

## MEPS a jeho použití při přípravě vzorků v pivovarské analytice

### MEPS and It's Using in Sample Preparation in Brewing Analytice

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.: MEPS a jeho použití při přípravě vzorků v pivovarské analytice.** *Kvasny Prum.* 57, č. 9, s. 326–329.

Významnou úlohu při stanovování senzorycky aktivních látek v pivo zaujímá plynová chromatografie. Před vlastním plynově chromatografickým stanovením je však nutné stanovené látky vyextrahovat, zakonzentrovat a eventuálně přechistit. Za tímto účelem byla během posledních dvaceti let vyvinuta řada technik pro přípravu vzorků, které mohou nahradit dosud používané klasické postupy. Tyto postupy zahrnují off-line a on-line metody a jsou založeny jak na důkladné extrakci látek, tak na principech ustanovení rovnováhy. Tato práce se zabývá popisem nového postupu známého pod označením MEPS (microextraction by packed sorbent) a jeho možného použití v pivovarské analytice.

**Horák, T. – Čulík, J. – Jurková, M. – Čejka, P. – Kellner, V. – Dvořák, J. – Hašková, D.: MEPS and it's using in sample preparation in brewing analytice.** *Kvasny Prum.* 57, No. 9, p. 326–329.

Gas chromatography plays the significant role in the determination of beer flavours. Sample preparation procedures for extraction, concentration or clean-up are often necessary before gas chromatographic determination. A lot of sample preparation techniques have been introduced in the past two decades and these procedures can successfully replace classical methods. These procedures include off-line and on-line methods and they are based on exhaustive extraction as well as equilibrium techniques. This study is focused on new sample preparation method called MEPS (Microextraction by Packed Sorbent) and its possible use in brewing analytice.

**Horák, T. – Čulík, J. – Jurková, M. – Čejka, P. – Kellner, V. – Dvořák, J. – Hašková, D.: MEPS und ihre Rolle bei der Anwendung bei Mustervorbereitung in der Braueranalytik.** *Kvasny Prum.* 57, Nr. 9, S. 326–329.

Die Gaschromatographie stellt bei der Analyse von sensorisch Aktivstoffen im Bier eine bedeutende Rolle dar. Die zur Analyse bestimmten Stoffe sind vor der eigenen Gaschromatographischenfeststellung zu extrahieren, konzentrieren und bzw. zu reinigen. Binnen letzten zwanzig Jahren wurden mehrere neue Verfahren für diesen Zweck der Mustervorbereitung entwickelt, die das zurzeit angewandte klassische Verfahren ersetzen können. Die neuen Verfahren der Mustervorbereitung umfassen On – Linemethoden – und Of – Linemethoden und wurden auf einer gründlichen Stoffextraktion und auf Prinzipien der Bereitstellung des Gleichgewichts gegründet. Dieser Artikel befasst sich mit einer Beschreibung des neuen Verfahrens, dass unter dem Namen MEPS (microextraction by packed sorbent) bekannt ist und mit der Möglichkeit seiner möglichen Anwendung in der Braueranalytik.

**Klíčová slova:** MEPS, plynová chromatografie, příprava vzorků, pivo, pivovarská analytika

**Keywords:** MEPS, gas chromatography, sample preparation, beer, brewing analytice

### 1 ÚVOD

Příprava vzorku představuje důležitý krok v celém procesu analýzy vzorku. Jejím cílem je účinným způsobem vyextrahovat stanovené látky z matrice, odstranit interference, popřípadě zlepšení chromatografických vlastností sledovaných analytů. Z celého analytického procesu je příprava vzorků většinou krokem, který je časově nejnáročnější, nejpracnější a také je nejnáchylnější ke vzniku chyb.

Současné snahy vědeckých týmů jsou zaměřeny zejména na miniaturizaci a zkrácení doby nutné pro přípravu vzorku, aby se celý analytický proces urychlil. Hlavními cíli při vývoji těchto postupů bylo, a stále zůstává, zvýšit kapacitu laboratoře pro dané stanovení, celkově zlepšit kvalitu přípravy vzorků, dosáhnout lepších detekčních limitů, snížit množství vzorku nutného k provedení analýzy, minimalizovat použití organických rozpouštědel a sorbentů a v konečném výsledku tak snížit i množství odpadu [1, 2].

