

STANOVENÍ MASTNÝCH KYSELIN V PIVU TECHNIKOU SPME**DETERMINATION OF THE FATTY ACIDS IN BEER BY SPME**

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

Horák, T. – Čulík, J. – Jurková, M. – Čejka, P. – Kellner, V.: Stanovení mastných kyselin v pivu technikou SPME. *Kvasny Prum.* 51, 2005, č. 11–12, s. 374–377.

Vzhledem k tomu, že vysoký obsah mastných kyselin v kvasném médiu může nepříznivě ovlivnit výslednou kvalitu piva, je nutné mít k dispozici vhodnou analytickou metodu k spolehlivému určení jejich obsahu v pivu nebo v mladině.

Předkládaná práce popisuje rychlou a jednoduchou možnost selektivního stanovení volných mastných kyselin (C_6-C_{12}) v pivu nebo mladině použitím mikroextrakce na pevné fázi (SPME) a plynové chromatografie. Volné mastné kyseliny C_6-C_{12} byly extrahovány SPME vláknem umístěným v headspace prostoru vialky obsahující vzorek piva s přísadkou soli. Z SPME vlákna byly analyty uvolněny termální desorpcí ve vyhřátém injektoru plynového chromatografu vybaveného křemennou kapilární kolonou SPB-1000 a plamenionizačním detektorem. Pro lepší kvantifikaci bylo použito kyseliny heptanové a kyseliny undekanové jako vnitřních standardů. V práci jsou dále popsány pracovní charakteristiky optimalizované metody.

Tato metoda je časově nenáročná, levná, nepoužívá žádná rozpouštědla a vyznačuje se vysokou citlivostí a opakovatelností. Je možné ji doporučit pro běžné kontrolní analýzy v pivovarských laboratořích.

Horák, T. – Čulík, J. – Jurková, M. – Čejka, P. – Kellner, V.: Determination of the Fatty Acids in Beer by SPME. *Kvasny Prum.* 51, 2005, No. 11–12, p. 374–377.

An escalated content of fatty acids during fermentation can influence the quality of final beer. So it is necessary to use the suitable analytical method for the determination of their concentrations in beer or hopped wort.

This work presents the simple and rapid possibility of the selective determination of the free fatty acids (C_6-C_{12}) in beer or wort by Solid Phase Microextraction (SPME) and gas chromatography. The free fatty acids C_6-C_{12} were extracted by SPME fiber placed in the headspace of vial containing the sample of beer with the addition of salt. Analytes were thermally desorbed from the coated fiber of the SPME in the hot injector of the GC equipped with a fused silica capillary column SPB-1000 and a flame ionisation detector. For the quantitation of these medium-chain fatty acids heptanoic acid and undecanoic acid were used as internal standards. Validated parameters of the optimized method for the determination of medium-chain fatty acids from beer are shown in this work.

This method is time saving, low cost, does not require solvents and provides high sensitivity and reproducibility. It can be recommended for routine control analyses in brewery laboratories.

Horák, T. – Čulík, J. – Jurková, M. – Čejka, P. – Kellner, V.: Die Ermittlung von Fettsäuren durch SPME Technik. *Kvasny Prum.* 51, 2005, Nr. 11–12, S. 374–377.

Klíčová slova: mastné kyseliny, SPME, pivo, plynová chromatografie

1 ÚVOD

Množství volných mastných kyselin v pivu je dáno nejenom jejich obsahem v surovinách, ale především jejich vznikem při kvašení a zrání piva. Zvýšená koncentrace mastných kyselin v kvasném médiu může negativně ovlivnit vitalitu kvasinek, senzorní vlastnosti a dále např. i stabilitu pěny hotového piva.

