

Využití moderních analytických metod SPDE a TDAS při stanovení sirných těkavých látek

Use of Modern Analytical SPDE and TDAS Methods for the Analysis of Sulphur Volatile Flavors

RENATA MIKULÍKOVÁ, ZDENĚK SVOBODA, KAROLÍNA BENEŠOVÁ, SYLVIE BĚLÁKOVÁ
Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s., Mostecká 7, 614 00 Brno / Research Institute of Brewing and Malting, Plc.,
Mostecká 7, 614 00 Brno, Czech Republic
e-mail: mikulikova@beerresearch.cz

Mikulíková, R. – Svoboda, Z. – Benešová, K. – Běláková, S.: Využití moderních analytických metod SPDE a TDAS při stanovení sirných těkavých látek. Kvasny Prum. 57, 2011, č. 7–8, s. 231–235.

K extrakci a následnému zakoncentrování sirných těkavých látek byly experimentálně porovnávány analytické metody dynamická mikroextrakce na pevnou fázi a automatizovaná termická desorpce. Pro vlastní analýzu sirných těkavých látek byla použita plynová chromatografie ve spojení s plamenofotometrickým detektorem. Byly sledovány těkavé sirné látky dimethylsulfid, dimethyldisulfid, dimethyltrisulfid, sirouhlík, ethylsulfid, diethylsulfid, methionol, 3-methylthiofen, ethylthioacetát, 2-methyl-1-buthanthiol.

Mikulíková, R. – Svoboda, Z. – Benešová, K. – Běláková, S.: Use of modern analytical SPDE and TDAS methods for the analysis of sulphur volatile flavors. Kvasny Prum. 57, 2011, No. 7–8, p. 231–235.

For extraction and subsequent concentration of sulphur-containing volatile substances, the analytical methods of solid phase dynamic microextraction and automatic thermal desorption were experimentally compared. The method of gas chromatography coupled with a flame detector was used for the analysis of sulphur volatile substances. Following volatile sulphur substances were studied: dimethyl sulfide, dimethyl disulfide, dimethyltrisulfide, carbon disulfide, ethyl sulfide, diethyl disulfide, methionol, 3-methylthiofen, ethylthioacetate, 2-methyl-1-buthanthiol.

Mikulíková, R. – Svoboda, Z. – Benešová, K. – Běláková, S.: Die Anwendung der modernen SPDE und TDAS Methoden zur Bestimmung der schwefel-flüchtigen Stoffe. Kvasny Prum. 57, 2011, Nr. 7–8, S. 231–235.

Zwei analytischen Methoden, dynamische Mikroextraktion auf die feste Phase und automatisierte thermische Desorption, wurden zur Extraktion und zur folgenden Konzentration der Schwefel-flüchtigstoffe experimental angewandt und gegenseitig verglichen. Für die eigene Analyse der Schwefel-flüchtigstoffe wurde die Gaschromatographie mit dem Flammenphotometrischen Detektor angewandt. Folgende flüchtige Schwefelstoffe verfolgt: Dimethylsulfid, Dimethyldisulfid, Dimethyltrisulfid, Schwefelkohlenstoff, Ethylsulfid, Diethylsulfid, Methionol, 3-Methylthiofen, Ethylthioacetat, 2-Methyl-1-Buthanthiol.

Klíčová slova: SPDE, TDAS, GC/FPD, těkavé sirné látky, pivo

Keywords: SPDE, TDAS, GC/FPD, sulphur volatile substances, beer

1 ÚVOD

V poslední době je celosvětově a rovněž v České republice věnována zvýšená pozornost sensoricky aktivním látkám ovlivňujícím kvalitu piva. Na sensorickém charakteru i analytickém složení piva se spolupodílí kvalita pivovarských surovin, technologie výroby sladiny a mladiny i technologie kvašení a zrání piva. Mezi sensoricky aktivními látkami ovlivňujícími kvalitu piva hrají významnou úlohu heterocyklické a sirné sloučeniny, z nichž některé se vyznačují vysokou sensorickou aktivitou i v extrémně nízkých koncentracích. Stopová množství těchto sloučenin, které lze běžně nalézt v potravinách, se spolupodílejí na vytváření jejich aroma a tento vliv lze obecně hodnotit jako příznivý. U sladu, resp. u piva to však platí jen ve velmi omezené míře a přítomnost heterocyklických a sirných látek se v tomto směru hodnotí spíše nepříznivě.

Přímá analýza sirných sensoricky aktivních látek je možná jen zřídka, protože se nacházejí v analyzovaných maticích (slad, pivo) ve velmi nízkých koncentracích ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, I^{-1} – $\text{ng}\cdot\text{kg}^{-1}$, I^{-1}). Před vlastní analýzou je třeba analyty extrahovat z matrice a zakoncentrovat. Výběr vhodné metody přípravy vzorku pak výrazně ovlivňuje rychlost, spolehlivost a přesnost analýzy [1]. Pro zakoncentrování těkavých látek se používá destilace s vodní párou, headspace metody (extrakce plynem) a mikroextrakce tuhou fází (SPME) [2,3]. Mikroextrakce tuhou fází je bezrozpouštědlová metoda přípravy vzorku. Metoda nevyžaduje složitou instrumentaci a je založena na sorpci analytu malým množstvím extrakční fáze na povrchu křemenného vlákna. Analyty se sorbují do dosažení rovnovážného stavu. Množství extrahovaného analytu závisí na hodnotě rozdělovacího koeficientu analyt – vlákno [3]. Existuje několik typů vláken vhodných pro extrakci těkavých látek. Afinita vláken vůči analytu závisí na polaritě stacionární fáze a na vlastnostech daného analytu. K separaci sirných těkavých látek bývá nejčastěji využívána plynová chromatografie ve spojení se selektivními detektory. Selektivní detektory jsou obzvláště výhodné při analýzách rozmanitých sirných látek ve složitých maticích. Tyto

