

SUPERKRITICKÁ EXTRAKCE KAPALIN – NOVÁ PROGRESIVNÍ METODA V PIVOVARSKÉ ANALYTICE

Část I. – Teoretické základy superkritické extrakce kapalin a příklady jejího využití

SUPERCRITICAL FLUID EXTRACTION – NEW PROGRESSIVE METHOD IN BREWING ANALYTICS

Part I. – Theoretical principles of supercritical fluid extraction and examples of its use

JIŘÍ ČULÍK, TOMÁŠ HORÁK, PAVEL ČEJKA, MARIE JURKOVÁ, VLADIMÍR KELLNER, PAVEL KARÁSEK¹, EVA VOSTRÁ¹
Pivovarský ústav Praha, VÚPS, a. s., Lípová 15, 120 44 Praha 2 / Research Institute of Brewing and Malting PLC, Brewing Institute – Prague, Lípová 15, CZ-120 44 Prague 2, e-mail: culik@beerresearch.cz

¹Ústav analytické chemie AV ČR Brno, Veveří 97, 611 42 Brno / Institute of Analytical Chemistry, Academy of Sciences of Czech Republic, Veveří 97, CZ-611 42 Brno

Čulík, J. – Horák, T. – Čejka, P. – Jurková, M. – Kellner, V. – Karásek, P. – Vostrá, E.: Superkritická extrakce kapalin – nová progresivní metoda v pivovarské analytice. Část I. – Teoretické základy superkritické extrakce kapalin a příklady jejího využití. Kvasny Prum. 52, 2006, č. 4, s. 106–110.

Superkritickou fluidní extrakci (SFE) kapalných vzorků lze považovat za novou perspektivní metodu, která dosud nenašla uplatnění v oblasti analýzy piva. V článku jsou vysvětleny základní principy superkritické extrakce kapalin a podán stručný literární přehled o jejích aplikacích v souvisejících oborech. Na tuto úvodní část bude navazovat článek týkající se využití SFE kapalin při stanovení senzory aktivních látek v pivě.

Čulík, J. – Horák, T. – Čejka, P. – Jurková, M. – Kellner, V. – Karásek, P. – Vostrá, E.: Supercritical Fluid Extraction – New progressive method in brewing analytics. Part I. – Theoretical principles of supercritical fluid extraction and examples of its use. Kvasny Prum. 52, 2006, No. 4, p. 106–110.

Supercritical fluid extraction (SFE) of liquid samples can be considered a new prospective method, which has not yet been utilized in the field of beer analysis. In the article, basic principles of supercritical fluid extraction are explained and a brief literary outline of its applications in related branches is given. Another article will follow this introductory part and it will focus on the use of SFE to determine sensory active substances in beer.

Čulík, J. – Horák, T. – Čejka, P. – Jurková, M. – Kellner, V. – Karásek, P. – Vostrá, E.: Die superkritische Extraktion von Flüssigkeiten – eine neue progressive Methode in der Brauanalytik. Teil I – Theoretische Gründe der superkritischen Extraktion von Flüssigkeiten und Beispiele der Anwendung. Kvasny Prum. 52, 2006, Nr. 4, S. 106–110.

Klíčová slova: superkritická extrakce kapalin, SFE, teoretické základy, senzory aktivní látky

1 ÚVOD

Extrakční postupy používané pro izolaci senzory aktivních látek z piva, ale i látek kontaminujících (pesticidy, PCB, PAH), jsou ve většině případů nesmírně pracné a zdoluhavé (destilace s vodní párou, klasické vytřepávání v systému kapalina-kapalina apod.).

Moderní postupy, například mikroextrakci na pevné fázi (solid-phase microextraction, SPME), lze úspěšně použít u kapalných vzorků pouze pro oblast velmi těkavých látek. V případě středně a výšepolárních látek tato metoda neposkytuje uspokojivé výsledky. Postupy založené na extrakci na pevné fázi (solid-phase extraction, SPE) naopak často selhávají z důvodu zanesení lože sorbentu balastními látkami přítomnými v analyzované matici.

Využití superkritické fluidní extrakce (SFE) kapalných vzorků by umožnilo podstatně obohatit možnosti stanovení širokého spektra senzory aktivních látek v pivu a vylepšit extrakční postupy v oblasti analýzy kontaminantů, zejména pesticidů, PCB, PAH atd.

Zatímco superkritická fluidní extrakce pevných vzorků je v současnosti běžně používána (např. pro stanovení pesticidů ve chmelu, PAH v kontaminovaných zeminách), v případě SFE kapalných vzorků se jedná o naprostou novinku v oblasti analytické chemie, vyznačující se šetrností k extrahované matici a umožňující extrakci širokého spektra látek.

Metody, kterými můžeme provést izolaci sledovaných látek v nápojích, lze zhruba rozdělit do následujících skupin:

sigkeiten – eine neue progressive Methode in der Brauanalytik. Teil I – Theoretische Gründe der superkritischen Extraktion von Flüssigkeiten und Beispiele der Anwendung. Kvasny Prum. 52, 2006, Nr. 4, S. 106–110.

