

Základní detektory v plynové chromatografii používané v pivovarské analytice

Main Gas Chromatographic Detectors Used 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, 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. – Dvořák, J. – Hašková, D.: Základní detektory v plynové chromatografii používané v pivovarské analytice. Kvasny Prum. 57, 2011, č. 6, s. 138–142.

Plynová chromatografie je významnou analytickou technikou používanou při stanovování sensoricky aktivních látek, jejichž obsah je důležitý nejen pro sledování kvality již finálního výrobku, ale též při testování nových technologických postupů. V pivovarsko-sladařské analytice patří mezi nejpoužívanější detektory v plynové chromatografii plamenioionizační detektor (FID), detektor elektronového záchytu (ECD) a plamenofotometrický detektor (FPD). Práce se zabývá principy jednotlivých detektorů, jejich přednostmi a omezeními při jejich použití v pivovarské analytice.

Horák, T. – Čulík, J. – Jurková, M. – Čejka, P. – Kellner, V. – Dvořák, J. – Hašková, D.: Main gas chromatographic detectors used in brewing analytics. Kvasny Prum. 57, 2011, No. 6, p. 138–142.

Gas chromatography is a very important analytical technique used for the determination of flavors which content is significant not only for monitoring of quality of final product but also in testing of new technological procedures. In brewing analytics the most frequently used gas chromatographic detectors are flame ionization detector (FID), electron capture detector (ECD), and flame photometric detector (FPD). This work is focused on principles of these detectors, their advantages and limitations during using in brewing analytics.

Horák, T. – Čulík, J. – Jurková, M. – Čejka, P. – Kellner, V. – Dvořák, J. – Hašková, D.: Die in der Brauerei-Analytik angewandte Grunddetektoren in der Gaschromatographie. Kvasny Prum. 57, 2011, Nr. 6, S. 138–142.

Für die Bestimmung von sensorisch aktiven Stoffen, wichtig für Qualitätsverfolgung des fertigen Bieres und für die Erprobung der neuen Technologieverfahren, stellt die Gaschromatographie eine wichtige bedeutende analytische Technik dar. In der Gaschromatographie zu den häufigsten angewandten Detektoren in der Brauerei-Mälzereianalytik gehören Flammenionisationsdetektor (FID), Elektronenauffangdetektor (ECD) und Flammenphotometrischerdetektor (FPD) zu. Der Artikel befasst sich mit den Prinzipien von einzelnen Detektoren, ihren Vor- und Nachteilen und den Beschränkungen beim Ansatz in der Brauereianalytik.

Klíčová slova: plynová chromatografie, plamenioionizační detektor (FID), detektor elektronového záchytu (ECD), plamenofotometrický detektor (FPD), pivovarská analytika

Keywords: gas chromatography, flame ionization detector (FID), electron capture detector (ECD), flame photometric detector (FPD), brewing analytics

1 ÚVOD

Plynové chromatografické postupy pro stanovení sensoricky aktivních látek v pivu jsou součástí všech oficiálních metodik pivovarských organizací jako je European Brewery Convention (EBC), Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission (MEBAK), The Institute of Brewing (IOB) nebo The American Society of Brewing Chemists (ASBC). Touto separační technikou lze v meziproduktech a hotovém pivu stanovit jak sensoricky významné látky, tak některé cizorodé látky. Přehled těchto látek včetně použitého typu detektoru uvádí *tab. 1*.

Plamenioionizační detektor (FID) se stal bezesporu základním, nejrozšířenějším detektorem v plynové chromatografii. Detektor elektronového záchytu (ECD) a plamenofotometrický detektor (FPD) se oproti FID vyznačují větší selektivitou a citlivostí pro vybrané skupiny látek, a proto našly široké uplatnění.

Detektor, který má selektivní odezvu pouze na stanovované látky a nedetekuje ostatní sloučeniny, umožňuje dvojitým způsobem zefektivnit analýzu. Jednak není třeba věnovat se tak pečlivému čištění vzorku za účelem odstranění interferujících látek během jeho přípravy pro vlastní plynové chromatografické stanovení. Dále je možné použít rychlejší chromatografii, protože vzhledem k selektivitě není nutné dosáhnout perfektní separace všech látek obsažených v analyzované směsi.

Z těchto důvodů se selektivní detektory staly velmi oblíbenými. Přes jejich nesporné výhody však jejich použití může narážet na některé problémy, způsobené buď nesprávným pochopením pracovního módu detektoru, nebo neúplným využitím jeho možností.

V článku jsou popsány principy výše uvedených detektorů a praktické aspekty jejich použití v pivovarské analytice.