1 INTRODUCTION

In the Czech Republic and worldwide, increased attention has been devoted to sensorially active substances affecting beer quality. Sensorial character and beer analytical composition is affected by quality of brewing materials, sweet wort and hopped wort and fermentation technology and beer maturation.

Trace amounts of these substances, which can be commonly found in food, contribute to their aroma and this effect can be generally assessed as favorable. In malt or beer it is true only to a limited extent and the presence of heterocyclic and sulphur substances is assessed here rather unfavorably.

The direct analysis of sulphur sensorially active substances is feasible only seldom as they are found in the analyzed matrices (malt, beer) in very low concentrations ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, I^{-1} – $\text{ng}\cdot\text{kg}^{-1}$, I^{-1}). Before the analysis, the analytes must be extracted from the matrix and concentrated. Selection for a suitable method of the sample preparation significantly affects the rate, reliability and accuracy of the analysis [1]. Water steam distillation, headspace methods (extraction with gas) and solid-phase microextraction (SPME) are used for the concentration of volatile substances [2,3]. Solid-phase microextraction is a solventless sample preparation method. The method does not require any complicated instrumentation and is based on sorption of the analyte with a small amount of extraction phase on the surface of the silica fiber. The analytes are sorbed till the balanced state is achieved. The amount of the extracted analyte depends on the value of the partition coefficient analyte – fiber [3]. Several types of fibers suitable for the extraction of volatile substances exist. Fiber affinity to analyte depends on the polarity of the stationary phase and properties of the given analyte. The method of gas chromatography coupled with selective detectors is used for separation of volatile sulphur substances. Selective detectors are mainly advantageous at the analyses of various sulphur substances in complex matrices. These detectors can shorten time demanding sample purification, possible a cause of sam-

detektory mohou redukovat časově náročné čištění vzorků, které může být příčinou znečištění vzorků dalšími kontaminanty, nebo dokonce zřádky stanovených analytů [4]. Stále nejvíce používaným detektorem pro analýzu sírných látek je plamenový fotometrický detektor (FPD). K separaci těkavých sírných látek metodou plynové chromatografie se používají kolony s polární stacionární fází polyethylenglykolu nebo s mírně polární fází 5 % – phenyl-95 % – dimethylpolysiloxanu [2,5,6].

K extrakci a následnému zakoncentrování sírných těkavých látek byly experimentálně porovnávány analytické metody dynamická mikroextrakce na pevnou fázi a automatizovaná termická desorpce.

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Chemikálie

Dimethyl sulfid (Sigma Aldrich, USA), dimethyl disulfid (Sigma Aldrich, USA), dimethyl trisulfid (Sigma Aldrich, USA), sirouhlík (Sigma Aldrich, USA), ethyl sulfid (Sigma Aldrich, USA), diethyl disulfid (Sigma Aldrich, USA), methionol (Sigma Aldrich, USA), 3-methylthiofen (Sigma Aldrich, USA), ethyl thioacetát (Sigma Aldrich, USA), 2-methyl-1-buthanthiol (Sigma Aldrich, USA), etanol p.a. (ML Chemica, ČR), deionizovaná voda.

Chromatografická kolona

Křemenná kapilární kolona GS-GasPro (60 m x 0,32 i.d., vázaná stacionární fáze silica plot vhodná i pro GC-MS) (J&W Scientific, Labicom Česká republika).

SPDE jehly

Polydimethylsiloxan/activ charcoal (PDMS/AU) 50 µm, délka jehly 56 mm (Chromtech, Německo)

Polydemethylsiloxan (PDMS) 50 µm, délka jehly 56 mm (Chromtech, Německo).

TDAS sorbenty

Tenax TA 60/80 (Labicom, Česká republika).

Carbotrap 20/40 (Labicom, Česká republika).

Technické plyny

Helium – čistota 5.5 (Siad, Česká republika), dusík – čistota 5.0 (Siad, Česká republika), vodík – čistota 4.5 (Siad, Česká republika), vzduch – čistota 5.0 (Siad, Česká republika), technický dusík – čistota 4.0 (Siad, Česká republika), dusík (dynamická head-space) – čistota 5.5 (Siad, Česká republika).

Instrumentální vybavení

Plynový chromatograf Finnigan Trace GC Ultra (Thermo Corporation, USA) s hmotnostním detektorem Finnigan DSQ (Thermo Corporation, USA)

Plynový chromatograf Trace GC Ultra s plamenofotometrickým detektorem (FPD) selektivním pro síru (Thermo Corporation, USA)

Autosampler CombiPall vybavený automatickou SPME, SPDE a TDAS (CTC Analytics AG, Švýcarsko).

