

# Z výzkumu a praxe

## POROVNÁNÍ EXTRAKČNÍCH METOD PRO IZOLACI TĚKAVÝCH LÁTEK Z PIVA

Ing. P. DOSTÁLEK, CSc., Ing. P. KWACZEK, Ing. J. ŘEZÁČ, Doc. Ing. J. ČEPIČKA, CSc.  
Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

**Klíčová slova:** pivo, těkavé látky, izolace, metody, porovnání

### ÚVOD

Mezi těkavé látky piva se řadí vyšší alkoholy, estery, mastné kyseliny, aldehydy, ketony, chmelové silice, těkavé sirné sloučeniny a aminy. Jejich obsah v pivu obecně závisí na složení surovin a následně mladin, technologii hlavního kvašení a dokvašování a na použitém kmenu kvasinek. Méně podstatné změny v obsahu vyšších alkoholů, esterů a mastných kyselin nastávají při stáčení, pasteraci a skladování.

Těkavé látky piva podstatně ovlivňují jeho organoleptické vlastnosti. Objektivní zhodnocení těchto vlastností je však problematické, neboť kritéria jako plnost chuti, říz, cizí vůně a podobně nelze stanovit na základě chemických či mikrobiologických analýz. Na senzorických vlastnostech piva se podílí široká škála sloučenin ve vzájemně dosud nedefinovaných poměrech [1]. Z tohoto hlediska se stanovení těkavých látek v pivu jeví jako vhodný objektivní doplněk k senzorické analýze. Z hlediska přítomnosti vedlejších chutí a vůni je významné, zda naměřené koncentrace těkavých látek nepřekročí prahové hodnoty vnímání, které jsou uvedeny v tabulce 1.

Zejména v poslední době může na kontrolu kvality piva navazovat certifikace výrobku podle ISO norem. Zde by se také analýza těkavých látek mohla vhodně uplatnit.

Pro stanovení těkavých látek v pivu se využívají především chromatografické (GC, HPLC) a spektrofotometrické metody, které však bývají méně selektivní. Zde je diskutováno stanovení vyšších alkoholů, esterů a mastných kyselin plynovou chromatografií. Před vlastní chromatografií je třeba analyzované složky oddělit od interferujících, chránit tak kolonu před znečištěním, dále umožnit případnou derivativaci a zabezpečit lepší reprodukovatelnost výsledků, což se dá provádět několika způsoby.

Tabulka 1. Prahové koncentrace vnímání některých těkavých látek v pivu

Vyšší alkoholy	Prahové koncentrace (mg/l)	Esterы	Prahové koncentrace (mg/l)	Mastné kyseliny	Prahové koncentrace (mg/l)
n-propanol	800,00	ethylacetát	33,00	kys. octová	175,00
2-butanol	16,00	propylacetát	30,00	kys. 2-methylpropanová	30,00
2-methyl-1-propanol	200,00	ethylbutyrát	0,40	kys. butanová	2,20
n-butanol	450,00	butylacetát	7,50	kys. 3-methylbutanová	1,50
3-methyl-1-butanol	65,00	3-methyl-1-butylacetát	1,60	kys. pentanová	8,00
2-methyl-1-butanol	70,00	ethylhexanoát	0,23	kys. hexanová	8,00
furfurylalkohol	3000,00	ethyloktanoát	0,90	kys. oktanová	0,87
2-fenylethanol	125,00	2-fenylethylacetát	3,8	kys. dekanová	10,00
linalool (chmel, silice)	0,08	ethyldecanoát	1,5	kys. dodekanová	6,10
		ethyltetradekoát	2,5		

Stanovení těkavých látek v pivu lze provádět destilací s vodní parou a následnou extrakcí destilátu organickým rozpouštědlem s nižší afinitou vůči ethanolu (diethylether, směs trichlormethan a methanol, směs n-pentan a dichlormethan a další). Po ukončení extrakce se směs odvodní bezvodu anorg. solí, ta se dekantací odstraní, přebytek rozpouštědla se odpaří při maximální teplotě 38 °C a získaný koncentrát se nastříkne na kolonu [2].