2 PLAMENIOIONIZAČNÍ DETEKTOR (FID)

Plamenioionizační detektor se vyznačuje velmi širokým dynamickým rozsahem a vysokou citlivostí a s výjimkou několika nízkomole-

1 INTRODUCTION

Official methods of brewery institutions as European Brewery Convention (EBC), Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission (MEBAK), The Institute of Brewing (IOB) or The American Society of Brewing Chemists (ASBC) include gas chromatographic procedures used for the determination of beer flavors. Beer flavors or some contaminants can be determined by this separation procedure as in intermediate products as in final beer. The review of these compounds including used detector is shown in *Tab. 1*.

Flame ionization detector (FID) is the most useful gas chromatographic (GC) detector available and by far that most commonly used in GC analyses. In comparison with FID electron capture detector (ECD) and flame photometric detector (FPD) are characterized by higher sensitivity and higher selectivity for selected analytes and so these detectors are also often used.

A detector that can selectively respond to compounds of real interest in a mixture and ignore those compounds of little interest is potentially able to improve efficiency by two ways. Firstly the amount of sample clean-up required to remove unwanted and interfering compounds from the sample, may be reduced thereby simplifying pre-analysis sample handling. Secondly, analysis time on the chromatograph may be shortened since it may no longer be necessary to achieve complete separation of all components in the mixture.

It is for these two reasons that the selective detectors are the most frequently used ones. However, while selective detectors can provide undoubted benefits, their use can cause other problems, particularly when their mode of operation is not fully understood or their capabilities not fully utilized.

In this paper the principles of above mentioned detectors are described together with their utilization in brewing analytics.

2 THE FLAME IONIZATION DETECTOR (FID)

The flame ionization detector FID has a very wide dynamic range,

Tab. 1 Přehled látek stanovených plynovou chromatografií v pivovarské analytice podle typu detektoru. / List of compounds determined by gas chromatography in brewing analytics according to detector type

Látka / Compound	Detektor / Detector	Odkaz / Reference
Alkoholy / Alcohols	FID	1–4
Estery / Esters	FID	1–4
Acetaldehyd / Acetaldehyde	FID	1–4
Dimethylsulfid / Dimethylsulphide	FID	1–4
Vyšší aromatické alkoholy / Higher aromatic alcohols	FID	5
Mastné kyseliny / Fatty acids	FID	6
Vicinální diketony / Vicinal diketones	ECD	7–12
Acetoin / Acetoin	ECD	13
Chlorované alifatické uhlovodíky / Chlorinated aliphatic hydrocarbons	ECD	14, 15
Chlorfenoly / Chlorophenols	ECD	16
Halogenoctové kyseliny / Haloacetic acids	ECD	17
Polychlorované bifenyly / Polychlorinated biphenyls	ECD	18
Estery kyseliny ftalové / Phthalic acids esters	ECD	18
Dimethylsulfid / Dimethylsulphide	FPD	19–24

kulárních látek detekuje všechny látky s uhlíkem. Poprvé FID popsali současně Halley a Pretorius [25] a McWilliams a Dewar [26]. Vodík se směšuje s eluentem z GC kolony a hoří v malé trysce. Cylindrická elektroda obklopuje plamínek a mezi trysku a elektrodu je vloženo relativně vysoké napětí, které sbírá ionty formující se v plameni. Výsledný proud je zesílen vysokoimpedančním zesilovačem a na výstupu veden do data akvizičního systému. Detektor vyžaduje zpravidla tři nezávislé plyny společně s jejich přesnou regulací. Obvykle se používají vodík pro hoření, helium nebo dusík jako nosný plyn protékající kolonou a dále pak kyslík nebo vzduch pro podporu hoření. Detektor je vybaven nezávislým vyhříváním. Odezva FID je na teplotě závislá jen minimálně, hlavním důvodem dostatečného vyhřívání detektoru je zabránit kondenzaci v detektorovém prostoru.

2.1 Princip FID

V roce 1960 pečlivě popsali princip ionizace Ongkiehong [27] a Desty [28]. Od té doby tak detailní popis tohoto detektoru nikdo neuvěřil. Původně se předpokládalo, že ionizační mechanismus v plamínku FID je podobný ionizačnímu procesu v uhlovodíkovém plameni, který intenzivně studoval Calcote a King [29], a dále pak Schuler a Weber [30] v polovině 50. let minulého století. V současnosti je přijímáno vysvětlení, že ionty nevznikají *termální ionizací*, ale *termální emisí* z mikroskopických uhlíkových částic, které vznikají během procesu spalování. Proto dominantním faktorem při ionizaci organických látek není jejich ionizační potenciál, ale závislost na uhlíku, který přechodně vzniká během hoření.