K analytickému stanovení volných mastných kyselin se běžně používá plynová chromatografie. Před vlastní analýzou je však nutné mastné kyseliny z piva vyextrahovat a zakoncentrovat. K tomu je využívána extrakce v systému kapalina-kapalina nebo adsorpce na sorbentu s následnou elucí analytů. Při extrakci kapalina-kapalina je

Unter Berücksichtigung eines ungünstigen Einflusses vom hohen Gehalt an Fettsäuren im Gärmedium auf die finale Qualität des Bieres ist es notwendig, eine geeignete analytische Methode zur Fettsäureermittlung in der Würze oder im Bier vorhanden zu haben.

In diesem Artikel wird eine schnelle und einfache Möglichkeit einer selektiven Fettsäureermittlung (C_6-C_{12}) in der Würze oder im Bier durch die Anwendung einer Mikroextraktion auf einer soliden Phase (SPME) und Gaschromatographie beschrieben. Die freie Fettsäure C_6-C_{12} wurden durch eine SPME Fieber extrahiert, die in einem Vial Headspace mit einem Muster Bier mit Salzzusatz untergebracht wurde. Aus der SPME Fieber durch eine Desorption in einem geheizten Gaschromatographinjektor mit der Quarzkapillarkolonnen SPB-1000 und mit dem Flammenionisationsdetektor wurden die Analyte freigelassen. Um eine bessere Quantifikation zu erreichen, wurden als innere Standard die Heptan- und Undekansäure angewandt. In dem Artikel wurden weiterhin die Arbeitscharakteristik der optimierten Methode beschrieben.

Die Methode ist billig, zeitsprunghaft, weist eine hohe Empfindlichkeit und Reproduzierbarkeit auf und fordert keine Lösungsmittel. Aus diesen Gründen für eine laufende Kontrollanalysen in den Brauereienlabs kann diese Methode empfohlen werden.

Горак, Т. – Чулик, Й. – Юркова, М. – Чейка, П. – Келлер, В.: Определение жирных кислот в пиве при помощи SPME. *Kvasny Prum.* 51, 2005, No. 11–12, стр. 374–377.

В связи с тем, что высокое содержание жирных кислот в броженной среде может негативно повлиять на результирующее качество пива, надо иметь подходящий аналитический метод, при помощи которого можно надежным образом определить их содержание в пиве или в сусле.

В настоящей работе описывается экспрессный и несложный метод селективного определения несвязанных жирных кислот (C_6-C_{12}) при использовании микроэкстрагирования на твердую фазу (SPME) и газовой хроматографии. Несвязанные жирные кислоты C_6-C_{12} были экстрагированы на волокно SPME размещенное в headspace среде вialки содержащей пробу пива с добавкой соли. Из волокна SPME были аналиты освобождены путем тепловой десорбции в нагретом инжекторе газового хроматографа с кварцевой капиллярной колонкой SPB-1000 и пламенно-ионизационным детектором. Были использованы кислоты гептановая и ундекановая как внутренние стандарты для лучшей квантификации. В работе описываются рабочие характеристики оптимизированного метода.

Настоящий метод не требовательный на время, дешевый, не применяет растворителей и отличается высокой чувствительностью и повторяемостью. Можно его рекомендовать для обычных контрольных анализов в лабораториях на пивоваренных заводах.

Keywords: fatty acids, SPME, beer, gas chromatography

1 INTRODUCTION

Free fatty acids in beer originate from raw materials and mainly from fermentation activity of yeasts and can influence beer taste, vitality of yeasts and also the foam stability of beer.

Gas chromatographic methods for determination of free fatty acids in beer can involve two different techniques for sample preparation: liquid-liquid extraction, or adsorption on a sorbent bed and subsequent extraction. Liquid-liquid extraction requires large volumes of expensive and possible harmful organic solvents including chloroform [1], a mixture of chloroform and ethanol [2], dichloromethane [3], and a mixture of ethyl acetate and n-pentane [4]. This procedure is also

nutné použít velké množství drahých a zdraví nebezpečných rozpouštědel jako je chloroform [1], směs chloroformu a ethanolu [2], dichlormethan [3] a směs ethylacetátu a n-pentanu [4]. Tento především časově náročný postup lze úspěšně nahradit moderními metodami – extrakcí na pevné fázi (SPE). Nejčastěji jsou používány kolony naplněné vázanou fází C18 [5, 6]. Výhodou těchto technik je rychlost, minimalizace množství použitých organických rozpouštědel a z hlediska dosažených výsledků dobrá výtěžnost a vysoká reprodukovatelnost.