Při statické headspace analýze je vzorek piva vložen do vzorkovnice, uzavřen, natlakován inertním plynem a temperován, až se vytvoří rovnováha mezi kapalnou a plynnou fází. K nástříku plynné fáze do kolony chromatografu se používá plynотěsná stříkačka temperovaná na teplotu o něco vyšší, než je teplota vzorku, aby nedocházelo ke

kondenzaci par na stěně stříkačky. Manuální nástrík však přesto může dávat výsledky zatížené určitou chybou, a proto vhodnějším způsobem je vymýt plynne fáze nosným plymem z naplněné dávkovací smyčky přes vícecestný dávkovací ventil směrem do kolony [3, 4, 5].

Vyšší citlivosti proti předchozí metodě dosahuje dynamická headspace analýza („purge and trap“). Vzorek piva je promýván inertním plymem (dusík, helium), uvolněné těkavé látky jsou jímány v sorpční trubici, sorbentem bývá aktivní uhlí nebo chromosorb, porapak a další. Po určité době jsou zachycené látky extrakčním rozpouštědlem nebo superkritickým oxidem uhličitým a proudem inertního plynu desorbovány a přímo vedeny do chromatografické kolony. Metoda je zvláště vhodná pro stanovení vysoce těkavých látek, které často nelze stanovit u extrakčních technik a statické headspace metody. Avšak naopak málo těkavé látky buď stanovit nelze, nebo jsou získané údaje zkresleny [6, 7, 8, 9, 10]. Někdy ale dochází u dynamické headspace metody k průrazu sorpční trubice a nezanedbatelné potíže působí, například při kryofokusaci, zamrzání trubice vodou zachycenou na loži sorbentu.

Další možnosti stanovení těkavých látek piva jsou extrakční postupy v systému kapalina—kapalina. Za vhodné rozpouštědlo lze považovat středně polární látku nemísetelnou s vodou schopnou extrahat mastné kyseliny, vyšší alkoholy a estery. Používají se například ethylpropionát, hexanol, hexan, ethylacetát a sirouhlík [10].

Mohou se také využít kombinace některých metod. Těkavé látky eluující se při plynové chromatografii před ethylkaprylátom se stanoví headspace analýzou, která je rychlá a přesná. Méně těkavé sloučeniny jsou analyzovány pomocí extrakce do hexanolu [10].

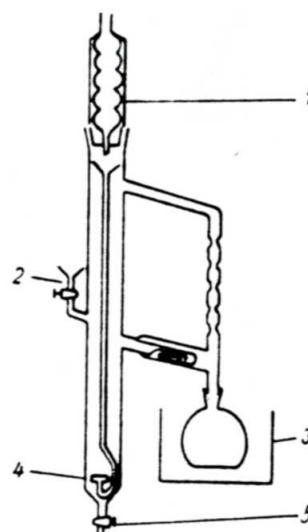
Poměrně rychlou a jednoduchou metodou na zkonzentrování vzorku před vlastní chromatografickou analýzou je extrakce na pevné fázi [11]. Vzorek piva protéká mikrokolonkou, v níž je umístěn tuhý sorbent, který adsorbuje stanovované látky. Dalším krokem bývá promytí kolonky za účelem odstranění balastních složek a potom následuje vlastní eluce žádaných složek vhodným rozpouštědlem (diethylether, dichlormethan, hexan a jiné). Jako sorbent se nejčastěji používá oktaadecylsilikagel a další modifikované silikagely [12].

## METODY

### Izolace těkavých látek z piva

Destilace s vodní párou a extrakce v kontinuálním extraktoru

Změřený objem vychlazeného piva (přibližně 1 l) byl dán do destilační baňky spolu s 1 ml roz-



Obr. 1 Kontinuální extraktor pro extrakci těkavých látek piva směsi n-pentan a dichlormethan

1 — vodní chladič, 2 — nalévací otvor, 3 — vodní lázeň, 4 — frita, 5 — výpustní otvor

toku standardu (n-hexanol) o koncentraci 68 mg/l 96 % ethanolu. Destilace byla prováděna přeháněním vodní párou. Destilát byl jímán do tří předloh. V první byla zachycena kapalná fáze, v dalších dvou předlohách, které byly chlazeny na 0 °C a na -70 °C, byla jímána do roztoku rozpouštědla (pentan a dichlormethan v poměru 2 : 1) plynná fáze.