Plasma v plamínku obsahuje jak kladné ionty, tak elektrony, které jsou sbírány buď na trysce, nebo elektrodě v závislosti na polaritě vloženého napětí. Zpočátku se proud zvyšuje s vloženým napětím, jeho velikost závisí na umístění elektrody. Proud se zvětšuje s vkládaným napětím, až dosáhne platu, při kterém zůstává prakticky konstantní. Napětí, při kterém je tohoto platu dosaženo, je také závislé na vzdálenosti elektrod. Po vzniku elektronů nebo iontových párů se začíná uplatňovat rekombinace. Čím je větší vzdálenost mezi elektrodami a/nebo nižší napětí, tím větší je rekombinace. Tuto skutečnost dokládají křivky naměřené Ongkiehongem, ze kterých vyplývá, že platu je dosaženo při nižším napětí, pokud jsou elektrody blíže k sobě. Za všech podmínek nastavení elektrod dosahuje platu stejné hodnoty. Předpokládá se, že v platu jsou všechny ionty a elektrony vzniklé v plamínku sebrány na elektrodách. V praxi by vložené napětí mělo být nastaveno tak, aby vzhledem ke vzdálenosti elektrod bylo zajištěno, že všechny elektrony a ionty budou sebrány.

2.2 Fungování FID

Detektor FID je pravděpodobně nejjednodušším, nejsnazším a nejspolehlivějším z používaných detektorů. Vhodné průtoky pro jednotlivé plyny jsou výrobce popsány v návodu. Průtok vodíku je obvykle nastaven v rozmezí 20 až 30 ml/min, průtok vzduchu je asi 6krát větší než vodíku, tedy 120 až 200 ml/min. Průtok nosného plynu kapilární kolonou může být menší než 1 ml/min. Jako nosný plyn se obvykle používá helium, dusík, argon atd. Výhodou detektoru je jeho samočištění, takže málokdy dojde k jeho kontaminaci, i když tato skutečnost také závisí od analyzovaných látek. V případě pivovarsko-sladařských analýz však ke kontaminaci detektoru FID dochází minimálně.

a high sensitivity and (with the exception of a few low molecular weight compounds) will detect all substances that contain carbon. The first FID was described about the same time by Harley and Pretorius [25], and McWilliams and Dewar [26]. Hydrogen is mixed with the column eluent and burned at a small jet. Surrounding the flame is a cylindrical electrode and a relatively high voltage is applied between the jet and the electrode to collect the ions that are formed in the flame. The resulting current is amplified by a high impedance amplifier and the output fed to a data acquisition system or a potentiometric recorder. The detector usually requires three separate gas supplies together with their precision flow regulators. The gases normally used are hydrogen for combustion, helium or nitrogen as the carrier gas and oxygen or air as the combustion agent. The detector is normally thermostatted in a separate oven; this is not because the response of the FID is particularly temperature sensitive but to ensure that no solutes condense in the connecting tubes.

2.1 The response mechanism of the FID

The ionizing mechanism of the FID was carefully examined by Ongkiehong [27] and Desty [28] in 1960 and it would appear no such detailed evaluation of the detector has been carried out since. The ionization mechanism in the FID flame was originally thought to be similar to the ionization process in a hydrocarbon flame which was studied intensively by Calcote and King [29] and Schuler and Weber [30] in the mid-1950s. The present generally accepted explanation is that ions are not formed by *thermal ionization* but by *thermal emission* from microscopic carbon particles that are formed during the combustion process. Consequently the dominating factor in the ionization of organic material is not their ionization potential but the work function of the carbon that is transiently formed during their combustion.

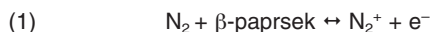
The flame plasma contains both positive ions and electrons which are collected on either the jet or the plate depending on the polarity of the applied voltage. Initially, the current increases with applied voltage, the magnitude of which depends on the electrode spacing. The current continues to increase with the applied voltage and eventually reaches a plateau at which the current remains sensibly constant. The voltage at which this plateau is reached also depends on the electrode distances. Once electron/ion pair production is initiated the recombination starts to take place. The longer the ions take to reach the electrode the more recombination takes place. Thus, the greater the distance between the electrodes and/or the lower the voltage, the greater the recombination. This is substantiated by the curves obtained by Ongkiehong: the plateau is reached at a lower voltage when the electrodes are closer together. It is seen that the plateau level is the same for both electrode conditions and it is assumed that on the plateau, all ions and electrons being produced in the flame are collected. In practice the applied voltage would be adjusted to suit the electrode distance to ensure that the detector operates under conditions where all electrons and ions are collected.

2.2 The operation of the FID

The FID is probably the simplest, easiest and most reliable detector to operate. Generally the appropriate flow rates for the different gases are given in the detector manual. Hydrogen flows usually range between 20 and 30 ml per min, air flows are about 6 times the hydrogen

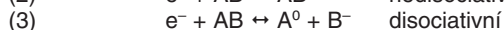
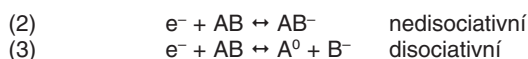
3 DETEKTOR ELEKTRONOVÉHO ZÁCHYTU (ECD)