Další možností je využití metody mikroextrakce na pevné fázi (SPME). Tato nová technika představuje rychlý a jednoduchý způsob přípravy vzorků bez použití jakéhokoli extrakčního rozpouštědla [7, 8]. SPME metoda byla již úspěšně použita při stanovení různých senzoryckých aktivních látek v nápojích [9, 10, 11, 12].

Práce se zabývá nalezením vhodných SPME podmínek, jako je například účinek vysolovacího efektu síranu amonného, doba extrakce a vliv koncentrace ethanolu na extrakci volných mastných kyselin (C₆–C₁₂) z piva a mladiny. Dále jsou uvedeny dosažené pracovní charakteristiky optimalizované metody. Pozornost je věnována také vlastnímu analytickému stanovení na plynovém chromatografu s plameňonizačním detektorem.

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Použité chemikálie, standardy

Ethanol, síran amonný – Lach-Ner, s. r. o., ČR; helium v kvalitě 5.0, vodík v kvalitě 5.0 a syntetický vzduch – Messer, ČR; ultračistá voda – Milli-RO 5plus firmy Millipore, USA.

Kyselina hexanová (kapronová), heptanová, oktanová (kaprylová), nonanová (pelargonová), dekanová (kaprinová), undekanová a dodekanová (laurová) – Supelco, USA.

2.2 Příprava vzorku a podmínky headspace SPME

Vzorky zakoupeného piva byly před analýzou vychlazeny na 4 °C. Všechny pokusy vedoucí k optimalizaci podmínek stanovení a pro proměření kalibračních křivek byly prováděny na modelovém roztoku 5 % obj. ethanolu ve vodě. Experimenty byly prováděny v headspace uspořádání SPME. Extrakce byla prováděna v headspace prostoru nad 4 ml vzorku obohaceného přísadkou kyseliny heptanové a undekanové, které byly využity jako vnitřní standardy (výsledná koncentrace každé kyseliny byla 1,3 mg/l), ve skleněné vialce o objemu 20 ml uzavřené septem krytým hliníkovou fólií. Před zahájením SPME extrakce byla vialka se vzorkem intenzivně třepána po dobu 10 s.

2.3 Podmínky plynové chromatografie

Vlastní stanovení probíhalo na plynovém chromatografu Carlo Erba 5300 Mega Series. Analyty byly termálně desorbovány z SPME vláknů opatřených fází 65 µm Carbowax-Divinylbenzen ve vyhřátém prostoru injektoru plynového chromatografu. K separaci byla použita 30 m dlouhá křemenná kapilární kolona SPB-1000 firmy Supelco s vnitřním průměrem 0,32 mm a tloušťkou filmu 0,25 µm. Kolona byla temperována na 120 °C po dobu 2 min, poté následoval teplotní gradient 10 °C/min do teploty 150 °C a následně 30 °C/min až do teploty 200 °C. Při této teplotě kolona zůstala po dobu 15 min. SPME vlákno bylo ponecháno v injektoru po dobu 5 min, a tak zároveň došlo k jeho kondicionaci pro další analýzu. Nástřík byl prováděn ve splitless módu, split ventil byl otevřen po dobu 0,5 min. Injektor i plameňonizační detektor byly vyhřáté na teplotu 250 °C. Jako nosný plyn bylo využito helium v kvalitě 5.0, tlak na kolonu byl 100 kPa při 75 °C.

3 OPTIMALIZACE METODY

Posunutí fázové rovnováhy ve prospěch plynné fáze lze docílit přísadkou solí anorganických kyselin. Z tohoto důvodu byl testován vysolovací účinek síranu amonného na extrakci volných mastných kyselin, a to v koncentračním rozsahu 0–4 g soli ve 4 ml vzorku.