Ostatní laboratorní vybavení

Termobox Evaterm (Labicom, Česká republika), zařízení pro dynamickou head-space (Labicom, Česká republika), analytická váha TB 215-D (Denver, Německo).

Ke stanovení sírných těkavých látek byly porovnávány metody automatizované SPDE (dynamická mikroextrakce na pevnou fázi) a TDAS (automatizovaná termická desorpce). Porovnání bylo prováděno na vzorku směsného standardu, který obsahoval dimethylsulfid (DMS), dimethyldisulfid (DMDS), dimethyltrisulfid (DMTS), sirouhlík (CS₂), ethanthiol (EtSH), diethyldisulfid (DEDS), methionol, 3-methylthiofen (3MTP), ethylthioacetát (EtSAc) a 2-methyl-1-buthanthiol (2MBT). Podle ploch pík sledovaných analytů byly nalezeny vhodné podmínky pro jejich stanovení.

Byl připraven směsný standard sírných látek ředěním sledovaných analytů v 5 % roztoku ethanolu tak, aby výsledná koncentrace v 10 ml ethanolového roztoku byla pro jednotlivé analyty následující: dimethylsulfid 0,25 µg.l⁻¹, dimethyldisulfid 0,1 µg.l⁻¹, dimethyltrisulfid 0,05 µg.l⁻¹, sirouhlík 0,1 µg.l⁻¹, ethanthiol 0,3 µg.l⁻¹, diethyldisulfid 0,4 µg.l⁻¹, methionol 5,0 µg.l⁻¹, 3-methylthiofen 0,1 µg.l⁻¹, ethylthioacetát 0,05 µg.l⁻¹ a 2-methyl-1-buthanthiol 0,3 µg.l⁻¹.

Takto připravený roztok byl použit pro porovnání výtěžností různých metod extrakce.

ple contamination or even loss of the determined analytes [4]. The flame photo detector (FPD) is the most frequently used detector for the analysis of sulphur substances. For separation of sulphur volatile substances by the gas chromatography method, the columns with polar stationary phase of polyethylene glycol or with mildly polar phase 5 % – phenyl-95 % – dimethyl polysiloxan are used [2,5,6].

The analytical methods of dynamic solid phase microextraction and automated termic desorption were experimentally compared for the extraction and subsequent concentration of sulphur volatile substances.

2 EXPERIMENTAL PART

Chemicals

Dimethyl sulfide (Sigma Aldrich, USA), dimethyl disulfide (Sigma Aldrich, USA), dimethyl trisulfide (Sigma Aldrich, USA), carbon disulfide (Sigma Aldrich, USA), ethyl sulfide (Sigma Aldrich, USA), diethyl disulfide (Sigma Aldrich, USA), methionol (Sigma Aldrich, USA), 3-methylthiofen (Sigma Aldrich, USA), ethyl thioacetate (Sigma Aldrich, USA), 2-methyl-1-buthanthiol (Sigma Aldrich, USA), ethanol p.a. (ML Chemica, CR), deionized water.

Chromatographic column

Silica capillary column GS-GasPro (60 m x 0.32 i.d., bonded stationary phase silica plot suitable also for GC-MS) (J&W Scientific, Labicom Czech Republic).

SPDE needles

Polydimethyl siloxane/active charcoal (PDMS/AC) 50 µm, needle length 56 mm (Chromtech, Germany)

Polydemethyl siloxane (PDMS) 50 µm, needle length 56 mm (Chromtech, Germany)

TDAS sorbents

Tenax TA 60/80 (Labicom, Czech Republic).

Carbotrap 20/40 (Labicom, Czech Republic).

Technical gases

Helium – purity 5.5 (Siad, Czech Republic), nitrogen – purity 5.0 (Siad, Czech Republic), hydrogen – purity 4.5 (Siad, Czech Republic), air – purity 5.0 (Siad, Czech Republic), technical nitrogen – purity 4.0 (Siad, Czech Republic), nitrogen (dynamic head-space) – purity 5.5 (Siad, Czech Republic).

Instrumentation

Gas chromatograph Finnigan Trace GC Ultra (Thermo Corporation, USA) with mass detector Finnigan DSQ (Thermo Corporation, USA)

Gas chromatograph Trace GC Ultra with flame photometric detector (FPD) selective for sulphur (Thermo Corporation, USA)

Autosampler CombiPall equipped with automatic SPME, SPDE and TDAS (CTC Analytics AG, Switzerland).