Jedním z těchto významných postupů je i metoda extrakce na pevné fázi (SPE). Tato technika byla představena před více než dvaceti lety a s úspěchem nalezla uplatnění při stanovení široké škály látek v mnoha matricích, včetně piva (vyšší aromatické alkoholy, iso- $\alpha$ -hořké kyseliny, mastné kyseliny, furfural, hydroxymethylfurfural, vicinální diketony, polyfenoly, ATNC, chlorfenoly, umělá sladidla) [3-14].

Před analýzou je nutné SPE kolonku nejprve kondicionovat. Poté se kolonkou prosaje vzorek, obvykle okolo 10–50 ml, rychlostí několika ml/min. Pak se kolonka propláchne několika mililitry vody a vysuší se jemným proudem dusíku za laboratorní teploty. Nakonec jsou zachycené analyty desorbovány malým množstvím (okolo 100–500  $\mu$ l) organického rozpouštědla a analyzovány na plynovém chromatografu nebo jsou po převedení do vhodného rozpouštědla, většinou mobilní fáze, nastříknuty na kolonku kapalínového chromatografu [1].

S nápadem zminiaturizovat tento postup přišel Mohamed Abdel-Rehim z farmaceutické společnosti AstraZeneca [15]. Mikroextrakce

### 1 INTRODUCTION

Sample preparation is an important step in the process of sample analyses. During sample preparation procedure it is necessary effective isolation of the analytes of interest from a complex matrix, removing interferences and eventually improvement of the chromatographic behavior of the analytes. In the whole analytical procedure the sample preparation is mostly the most time-consuming, work-intensive and error-prone step.

Contemporary many scientific groups are focused on miniaturization and shortening time necessary for sample preparation and so the whole analytical procedure could be accelerated. The main aims were, and still are, to increase sample throughput in laboratory, improve the overall quality of the sample preparation procedures, improving detection limits, decreasing the required sample sizes and minimizing the use of organic solvents and sorbents and in final result also reducing the amount of waste. [1,2]

Solid phase extraction (SPE) is one of these important methods. This technique was introduced more than twenty years ago and it has been successfully applied in the determination of wide range of compounds in many different matrices including beer (higher aromatic alcohols, iso- $\alpha$ -bitter acids, fatty acids, furfural, hydroxymethylfurfural, vicinal diketones, polyphenols, ATNC, chlorinated phenols, artificial sweeteners). [3-14]

Before analysis a conditioning of SPE column is necessary. After that a sample volume often about 10–50 ml is loaded at speed of several ml/min. Then the cartridge is cleaned with a few milliliters of water, and dried by gentle stream of nitrogen at an ambient temperature. Finally, the enriched analytes are desorbed with as little as 100–500  $\mu$ l of an organic solvent and gas chromatographic separation is followed or after conversion to a suitable solvent usually mobile phase injected into the column of liquid chromatograph [1].

na pevném sorbentu – MEPS (microextraction by packed sorbent) je novým typem SPE postupu. Miniaturizuje objem extrahovaného vzorku na množství 10–250 µl. Komerčně dostupný MEPS je nabízen se stejnými sorbenty jako konvenční SPE kolonky, takže se většina SPE metod dá převést na tento postup. Většina dosud publikovaných aplikací MEPS se týká především analýzy léčiv a jejich metabolitů v moči, krvi a plasmě [16].

Předložená práce se zabývá popisem tohoto postupu známého pod označením MEPS a jeho možným využitím v pivovarské analytice.

## 2 MEPS

### 2.1 Uspořádání

Základem je plynatější skleněná stříkačka o objemu 100–250 µl. Sorbent může být umístěn ve stříkačce a pomocí dvou polypropylenových filtrů o velikosti částic 20 µm je udržován u ústí stříkačky. Jinou možností je umístění sorbentu do malého lože, které se umístí mezi tělo stříkačky a jehlu stříkačky. MEPS se na trh dodává od firmy SGE Analytical Science, Melbourne, Austrálie [17].