Die superkritische Fluidextraktion (SFE) kann als eine neue perspektive Methode betrachtet werden, die bisher in der Brauanalytik zur Geltung noch nicht gekommen ist. In diesem Artikel werden die Grundprinzipie der superkritischen Fluidextraktion erklärt und eine kurzgefaßte Übersicht von Literarquellen über ihre Anwendung in den zusammenhängenden Bereichen angeführt. Der nächste Artikel wird der Anwendung der superkritischen Fluidextraktion zur Bestimmung von sensorisch aktiven Bierstoffen gewidmet.

Чулик, Й. – Горак, Т. – Чейка, П. – Юркова, М. – Келлнер, В. – Карасек, П. – Востра, Е.: Суперкритическое экстрагирование жидкостей – новый прогрессивный метод в пивоваренной аналитике. 1. часть – Теоретическая основа суперкритического экстрагирования жидкостей и примеры его использования. Kvasny Prum. 52, 2006, No. 4, стр. 106–110.

Суперкритическую флуидную экстракцию (SFE) жидких проб можно считать новым перспективным методом, который до сих пор не нашел применение в области анализа пива. В статье объясняются основные принципы суперкритического экстрагирования жидкостей и дается краткий перечень литературы о его применении в связанных областях деятельности. В последующей статье будет рассмотрено использование SFE жидкостей для определения сенсорно активных веществ в пиве.

Keywords: supercritical fluid extraction, SFE, theoretical principles, sensory active substances

1 INTRODUCTION

Most of the time, extraction methods used to isolate sensory active substances from beer, as well as contaminating substances (pesticides, PCB, PAH), are extremely labour-intensive and time consuming (steam distillation, liquid-liquid extraction etc.).

Some modern methods, for example solid-phase microextraction (SPME), can be used successfully for liquid samples, but only for very volatile compounds. This method does not provide satisfactory results in the case of medium or highpolar compounds. On the other hand, methods based on solid-phase extraction (SPE) often fail due clogging of the sorbent matrix by ballast substances present in the analyzed material.

The utilization of supercritical fluid extraction of liquid samples would enrich the possibilities of determining a wide spectrum of sensory active compounds in beer. It would also improve extraction methods when it comes to the analysis of contaminants, especially pesticides, PCB, PAH etc.

While supercritical fluid extraction of solid samples is currently used on regular basis (for instance, to determine pesticides in hops, PAH in contaminated soils), SFE of liquid samples is brand new to analytical chemistry. It is characterized by its sensitive handling of the extracted material and allows the extraction of a wide spectrum of compounds.

The methods used to isolate targeted substances in beverages can be roughly divided into the following categories:

Extrakce plynem – tzv. stripování

Analyt je vystřipován (vytěsněn) proudem inertního plynu z kapalného média a zachycen sorpcí na loži sorbentu. Tento postup je však limitován těkavostí látek a jejich polaritou. Je vhodný spíše pro stanovení těkavých a nepolárních sloučenin. S ohledem na nutnost termální desorpce není tento postup vhodný pro termolabilní sloučeniny.

Extrakce na pevné fázi (SPE) a mikroextrakce na pevné fázi (SPME)

Tyto metody jsou dnes velmi často využívány, neboť nabízejí selektivní extrakci sledovaného analytu z matrice pomocí vhodné volby sorbentu. V případě SPE je analyt extrahován z lože vhodným rozpouštědlem, v případě SPME je prováděna desorpce termálně v proudu inertního plynu. Slabinou jsou zde problémy s kvantifikací, působení zejména omezenou kapacitou sorbentu a kompetitivními reakcemi.

Extrakce v systému kapalina – kapalina

Jde o nejrozšířenější klasický způsob extrakce. Využití je limitováno nutností zvolit nepolární rozpouštědlo. Jedná se o postup časově a finančně náročný a ekologicky nepříliš vhodný (velké objemy rozpouštědel).

Destilační metody

Nevýhodou je požadavek na těkavost látek (nejčastěji s vodní párou), značné tepelné zatížení matrice (může vést ke zkresleným výsledkům) a ve většině případů zejména nutnost následné extrakce a zakonzentrování analytu.

2 PRINCIP METODY

Metoda superkritické extrakce kapalin je založena na nízké vzájemné rozpustnosti vody a nadkritického CO_2 (o hustotě 0,4 až 0,8 g/ml). Využívá skutečnosti, že se v oblasti nadkritického tlaku a teploty chová nadkritický CO_2 jako organické rozpouštědlo. Fáze nadkritického CO_2 a kapalná fáze se v tomto případě odlišují dostatečně polaritou i hustotou. Přestože je CO_2 nepolární sloučenina vhodná zejména k extrakci nepolárních a mírně polárních látek z vodných prostředí, lze přidavkem vhodného modifikátoru, jakým je například ethanol, docílit i zlepšené extrakce látek s vyšší polaritou. Použití CO_2 odstraňuje z procesu extrakce nutnost použít toxická organická rozpouštědla a umožňuje plnou automatizaci procesu.

Z experimentálního hlediska je v případě SFE možný dvojitý přístup.