Other laboratory equipment

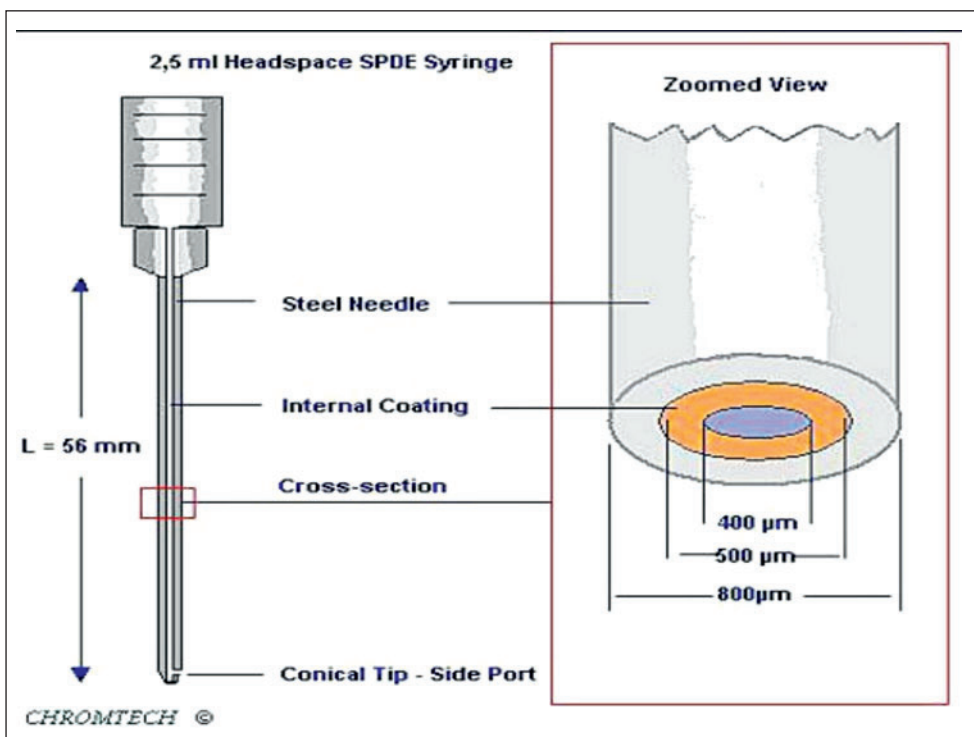
Termobox Evaterm (Labicom, Czech Republic), equipment for dynamic head-space (Labicom, Czech Republic), analytical balance TB 215-D (Denver, Germany)

The automated Solid Phase Microextraction method (SPME) and Thermic Desorption System (TDSA) were compared for the determination of sulphur volatile substances.

Comparison was conducted on a sample of mixed standard containing dimethyl sulfide (DMS), dimethyl disulfide (DMDS), dimethyl trisulfide (DMTS), carbon disulfide (CS₂), ethanthiol (EtSH), diethyl disulfide (DEDS), methionol, 3-methylthiofen (3MTP), ethylthio acetate (EtSAc) and 2-methyl-1-buthanthiol (2MBT). According to the size of peak areas of the studied analytes, suitable conditions for their determination were found.

Mix standard of sulfur substances was prepared by diluting the studied analytes in 5 % ethanol solution so that the resulting concentration in 10 ml ethanol solution for the individual analytes was as follows: dimethyl sulfide 0.25 µg.l⁻¹, dimethyl disulfide 0.1 µg.l⁻¹, dimethyl trisulfide 0.05 µg.l⁻¹, carbon disulfide 0.1 µg.l⁻¹, ethanthiol 0,3 µg.l⁻¹, diethyl disulfide 0.4 µg.l⁻¹, methionol 5.0 µg.l⁻¹, 3-methylthiofen 0.1 µg.l⁻¹, ethylthio acetate 0.05 µg.l⁻¹ and 2-methyl-1-buthanthiol 0.3 µg.l⁻¹.

The prepared solution was used for the comparison of the different extraction methods for recovery.



Obr. 1 Schéma jehly pro SPDE extrakci [7] / Fig. 1 Needle scheme for SPDE extraction [7]

Stanovení sírných těkavých látek automatizovanou metodou SPDE

SPDE je novější a modernější uspořádání SPME. Jedná se o dynamickou extrakci kapalných nebo plyných vzorků. Princip metody SPDE je obdobný jako SPME s tím rozdílem, že sorbent je nanesen na vnitřní povrch jehly připojené k plynotěsné stříkačce (obr. 1). Opakovaným nabíráním plynné (HS – SPDE) nebo kapalně fáze (DI – SPDE) vzorku dochází k zakoncentrování stanovovaných analytů uvnitř jehly.

Do 20 ml vialky na head-space bylo převedeno 10 ml roztoku směsného standardu. Vialka byla hermeticky uzavřena a vložena do automatického dávkovače CombiPal (CTC). Byly testovány 2 SPDE jehly: polydimethylsiloxan/aktiv charcoal (PDMS/AU) 50 µm, délka jehly 56 mm a polydimethylsiloxan (PDMS) 50 µm, délka jehly 56 mm. Inkubační doba vzorku při 50 °C byla 30 min, teplota jehly byla nastavena na 35 °C, počet extrakčních cyklů byl 15. Desorpční objem plynu He byl 500 µl. Jedná se o objem plynu (He), který při desorpci projde z plynotěsné stříkačky přes jehlu s nasorbovanými analyty do PTV injektoru. Rychlost plynu při desorpci byla 50 µl.s⁻¹, celková doba desorpce v PTV injektoru byla 3 min při 250 °C a hloubka vnoření jehly do injektoru 4,5 cm.

