

## VLUCHTIGE ORGANISCHE ZUREN

### 1 PRINCIPE

De vluchtige organische zuren met name azijnzuur, propionzuur, isoboterzuur en boterzuur worden uit het verse analysemateriaal geëxtraheerd met water bij pH 2. Het waterig extract wordt geëxtraheerd met diëthylether.

De zuren in de etherfase worden gaschromatografisch gescheiden (FFAP-fase), gedetecteerd (FID) en hun gehalte bepaald met een op dezelfde wijze behandelde externe standaard. De detectielimiet bedraagt ongeveer 50 mg/kg voor azijnzuur, en ongeveer 10 mg/kg voor propionzuur, isoboterzuur en boterzuur.

### 2 APPARATUUR EN MATERIAAL

2.1. Erlenmeyer van 250 ml

2.2. Afsluitbare centrifugebuisjes (glas of plastic) van ongeveer 5 ml

2.3. Afsluitbare cupjes (glas of plastic) van ongeveer 2 ml

2.4. Gaschromatograaf voorzien van :

- mobiele fase (stikstof)
- gepakte of capillaire kolom met stationaire fase FFAP
- oven, isotherm op 110 tot 120°C
- detector : FID
- recorder-integrator

### 3 REAGENTIA

3.1. Geconcentreerd zwavelzuur, 96 % d. 1,84

3.2. Verdund zwavelzuur 50% ; ongeveer 400 ml water voorzichtig aanlengen met 500 ml geconcentreerd zwavelzuur (3.1.). Na afkoelen overgieten in een maatkolf van 1 l, aanlengen en mengen.

3.3. Diëthylether ((CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>O) d. 0,71

3.4. Magnesiumsulfaat MgSO<sub>4</sub>, watervrij

3.5. Geconcentreerd azijnzuur (CH<sub>3</sub>COOH); d. 1,049; 99%

3.6. Geconcentreerd propionzuur (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>COOH); d. 0,992; 99%

3.7. Geconcentreerd isoboterzuur ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHCOOH); d. 0,950; 99%

3.8. Geconcentreerd boterzuur (CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>COOH); d. 0,959; 99%

3.9. Standaardmenschel azijnzuur, propionzuur, isoboterzuur, boterzuur (ong. 1000 mg/l), in een maatkolf van 1 l die ongeveer 600 ml water bevat, achtereenvolgens precies 1 ml geconcentreerd azijnzuur (3.5.), propionzuur (3.6.), isoboterzuur (3.7.) en boterzuur (3.8.) pipetteren, aanlengen en homogeniseren.

## 4 ANALYSEPROCEDURE

### 4.1 Extractie van het analysemonster

10 g vers analysemateriaal afwegen, overbrengen in erlenmeyer van 250 ml (2.1.) en 50 ml water toevoegen. Aanzuren met enkele druppels verdund zwavelzuur (3.2.) tot  $\text{pH } 2 \pm 0,1$  (controle met pH-meter). Gedurende 1 uur extraheren met een magnetische roerder. Een half uur laten bezinken, vervolgens 2 ml van de bovenstaande vloeistof in een centrifugebuisje (2.2.) overbrengen, 1 ml diëthylether (3.3.) toevoegen, afsluiten en gedurende 2 minuten extraheren met een mixer. Gedurende minstens 15 minuten centrifugeren (1500 g) tot de emulsie gebroken is en de fazen zich afscheiden. Diepvriezen tot de waterfase bevroren is en vervolgens de etherfase overgieten in een cupje (2.3.) dat ongeveer 100 mg magnesiumsulfaat (3.4.) bevat. Afsluiten en gedurende 1 minuut schudden met een mixer. Laten bezinken en na ongeveer 15 minuten 1  $\mu\text{l}$  injecteren in de gaschromatograaf (2.4.).

### 4.2 Bereiding van blanco en externe standaard

Uit het standaardmengsel van ongeveer 1000 mg/l (3.9.) respectievelijk 0, 2, 5 en 20 ml pipetteren in 4 bekertjes van 100 ml, 50 ml water toevoegen, aanzuren met enkele druppels verdund zwavelzuur (3.2.) tot  $\text{pH } 2 \pm 0,1$  (controle met pH-meter), overspoelen in maatkolven van 100 ml, aanlengen en homogeniseren. Uit elke maatkolf 2 ml pipetteren in een centrifugebuisje (2.2.), 1 ml diëthylether (3.3.) toevoegen, afsluiten en gedurende 2 minuten extraheren met een mixer. Vervolgens dezelfde bewerkingen uitvoeren als voor het analysemonster (zie 4.1.). Zodoende bekomt men een blanco-oplossing, en drie externe standaarden met maximale concentraties (mg/l) aan organische zuren in de etherfase van respectievelijk :

mg/l	1° standaard	2° standaard	3° standaard
azijnzuur	41,54	103,85	415,4
propionzuur	39,28	98,21	392,8
isoboterzuur	37,62	94,05	376,2
boterzuur	37,98	94,94	379,8

### 4.3 Gaschromatografische bepaling

Achtereenvolgens wordt 1  $\mu\text{l}$  van het monsterextract (4.1.) van de drie standaarden en van de blanco (4.2.) in de gaschromatograaf (2.4.) geïnjecteerd, en de overeenstemmende piekoppervlakken geregistreerd. De organische zuren moeten afwezig zijn in de blanco-oplossing. Voor de calibratie wordt die standaard gebruikt, die qua concentratie het best overeenstemt met het monsterextract. De uitgekozen standaard wordt daarna nog twee maal geïnjecteerd, zodat voor elk organisch zuur de gemiddelde piekoppervlakte (van 3 bepalingen) kan berekend worden.

## 5 BEREKENING

Door middel van éénpunscalibratie met de best passende externe standaard wordt het gehalte aan vluchtige organische zuren in de etherfase van het monster berekend, en met behulp van volgende formule omgerekend naar het gehalte in het vers analysemateriaal (mg/kg) :

$$\text{gehalte aan Z (mg/kg)} = 2,5 \cdot \frac{A_x \cdot C_{st}}{A_{st}}$$

Z = één der vluchtige organische zuren (azijnzuur, propionzuur, isoboterzuur, boterzuur)

A<sub>x</sub> = piekoppervlakte voor component Z in het monsterextract

A<sub>st</sub> = piekoppervlakte voor component Z in de standaard (gemiddelde van 3 bepalingen)

C<sub>st</sub> = maximale concentratie (mg/l) aan component Z in de standaard (zie 4.2.).