### 2.2 Druhy sorbentů

Volba vhodného sorbentu je velice důležitá, má-li být dosaženo uspokojivého přečištění extraktu a výtěžnosti stanovovaných analytů. Z tohoto důvodu je nutné zvážit vlastnosti analytů – jsou polární, nepolární nebo ionizované? Podle toho je také nutné optimalizovat podmínky.

Dosud se v postupu MEPS používali tyto sorbenty: silika ( $C_2$ ,  $C_8$ ,  $C_{18}$ ), kationtový iontoměníč s aktivními skupinami benzensulfonové kyseliny, polymer (polystyrenové částice), MIP sorbenty (navázané skupiny zajišťujícími reakce přímo na sorbentu), organické monolitické sorbenty [19].

Aby se zabránilo vysokému zpětnému tlaku, používají se relativně velké částice podobné jako v konvenční SPE, kde se velikost částic sorbentu pohybuje mezi 40–60 µm [18]. Množství použitého sorbentu se pohybuje v rozsahu 1–2 mg.

### 2.3 Kondicionace sorbentu

Obvykle se sorbent zvlhčí promytím 50 µl methanolu a následně 50 µl vody nebo 0,1% kyseliny mravenčí. Tento krok aktivuje sorbent a zajistí reprodukovatelné zachycení sledovaných analytů. Z praktických důvodů se pro kondicionaci sorbentu používá stejný roztok jako pro promývání sorbentu [19].

### 2.4 Aplikace vzorku

Extrakce probíhá pomalým (20 µl/s) natažením 25 až 250 µl vzorku do stříkačky. Tím je dosaženo dobré perkolace vzorku skrz lože sorbentu. Vzorek může být natahován a vystřikován ze stříkačky i několikrát, pokud je to nutné. Opakovaným pumpováním vzorku do stříkačky a ze stříkačky dochází k zakoncentrování analytů na sorbentu [19].

### 2.5 Promytí sorbentu

Pro promývání se nejčastěji používá voda o objemu 50 až 250 µl. Často se používá voda obsahující 0,1% kyseliny mravenčí. Promývání se doporučuje provádět rychlostí 50 µl/s. Pokud je zapotřebí, lze tento krok opakovat, ale může to mít negativní dopad na výtěžnost. Z toho důvodu je nutné podmínky MEPS zoptimalizovat [19].

### 2.6 Eluce analytů

Vzhledem k tomu, že se používá jen velmi malé množství sorbentu, desorpce analytů se provádí rovněž relativně malým množstvím elučního rozpouštědla, např. 50 µl methanol-voda 95:5. Během tohoto kroku je výhodné stříkačku zahřívát na teplotu 40 °C, což podpoří účinek methanolu [19].

### 2.7 Rekondicionace sorbentu

Sorbent se rekondicionuje zpravidla vypráním pomocí 250 µl elučního rozpouštědla a poté 250 µl rozpouštědla použitého k promytí sorbentu. V některých případech je možné cyklus tohoto promývání opakovat až pětkrát.

### 2.8 „Carry-over“ efekt

Carry-over je problém, jehož nebezpečí se objevuje zejména u automatizovaných systémů. Je limitujícím faktorem v případě stopové analýzy, negativně ovlivňuje přesnost a opakovatelnost při validaci metody. Technika MEPS však používá velmi malé množství sor-

Mohamed Abdel-Rehim from pharmaceutical society AstraZeneca had a brilliant idea to miniaturize this sample preparation procedure [15]. Microextraction by packed sorbent – MEPS is a new type of SPE technique. This method miniaturized to work with sample volumes as small as 10 µl and up to 250 µl. The commercially available presentation of MEPS uses the same sorbents as conventional SPE columns and so majority of SPE methods could be transferred to MEPS procedures. The most published MEPS applications are focused on drugs and metabolites in urine, plasma and whole blood samples [16].

This paper is focused on description of this new sample preparation technique known as MEPS and its possible use in brewing analytics.

## 2 MEPS

### 2.1 Format

MEPS is based on using of a gas-tight glass syringe with volume of 100 – 250 µl. The sorbent may be packed in the syringe barrel and kept in position by two polypropylene filters with 20 µm pore size. Another possibility is that sorbent may be accommodated in a small container situated between the syringe barrel and the syringe needle. MEPS is available on the market from SGE Analytical Science, Melbourne, Australia [17].