Po desorpci byly sírné látky separovány na kapilární koloně GS Gaspro. Kondicionace jehly (vypálení) po skončení desorpce byla nastavena na 5 min při 250 °C.

Stanovení sírných těkavých látek metodou TDAS

Pro extrakci a zakoncentrování byla testována a optimalizována dynamická head-space metoda (obr. 2) s automatizovanou termickou desorpcí.

10 ml směsného standardu v 5 % ethanolovém roztoku bylo ve stripovací nádobce probubláváno inertním plynem dusíkem. Doba stripování byla 30 min při 50 °C, rychlost dusíku byla 10 ml.min⁻¹. Před stripováním byl vzorek kondicionován 10 min při 50 °C.

Těkavé analyty se sorbovaly na sorbentu v termo-desorpční trubici. Po skončení doby sorpce byla sorpční trubice umístěna v modulu pro plně automatickou tepelnou desorpci vzorků dávkovače CombiPal (TDAS). Sledované analyty byly následně z desorpční trubice dopravovány na chromatografickou kolonu pouze přes jehlu, kterou lze snadno tepelně vyčistit a tím zamezit nežádoucí kontaminaci následujících vzorků. Teplota desorpce byla 250 °C po dobu 5 min, rychlost desorpčního plynu He byla 1,5 ml.min⁻¹.

Determination of sulphur volatile substances with the automated SPDE method

SPDE is the newest and the most modern SPME set-up. It is the system for dynamic extraction of liquid and gaseous samples. The principle of this method is similar as that of SPME but in contrast to it, sorbent is applied on the inner wall of the needle of the gas-tight syringe (Fig. 1). The analytes determined are concentrated by repeated introduction of gaseous (HS – SPDE) or liquid (DI – SPDE) sample phase.

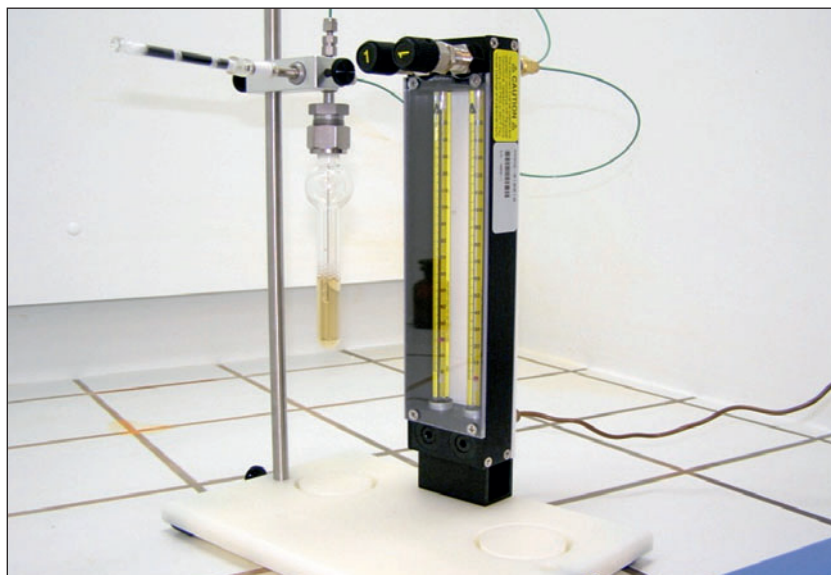
10 ml of solution of mixed standard was transferred to the head-space vial (20 ml). The vial was hermetically closed and placed into the automatic sampler CombiPal (CTC). Two SPDE needles were tested: polydimethyl siloxane/activ charcoal (PDMS/AC) 50 µm, length of the needle 56 mm and polydimethyl siloxane (PDMS) 50 µm, length of the needle 56 mm. Sample incubation time at 50 °C was 30 min. Needle temperature was set to 35 °C, number of extraction cycles was 15. Desorption volume of gas He was 500 µl. i.e. the volume of the gas (He) passing during desorption from the gas-tight syringe through a needle with the sorbed analytes to the PTV injector), desorption gas flow rate 50 µl.s⁻¹, total desorption time in the PTV injektor was 3 min at 250 °C and needle insertion depth was 4.5 cm. After desorption, sulfur substances were separated on the GS Gaspro capillary column. The needle was conditioned for 5 min at 250 °C.

Determination of sulphur volatile substances with the TDAS method

The dynamic head-space method (Fig. 2) with automated thermic desorption was tested and optimized for the extraction and concentration.

Inert gas nitrogen bubbled through 10 ml of mix standard in 5 % ethanol solution in a strip tube. Stripping time was 30 min at 50 °C, nitrogen flow rate was 10 ml.min⁻¹. Prior to stripping, the sample was conditioned for 10 min at 50 °C.

The volatile analytes were trapped to the sorbent in the thermo-desorption tube. After completing the resorption time, the sorption tube was placed in the module for fully automatic thermal desorption of the sampler CombiPal (TDAS). Subsequently, the studied analytes



Obr. 2 Zařízení pro dynamickou head-space / Fig. 2 Dynamic head-space equipment

Systém TDAS nepoužívá žádnou „transferline“ a je plně automatizován. Termodesorpční trubička byla naplněna 100 mg Tenaxu TA nebo 100 mg Carbotrapu.