Prvou možností je „statické“ uspořádání, kdy je vodný roztok umístěn do extrakční cely a nadkritický CO_2 , zavedený ke dnu nádoby, prochází díky nižší hustotě sloupcem vzorku. V tomto případě je limitujícím faktorem objem vzorku a kinetika reakce je velmi často řízena rychlostí difúze analytů ve vodné fázi. Plocha mezifázového rozhraní je obvykle nízká, což vede k dlouhým extrakčním časům.

Druhou možností je využití dynamického způsobu extrakce tak, jak byl použit v této práci. Použité zařízení je zobrazeno na obr. 1. Experimentální řešení extraktoru (obr. 1) vychází z principu kontinuální extrakce v plněné destilační kolonce. Toto řešení neomezuje do určité míry objem vzorku, a tím výrazně zvyšuje citlivost metody. Sestává ze dvou recipročních čerpadel, z nichž jedno dodává nadkritický CO_2 , tj. udržuje konstantní tlak v systému, druhé dává vodný vzorek. Řešení funkce separátoru fází (indikace hladiny vodné fáze) umožňuje plnou automatizaci metody. Na prototypu zařízení vyvinutém v Ústavu analytické chemie AV ČR ve spolupráci se SEKO-K Brno byly ověřeny základní funkce a zejména činnost senzorů v separátoru fází, která je funkční i v případě vyšších koncentrací ethanolu [1-11].

Oba způsoby provádění extrakce, souproudý i protiproudý, se významně odlišují.

V souproudém uspořádání lze předpokládat rovnováhu (ustálený stav) na výstupu z kolony, tj. celá kolona v tomto případě představuje jedno teoretické patro. Existují zde tedy přinejmenším dva důvody, proč je toto uspořádání z experimentálního hlediska zajímavé. Jednak poskytuje možnost změřit hodnotu rozdělovacích koeficientů v daném systému (za předpokladu nekonečného zředění), jednak umožňuje použít poměrně hustě plněnou kolonu bez omezení průtoku vodného vzorku, což je hlavní problém v protiproudém režimu.

Pro celkovou bilanci zde platí, že:

$$F^L (x_1 - x_2) = F^G y_2 \quad (1)$$

Gas stripping

The analyte is purged from the liquid medium by a flow of inert gas and then absorbed on the sorbent matrix. However, this method is limited by the substance volatility and polarity. It is more suitable for determining volatile and non-polar compounds. This method is not suitable for heat-sensitive compounds due to the necessity of thermal desorption.

Solid-phase extraction (SPE) and solid-phase microextraction (SPME)

These methods are used very often today, because they offer selective extraction of the targeted analyte from the sample through the suitable choice of sorbent. In SPE, the analyte is extracted from the sorbent matrix by a suitable solvent. In SPME, desorption is done thermally in a flow of inert gas. The weaknesses are problems with quantifying, which are caused particularly by the limited sorbent capacity and competitive reactions.

Liquid-liquid extraction

It is the most widespread classical extraction method. The need to select a non-polar solvent limits the method's versatility. It is financially demanding, time consuming and not very ecological (large amounts of solvents).

Distillation methods

Disadvantages are the need for substance volatility (most often requiring steam distillation), the sample is exposed to considerable thermal load (can lead to distortion of results), and in most cases, especially the need for subsequent extraction and analyte concentrating.

2 THE PRINCIPLE OF THE METHOD

The supercritical fluid extraction method is based on the low solubility of water in supercritical CO_2 (density of 0,4 to 0,8 g/ml). The method makes use of the fact that supercritical CO_2 acts as an organic solvent under supercritical pressure and temperature. In this case, the supercritical CO_2 phase and liquid phase vary significantly in polarity and density. Although CO_2 is a non-polar compound suitable particularly for the extraction of non-polar and weakly polar substances from aqueous systems, an enhanced extraction of substances with higher polarity can be achieved by adding an appropriate modifier, for example ethanol. The use of CO_2 eliminates the need to use toxic, organic solvents in the extraction process and enables a full automation.

Two different approaches are available to perform SFE in terms of experiments.

