5
4-ethylfenol / 4-ethylphenol	11.14	0.03	–	1.3	4.43	0.08	–	1.2

## LITERATURA / REFERENCES

1. Basařová, G. a kol.: Pivovarsko-sladařská analytika, Merkanta, Praha, 1993, 739.
2. Dostálek, P., Wąsowicz, P., Řezáč, J., Čepička, J.: Porovnání extrakčních metod pro izolaci těkavých látek z piva. Kvasny Prum. **41**, 1995, 302–307.
3. Alvarez, P., Malcorps, P., Sa Almeida, A., Ferreira, A., Meyer, A. M., Divour, J. P.: Analysis of free fatty acids, fused alcohols and esters in beer: an alternative to CS<sub>2</sub> extraction. J. Am. Soc. Brew. Chem. **52**, 1994, 127–134.
4. Hage, T.: Proc. Fourth European Conference on Food Chemistry, Volume 1, Loen, Norway, 1987, 106–110.
5. Battistutta, F., Buiatti, S., Zenarola, C., Zironi, R.: Rapid analysis of free medium-chain fatty acids and related ethyl esters in beer using SPE and HRGC. J. High Resolut. Chromatogr. **17**, 1994, 662–664.
6. Garcia, D. D., Magnaghi, S., Reichenbacher, M., Danzer, K.: Systematic optimization of the analysis of wine bouquet components by solid-phase microextraction. J. High Resolut. Chromatogr. **19**, 1996, 257–262.
7. Yang, X., Peppard, T.: Solid-Phase Microextraction for Flavor Analysis. J. Agric. Food Chem. **42**, 1994, 1925–1930.
8. 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. Agric. Food Chem. **51**, 2003, 6941–6944.
9. Horák, T., Čulík, J., Jurková, M., Čejka, P., Kellner, V.: Stanovení mastných kyselin v pivu technikou SPME / The determination of fatty acids in beer by SPME. Kvasny Prum. **51**, 2005, 374–377.
10. Horák, T., Čulík, J., Jurková, M., Čejka, P., Kellner, V.: Determination of free medium-chain fatty acids in beer by stir bar sorptive extraction. J. Chromatogr. A, **1196–1197**, 2008, 96–99.
11. Horák, T., Čulík, J., Jurková, M., Čejka, P., Kellner, V.: Rychlejší plynová chromatografie a její využití v pivovarské analytice. 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.
12. Horák, T., Čulík, J., Jurková, M., Čejka, P., Kellner, V.: Rychlejší plynová chromatografie a její využití v pivovarské analytice. Část 2. – stanovení vysoce těkavých senzory 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. Kvasny prum. **55**, 2009, 268–272.
13. Snyder, W. D., Blumberg, L. in: Sandra, P., Lee, M. L. (Eds.), Proc. 14<sup>th</sup> Int. Symp. on Capillary Chromatography, Baltimore, May 1992, 28.
14. Quimby, B. D., Giarrocco, V., Klee, M. S., Hewlett-Packard Application Note 228-294, February 1995, publication number (43) 5963-5190E.