### 2.2 Type of sorbent

Selection of the sorbent is important to achieve acceptable clean-up and recovery of determined analytes. From these reasons, the analyte properties have to be considered – are they polar, non-polar or ionized? Conditions will be optimized accordingly.

The sorbents used in MEPS so far are: silica ( $C_2$ ,  $C_8$ ,  $C_{18}$ ), benzenesulfonic acid cation exchanger, polymer (polystyrene particles), MIP material (molecularly imprinted phases) and organic monolithic sorbent. [19]

To prevent high back pressures, relatively large particles were used as in conventional SPE where the sorbent typically consists of 40 to 60 µm particles [18]. The amount of sorbent was, in general, 1–2 mg.

### 2.3 Conditioning of the sorbent

The sorbent is usually wetted with 50 µl methanol followed by 50 µl water or 0.1% formic acid. During this step the sorbent is activated and it is ensured reproducible retention of the analytes. For practical reasons, the conditioning solution is the same as used for the washing step [19].

### 2.4 Application of the sample

MEPS extraction is providing by sample loading with 25 to 250 µl slowly (20 µl/s) drawn into the syringe. This is to obtain good percolation of the sample through the adsorbent bed. The sample may be pumped up and down several times, if necessary. The multiple pulling/pushing of the sample by the syringe involves concentration of the analytes [19].

### 2.5 Washing the sorbent

Water is a typical washing solution and washing volume will be between 50 and 250 µl. Water containing 0.1% formic acid is often used. Washing is recommended to do at a speed of 50 µl/s. The washing step can be repeated if necessary but this may have a negative effect on the recovery. So optimization of MEPS procedure is required [19].

### 2.6 Eluting the analytes

Because a small amount of sorbent is used, desorption can be achieved with a relatively small amount of elution solvent, e.g. 50 µl methanol-water 95:5. During this step, the syringe may be heated to 40 °C to increase the sensitivity of methanol [19].

### 2.7 Reconditioning of the sorbent

The sorbent is normally rinsed with 250 µl elution solvent followed by 250 µl washing solvent. In some cases, this rinsing can be repeated up to five times.

### 2.8 Carry-over

Carry-over is one of the common problems with automated systems. It is limiting step for trace analysis, having negative impact on poor accuracy and precision during method validation. The small quantity of sorbent in the MEPS technique can easily and effectively be washed out between samples to reduce the possibility of carry-over. Moreover this reconditioning can occur while the previous sam-

bentu, které může být snadno a účinně „vypráno“, a tak se možnost přenosu látek mezi vzorky snižuje na minimum. Navíc tuto rekondicionaci sorbentu je možné provést v době, kdy se předcházející vzorek měří na chromatografu. Pokud se mezi extrakcemi vzorků sorbent promyje elučním a pak promývacím roztokem pětikrát za sebou, carry-over efekt se sníží na méně než 0,1 % [20].

## 2.9 Výhody MEPS

Cílem vývoje nových technik je automatizace a zvýšení průchodnosti laboratoře. Tento požadavek metoda MEPS splňuje. Využití metody MEPS je výhodné z několika důvodů: jde o jednoduchý postup, dá se online automatizovat (některé autosamplery, např. CTC-Pal, plně podporují techniku MEPS), proces přípravy vzorku je rychlý, cena analýzy je ve srovnání s tradiční SPE metodou minimální.

Automatizace není jedinou velkou předností MEPS metody. Extrakce z mnohem menších objemů vzorku, malá množství rozpouštědel a malý mrtvý objem systému společně s rychlostí a jednoduchostí – to vše patří k dalším nesporným výhodám tohoto postupu přípravy vzorku. Další významnou skutečností je fakt, že eluční objem svou velikostí je vhodný k přímému nástřiku do plynového nebo kapalinového chromatografu [16].

## 3 MEPS A PIVOVARSKÁ ANALYTIKA

Jak bylo uvedeno v Úvodu, metoda extrakce na pevné fázi se používá v celé řadě pivovarských analýz. V naší laboratoři byla zatím zkušebně otestována možnost použití techniky MEPS pro stanovení nižších volných mastných kyselin. Postup vycházel z postupu popsání Hage a později Horákem [7,21], pouze byla minimalizována množství vzorku a použitých rozpouštědel.