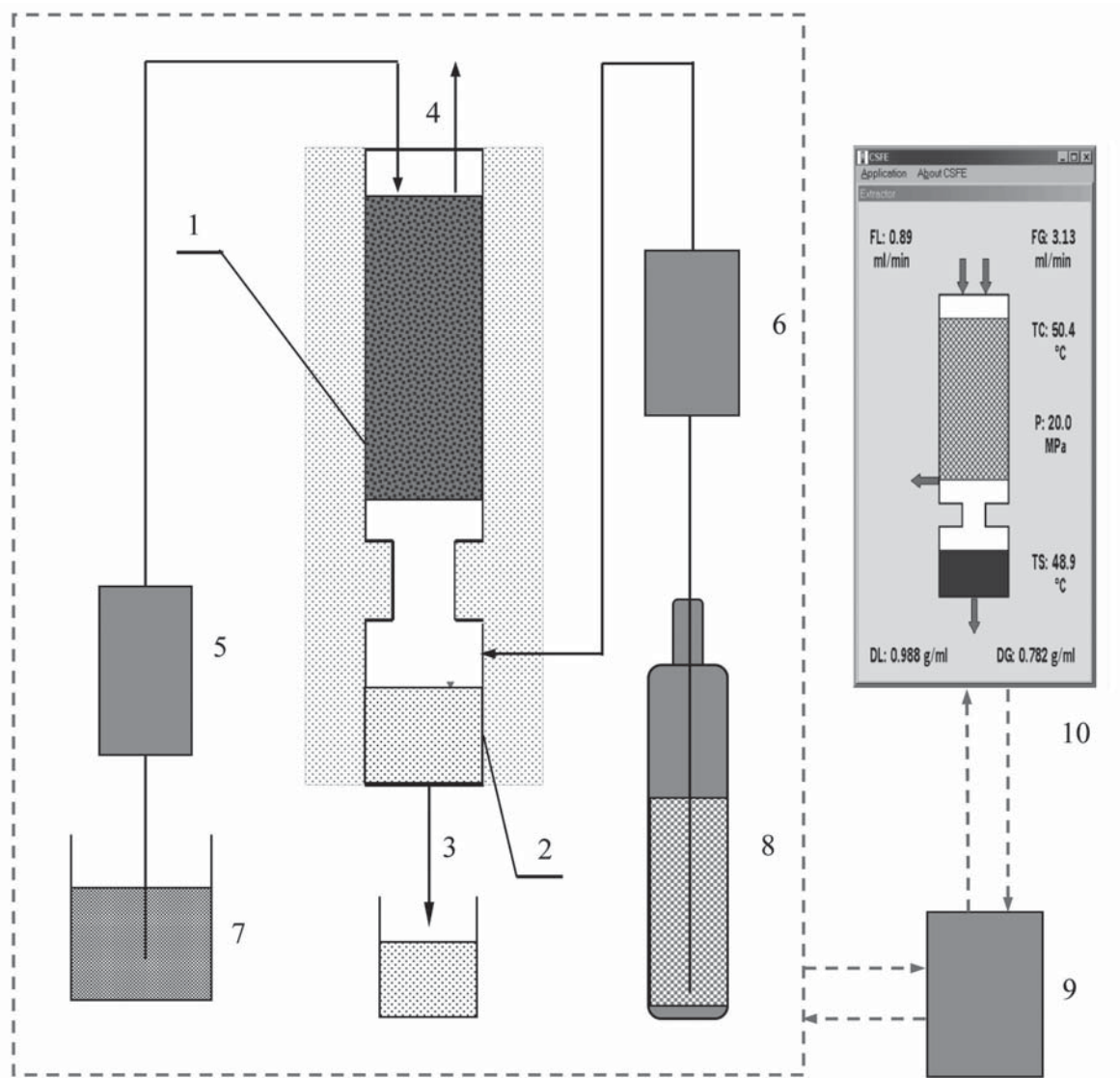
The first choice is „static“ set-up. An aqueous solution is placed into the extraction chamber and due to the lower density the supercritical CO_2 , delivered to the bottom of the chamber, passes through the sample column. In this case, the sample capacity limits the method and the reaction kinetics are very often determined by the speed of analyte diffusion in the aqueous phase. The surface area of the interphase boundary is often low, resulting in lengthy extraction times.

The second option is using the dynamic concept of extraction as it was used in this study. Fig. 1 shows the equipment used. The experimental design of the extractor (Fig. 1) is based on the concept of continuous extraction in a packed distillation column. This design does not limit the sample capacity to a certain extent and therefore significantly increases the method's sensitivity. There are two reciprocal pumps. One supplies the supercritical CO_2 , it maintains constant pressure in the system, and the other doses the aqueous sample. The method's full automation is achieved through the design of the phase separator (indication of aqueous phase level). The basic functions, particularly of the sensors in the phase separator, which work even with higher concentration of ethanol, were tested on a prototype of the machine developed by Ústav analytické chemie AV ČR in co-operation with SEKO-K Brno [1-11].

Both ways of performing extraction, concurrent and countercurrent, are very distinct.

In a concurrent set-up, we can assume a balance (steady state) at the outlet from the column, that is, the entire column represents one theoretical tray in this case. Therefore, there are at least two reasons why this set-up is compelling from an experimental aspect. For one, it offers a chance to measure the value of the separating coefficients in a given system (assuming infinite dissolving). Se-

Obr. 1 / Fig. 1 Schéma extrakčního systému SFE kapalin / Diagram of SFE system



1 – extrakční kolona / extraction column
2 – separátor fází / phase separator
3, 4 – kapilární restriktor / capillary restrictor

5 – čerpadlo vodné fáze / aqueous phase pump
6 – čerpadlo kapalného CO₂ / liquid CO₂ pump
7 – zásobník vodné fáze / aqueous phase supply container