Z obr. 1 je patrné, že vysolovací efekt se zde očividně uplatňuje. Pro kyseliny C₁₀–C₁₂ bylo maximální odezvy dosaženo již po přísadce 2 g soli, ale pro kyseliny C₆–C₉ až po přísadce 4 g síranu amonného (data nejsou uvedena). Poměry odezvy jednotlivých kyselin C₆–C₉

time consuming. The modern methods are based on solid phase extraction (SPE) usually used C18 bonded-phase column [5, 6]. These techniques are quite fast, minimizing volumes of organic solvents and lead to good recovery and high reproducibility.

Solid Phase Microextraction (SPME) method can be used instead of these methods. SPME is fast, simple and solventless alternative sampling technique [7, 8] and has been applied to a number of flavoured and taint analyses of beverages [9, 10, 11, 12].

This study presents the evaluation of SPME conditions included effects of addition of salt (ammonium sulphate), time of sampling and influence of ethanol concentration on the analysis of the free fatty acids (C₆–C₁₂) in beer or wort. Validated parameters of optimized method were obtained. The attention is also focused to the analytical determination of these compounds using gas chromatograph equipped with flame ionization detector.

2 EXPERIMENTAL

2.1 Reagents, standards

Ethanol, ammonium sulphate were purchased from Lach-Ner, s. r. o., CR; helium quality 5.0, hydrogen quality 5.0 and synthesis air were purchased from Messer, CR; ultrapure water was obtained from Milli-RO 5plus made by Millipore, USA.

Hexanoic (caproic), heptanoic, octanoic (caprylic), nonanoic (pelargonic), decanoic (capric), undecanoic and dodecanoic (lauric) acids were obtained from Supelco, USA.

2.2 Sample preparation and headspace SPME procedures

Bottled commercial beers were kept cool (4 °C) until they were analysed. 5 % V/V ethanol was used for the evaluation of the method and for the calibration curves. Headspace SPME was applied for all analyses. The SPME fiber was exposed to the headspace above 4 ml of the sample with the addition of heptanoic and undecanoic acids as internal standards (final concentration: 1.3 mg/l of each acid) in a 20 ml glass vial with an aluminium-coated septum. The vial was vigorously shaken for 10 sec. prior to the commencement of headspace SPME.

2.3 GC analysis

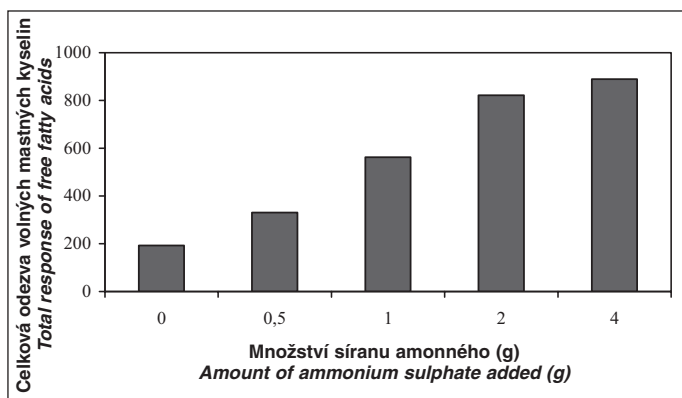
The GC analysis was carried out using a Carlo Erba 5300 Mega Series gas chromatograph. Analytes were thermally desorbed from the SPME fiber coated with 65 µm Carbowax-Divinylbenzene in the hot injector of the GC and were separated on 30 m x 0,32 mm i. d. fused silica capillary column of Supelco SPB-1000 with 0,25 µm film thickness. The GC column was maintained at 120 °C for 2 min, ramped at a rate of 10 °C/min to 150 °C and then ramped at a rate of 30 °C/min to 200 °C and held at this temperature for 15 min. The fiber remained in the injector for 5 min in order to condition it for the next analysis. The split-splitless injector was used, and the split vent was opened after 0.5 min. Temperatures of the injector and the flame ionisation detector were 250 °C. The carrier gas was helium quality 5.0 with a column head pressure of 100 kPa at 75 °C.