Detektor elektronového záchytu ECD využívá principu, že vodivost plynů v ionizační komůrce se dramatickým způsobem mění přítomností nebo absencí kontaminujících látek v plynu. ECD sestává z ionizační komůrky obsahující radioaktivní zdroj β záření – nikl-63 (vyznačuje se dlouhou životností a stabilitou až do 450 °C) – a trysky přivádějící inertní plyn, obvykle dusík. β paprsky z ionizačního zdroje ionizují inertní plyn a vytváří tok volných elektronů. Tuto skutečnost popisuje rovnice (1):



Ionizační cela je připojena ke zdroji nízkonapětového potenciálu. Vložený potenciál způsobí migraci volných elektronů k anodě, na které jsou sebrány, a výsledkem je ustanovení rovnoměrného toku proudu. Pečlivým nastavením vloženého potenciálu se dosáhne ustanovení rovnovážného stavu, pomocí něhož všechny elektrony uvolněné v ionizačním procesu jsou sebrány na anodě. Mobilita volných elektronů je větší než pozitivně nabitých iontů, a proto než stačí dojit k rekombinaci, tak volné elektrony dospějí k anodě.

Proto je možné v komůrce v ustáleném stavu měřit konstantní proud. Prostor mezi zdrojem a anodou, ve kterém se pohybují volné elektrony, se nazývá jako oblast plasmu. Když se elektrofilní sloučenina dostane do detektorové cely, dojde k reakci mezi touto sloučeninou a volnými elektrony podle následujících rovnic (2,3):



V důsledku těchto reakcí rychle pohybující se elektrony jsou nahrazeny pomalými negativními ionty. Tyto pomalé ionty potřebují více času k tomu, aby se dostaly k anodě, a tak než k ní dospějí, je podstatně větší pravděpodobnost jejich rekombinace s kladně nabitými ionty než u elektronů. Při vstupu elektrofilní látky do detektoru tedy dojde k poklesu toku proudu v cele, což zařízení měřící proud zachytí jako vznikající pik.

Vzhledem k tomu, že volné elektrony se pohybují k anodě velmi rychle, možnost vzniku kolizních reakcí se snižuje. Proto je třeba volné elektrony zpomalit. K tomu se používá tzv. „make-up gas“, obvykle dusík. Pohyb elektronů je snižován pomocí nepružných srážek s elektrony [31].

3.1 Vliv teploty

Reakce mezi molekulami vzorku a volnými elektrony může probíhat dvěma způsoby – disociativní nebo nedisociativně (viz rovnice 2,3). Při disociativním způsobu je zapotřebí značné energie k tomu, aby došlo k disociaci molekuly. Při zvýšení teploty detektoru se zvyšuje energie jak molekuly vzorku, tak elektronu a v důsledku toho disociativní reakce probíhá snadněji. Avšak při nedisociativním průběhu vzrůstá energie molekuly vzorku, která se rozprostře a vznikne stabilní komplex. Zvýšení teploty detektoru v tomto případě má za následek menší změnu v průběhu nedisociativní reakce.

Zjednodušeně řečeno, teplota detektoru může ovlivnit citlivost detektoru. Při nedisociativním způsobu pro dosažení maximální citlivosti je nutné použít co nejnižší teplotu detektoru, která je sloučitelná s teplotou kolony. Při disociativní reakci vyšší teplota detektoru zvyšuje citlivost.

Druh probíhající reakce se dá jednoduše zjistit analýzou vzorku při různých teplotách detektoru. Podle dosažené odezvy je možné určit, za jaké teploty detektoru by měření mělo probíhat.

Příkladem uplatnění těchto dvou mechanismů je stanovení vicinálních diketonů (diacetyl a 2,3-pentandion) a alifatických chlorovaných uhlovdíků v pivu. Na obr. 1 je vidět, jak se vzrůstající teplotou se mění odezva pro tyto skupiny látek. Při detekci vicinálních diketonů se uplatňuje nedisociativní mechanismus a je tedy žádoucí nastavení nízké teploty detektoru, zatímco u alifatických chlorovaných uhlovdíků probíhá mechanismus disociativní. Výsledky byly naměřeny v naší laboratoři na plynovém chromatografu Thermo Scientific Trace GC Ultra.

3.2 Praktické poznámky

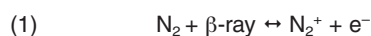
Pro dosažení vysoké citlivosti a selektivity je nutné při používání detektoru elektronového záchytu dodržet následující body:

Teplota detektoru musí být vždy nastavena nad maximální teplotou teplotního programu kolonového termostatu, aby nedocházelo ke kondenzaci vzorku a/nebo stacionární fáze v detektoru.

flow e.g. 120 to 200 ml per min. The capillary column flow rate may be less than 1 ml per min for very small diameter columns. The mobile phase can be any inert gas–helium, nitrogen, argon etc. To some extent the detector is self-cleaning and rarely becomes fouled. However, this depends a little on the substances being analyzed. In case of brewing and malting analyses the possibility of contamination of FID is minimized.