Destilát z první předlohy byl převeden do kontinuálního extraktoru (obr. 1), a spolu se 120 ml extrakční směsi rozpouštědel (pentan a dichlormethan v poměru 2 : 1) extrahoval při teplotě 46 °C. Doba extrakce byla modifikována z 24 h na 16, 8 a 2 h. Potom se extrakt sušil bezvodým síramem sodným v mrazničce 12 h a následně se spojil s podíly z druhé a třetí předlohy (byly sušeny stejným způsobem). Sušidlo bylo odstraněno dekanací a nadbytek rozpouštědla odpařen na vodní lázni o teplotě 36 °C. Poté následovala chromatografická analýza s nástříkem 1 µl na kolonu.

### Destilace s vodní párou a následným vytřepáním do dichlormethanu

Destilace byla shodná jako v předchozím případě s tím, že destilát byl jímán pouze do první předlohy. 250 ml získaného destilátu bylo extrahovalo 10 ml dichlormethanu po dobu 30 min na třepačce. Potom byl vzorek odstředěn, ze dna kvety odebrána organická fáze a ihned nastříknuta na kolonu chromatografu.

### Způsob vyhodnocení výsledků

Vyhodnocení množství těkavých látek (obou metod) bylo provedeno metodou vnitřního standardu, přičemž jako základ pro výpočet byly použity absolutní plochy piků. Koncentrace stano-

vovaných látek v pivu byly spočteny podle následujícího vztahu:

$$Ci = (Ai \cdot Cs \cdot Sf \cdot Rfi) / As$$

kde  $Ci$  ..... koncentrace látky  $i$  (mg/l)  
 $Cs$  ..... koncentrace vnitřního standardu (mg/l)  
 $Ai$  ..... plocha píku látky  $i$  (mVs)  
 $As$  ..... plocha píku vnitřního standardu (mVs)  
 $Sf$  ..... přepočítávací faktor (vyjadřuje odchylku od standardního objemu vzorku)  
 $Rfi$  ..... podíl odezvových faktorů pro látku  $i$  a vnitřní standard

Kalibrace byly prováděny odděleně pro jednotlivé skupiny látek (zvlášť alkoholy, estery a mastné kyseliny) kvůli možné vzájemné interakci složek. Byly stanoveny poměry odezvových faktorů pro všechny látky podle tohoto vzorce:

$$Rfi = (As' / Ai') \cdot (Ci' / Cs')$$

kde  $As'$  ..... plocha píku vnitřního standardu (mVs)  
 $Ai'$  ..... plocha píku látky  $i$  (mVs)  
 $Ci'$  ..... koncentrace látky  $i$  ve standardní směsi (mg/l)  
 $Cs'$  ..... koncentrace vnitřního standardu ve standardní směsi (mg/l)

### Plynová chromatografie

Chromatografické dělení bylo prováděno na plynovém chromatografu Hewlett Packard 5890/II za těchto podmínek.

#### Chromatografická kolona HP-5

- délka kolony 30 m, vnitřní průměr 0,32 mm
- tloušťka filmu stacionární fáze 0,25 µm

#### Stacionární fáze

- 5 % difenyl- a 95 % dimethylpolysiloxan

#### Detektor

- plamenoionizační (FID)

Teplota nástřiku — 220 °C

Teplota detektoru — 220 °C

#### Tepletovní režim na koloně

- výchozí teplota 30 °C (5 min)
- gradient 4 °C/min do 70 °C
- gradient 7 °C/min do 160 °C
- gradient 15 °C/min do 220 °C

Nosný plyn — dusík, průtok 3,9 ml/min

#### Pomocné plyny

- vodík, průtok 38,3 ml/min
- vzduch, průtok 768,2 ml/min

### Vzorek piva

Vzorkem piva pro porovnávání metod stanovení těkavých látek bylo 12% standardní světlé české pivo.