Kondicionace byla provedena 30  $\mu$ l methanolu a následně 30  $\mu$ l ultračisté vody. Poté bylo MEPS stříkačkou pětikrát nasáto a vystříknuto 100  $\mu$ l vzorku. Vysušení sorbentu  $C_{18}$  bylo provedeno třikrát 100  $\mu$ l suchého vzduchu. Nakonec byly látky eluovány 10  $\mu$ l chloroformu.

Poté byly 2  $\mu$ l chloroformového extraktu nastříknuty na kolonu plynového chromatografu. K separaci byla použita 10 m dlouhá křemenná kapilární kolona DB-Wax firmy J&W Scientific s vnitřním průměrem 0,18 mm a tloušťkou filmu 0,18  $\mu$ m. 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. Nástřik byl prováděn ve splitless módu, split ventil byl otevřen po 0,5 min. Injektor i plamenionizační detektor byly vyhřátý na teplotu 250 °C. Jako nosný plyn bylo využito helium v kvalitě 5.0, tlak na kolonu byl 210 kPa při 75 °C. Výsledný chromatogram je uveden na obr. 1.

Z tohoto úvodního pokusu je zřejmé, že postup MEPS je použitelný i v pivovarské problematice. Dalším cílem tedy bude optimalizace a validace MEPS metody pro stanovení různých sensoricky aktivních látek v pivu. Přesnost a opakovatelnost celého postupu je možné ještě zvýšit použitím elektronické, automatické stříkačky eVol, kterou speciálně pro MEPS aplikace od loňského roku dodává firma SGE Analytical Science.

ple is running. Carry-over decreased to less than 0.1 % when the sorbent was washed at least five times with elution solution and washing solution between extractions [19].

## 2.9 Advantageous of MEPS

The aim when developing the new technique was to meet the demands of automated high-throughput performance of laboratory. The MEPS procedure realizes this requirement. Microextraction by packed sorbent approach is very promising for many reasons: it is easy to use method, it is online and fully automated (some autosamplers, e.g. CTC-Pal are fully compatible with MEPS), sample preparation step is rapid, the cost of analysis is minimal compared with conventional SPE.

Not only is the automation process with MEPS advantageous, but the much smaller volumes of the samples, solvents and dead space in the system provide other significant advantages, such as the speed and the simplicity of the sample preparation process. The key aspect of MEPS is that the solvent volume used for the elution of the analytes is of a suitable order of magnitude to be injected directly into gas or liquid chromatograph [16].

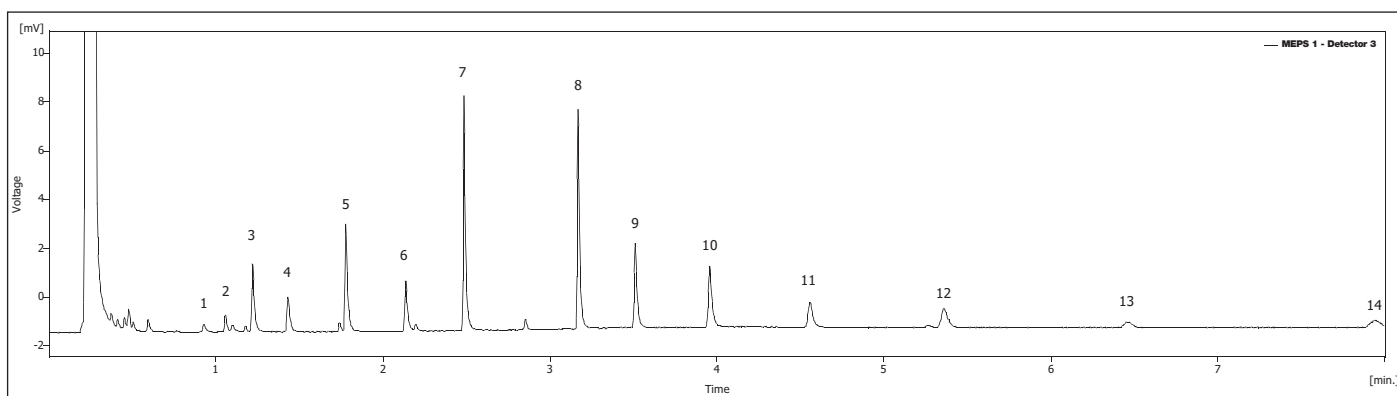
## 3 MEPS AND BREWING ANALYSES

As mentioned above in Introduction session, solid phase extraction is applied in many brewing analyses. MEPS procedure was preliminary tested in our laboratory for the determination of free fatty acids. Procedure was based on the work described by Hage and later by Horák [7,21] only with few changes – sample volume and solvent volumes were minimalized.