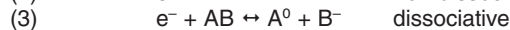
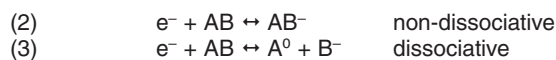
3 THE ELECTRON CAPTURE DETECTOR (ECD)

The electron capture detector ECD utilizes the fundamental observation that the conductivity of gases in an ionization chamber can be drastically altered by the presence or absence of contamination in the gas. Thus the ECD consists of an ionization chamber containing a radioactive source, usually nickel – 63 (characterized by long lifetime and temperature stability up to 450 °C), with a stream of inert gas usually nitrogen, flowing through it. The β -ray emanation from the source causes ionization of the inert gas with a consequent liberation of free electrons. This may be written simple as (1):



The ionization chamber is connected to a low voltage potential and a current measuring device. The applied potential causes the liberated electrons to migrate to the anode where collection occurs and a current flow is established. By careful adjustment of the applied potential, an equilibrium can be established whereby the electrons produced in the ionizing process are all collected at the anode. This can be achieved because the mobility of the free electrons is greater than that of the positive ions and hence free electrons migrate to the anode before recombination can occur.

Therefore, in the steady state a constant current known as the standing current, can be measured flowing in the chamber. The area between the source and the anode where electron liberation is occurring is known as the plasma region. If an electrophilic compound is now introduced to the chamber, a reaction will occur between this compound and the free electrons as follows (2,3):



As a result of these reactions, the fast moving electrons are replaced by slow moving negative ions. These slow negative ions take longer to migrate to anode and so have a higher probability of recombination with positive ions before reaching the anode than the electrons. Thus the net results of introducing an electrophilic compound will be a decrease in the amount of current flow measured in the chamber.

The free electrons may in fact be moving so fast to the anode after their production that these necessary collisions and reactions do not have time to occur before the electron reaches the anode. So it is necessary to slow down the free electrons. The make-up gas, usually nitrogen, is used for this. The mobility of electrons is reduced by non-elastic collisions with the electrons [31].

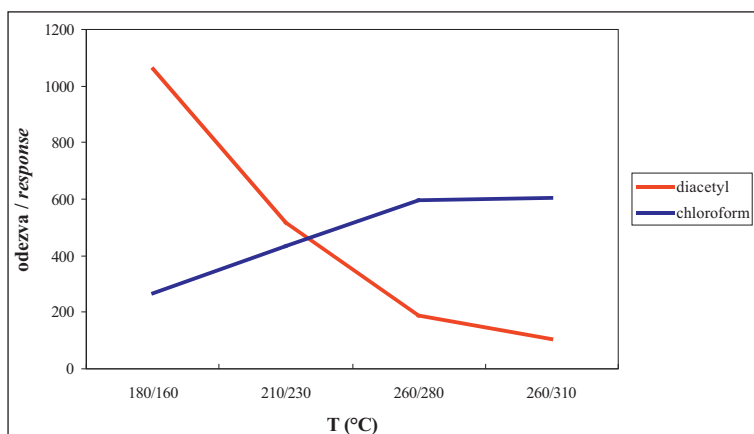
3.1 Effect of temperature

The reaction between the sample molecule and free electrons can be of two types – dissociative and non-dissociative (see equation 2,3). The dissociative reaction requires considerable energy for the dissociation of the sample molecule to occur during the reaction. An increase of detector temperature will effectively increase the energy of both the sample molecule and the electron and so will increase the ease of the dissociative reaction. The non-dissociative reaction, however, results in an increase of the energy of the sample molecule which has to be dispersed before a stable complex can be formed. An increase of detector temperature in this case would result in less chance of a non-dissociative reaction occurring.

Very simply then, the detector temperature can influence the sensitivity of the detector. For non-dissociative reactions, as low a detector temperature as possible, as is compatible with column temperature, should be used. For dissociative reactions, the higher the detector temperature the greater its sensitivity.

The type of reaction involved can be easily identified by injection of the sample at different detector temperatures. A decision can then be taken on the two responses as to whether the detector should be operated at a low or high temperature.

Obr. 1 Závislost odezvy diacetylů a chloroformu na teplotě ECD / Fig. 1 Response dependence of diacetyl and chloroform on ECD temperature



Vždy nastříkovat malé množství vzorku (ne více jak 1 nanogram v případě látek se silným zachytáváním elektronů). Detektor je tak citlivý, že tyto látky mohou detektor zahltnit a saturovat až po několik hodin.

Vždy je nutné udržovat vysoký průtok plynu skrz detektor (obvykle ne méně než 40–50 ml/min), aby bylo zajištěno vyplachování celého mrtvého objemu.

Nikdy nevyhřívát chromatografickou kolonu nad maximální teplotu, která je doporučena pro stacionární fázi kolony. Vzhledem k velké citlivosti ECD, již malé množství stacionární fáze, které z kolony „vykrvácí“, povede k ztrátě citlivosti detektoru. Navíc fáze uvolněná z kolony v tomto typu detektoru neshoří jako v případě plamenoionizačního detektoru, ale zkondenzuje v ECD.