## VÝSLEDKY

Tabulka 2. Spektrum stanovených látek pro použité extrakční metody

Vyšší alkoholy	Estery	Mastné kyseliny
1-propanol	ethylacetát	kyselina octová
2-butanol	2,2-dimethylethylacetát	kyselina
2-methyl-1-propanol	propylacetát	2-methylpropanová
1-butanol	ethylbutyrát	kyselina butanová
3-methyl-1-butanol	butylacetát	kyselina
2-methyl-1-butanol	3-methyl-1-butylacetát	3-methylbutanová
furfurylalkohol	2-methyl-1-butylacetát	kyselina pentanová
2-ethyl-1-hexanol	ethylhexanoát	kyselina hexanová
2-fenylethanol	ethyloctanoát	kyselina oktanová
	2-fenylethylacetát	kyselina
	ethyldecanoát	2-ethylhexanová
	ethyltetradekoát	kyselina nonanová
	ethylhexadekoát	kyselina dekanová
		kyselina dodekanová

Tabulka 3. Obsah těkavých látek v pivu při 24 h a 16 h extrakci

Skupina látek	24 h extrakce (mg/l)	16 h extrakce (mg/l)
estery (E)	32,70	39,63
vyšší alkoholy (VA)	98,38	94,29
mastné kyseliny	20,64	28,49
poměr VA/E	3,02	2,38

Tabulka 4. Obsah těkavých látek v pivu při 8 h a 2 h extrakci

Skupina látek	8 h extrakce (mg/l)	2 h extrakce (mg/l)
estery (E)	30,73	28,19
vyšší alkoholy (VA)	77,51	74,63
mastné kyseliny	23,07	21,59
poměr VA/E	2,52	2,65

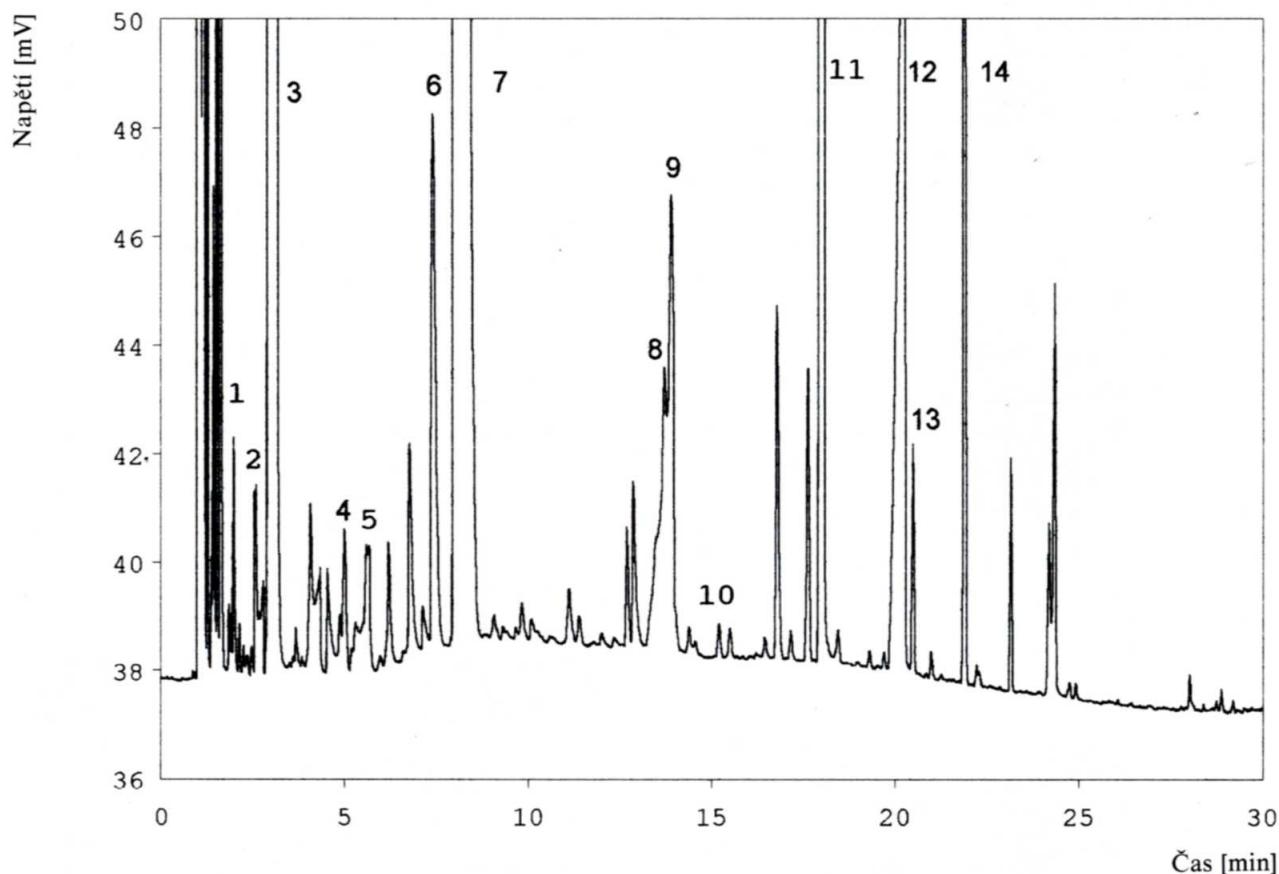
Tabulka 5. Obsah těkavých látek v pivu při vytřepání do dichlormethanu