Conditioning was provided by 30  $\mu$ l methanol followed by 30  $\mu$ l ultrapure water. Then 100  $\mu$ l sample were pumped through the sorbent for five times. Sorbent was dried by 100  $\mu$ l of dried air for three times. Finally the analytes were eluted by 10  $\mu$ l chloroform. After it 2  $\mu$ l of this chloroform extract were injected on the gas chromatographic column.

Analytes were separated on 10 m x 0,18 mm i. d. fused silica capillary column of DB-Wax J&W Scientific with 0,18  $\mu$ m 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 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 210 kPa at 75 °C. The chromatogram is shown in Fig. 1.

From this preliminary test it is evident that MEPS can be used also in brewing analyses. Another goal will be focused on optimization and validation of MEPS procedure for determination of different beer flavours. The accuracy and precision of whole procedure can be improved by using of electronic and automated analytical syringe eVol which was specially developed for MEPS applications. This syringe is supplied by SGE Analytical Science Company from last year.



Obr. 1 Chromatografický záznam stanovení volných mastných kyselin po extrakci metodou MEPS. 1 – isomáslaná kyselina, 2 – máslaná kyselina, 3 – isovalerová kyselina, 4 – valerová kyselina, 5 – kapronová kyselina, 6 – heptanová kyselina, 7 – kaprylová kyselina, 8 – kaprinová kyselina, 9 – undekanová kyselina, 10 – laurová kyselina, 11 – tridekanová kyselina, 12 – myristová kyselina, 13 – pentadekanová kyselina, 14 – palmitová kyselina. / Fig. 1 Chromatogram of free fatty acids after MEPS extraction. 1 – isobutyric acid, 2 – butyric acid, 3 – isovaleric acid, 4 – valeric acid, 5 – caproic acid, 6 – heptanoic acid, 7 – caprylic acid, 8 – capric acid, 9 – undecanoic acid, 10 – lauric acid, 11 – tridecanoic acid, 12 – myristic acid, 13 – pentadecanoic acid, 14 – palmitic acid

**4 ZÁVĚR**

Technika MEPS se vzhledem k výše uvedeným výhodám jeví jako rovnocenná alternativa k jiným postupům (např. mikroextrakce na pevné fázi – SPME, sorpční extrakce na míchací tyčince – SBSE), které významným způsobem přispívají k zefektivnění přípravy vzorku. Lze tedy očekávat rozšíření aplikací do oblasti životního prostředí, analýzy potravin včetně pivovarské oblasti.

**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, kteří tak přispěli k vytvoření kreativní atmosféry v laboratoři.