8 – tlaková láhev CO₂ / CO₂ cylinder
9 – řídicí počítač / control computer
10 – PC / Windows

kde F^L a F^G jsou molární průtoky vodné a nadkritické fáze, x , y jsou molární zlomky analytu ve vodné a nadkritické fázi, symboly 1 a 2 označují vstup a výstup z kolony. Za předpokladu rovnováhy a nekonečného ředění lze rozdělovací koeficient vyjádřit poměrem molárních zlomků

$$k = \frac{y_2}{x_2} \quad (2)$$

Platnost rovnice (2) nezávisí na žádných fyzikálních předpokladech, vyplývá z vlastností Taylorova rozvoje spojitě funkce v okolí $x_2 \rightarrow 0$. Kombinací rovnic (1) a (2) získáme:

$$\frac{x_2}{x_1 - x_2} = \frac{1}{k} \cdot \frac{F^L}{F^G} \quad (3)$$

Pomocí tohoto vztahu můžeme tedy stanovit rozdělovací koeficienty analytů a objemů vodné a nadkritické fáze prošlých kolonou v případě stopových koncentrací. Není zde nutné stanovit koncentraci látky v nadkritické fázi. Hodnoty takto vypočtených rozdělovacích koeficientů lze využít pro vyhodnocení dat z uspořádání protiproudého.

Na rozdíl od uspořádání souproutého, kdy se nacházely obě fáze na výstupu z extraktoru poblíž rovnovážného stavu, v případě uspořádání protiproudého pracujeme v různých místech kolony ve stavu nerovnovážném. Opět zde platí rovnice (1), avšak je nutné si uvě-

domněly, že je to velmi hustě naplněná kolona bez limitu na proud vodné vzorku, což je hlavní problém s protiproudým uspořádáním.

V tomto případě platí rovnice pro celkovou bilanci:

$$F^L (x_1 - x_2) = F^G y_2 \quad (1)$$

where F^L and F^G are the molar flow rates of the aqueous and supercritical phase, x , y are molar fractions of the analyte in aqueous and supercritical phase, symbols 1 and 2 represent the inlet and outlet from the column. Assuming a balance and infinite dissolving, the separating coefficient can be expressed by the ratio of the molar fractions.

$$k = \frac{y_2}{x_2} \quad (2)$$

The validity of the equation (2) does not depend on any physical hypotheses, it is derived from the characteristics of Taylor's development of joint function in the vicinity of $x_2 \rightarrow 0$. When combining equations (1) and (2) we get:

$$\frac{x_2}{x_1 - x_2} = \frac{1}{k} \cdot \frac{F^L}{F^G} \quad (3)$$

Therefore, with the help of this equation, we can determine the separating coefficients of analytes and volumes of the aqueous and

domit, že v tomto případě závisí koncentrace stanovené látky ve vstupní části kolony na vstupní koncentraci roztoku a obdobně je tomu i na výstupu.

Pro koncentraci látky v nadkritické fázi platí vztah (4):

$$y = \frac{y_2}{x_2 - x_1} (x - x_1) = - \frac{F^L}{F^G} (x - x_1) \quad (4)$$

Záporné znaménko zde vyjadřuje protiproudé uspořádání. Křivka procházející počátkem reprezentuje rovnovážnou křivku a její směrnice odpovídá rozdělovacímu koeficientu k . Druhá křivka protínající osu x odpovídá skutečné pracovní křivce.

V praxi, kdy jsme nuceni pracovat s reálnými vzorky obsahujícími vyšší koncentrace stanovených látek, je mnohdy potřebné dosáhnout většího množství teoretických pater, zkrátit čas apod., což lze zpravidla docílit protiproudým uspořádáním. Účinnost kolony je silně

závislá na několika parametrech, a to zejména na jejich rozměrech, tvaru a povrchu náplně, poměru a velikosti průtoků obou fází, velikosti difuzních koeficientů stanovené látky v obou fázích a dále na tlaku a teplotě, za kterých extrakce probíhá.

Hodnoty rozdělovacího koeficientu k lze zhruba odhadnout tak, že nahradíme molární zlomky rozpustností analytu v jednotlivých fázích [12]. Rozpustnost jednotlivých látek v nadkritickém CO_2 uvádějí např. Bartle et al. [13].

Určitou slabinou metody je rozpustnost vody v nadkritickém CO_2 , což může působit komplikace způsobené přítomností vlhkosti v organické fázi nebo v navazujícím analytickém systému [14].

3 VYUŽITÍ SFE V PRAXI

Superkritická fluidní extrakce nachází v současnosti uplatnění ve stále více oblastech.

Tak lze například nadkritický CO_2 použít pro stanovení těkavých organických látek, např. benzenu, ve vodě [15].

Koski et al. [16] využil on-line spojení SFE-superkritický fluidní chromatograf pro stanovení prostaglandinů ve vodném roztoku. Hawthorne et al. [17] extrahoval pomocí SFE fenolické sloučeniny z odpadních vod, a to následně po jejich methylovaní trimethylfenylammonium hydroxidem v uzavřené cele plněné pískem při teplotě 80°C a tlaku 40 MPa. Hedrick a Taylor studovali možnosti extrakce tenzidů a některých polárních látek (fenolu, pseudoefedrinu apod.) z vody, přičemž zjistili negativní vliv na výtěžnost extrahovaných látek, způsobený rozpouštěním CO_2 , a tím významným poklesem pH extrahovaného roztoku (až na $\text{pH} = 3,5$) [18, 19]. Obdobnému tématu se věnovali i Karásek et al. [20].