Skupina látek	mg/l
estery (E)	23,11
vyšší alkoholy (VA)	87,01
mastné kyseliny	26,45
poměr VA/E	3,71

Pro všechny analýzy byly prováděny 4 paralelní stanovení. Spektrum stanovených látek je uvedeno v tabulce 2. Obsahy jednotlivých skupin látek při různé době extrakce jsou uvedeny v tabulkách 3 a 4. V tabulce 5 jsou vyjádřeny koncentrace těkavých látek metodou vytřepání do dichlormethanu. Vždy se jedná o aritmetické průměry ze čtyř stanovení. Obsahy ethylacetátu, 3-methyl-1-butanolu a 2-fenylethanolu pro jednotlivé metody jsou znázorněny v obr. 3—5 a v tabulce 6. Ukázka části chromatogramu analýzy těkavých látek v pivu spolu s popisem některých píků je vidět na obrázku 2.

### Srovnání obsahu těkavých látek při různé době extrakce

Z uvedených tabulek 3 a 4 názorně vyplývají rozdíly mezi 24, 16, 8 a 2hodinovou dobou extrak-



Obr. 2 Chromatografická analýza těkavých látek piva po 24hodinové extrakci

**Popis vybraných píků:**

1 — 1-butanol, 2 — propylacetát, 3 — 3-methyl-1-butanol, 4 — ethylbutyrát, 5 — butylacetát, 6 — furfurylalkohol, 7 — n-hexanol, 8 — ethylhexanoát, 9 — kyselina hexanová, 10 — 2-ethyl-1-hexanol, 11 — fenylethanol, 12 — kyselina 2-ethylhexanová, 13 — ethyloktanoát, 14 — 2-fenylethylacetát

ce. Jsou porovnávány odlišnosti v obsahu celkových esterů, vyšších alkoholů a mastných kyselin. Množství těkavých látek při 24hodinové extrakci bylo pro porovnání s dalšími metodami stanoveno jako 100 %.

Nejvyšší obsah vyšších alkoholů byl zjištěn u 24hodinové extrakce. Největší podíl z toho tvoří 3-methyl-1-butanol a 2-fenylethanol. Se zkracováním doby extrakce se obsah vyšších alkoholů zmenšoval, u 16hodinové extrakce na 95,6 %, u 8hodinové na 78,6 % a u 2hodinové na 75,7 % z hlediska 24hodinové extrakce. Z toho plyne, že nevhodnější délka extrakce pro stanovení vyšších alkoholů byla 24 h. Výsledky pro tuto metodu se shodují s literaturou [2].