Po desorpci byly sirné látky separovány na kapilární koloně GS GasPro.

Instrumentace a chromatografické stanovení

Vlastní stanovení sirných těkavých látek u automatizovaných SPDE a TDAS metod bylo prováděno na plynovém chromatografu Trace Ultra s FPD detektorem. K separaci byla použita kapilární kolona GS-Gaspro (60 m x 0,32 mm) s následujícím teplotním programem: počáteční teplota 40 °C po dobu 1 min, nárůst teploty 4 °C·min⁻¹ do 240 °C, doba setrvání 15 min. Konstantní průtok nosného plynu He 1.5 ml·min⁻¹. Teplota FPD detektoru 180 °C, průtok vzduchu 105 ml·min⁻¹, průtok vodíku 90 ml·min⁻¹, průtok dusíku (make-up) 20 ml·min⁻¹.

U HS-SPDE techniky byl PTV injektor nastaven na 250 °C, režim splitless uzavřen po dobu 5 min. Pro TDAS byl PTV injektor nastaven na teplotu 40 °C, režim splitless uzavřen 5 min. Po této době byl injektor vyhřát ze 40 °C na 240 °C (doba prodlevy 10 min), rychlost ohřevu 15 °C·min⁻¹.

Identifikace analyzovaných těkavých látek byla provedena na základě porovnání retenčních časů se standardem, kvantifikace byla provedena pomocí kalibrační křivky.

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

U automatizované metody SPDE byly za stejných experimentálních podmínek porovnávány dvě jehly s různou stacionární fází. Jehla se stacionární fází PDMS (polydimethylsiloxan) a jehla s kombinovanou stacionární fází PDMS/AU (polydimethylsiloxan a aktivní uhlí). Na jehlu s kombinovanou stacionární fází se nasorbovaly všechny sledované analyty a výtěžnost sorpce byla velmi dobrá (obr. 3).

Při optimalizaci automatizované metody TDAS byly testovány dva typy sorbentů – Tenax TA a Carbotrap. Oba sorbenty se používají pro analýzy těkavých látek. Vhodnější pro analýzy sirných těkavých látek byl Tenax TA (obr. 4). Na sorbentu Tenax TA se zakoncentrovalo všech 10 sledovaných sirných látek: dimethylsulfid (DMS), dimethyldisulfid (DMDS), dimethyltrisulfid (DMTS), sirouhlík (CS₂), ethanthiol (EtSH), diethyldisulfid (DEDS), methionol, 3-methylthiofen (3MTP), ethylthioacetát (EtSAC) a 2-methyl-1-buthanthiol (2MBT), zatímco na sorbentu Carbotrap pouze 5 analytů (3MTP, DMDS, DEDS, EtAc, EtSH).

4 ZÁVĚR

K extrakci a následnému zakoncentrování sirných těkavých látek byly experimentálně porovnávány automatizované analytické metody

were transferred from the desorption tube to the chromatographic column through a needle which can be easily cleaned thermally reducing thus contamination of the following samples.

Temperature of desorption was 250 °C for 5 min, flow rate of desorption gas He was 1.5 ml·min⁻¹.

The TDAS system does not use any “transferline” and is fully automated. The thermodesorption tube was filled with Tenax TA (100 mg) or Carbotrap (100 mg).

After desorption, sulfur substances were separated on the GS GasPro capillary column.

Instrumentation and chromatographic determination

The determination of the volatile sulfur substances was in the automated SPDE and TDAS methods conducted on the gas chromatograph Trace Ultra with the FPD detector. The GS-Gaspro (60 m x 0.32 mm) capillary column was used for separation with a following thermal program: initial temperature 40 °C for 1 min, increase in temperature 4 °C·min⁻¹ to 240 °C, maintained for 15 min. Constant flow rate of a carrier gas He 1.5 ml·min⁻¹. Temperature of the FPD detector 180 °C, air flow rate 105 ml·min⁻¹, hydrogen flow rate 90 ml·min⁻¹, nitrogen flow rate (make-up) 20 ml·min⁻¹.