3 METHOD OPTIMIZATION

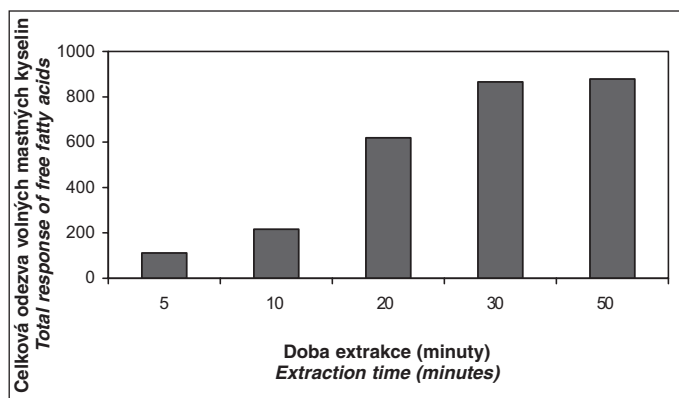
The effect of the addition of salt (ammonium sulphate) on the extraction of the free fatty acids was examined by the addition of varying concentrations of salt (0–4 g) to 4 ml of the sample.

Figure 1 demonstrates that the salting-out effect obviously took place. The salting-out effect reached saturation about 2 g of salt addition for C₁₀–C₁₂ acids and about 4 g of salt addition for C₆–C₉ acids (data not shown). The values of the response ratios of C₆–C₉ acids to C₇ acid (internal standard) and C₁₀–C₁₂ acids to C₁₁ acid (internal standard) were relatively consistent and coefficients of variation were in a range of 4.3–7.8 %. This observation demonstrated that the values of the response ratios were constant regardless of the significant salting-out effect.

The effect of the length of the sampling time on the extraction of the free fatty acids is shown in Figure 2. The responses increased up to 30 min, while the values of the response ratios of each fatty acid to internal standards C₇ or C₁₁ acid remained constant throughout all



Obr. 1 / Figure 1 Vliv přidavku soli (síranu amonného) na celkovou odezvu volných mastných kyselin / Effect of the addition of salt (ammonium sulphate) on the total response of the free fatty acids



Obr. 2 / Figure 2 Vliv délky doby vzorkování na extrakci volných mastných kyselin / Effect of the length of the sampling time on the extraction of the free fatty acids

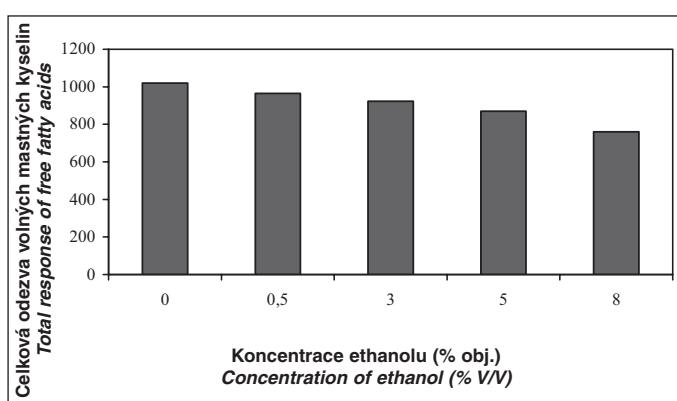
k odezvě kyseliny C₇ (vnitřní standard) a poměry odezvy jednotlivých kyselin C₁₀–C₁₂ k odezvě kyseliny C₁₁ (vnitřní standard) byly relativně stálé. Variční koeficienty ve všech případech ležely v rozsahu 4,3–7,8 %. Z toho vyplývá, že poměry odezvy dané mastné kyseliny a vnitřního standardu jsou konstantní bez ohledu na význam vysolovacího efektu.