Naproti tomu v případě esterů se dosáhlo nejvyšších koncentrací u 16hodinové extrakce — 121,2 % proti 24hodinové, přičemž nejvyšší vliv na to měl zvýšený obsah ethylacetátu. U 8hodinové extrakce bylo dosaženo 94 % obsahu esterů a u 2hodinové již pouze 86,21 % proti 24hodinové extrakci. Lze proto usuzovat, že optimální dobou extrakce v použité analytické sestavě je pro stanovení esterů 16 h.

Na změnu poměru obsahu vyšších alkoholů k esterům (VA/E) má největší vliv zmenšení koncentrace 3-methyl-1-butanolu a zvýšené množství ethylacetátu při zkrácení doby extrakce na 16 h a značně také obsah 2-fenylethanolu (viz obr. 3—5 a tabulka 6).

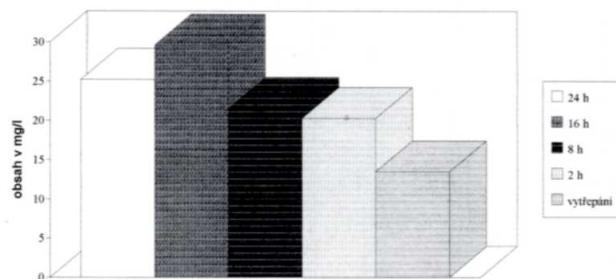
Tabulka 6. Obsah ethylacetátu, 3-methyl-1-butanolu a 2-fenylethanolu v pivu u různých metod (extrakce 24 h, 16 h, 8 h, 2 h a vytřepání do dichlormethanu)

Látka	24 h (mg/l)	16 h (mg/l)	8 h (mg/l)	2 h (mg/l)	Vytřepání (mg/l)
ethylacetát	25,25	29,62	21,58	20,26	13,46
3-methyl-1-butanol	63,90	58,71	46,69	52,52	59,24
2-fenyl-ethanol	24,83	26,47	22,75	13,69	17,55

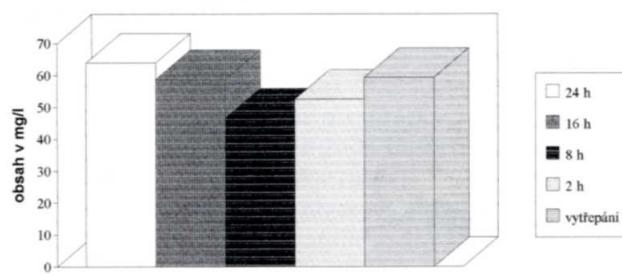
Nejvyšší obsah mastných kyselin byl dosažen při 16hodinové extrakci (137,8 %), nejnižší při 24hodinové extrakci (100 %). 8hodinová extrakce dosahuje 111,6 %, 2hodinová 104,5 %. Při delší

době extrakce zřejmě dochází k nežádoucím změnám (možná esterifikacním).

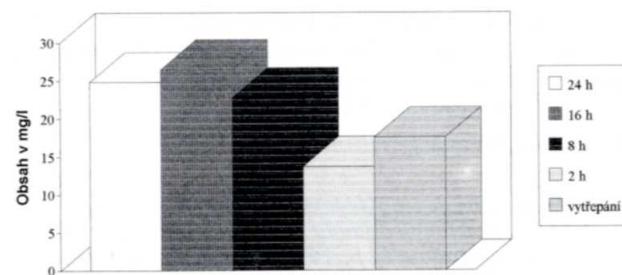
Celkový obsah těkavých látek byl největší při 16hodinové extrakci — 162,39 mg/l, a proto lze tuto dobu považovat za relativně optimální.