Croft et al. [21] extrahoval po methylovaní pomocí SFE chlorfenoxycetové kyseliny z vodných roztoků. Obdobně využil SFE k extrakci organochlorových derivátů Barnabas et al. [22].

SFE ve spojení s HPLC detekcí nachází své uplatnění i v analýze pesticidů [23, 24]. Pomocí této metody byl stanoven i obsah anabolik ve vodě a krevním séru [25, 26].

K zajímavým aplikacím SFE patří i stanovení tenzidů ve vodě [27], kovů [28, 29] a alkylfenolů [30].

Pomocí SFE lze však izolovat z vody a z vodných roztoků i málo těkavé látky, například polyaromatické uhlovodíky [31-33] a polychlorované bifenylly [31, 34, 35].

SFE nadkritickým CO_2 přinesla první výsledky i v oblasti analýzy senzoricky aktivních látek v oblasti vín a vinných destilátů [4, 10, 36-41].

supercritical phase, for the case of trace amounts, which passed through the column. We can use the values of the separating coefficients calculated this way to evaluate the data from the counter-current set-up.

Unlike with the concurrent set-up, where both phases were close to a steady state when leaving the extractor, with the countercurrent set-up some areas of the column are not in a steady state. Equation (1) applies again, however, it is important to note that, in this case, the concentration of the determined compound at the inlet of the column depends on the compound's initial concentration, and likewise at the outlet.

For the concentration of a compound in an supercritical phase, equation (4) applies:

$$y = \frac{y_2}{x_2 - x_1} (x - x_1) = - \frac{F^L}{F^G} (x - x_1) \quad (4)$$

The negative sign represents countercurrent set-up. The curve intercepting the zero mark represents the balanced curve and its slope coheres with the separating coefficient k . The second curve intercepting the x axis represents the real work curve.

In real life, we usually deal with samples containing higher concentrations of the determined compounds. As a result, it is often necessary to achieve a higher number of theoretical trays, shorten the time etc., which we can usually achieve with the countercurrent set-up. The column's efficiency depends strongly on several parameters, particularly on its dimensions, the shape and surface of the column filler, the ratio and the flow rates of both phases, the value of diffusion coefficients of the determined compound in both phases and further on the pressure and temperature under which the extraction is performed.

The values of the separating coefficient k can be roughly estimated by substituting the molar fractions of analyte solubility in the individual phases [12]. The solubility of various compounds in supercritical CO_2 is mentioned by, for example Bartle et al. [13].

A certain weakness of the method is the solubility of water in supercritical CO_2 , which can create problems caused by the presence of humidity in the organic phase or in the consequent analytical system [14].

3 PRACTICAL USE OF SFE

Supercritical fluid extraction is currently establishing itself in more and more fields of application.

Thus, supercritical CO_2 can be used to determine volatile organic compounds, for ex. benzene, in water [15].

Koski et al. [16] used an on-line connection SFE-supercritical fluid chromatograph to determine prostaglandins in an aqueous solution. Hawthorne et al. [17] extracted phenolic compounds from a waste water sample with the help of SFE. He did so after their methylation with trimethylphenylammonium hydroxide in an enclosed chamber filled with sand at 80°C and a pressure of 40 MPa. As Hedrick and Taylor studied the possibilities of extracting tensides and some polar compounds (phenol, pseudoephedrine etc.) from water, they found a negative impact on the yield of the extracted compounds, caused by the dissolved CO_2 , and thus by the significant decrease of pH of the extracted solution (down to $\text{pH} = 3,5$) [18, 19]. Karasek et al. [20] addressed a similar issue.

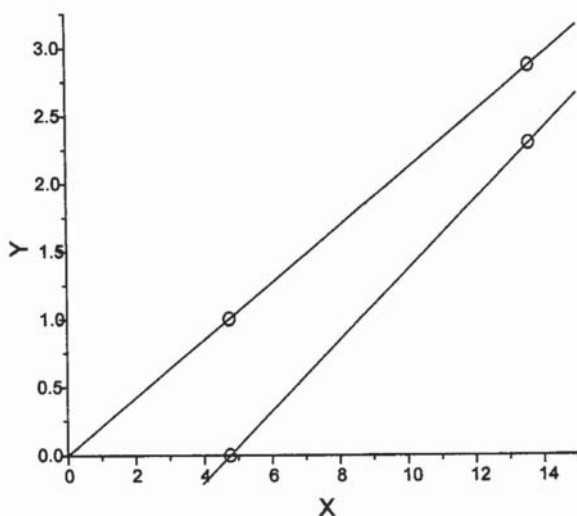
Croft et al. [21] was extracting chlorophenoxyacetic acids out of aqueous solutions after the methylation with the help of SFE. Barnabas et al. [22] used SFE similarly to extract organochlorine derivatives.

SFE combined with HPLC detection is also establishing itself in the analysis of pesticides [23, 24]. Furthermore, the anabolic content in water and blood plasma was determined with the help of this method [25, 26].

Some interesting applications of SFE also include determining tenside content in water [27], metals [28, 29] and alkylphenols [30].

SFE can isolate weakly volatile substances from water and aqueous solutions too, for example PAH [31-33] and PCB [31, 34, 35].