Vliv délky doby vzorkování na extrakci mastných kyselin je zřejmý z obr. 2. Odezva detektoru vzrůstala až do doby 30 min, přičemž hodnoty poměrů odezvy každé mastné kyseliny k odezvě vnitřních standardů kyselin C₇ nebo C₁₁ zůstávaly konstantní během všech různých dob extrakce.

Variční koeficienty se nacházely v rozsahu 2,5–6,9 %.

Obr. 3 dokládá vliv různého obsahu ethanolu na extrakci volných mastných kyselin. Se vzrůstající koncentrací ethanolu sice odezva látek klesá, ale poměry odezvy jednotlivých mastných kyselin k odezvě vnitřních standardů kyselin C₇ nebo C₁₁ zůstávaly neměnné a variční koeficienty vykazovaly hodnoty 2,1–7,5 %.

Chromatografický záznam reálného vzorku piva je uveden na obr. 4. Je z něj patrná vyhovující separace všech stanovených mastných kyselin a vnitřních standardů prostá všech interferencí.



Obr. 3 / Figure 3 Vliv různého obsahu ethanolu na extrakci volných mastných kyselin / The influence of varying concentrations of ethanol on the extraction of the free fatty acids

extraction times with coefficients of variation in a range of 2.5–6.9 %.

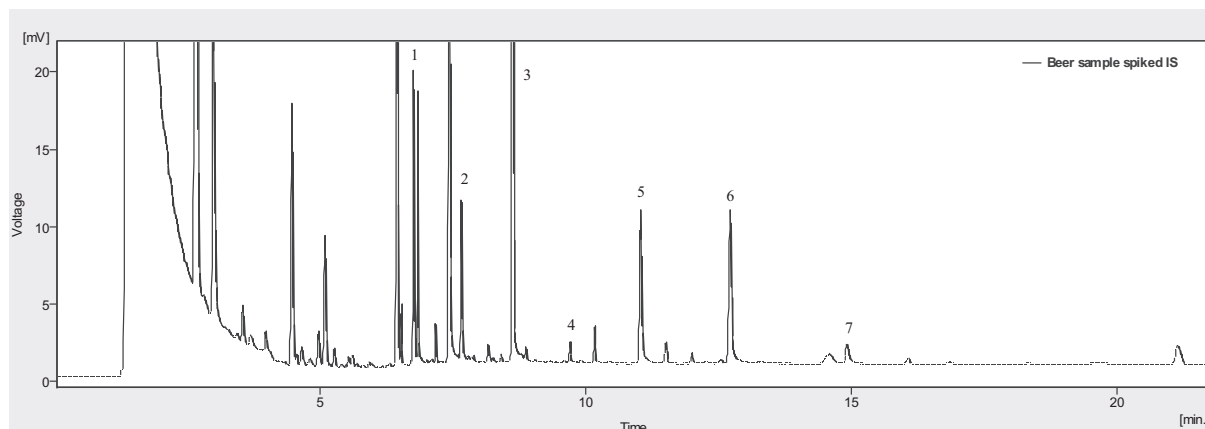
The influence of varying concentrations of ethanol on the extraction of the free fatty acids is shown in Figure 3. With the increasing concentration of ethanol the responses decreased, however the response ratios of each fatty acid to internal standards C₇ or C₁₁ acid were constant with coefficients of variation in a range of 2.1–7.5 %.

Figure 4 shows the chromatogram of beer sample. The peaks of all free fatty acids and internal standards were clearly free from interferences by other GC eluents.

4 METHOD VALIDATION

A calibration curve throughout a range of the free fatty acids concentration from 0.0015 mg/l to 8 mg/l in the 5 % V/V ethanol solution showed a better fit to a quadratic curve than to a linear curve. For all fatty acids the correlation coefficients to straight lines were from 0.9931 to 0.9989, for a quadratic curves fit were from 0.9956 to 0.9993.