Ztráta ustáleného proudu po každém nástřiku indikuje kontaminaci detektoru sloučeninami ze vzorku. V tom případě je vhodné vyčistit detektor vyhřátím na maximální teplotu (bez kolony) přes noc.

Mnoho rozpouštědel může zachytávat elektrony (např. aceton, alkohol, ether nebo jakékoli chlorované rozpouštědlo). Nástřik i velmi malých množství těchto rozpouštědel může způsobit zahlcení ECD.

Vzhledem k tomu, že nosný plyn a make-up plyn neustále proudí skrz detektor, jakákoli i sebemenší nečistota těchto plynů se rychle nahromadí v detektorové cele a sníží hodnotu ustáleného proudu. Z tohoto důvodu je nutné používat vysoce čisté plyny v kvalitě přímo určené pro ECD nebo plyny v obvyčejné kvalitě dočišťovat pomocí speciálních filtrů.

4 PLAMENOFOTOMETRICKÝ DETEKTOR (FPD)

Plaménofotometrický detektor (FPD) byl poprvé popsán Grantem [32] v roce 1958. Základní princip plaménofotometrického detektoru vychází ze specifické emise světla o dané vlnové délce během shoření látky v plameni. Tento detektor se využívá k detekci sirných látek a sloučenin obsahujících fosfor.

Konec kapilární kolony ústí v trysce s plamínkem, kde se eluent mísí s vodíkem a shoří. Tryska s plamínkem je nastavena tak, aby světlo z plamínku dopadalo přímo do fotonásobiče. Blok s tryskou je vyhříván, aby se zabránilo kondenzaci. Světlo emitované nad plamínkem nejprve prochází dvěma filtry a pak přes filtr propouštějící jen danou vlnovou délku dopadá do fotonásobiče. Za správných podmínek při shoření látek obsahujících fosfor nebo síru vznikají HPO a S₂, které poskytují charakteristické emise o vlnové délce 526 a 394 nm. Odezva detektoru na síru je prakticky nezávislá na změnách v nastavení průtoku vodíku. Odezva sloučenin s fosforem vykazuje maximum při určitém průtoku vodíku, nicméně se velmi mění s průtokem vzduchu.

4.1 Nelineární odezva

Největším problémem při používání plaménofotometrického detektoru je jeho kvadratická závislost odezvy v režimu měření síry. Tento jev se projevuje např. při změně retenčního času při detekci velmi malého množství látky. U lineárních detektorů má prodloužení retenčního času za následek snížení velikosti píku a z toho důvodu se sníží i detekční limit. Při kvadratickém průběhu odezvy detektoru se však tento efekt násobí a při stanovování stopových množství může pík zaniknout v šumu.

Z tohoto důvodu je nutné věnovat pozornost faktorům ovlivňujícím

The determination of vicinal diketones (diacetyl and 2,3-pentanedione) and chlorinated aliphatic hydrocarbons in beer are examples of these two different principles. Fig. 1 shows the effect of increasing temperature on the response of those two groups of compounds. During vicinal diketones analyse non-dissociative reactions take part and the lowest ECD temperature is recommended. While in aliphatic chlorinated hydrocarbons determination dissociative reactions are of use. The results were obtained in our laboratory using Thermo Scientific Trace Ultra gas chromatograph.

3.2 Practical notes

For high degree of sensitivity and selectivity of electron capture detector the following points should be noted and adhered to:

Always keep the detector temperature well above that of the column to prevent condensation of sample and/or stationary phase in the detector.

Use small-sized samples of not more than 1 nanogram of strongly electron capturing material. The detector is so sensitive to these compounds that they will overload and saturate the detector even for several hours.

Always maintain a high total flow through the detector (usually not less than 40–50 ml/min) to ensure that all dead volumes are swept out.

Never use columns at or above the maximum temperature that is recommended for the stationary phase in the column. Because of the great sensitivity of the electron capture detector, small amounts of stationary phase bleed will cause a loss of standing current with a consequent loss of sensitivity. Moreover, any bleed from the column is not combusted, as on the flame ionization detector, and will tend to condense in the ECD.

A loss of standing current which is noticed after each injection indicates that contamination of the detector by compounds in the sample is occurring. If this is experienced, it is advisable to clean the detector regularly overnight by purging at an elevated temperature until the original standing currents are recovered.

Many types of solvent can be electron capturing (e.g. acetone, alcohol, ether and any chlorinated solvent). Even small injections of these solvents will eventually saturate the ECD.

Since carrier gas and make-up gas is continually passing through the detector, any contamination in these gases will quickly build-up in the detector thereby reducing the detector standing current. It is necessary, therefore, to ensure that gases used with the ECD are quite clean. This can be achieved by using gases in ECD quality or by cleaning gases through special filters.