Obr. 3 Obsah ethylacetátu v pivu zjištěny u různých metod (kontinuální extrakce 24 h, 16 h, 8 h, 2 h a extrakce vytřepáním do dichlormethanu)



Obr. 4 Obsah 3-methyl-1-butanolu v pivu zjištěny u různých metod (kontinuální extrakce 24 h, 16 h, 8 h, 2 h a extrakce vytřepáním do dichlormethanu)



Obr. 5 Obsah 2-fenylethanolu v pivu zjištěny u různých metod (kontinuální extrakce 24 h, 16 h, 8 h, 2 h a extrakce vytřepáním do dichlormethanu)

#### Stanovení těkavých látek při vytřepávání destilátu do dichlormethanu

Vytřepáním destilátu vzorku do dichlormethanu se docílí 88,3 % vyšších alkoholů, 71,68 % esterů a dokonce 128,0 % mastných kyselin (opět proti 24hodinové extrakci), což lze přičítat zřejmě vyšší polaritě mastných kyselin a dichlormethanu. Celkový obsah těkavých látek získaný vytřepáním do

dichlormethanu 136,90 mg/l je srovnatelný s 8hodinovou extrakcí, což je pozitivní výsledek, když se přihlédne k úspoře času a extrakčního rozpouštědla.

Z hlediska použití metod stanovení těkavých látek v pivu je nejdůležitější dodržení standardnosti izolační techniky, aby bylo dosaženo reprodukovatelnosti výsledků.

#### LITERATURA

- [1] MOIR, M.: Brew. Guard, 1989 (118), s. 64
- [2] BASAŘOVÁ, G. at al.: Pivovarsko-sladařská analytika, Merkanta, Praha 1993, s. 739
- [3] LINSKENS, H. F., JACKSON, J. F.: Beer Analysis, 1988, s. 241, 254
- [4] LINDSAY, R. C. et al.: Proc. Am. Soc. Brew. Chem., 1972, s. 3
- [5] LEE, S. S.: J. Am. Soc. Brew. Chem., **44**, 1986, s. 57
- [6] SUGGET, A. et al.: Proceedings of the 17th E.B.C. Congress, Berlin 1979, s. 79
- [7] LEPPÄNEN, O.: Proceedings of the 3rd Weurman Symposium, De Gruyter, Berlin 1981, s. 361
- [8] NARZISSL, L.: Mschr. Brauwiss., **36**, 1983, s. 13
- [9] PEPPARD, T. L.: J. Inst. Brew., **91**, 1985, s. 364
- [10] ALVAREZ, P.: J. Am. Soc. Brew. Chem., **52**, 1994, s. 127
- [11] SAKUMA, S., HAYASHI, S., KOBAYASHI, K.: J. Am. Soc. Brew. Chem., **49**, 1991, s. 146
- [12] ANAPRON, s. r. o., Bratislava, Příručka a návody pro použití extrakce na pevné fázi, 1994
- [13] KAHLER, M., et al.: Kvas. prům., **24**, 1978, s. 73

**Dostálek, P.—Kwaczek, P.—Řezáč, J.—Čepička, J.: Porovnání extrakčních metod pro izolaci těkavých látek z piva.** Kvas. prům., **41**, 1995, č. 10, s. 302—307.

Jsou popsány a srovnány extrakční metody pro izolaci těkavých látek z piva. Byly ověřovány extrakce do směsi n-pentan a dichlormethan v poměru 2 : 1 s různou dobou extrakce (24 h, 16 h, 8 h a 2 h v kontinuálním extraktoru) a extrakce vytřepáváním destilátu do dichlormethanu. Jako vzorek bylo použito 12% pivo. Nejvyšší koncentrace vyšších alkoholů byla naměřena při 24hodinové extrakci, zatímco nejvyšší hladina esterů a mastných kyselin při 16hodinové extrakci. Poměr vyšších alkoholů a esterů byl nejvyšší při 24hodinové extrakci — 3,02, nejnižší při 16hodinové extrakci — 2,38. Destilace s vodní párou a následné vytřepání do dichlormethanu přineslo nižší výtěžky těkavých látek, avšak z hlediska úspory času a extrakčního rozpouštědla se tato metoda jeví použitelná a poskytuje reprodukovatelné výsledky.