With the supercritical CO_2 , SFE brought first results in the field of analysis of sensory active substances in wines and wine distillates as well [4, 10, 36-41].



V potravinářství lze dále využít SFE například ke stanovení kvality nealkoholických a alkoholických nápojů. Shimoda et al. [42] studoval a vzájemně porovnal výsledky různých způsobů extrakce senzory aktivních látek z ovocných šťáv.

Použití CO₂, který je levný a dostupný v relativně vysoké čistotě, snižuje významně finanční náklady na extrakci a odstraňuje z procesu doposud používaná organická rozpouštědla, která negativně ovlivňují prostředí laboratorů a obecně zatěžují životní prostředí.

V oblasti pivovarské analytiky nebyly zatím publikovány práce týkající se této problematiky, avšak z výše uvedeného vyplývá, že by zde mohla SFE nalézt své uplatnění.

4 ZÁVĚR

Je zřejmé, že se v případě superkritické fluidní extrakce kapalin jedná o novou, progresivní metodu, která by mohla vzhledem k šetrným extrakčním podmínkám a schopnosti extrahovat široké spektrum analytů, najít uplatnění i v pivovarské analytice.

Z tohoto důvodu byla navázána úzká spolupráce mezi naší laboratorii (AZL) a ÚACH AV ČR v Brně. Naše pozornost je nyní zaměřena zejména na oblast analýzy senzory aktivních látek a kontaminantů v pivu.

V následujícím článku, navazujícím na tento úvodní článek, budou prezentovány první výsledky získané při optimalizaci extrakčních podmínek a následné analýze nižších alkoholů, esterů a mastných kyselin izolovaných z piva.

Poděkování: Tato práce vznikla díky finanční podpoře poskytnuté řešitelům Českým svazem pivovarů a sladoven v rámci projektu České pivo.

Literatura / Literature

1. Vejrosta, J., Wičar, S., Mikešová, M., Bartle, K. D.: 3rd European Symposium on Analytical SFC and SFE, Uppsala, Sweden, 6.–8. 9., 1995, 21.
2. Vejrosta, J., Wičar, S., Janda, V.: 7th International Symposium on Supercritical Fluid Chromatography and Extraction, Indianapolis, Indiana, USA, D 07, 31. 3.–4. 4., 1996.
3. Vejrosta, J., Wičar, S., Karásek, P.: Chromatografia i inne techniki separacyjnej w eko-analýze IV Ogólnopolskie Seminarium Chromatograficzne, 16.–19. 9., 1997, Toruń (PL), L-33, 388–398.
4. Vejrosta, J., Karásek, P.: Sborník vědecké konference II. Kontrola autentičnosti a kvality vín, pálenek a dalších nápojů, Lednice na Moravě, 26.–27. 6., 1997, 19–20.
5. Vejrosta, J., Karásek, P.: 5. Celostátní konference o analýze vody, Pardubice 23.–24. 9., 1998, 21–24.
6. Vejrosta, J., Karásek, P.: 3rd Symposium „Extraction for Sample Preparation-SFE(X)SE-SPME“, Siegen, 24.–25. 9., 1998, 17–18.
7. Vejrosta, J., Karásek, P.: Pittcon '99, Orlando, FL (USA), 7.–12. 3., 1999, lecture 827.
8. Pól, J., Karásek, P., Vejrosta, J.: VI. Ogólnopolska Konferencja Chromatograficzna, 14.–17. 9., 1999, Toruń (PL), P – 14, 222.
9. Vejrosta, J., Karásek, P., Pól, J.: Eduard Hála Symposium on Thermodynamics, Ústav chemických procesů AV ČR, Praha, 7.–9. 10., 1999.
10. Vejrosta, J.: Euroconference „Modern Analytical Methods for Food and Beverage Authentication“, Lednice (Czech Republic), 31. 8.–2. 9., 2000, 23.
11. Vejrosta, J., Karásek, P., Planeta, J., Goliáš, J.: Extech 2001 „Advances in extraction technologies“, Barcelona (Spain), 17.–19. 9., 2001 (lecture).
12. Janda, V., Mikešová, M., Vejrosta, J.: Direct supercritical fluid extraction of water-based matrices. J. Chrom. A **733**, 1996, 35.
13. Bartle, K. D., Clifford, A. A., Jafar, S. A., Shilstone, G. F.: J. Food Sci. **20**, 1991, 713.
14. Kuk, M. S., Montagna, C. J., Paulitis, M. E., Penninger, J. M., Gray, R. D., Davidson, K. P.: Chemical Engineering at Supercritical Fluid Conditions, Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, MI, 1983, 101.
15. Gupta, S., Ghonasgi, D., Dooley, K. M., Knopf, F. C.: J. Supercrit. Fluids **4**, 1991, 181.
16. Koski, I. J., Jansson, B. A., Markides, K. E., Lee, M. L.: J. Pharmacol. Biomed. Anal. **9**, 1991, 281.
17. Hawthorne, S. B., Miller, D. J., Nivens, D. E., White, D. C.: Anal. Chem. **64**, 1992, 405.
18. Hedrick, J. L., Taylor, L. T.: J. Anal. Chem. **61**, 1989, 1986.
19. Hedrick, J. L., Taylor, L. T.: J. High. Resol. Chromatogr. **13**, 1990, 312.