Table 1 shows validated parameters. The accuracy of the method



Obr. 4 / Figure 4 Chromatogram piva. 1 – kapronová kyselina, 2 – heptanová kyselina (vnitřní standard), 3 – kaprylová kyselina, 4 – nonanová kyselina, 5 – kaprinová kyselina, 6 – undekanová kyselina (vnitřní standard), 7 – laurová kyselina / Chromatogram of beer. 1 – caproic acid, 2 – heptanoic acid (internal standard), 3 – caprylic acid, 4 – nonanoic acid, 5 – capric acid, 6 – undecanoic acid (internal standard), 7 – lauric acid

4 VALIDACE METODY

Pro všechny stanovované volné mastné kyseliny byla proměřena kalibrační křivka v rozsahu koncentrací 0,0015 mg/l až 8 mg/l v 5 % obj. roztoku ethanolu. Lepší shody bylo dosaženo proložení jednotlivých kalibračních bodů kvadratickou křivkou namísto lineární regrese. Korelační koeficienty všech mastných kyselin při použití lineární regrese ležely v rozmezí 0,9931–0,9989, zatímco při aplikaci kvadratické křivky jejich rozsah byl od 0,9956 do 0,9993.

Validační parametry jsou shrnuty v tab. 1. Správnost metody byla ověřena pomocí výtěžnosti. Nejprve byl změřen přirozený obsah volných mastných kyselin v sedmi reálných vzorcích pív. Poté byly tytéž vzorky pív obohaceny přídatkem mastných kyselin na koncentrační hladině 2 mg/l každé látky. Opakovatelnost metody byla zjištěna opakovanou headspace SPME analýzou jednoho a téhož vzorku piva (sedmkrát během jednoho dne).

Výsledky dokazují, že metoda se vyznačuje dobrou opakovatelností a že koncentrace volných mastných kyselin jsou stanoveny správně.

5 ZÁVĚR

Bylo dokázáno, že i když jsou odezvy volných mastných kyselin ovlivňovány přídatkem solí, dobou vzorkování a obsahem ethanolu, poměry odezev kyseliny kapronové, kaprylové a nonanové k odezvě kyseliny heptanové jako vnitřnímu standardu a kyseliny kaprinové a laurové k odezvě kyseliny undekanové jako vnitřnímu standardu zůstávají konstantní bez ohledu na jakékoli změny ve výše uvedených podmínkách. Pro stanovení volných mastných kyselin v pivu nebo mladině headspace SPME metodou byly na základě provedených experimentů navrženy tyto podmínky: 4 ml vzorku obohaceného přídatkem vnitřních standardů kyseliny heptanové a undekanové (výsledná koncentrace každé látky činila 1,3 mg/l vzorku) a 4 g síranu amonného, protřepat v ruce po dobu 10 s. Poté následuje extrakce za laboratorní teploty po dobu 30 min SPME vláknem pokrytém fází 65 µm Carbowax-Divinylbenzen, umístěném v headspace prostoru vialky.

Tato metoda je časově i finančně nenáročná, nepoužívá žádná rozpuštědla a vyznačuje se vysokou citlivostí a opakovatelností. Uvedenou metodu je možné doporučit pro potřeby běžných kontrolních analýz v pivovarských laboratořích.

Poděkování

Tato práce byla finančně podpořena Českým svazem pivovarů a sladoven.

(Zpracováno podle posteru prezentovaného na 27th International Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda, 31. 5.–4. 6. 2004)
Do redakce došlo 2. 6. 2005