**Dostálek, P.—Kwaczek, P.—Řezáč, J.—Čepička, J.: A Comparison of Extraction Methods for Volatile Substances Isolation from Beer** Kvas. prům., **41**, 1995, No 10, s. 302—307.

Extraction methods used for volatile substances isolation from beer are described and compared. Extractions into N-pentan and dichlormethan

mixture in ratio 2 : 1 with varying extraction time (eg. 24 hrs, 16 hrs, 8 hrs and 2 hrs performed in a continual extraction apparatus) as well as distillate batch extraction into dichlormethan were verified. A 12% beer was used as a sample. The highest concentration of higher alcohols was measured during 24 hrs extraction time; the highest esters and fatty acids level was being found during 16 hrs extraction time. The ratio of higher alcohols and esters attained the highest level (3,02) during 24 hrs extraction, the lowest (2,38) then during 16 hrs extraction. Steam distillation followed by batch extraction into dichlormethan resulted in lower yields of volatile substances, however, seen from the viewpoint of time and extraction solvent saving, this method appears suitable for practice by its rendering reproducible results.

**Dostálek, P.—Kwaczek, P.—Řezáč, J.—Čepička, J.: Gegenüberstellung der Extraktionsmethoden für die Isolierung von flüchtigen Substanzen aus Bier.** Kvas. prům., 41, 1995, Nr. 10, S. 302—307.

Es werden Extraktionsmethoden für die Isolierung von flüchtigen Substanzen aus Bier beschrieben und gegenübergestellt. Es wurden Extraktionen ins N-Pentan und Dichlormethangemisch im Verhältnis 2 : 1 unter verschiedener Extraktionszeit (24 St, 16 St, 8 St und 2 St im kontinuellen Extraktor) sowie Extraktion durch Destillatausschütteln ins Dichlormethan begläubigt. Als Probe diente ein 12% Bier. Die höchste Konzentration von höheren Alkoholen wurde während 24-stündiger Extraktion ermittelt, während die höchste Menge von Estern und Fettsäuren wurde bei 16-stündiger Extraktion beobachtet. Das Verhältnis höheren Alkohole und Ester erreichte eine Höchstgrenze 3,02 bei 24-stündiger Extraktion, während bei 16-stün-

diger Extraktion bei 2,38 am niedrigsten lag. Eine Destillation mit Wasserdampf mit folgendem Ausschütteln ins Dichlormethan erbrachte niedrigere Ausbeute der flüchtigen Substanzen, aber aus dem Gesichtspunkt der Zeit- und Extraktionsmittelersparnis erscheint diese Methode als geeignet zur praktischen Anwendung und bietet reproduzierbare Ergebnisse.

**Досталек, П.—Квачек, П.—Ржезач, Я.—Чепичка, Я.: Сопоставление экстракционных методов для изолирования летучих веществ из пива.** Квас. прум., 41, 1995, № 10, стр. 302—307.

Описываются и сопоставляются экстракционные методы для изолирования летучих веществ из пива. Проверялись экстракции в смеси н-пентан и дихлорметан в отношении 2:1 с разным временем экстрагирования (24 ч, 16 ч, 8 ч и 2 ч в непрерывном экстракторе) и экстракции встряхиванием дистиллята в дихлорметан. В качестве пробы было применено 12%-ное пиво. Наиболее высокая концентрация высших спиртов была измерена при 24 часовой экстракции, тогда как наиболее высокий уровень сложных эфиров и жирных кислот при 16 часовой экстракции. Соотношение высших алкоголов и сложных эфиров было наиболее высоко при 24 часовой экстракции — 3,02, наиболее низок при 16 часовой экстракции — 2,38. Дистилляция с водяным паром и последующее встряхивание в дихлорметан предоставило более низкие выходы летучих веществ, однако с точки зрения экономии времени и экстракционного растворителя этот метод представляется применимым и предоставляет воспроизводимые результаты.