SFE can be used in beverage manufacturing to determine the quality of non-alcoholic and alcoholic beverages. Shimoda et al. [42] studied and compared the results of various extraction methods of sensory active substances from fruit juices.

The use of CO₂, which is inexpensive and accessible in a relatively high purity, significantly lowers financial expenses of the extraction and eliminates the use of organic solvents, which were used up until now and negatively impact the laboratory and damage the environment in general.

No studies regarding this issue have been published in the field of brewing analytics, however, the aforementioned suggests that SFE could establish itself there as well.

4 CONCLUSION

It is clear that supercritical fluid extraction is a new progressive method that could be utilized in brewing analytics due to its gentle extraction conditions and ability to extract a wide spectrum of analytes.

For this reason, close co-operation was established between our laboratory (AZL) and UACH AV CR in Brno. Now we will focus specifically on the area of analysis of sensory active substances and contaminants in beer.

In the following article, which will extend this introductory article, we will present the first results obtained from optimizing the extraction conditions followed by an analysis of lower alcohols, esters and fatty acids isolated from beer.

Acknowledgements: This study was carried through thanks to the financial support provided by Cesky svaz pivovaru a sladoven as a part of the project Ceske pivo.

20. Karásek, P., Pól, J., Planeta, J., Roth, M., Vejrosta, J., Wicar, S.: Anal. Chem. **74**, 2002 (16), 4294.
21. Croft, M. Y., Murby, E. J., Wells, R. J.: Anal. Chem. **66**, 1994, 4459.
22. Barnabas, I. J., Dean, J. R., Hitchen, S. M., Owen, S. P.: J. Chromatogr. **665**, 1994, 307.
23. Pól, J., Wenceslawiak, B. W.: Anal. Chem. **75**, 2003 (6), 1430.
24. Betz, L. R., Anderson, G. A., McNally, M. E.: J. Envir. Sci. Health Part B, **34**, 1999 (2), 171.
25. Simmons, B. R., Stewart, J. T.: J. Chromatogr. B, **688**, 1997 (2), 291.
26. Ashraf-Khorassani, M., Taylor, L. T.: J. Chromatogr. Sci. **38**, 2000 (11), 477.
27. Kane, M., Dean, J. R., Hitchen, S. M., Dowle, C. J., Tranter, R. L.: Analyst **120**, 1995 (2), 355.
28. Erkey, C.: J. Supercrit. Fluids **17**, 2000 (3), 259.
29. Wang, J., Marshall, W. D.: Anal. Chem. **66**, 1994 (10), 658.
30. Eskilsson, C. S., Agren, A., Mathiasson, L., Bjorklund, E.: J. Liq. Chromatogr. and related Technologies **27**, 2004 (18), 2871.
31. Vejrosta, J., Karásek, P., Planeta, J.: Anal. Chem. **71**, 1999 (4), 905.
32. Loiková, L., Sedláková, J., Kuban, V.: J. Separ. Sci. **28**, 2005 (11), 1188.
33. Glazkov, I. N., Revelsky, I. A., Efimov, I. P., Zolotov, Y. A.: Chromatografia, **52**, 2000 (7-8), 495.
34. Tang, P. H., Ho, J. S., Eichelberger, J. W.: J. AOAC Int. **76**, 1993 (1), 72.
35. Zorita, S., Mathiasson, L.: Int. J. Envir. Anal. Chem. **85**, 2005 (8), 531.
36. Karásek, P., Vejrosta, J., Janda, V.: 8th International Symposium on Supercritical Fluid Chromatography and Extraction, 12.–16. 7., 1998, St. Louis, Missouri (USA), D-12.
37. Vejrosta, J., Karásek, P., Zdráhal, Z.: V. Ogólnopolskie Sympozjum Chromatograficzne, 8.–10. 9., 1998, Toruń (PL), L 24, 319–327.
38. Karásek, P., Vejrosta, J.: V. Ogólnopolskie Sympozjum Chromatograficzne 8.–10. 9., 1998, Toruń (PL), P 10, 66.
39. Lojková, L., Karásek, P., Planeta, J., Vejrosta, J., Goliáš, J.: Euroconference „Modern Analytical Methods for Food and Beverage Authentication“, Lednice (Czech Republic) 31. 8.–2. 9., 2000, 78.
40. Karásek, P., Planeta, J., Ostrá, E., Mikešová, M., Goliáš, J., Roth, M., Vejrosta, J.: J. Chromatogr. A **1002**, 2003 (1-2), 13.
41. Senorans, F. J., Ruiz-Rodriguez, A., Ibanez, E., Tabera, J., Reglero, G.: J. Supercrit. Fluids **26**, 2003 (2), 129.
42. Shimoda, M., Ishikawa, H., Kawano, T., Osajima, Y.: J. Food Sci. **59**, 1994, 231.

*Zpracováno na základě přednášky na 32. Pivovarsko-sladařském semináři v Plzni, 13.–14. 10. 2004.
Do redakce došlo 9. 2. 2006, Překlad Ing. Marek Mikunda*