**LITERATURA / REFERENCES**

- De Koning, S., Janssen, H. G., Brinkman, U. A. T.: Modern methods of sample preparation for GC analysis. *Chromatographia* **69**, 2009, 33–78.
- Horák, T., Čulík, J., Jurková, M., Čejka, P., Kellner, V., Dvořák, J., Hašková, D.: Possibilities of utilization of modern sample preparation methods for gas chromatographic of beverages and especially beer. Part I. – literature review. *Kvasny Prum.* **56**, 2010, 358–366.
- 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.
- Čulík, J., Horák, T., Jurková, M., Čejka, P., Kellner, V., Dvořák, J.: Stanovení aromatických alkoholů v pivu s využitím metody extrakce na pevné fázi (SPE) a detekce pomocí spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS). Část I. – Vypracování a validace vhodné analytické metody. *Kvasny Prum.* **55**, 2009, 177–186.
- Čulík, J., Horák, T., Jurková, M., Čejka, P., Kellner, V., Dvořák, J.: Stanovení aromatických alkoholů v pivu s využitím metody extrakce na pevné fázi (SPE) a detekce pomocí spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS). Část II. – Obsah aromatických alkoholů v českých pivech. *Kvasny Prum.* **55**, 2009, 273–277.
- Jurková, M., Kellner, V., Čulík, J., Horák, T., Čejka, P.: Rychlá a účinná izolace iso- $\alpha$ -hořkých kyselin z piva metodou SPE. *Kvasny Prum.* **49**, 2003, 258–259.
- Hage, T.: Free fatty acids in beer – the use of a Binder-phase column in the extraction of free fatty acids for gas chromatographic essay. *Proc. Fourth European Conference on Food Chemistry*, Volume 1, Loen, Norway, June 1-4, 1987, s. 106–110.
- Gomis, D. B., Alvarez, M. D., Naredo, L. S., Alonso, J. J. M.: High – Performance Liquid Chromatographic Determination of Furfural and Hydroxymethylfurfural in Apple Juices and Concentrates, *Chromatografia* **32**, 1991, 45–48.
- Pejin, J., Grujic, O., Markov, S., Kocic-Tanackov, S.: Application of GC/MS Metod using SPE columns for quantitative determination of diacetyl and 2,3-pentanedione during beer fermentation. *J. Am. Soc. Chem.* **64**, 2006, 52–60.
- Dvořáková, M., Hulín, P., Karabín, M., Dostálek, P.: Determination of polyphenols in beer by an effective method based on solid-

**4 CONCLUSIONS**

Due to above mentioned advantageous microextraction by packed sorbent is one of another procedures (e.g. solid phase microextraction – SPME, stir bar sorptive extraction – SBSE) which contribute by significant way to streamline of sample preparation step. We can expect expansion of different applications in environment, food analysis including brewing analyses.

**Acknowledgements**

The financial support by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (project MSM 6019369701) and by members of the Czech Beer and Malt Association is gratefully acknowledged.

The authors also thank to close colleagues for their help and creative atmosphere in laboratory.

- phase extraction and high performance liquid chromatography with diode-array detection. *Czech J. Food Sci.* **25**, 2007, 182–188.
- Massey, R., Dennis, M. J., Pointer, M., Key, P. E.: An investigation of the levels of N-nitrosodimethylamine, apparent total N-nitroso compounds and nitrate in beer. *Food Addit. Contam.*, **7**, 1990, s. 605–615.
  - 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.
  - Moors, M., Teixeira, C. R. R. R., Jimidar, M., Massart, D. L.: Solid-phase extraction of the preservatives sorbic acid and benzoic acid and the artificial sweeteners aspartame and sacharin. *Anal. Chim. Acta* **255**, 1991, 177–186.
  - Čadková, D., Čulík, J., Jurková, M.: Stanovení umělých sladidel v pivu. *Kvasny Prum.* **42**, 1996, 243–244.
  - Abdel-Rehim, M.: New trend in sample preparation: on-line microextraction in packed syringe for liquid and gas chromatography applications: I. Determination of local anaesthetics in human plasma samples using gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* **801**, 2004, 317–321.
  - Comentary: Microextraction by packed sorbent in bioanalysis. *Bioanalysis* **1**, 2009, 687–691.
  - SGE, [www.sge.com](http://www.sge.com)
  - Thurman, E. M., Mills, M. S.: Solid-phase extraction, principles and practice. Wiley, New York, 1998.
  - Blomberg, L. G.: Two new techniques for sample preparation in bioanalysis: Microextraction in packed sorbent (MEPS) and use of a bonded monolith as sorbent for sample preparation in polypropylene tips for 96-well plates. *Anal. Bioanal. Chem.* **393**, 2009, 797–807.
  - Altun, Z., Abdel-Rehim, M.: Study of the factors affecting the performance of microextraction by packed sorbent (MEPS) using liquid scintillation counter and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta.* **630**, 2008, 116–123.
  - Horák, T., Čulík, J., Jurková, M., Čejka, P., Kellner, V.: Application of SPE and SPME in analysis of beer. *Kvasny Prum.* **52**, 2006, 78–82.

*Recenzovaný článek / Reviewed paper*  
*Do redakce došlo / Manuscript received: 20. 6. 2011*  
*Přijato k publikování / Accepted for publication: 4. 8. 2011*