Literatura / Literature

- [1] Taylor, G. T., Kirsop, B. H.: The origin of the medium chain length fatty acids present in beer. *J. Inst. Brew.* **83**, 1977, 241–243.
- [2] Spaepen, M., Van Oevelen, D., Verachtert, H.: Fatty acids and esters produced during the spontaneous fermentation of lambic and gueuze. *J. Inst. Brew.* **84**, 1978, 278–282.
- [3] Soufleros, E., Bertrand, A.: Les acides gras libres du vin observations sur leur origine. *Conn. Vigne Vin.* **22**, 1988, 251–260.
- [4] Shinohara, T.: Gas chromatographic analysis of volatile fatty acids in wines. *Agric. Biol. Chem.* **49**, 1985, 2211–2212.
- [5] Hage, T.: Free fatty acids in beer – the use of a bonded-phase column in the extraction of free fatty acids for gas chromatographic assay. *Proc. Fourth European Conference on Food Chemistry*, Volume 1, Loen, Norway, June 1–4, 1987, 106–110.
- [6] 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.

was investigated by conducting the free fatty acids recovery test. The test was performed by measuring naturally occurring the free fatty acids in 7 beer samples followed by measuring the same beer spiked with a known concentration of each fatty acid (2 mg/l). The repeatability of the method was investigated by repeating the headspace SPME analysis (7 times on the same day) of the same beer sample.

The results indicate that the method has very good repeatability and that the concentrations of the free fatty acids are accurately determined.

5 CONCLUSIONS

It was demonstrated that the responses of the free fatty acids are related in the addition of salt, the sampling time and ethanol concentration, while the response ratios of caproic, caprylic and nonanoic acid to heptanoic acid (internal standard) and capric and lauric acid to undecanoic acid (internal standard) remains constant regardless of the changes in any of the above conditions. The procedure devised for the practical extraction of the free fatty acids from beer or wort by headspace SPME utilizes 4 ml of the sample with the addition of heptanoic and undecanoic acids as internal standards (final concentration: 1.3 mg/l of each compound) and 4 g of ammonium sulphate, shaken manually for 10 s followed by headspace SPME using 65 µm Carbowax-Divinylbenzene coating fiber for 30 min at ambient temperature.

This method is time saving, low cost, does not require solvents and provides high sensitivity and reproducibility. It can be recommended for routine control analyses in brewery laboratories.

Acknowledgement

The financial support of the Czech Beer and Malt Association is gratefully acknowledged.

(Based on poster presentation on 27th International Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda, 31. 5.–4. 6. 2004)

Tab. 1 / Table 1 Výtěžnost a opakovatelnost headspace SPME metody stanovení volných mastných kyselin (CV – variační koeficient) / Recovery and Repeatability of the free fatty acids obtained by the headspace SPME method (CV – variation coefficient)

Sloučenina / Compound	Obohacení / Spike (2 mg/l)		Opakovatelnost / Repeatability
	Výtěžnost / Recovery (%)	CV (%)	CV (%)
Kapronová kyselina / Caproic acid (C ₆)	110	4,8	3,7
Kaprylová kyselina / Caprylic acid (C ₈)	103	4,3	2,3
Nonanová kyselina / Nonanoic acid (C ₉)	105	7,1	8,1
Kaprinová kyselina / Capric acid (C ₁₀)	98	4,5	4,8
Laurová kyselina / Lauric acid (C ₁₂)	95	5,8	5,1

- [7] Arthur, C. L., Pawliszyn, J.: Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibres. *Anal. Chem.* **62**, 1990, 2145–2148.
- [8] Zhang, Z., Pawliszyn, J.: Headspace solid-phase microextraction. *Anal. Chem.* **65**, 1993, 1843–1852.
- [9] 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.
- [10] Yang, X., Peppard, T.: Solid-Phase Microextraction for Flavor Analysis. *J. Agric. Food Chem.* **42**, 1994, 1925–1930.
- [11] Hawthorne, S. B., Miller, D. J., Pawliszyn, J., Arthur, C. L.: Solventless determination of caffeine in beverages using solid-phase microextraction with fused-silica fibers. *J. Chromatogr.* **603**, 1992, 185–191.
- [12] Fisher, C., Fisher, U.: Analysis of Cork Taint in Wine and Cork Material at Olfactory Subthreshold Levels by Solid Phase Microextraction. *J. Agric. Food Chem.* **45**, 1997, 1995–1997.