4 THE FLAME PHOTOMETRIC DETECTOR (FPD)

The flame photometric detector (FPD) was described by Grant [32] in 1958. The fundamental principle of the flame photometric detector is based on specific emission of light during combustion processes. This detector is used for the detection of sulphur and phosphorus compounds.

The end of the capillary column is led into the flame jet where the column eluent mixes with the hydrogen flow and is burnt. The jet and the actual flame is shielded to prevent light from the flame itself falling directly on to the photo-multiplier. The base of the jet is heated to prevent vapor condensation. The light emitted above the flame, first passes through two heat filters and then through the wavelength selector filter and finally on to the photo-multiplier. Under the correct conditions, the combustion of phosphorus and sulphur compounds produces two species, HPO and S₂, which give off characteristic emissions at 526 and 394 nm wavelengths respectively. The response of the detector to sulfur is fairly insensitive to changes in hydrogen flow rate. However, the response to phosphorus compounds shows a maximum at a particular hydrogen flow rate, the magnitude of which varies with the air flow.

4.1 Non linear response

The largest number of user problems with the flame photometric detector is caused by the square law dependence of the detector when used in the sulphur mode. This effect shows itself during changes in retention time in the detection of very small amounts of analytes. In linear detector a change in retention time will cause a decrease in peak height and hence a decrease in the limit of detection. With a square law detector this effect is exaggerated and in trace determination the peak could disappear into the general noise level.

šum detektoru. Nadměrný šum může způsobovat plamínek, což je důsledkem nesprávného nastavení průtoků jednotlivých plynů, použitím plynů nedostatečné čistoty nebo krvácením kolony způsobené jejím vyhrátím na příliš vysokou teplotu. Jiným zdrojem šumu může být trubice fotonásobiče, která je náchylná na kondenzaci vlhkosti, ke které může dojít při velkých změnách teploty nebo když plamínek není zapálen. Na začátku měření, když se začíná od vychladlého detektoru, je možné, že šum je poněkud větší. Během krátké doby by kondenzát však měl zmizet a šum by měl klesnout na normální úroveň [31].

5 ZÁVĚR

Vývoj plynové chromatografie v současné době není převratný. V oblasti detektorů se sice stále více rozšiřují nejrůznější typy speciálních hmotnostních detektorů, jejichž cena klesá, a tak se stávají dostupnějšími. Nicméně detektory FID, ECD a FPD jsou stále nejmasověji rozšířené a pro potřeby rutinních pivovarsko-sladařských stanovení plně dostačující.

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 váží pomoci a rad kolegů.

LITERATURA / REFERENCES

1. European Brewery Convention. Analytica EBC, 5th update, Method 9.24.2 – Dimethyl sulphide and other lower boiling point volatile compounds in beer by gas chromatography. Verlag Hans Carl Getränke-Fachverlag: Nürnberg, Germany, 2005.
2. The Institute of Brewing, IOB methods of analysis, Vol. 1, Method 9.32 – Lower boiling point volatile compounds in beer by headspace gas chromatography. The Institute of Brewing, The Institute of Brewing: London, England, 1997.
3. MEBAK, Brautechnische Analysenmethoden, Band II, Methode 1.1.1. – Leichtflüchtige Gärungsnebenprodukte – Headspace-Methode, MEBAK Freising-Weißenstephan: Germany, 1996.
4. The American Society of Brewing Chemists, ASBC Methods of Analysis, 2009 Edition, Beer – 29: Lower Boiling Volatiles in Beer or Ale. ASBC 2009, CD-ROM, ISBN 976-1-881696-17-9.
5. Čulík, J., Figalla, K., Horák, T., Kellner, V.: Stanovení vyšších senzoricky aktivních alkoholů v pivě pomocí extrakce na pevné fázi a kapilární plynové chromatografie. Kvasny Prum. **45**, 1999, 4–7.
6. Horák, T., Čulík, J., Jurková, M., Čejka, P., Kellner, V.: Stanovení mastrných kyselin v pivu technikou SPME. Kvasny Prum. **51**, 2005, 374–377.
7. European Brewery Convention. Analytica EBC, 5th update, Method 9.24.2 – Vicinal diketones in beer: gas chromatographic method. Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, Germany, 2005.
8. The Institute of Brewing. IOB methods of analysis, Vol. 1. Method 9.22 – Vicinal diketones in beer by gas chromatography: capillary column. The Institute of Brewing: London, England, 1997.
9. The Institute of Brewing. IOB methods of analysis, Vol. 1. Method 9.23 – Vicinal diketones in beer by gas chromatography: packed column. The Institute of Brewing, London, England, 1997.
10. MEBAK. Brautechnische Analysenmethoden, Band III., Methode 1.2.1. – Vicinal Diketone – Headspace-Methode, MEBAK Freising-Weißenstephan: Germany, 1996.
11. The American Society of Brewing Chemists, ASBC Methods of Analysis, 2009 Edition, Beer – 25E: Diacetyl. ASBC 2009, CD-ROM, ISBN 976-1-881696-17-9.
12. Horák, T., Čulík, J., Čejka, P., Jurková, M., Kellner, V.: Stanovení vicinálních diketonů v pivu metodou SPME. Kvasny Prum. **47**, 2001, 316–321.
13. MEBAK. Brautechnische Analysenmethoden, Band II, Methode 1.2.4. – 3-hydroxy-2-butanon (acetoin) – Headspace-Methode, MEBAK Freising-Weißenstephan: Germany, 1996.
14. Čulík, J., Kellner, V., Frantík, F., Jurková, M.: Stanovení nižších alifatických halogenuhlovodíků v pivu pomocí statické a dynamické headspace analýzy. Kvasny Prum. **41**, 1995, 105–110.
15. Horák, T., Čulík, J., Jurková, M., Kellner, V.: Stanovení chlorovaných alifatických uhlovodíků v pivu. Kvasny Prum. **45**, 1999, 317–320.