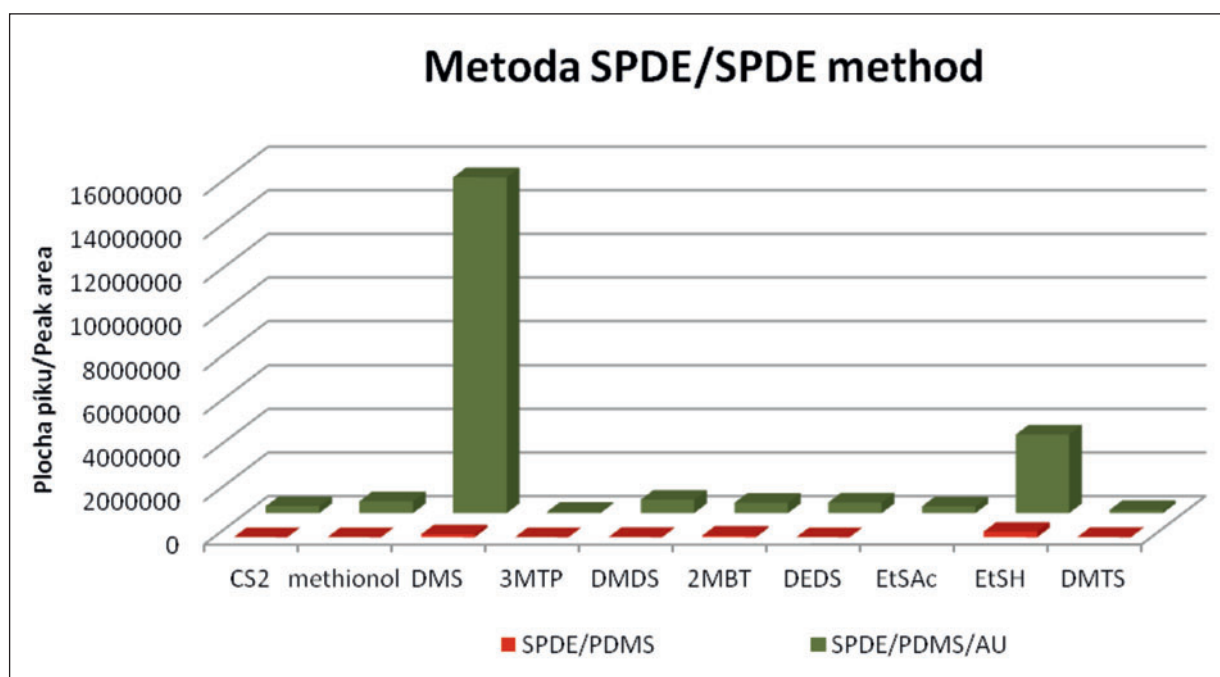
In the HS-SPDE technique the PTV injector was set to 250 °C, splitless regime closed for 5 min. For the TDAS, the PTV injector was set to 40 °C, splitless regime closed for 5 min. After this time, the injector was heated from 40 °C to 240 °C (10 min), rate of heating 15 °C·min⁻¹.

The analyzed volatile substances were identified on the basis of the comparison of retention times with the standard, quantification was conducted with a calibration curve.

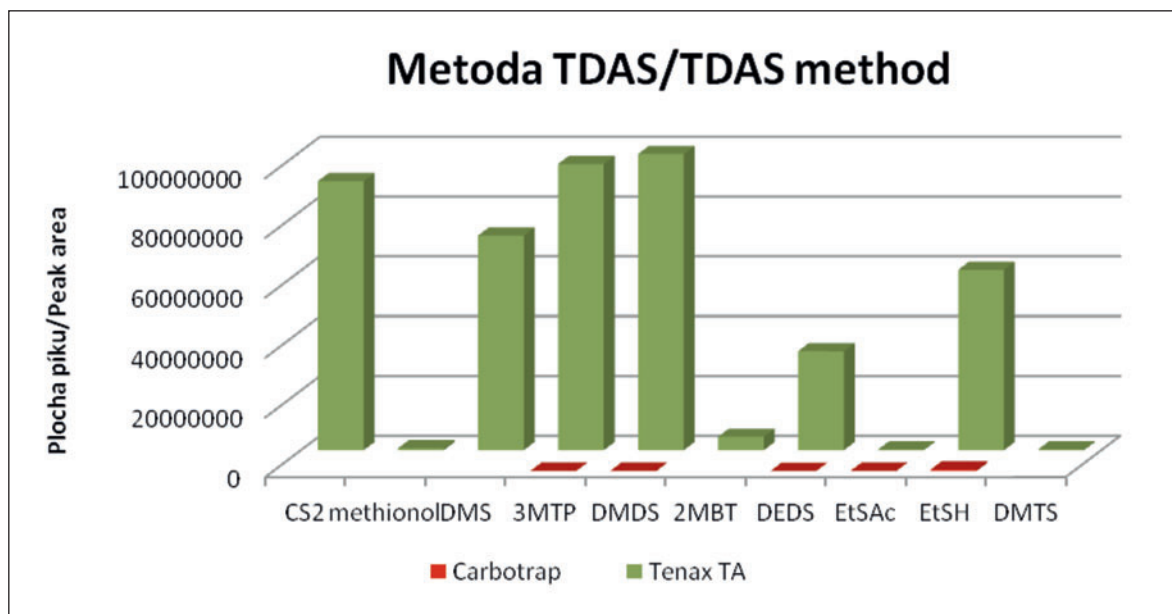
3 RESULTS AND DISCUSSION

In the automated SPDE method, two types of needles with different stationary phases were compared under the same conditions: a needle with PDMS (polydimethyl siloxan) stationary phase and a needle with combined PDMS/active charcoal stationary phase. All the studied analytes sorbed to the needle with combined stationary phase and extraction recovery of sorption was very good (Fig. 3).

For optimization of the automated TDAS method two types of sorbents – Tenax TA and Carbotrap were tested. Both sorbents are used for the analyses of volatile sulphure substances. Tenax TA was more suitable for the analyses of volatile sulphure substances (Fig. 4). All 10 studied sulphur substances were concentrated on Tenax TA sorbent: dimethylsulfid (DMS), dimethyl disulfide (DMDS), dimethyl trisulfide (DMTS), carbon disulfide (CS₂), ethanthiol (EtSH), diethyl disulfide (DEDS), methionol, 3-methylthiofen (3MTP), ethylthio acetate (EtSAC) and 2-methyl-1-buthanthiol (2MBT), while on the Carbotrap sorbent only 5 analytes (3MTP, DMDS, DEDS, EtAc, EtSH).



Obr. 3 Porovnání jehel PDMS a PDMS/AU/ Fig. 3 Comparison of PDMS and PDMS/AC needles



Obr. 4 Porovnání sorbentů Tenax TA a Carbotrap / Fig. 4 Comparison of sorbents Tenax TA and Carbotrap

SPDE (dynamická mikroextrakce na pevnou fázi) a TDAS (automatizovaná termická desorpce). Pro vlastní analýzu sirných těkavých látek byla použita plynová chromatografie ve spojení s plamenofotometrickým detektorem. Byly sledovány tyto těkavé sirné látky: dimethylsulfid, dimethyldisulfid, dimethyltrisulfid, sirouhlík, ethylsulfid, diethyldisulfid, methionol, 3-methylthiofen, ethylthioacetát, 2-methyl-1-buthanthiol.

Pro metodu HS-SPDE byly testovány dva typy jehel s různými stacionárními fázemi (PDMS a kombinovaná stacionární fáze PDMS/aktivní uhlí). I když obě stacionární fáze jsou vhodné pro stanovení těkavých látek, měla větší výtěžnost pro stanovené analyty kombinovaná stacionární fáze PDMS/AU. U dynamické head-space metody byly testovány dva typy sorbentů – Tenax TA a Carbotrap. Vhodnější byl sorbent Tenax TA [4]. Jako nejvhodnější metoda pro stanovení sirných těkavých látek se na základě dosažených výsledků jeví metoda dynamické head-space ve spojení TDAS se sorbentem Tenax TA. Metoda SPDE má velmi dobrou výtěžnost pro sledované sirné látky, ale musí být ovládána autosamplerem. Tento způsob extrakce není možno provádět ručně, protože by se při ruční manipulaci nedosáhlo potřebné opakovatelnosti. V každém případě je tato metoda robustnější než metoda SPME.

Poděkování

Výsledků bylo dosaženo v rámci projektu MSMT 2B08057.

Recenzovaný článek / Reviewed paper

Do redakce došlo / Manuscript received: 22. 5. 2011

Přijato k publikování / Accepted for publication: 23. 6. 2011

LITERATURA / REFERENCES

1. Davídek, J., a kol.: Laboratorní příručka analýzy potravin. 2. vyd., SNTL, Praha, 1981, 718 s. ISBN 04-814-81.
2. Mestres, M., Busto, O., Guasch, J.: Chromatographic analysis of volatile sulphur compounds in wines using the static headspace technique with flame photometric detection. *Journal of Chromatography A*, **773**, 1997, vol.773, 261–269.
3. Pawliszyn, J.: Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography A*, **880**, 2000, 35–62.
4. Wardencki, W.: Problems with the determination of environmental sulphur compounds by gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, **793**, 1998, 1–19.

4 CONCLUSION

For extraction and subsequent concentration of sulphur volatile substances, the analytical methods of solid phase dynamic microextraction (SPDE) and automated thermal desorption (TDAS) were experimentally compared. The method of gas chromatography coupled with a flame detector was used for the analysis of sulphur-containing volatile substances. Following volatile sulphur substances were studied dimethyl sulfide, dimethyl disulfide, dimethyl trisulfide, carbon disulfide, ethyl sulfide, diethyl disulfide, methionol, 3-methylthiofen, ethylthioacetate, 2-methyl-1-buthanthiol. According to the size of peak areas of the studied analytes, suitable conditions for their determination were found.

For the HS-SPDE method, two types of needles with different stationary phases (PDMS and combined stationary phase PDMS/active charcoal) were checked. Although both stationary phases are suitable for the determination of volatile substances, the combined PDMS/AC stationary phase provided better recovery of the analytes determined.

In the dynamic head-space method two types of sorbents – Tenax TA and Carbotrap were tested. Tenax TA was found to be a more suitable sorbent [4]. Based on the results achieved, the dynamic head-space system in combination with TDAS with Tenax TA sorbent was confirmed as the best technique for the determination of volatile sulfur substances. The SPDE method provides a very good recovery for the studied sulfur substances but it must be controlled via the autosampler. This extraction cannot be operated manually as needed repeatability would not be achieved. The SPDE method it is a more robust method compared to the SPME technique.

Acknowledgements

The results were obtained within the project of the MEYS 2B08057.

Translated by Mgr. Vladimíra Nováková

5. Scarlata, Ch., J., Ebeler, S., E.: Headspace Solid-Phase Microextraction for the Analysis of Dimethyl Sulfide in Beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47**, 1999, 2505–2508.
6. 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. *Journal of Chromatography A* **872**, 2000, 2003–2013.
7. Dostupné z: <http://www.chromtech.de:>. Získáno 6. červen 2011, z www.chromtech.de: http://www.chromtech.de/index.php?CAT=635&CAT=635&SUBCAT=593&page=283&PHPSESSID=b85322fd30ece414d3a09c368af3a832&lang=en