From this reason it is important to pay attention to factors influenced detector's noise. Excessive flame noise can be usually caused by not running the flame at the recommended gas flow rates, by using contaminated gas or by column bleeding caused by operating the column at a too high temperature. Another source of excess noise could be the photomultiplier tube because it is susceptible to water condensation. This problem could appear when temperature varies over a large range or when the flame is not alight. It is to be expected, therefore, that on start-up from cold, the noise may be rather more than normal. In a short time, however, the condensation would clear and the noise decrease [31].

5 CONCLUSIONS

Developments of gas chromatography are now relatively slow. In the detector sector different types of special mass detector are extended because the prices of these units depreciate and so these equipments are easily available. Nevertheless the detectors FID, ECD and FPD are always wide-spread and for routine brewing and malting analyses are fully sufficient.

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.

16. Horák, T., Čulík, J., Kellner, V., Jurková, M., Čejka, P.: Využití SPE při stanovení chlorfenolů ve varní vodě a pivu. Kvasny Prum. **54**, 2008, 2–5.
17. Čulík, J., Horák, T., Kellner, V., Jurková, M., Čejka, P., Hašková, D., Dvořák, J.: Stanovení některých vedlejších produktů dezinfekce ve varní vodě a v pivu. Kvasny Prum. **56**, 2010, 303–305.
18. Horák, T., Jurková, M., Čulík, J., Kellner, V.: Stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků a polychlorovaných bifenyly v pivě. Kvasny Prum. **45**, 1999, 190–192.
19. The Institute of Brewing. IOB methods of analysis, Vol. 1, Method 9.33 – Dimethyl sulphide in beer by gas chromatography. The Institute of Brewing, London, England, 1997.
20. MEBAK, Brautechnische Analysenmethoden, Band III, Methode 1.3.1.1. – Freies DMS in Würze und Bier – Headspace-Methode, MEBAK Freising-Weißenstephan: Germany, 1996.
21. MEBAK, Brautechnische Analysenmethoden, Band III, Methode 1.3.2. – DMS – Vorstufen in Würze, MEBAK Freising-Weißenstephan: Germany, 1996.
22. MEBAK, Brautechnische Analysenmethoden, Band III, Methode 1.3.3. – DMS – Vorstufen in Malz, MEBAK Freising-Weißenstephan: Germany, 1996.
23. Hill, P. G., Smith, R. M.: Determination of sulphur compounds in beer using headspace solid-phase microextraction and gas chromatographic analysis with pulsed flame photometric detection. J. Chromatogr. A **872**, 2000, 203–211.
24. Xiao, Q., Yu, Ch., Xing, J., Hu, B.: Comparison of headspace and direct single-drop microextraction and headspace solid-phase microextraction for the measurement of volatile sulfur compounds in beer and beverage by gas chromatography with flame photometric detection. J. Chromatogr. A **1125**, 2006, 133–137.
25. Harley, J., Nel, W., Pretorius, V.: Nature, London, **181**, 1958, 177.
26. McWilliams, I. G., Dewar, R. A.: Gas Chromatography 1958, (Ed. D. H. Desty), Butterworths Scientific Publications.
27. Ongkiehong, L.: Gas Chromatography 1960, (Ed. R. P. W. Scott) Butterworths, London, 1958, 9.
28. Desty, D. H., Goldup, A., Geach, A. C.: Gas Chromatography 1960, (Ed. R. P. W. Scott) Butterworths, London, 1958, 156.
29. Calcote, H. F., King, I. R.: "The Fifth Symposium on Combustion", New York (1955).
30. Schuler, K. E., Weber, J. J.: J. Chem. Phys. **22** 1954, 491.
31. Swan, D. F. K. Three Selective Detectors. Pye Unicam. 1975.
32. Grant, D. W.: Gas Chromatography 1958, (Ed. D. H. Desty), Butterworths Scientific Publications, 1957, 153.