

Instituut voor Cultuurtechniek en Waterhuishouding
Wageningen

**BIBLIOTHEEK
STARINGGEBOUW**

GASCHROMATOGRAFISCHE ANALYSE VAN VLUCHTIGE VRIJE VETZUREN
IN WATERMONSTERS

J. Harmsen

Nota's van het Instituut zijn in principe interne communicatiemiddelen, dus geen officiële publikaties. Hun inhoud varieert sterk en kan zowel betrekking hebben op een eenvoudige weergave van cijferreeksen, als op een concluderende discussie van onderzoeksresultaten. In de meeste gevallen zullen de conclusies echter van voorlopige aard zijn, omdat het onderzoek nog niet is afgesloten. Bepaalde nota's komen niet voor verspreiding buiten het Instituut in aanmerking.

LSM 5299417

MEMORANDUM
FOR THE RECORD

I N H O U D

	blz.
1. INLEIDING	1
2. PRINCIPE VAN GASCHROMATOGRAPHIE	1
3. GEBRUIKTE APPARATUUR	4
4. ANALYSE VLUCHTIGE VRIJE VETZUREN	5
4.1. Scheiding van vluchtige vrije vetzuren	5
4.2. Het optreden van spookpieken	7
4.3. Het voorkomen van spookpieken	8
5. LINEARITEIT VAN DE DETEKTOR	14
6. VOORBEHANDELING EN ANALYSE VAN MONSTERS	15
7. SAMENVATTING EN CONCLUSIES	17
8. LITERATUUR	18

1. INLEIDING

Bij de analyse van afvalwater-, grondwater- en oppervlaktewatermonsters wordt als maat voor de organische verontreiniging meestal de C.O.D. (Chemical Oxygen Demand) gebruikt. De C.O.D. geeft informatie over de totale hoeveelheid opgeloste organische stoffen, echter niet over de aard van die organische verbindingen. Dit laatste is vooral van belang bij de drinkwaterbereiding (aanwezigheid van reuk- en smaakstoffen) en bij de zuivering van afvalwater (afbreekbaarheid van de organische stoffen).

Gaschromatografie is een veel gebruikte methode voor de analyse van organische verbindingen, aangezien deze methode naast kwalitatieve informatie over de aard van de aanwezige stoffen ook kwantitatieve informatie over de concentraties van die stoffen geeft.

In deze nota wordt de analyse van vluchtige vrije vetzuren in water beschreven. Het betreft hier de vetzuren azijnzuur (C₂), propionzuur (C₃), boterzuur (C₄), iso-boterzuur of 2-methylpropionzuur (iC₄), valeriaanzuur (C₅), iso-valeriaanzuur of 3-methylboterzuur (iC₅), 2 methylboterzuur (2mC₄), capronzuur (C₆) en iso-capronzuur of 4 methylvaleriaanzuur (iC₆). Het polaire karakter van deze zuren geeft bijzondere moeilijkheden bij de analyse (sterke absorptie in injectiestuk en begin van de kolom). De oorzaak en opheffing van deze moeilijkheden worden in deze nota besproken.

2. PRINCIPE VAN GASCHROMATOGRAFIE

Alle chromatografische methoden berusten op de verdeling van de te scheiden stoffen over twee fasen, waarbij de ene fase (s t a t i - o n a i r e f a s e) door een vaste drager in een kolom op zijn plaats wordt gehouden, terwijl de tweede (m o b i e l e f a s e)

door de kolom beweegt. Doordat voor elke stof de verdelingscoëfficiënt tussen beide fasen anders is, zullen de componenten van een mengsel zich met verschillende snelheden door de kolom voortbewegen en hierdoor van elkaar worden gescheiden.

De belangrijkste chromatografische methode is de gaschromatografie. Hierbij is de mobiele fase een gas en de stationaire fase een vloeistof, welke over een vast dragermateriaal is verdeeld. Eigenlijk is er dus sprake van gas-vloeistof-chromatografie, maar deze term wordt in de praktijk afgekort tot gaschromatografie of G.L.C. (gas-liquid-chromatography). De gaschromatografie wordt voornamelijk gebruikt voor de analyse van verbindingen die bij de ingestelde werkt temperatuur vluchtig zijn.

De gaschromatograaf is opgebouwd uit de volgende onderdelen:

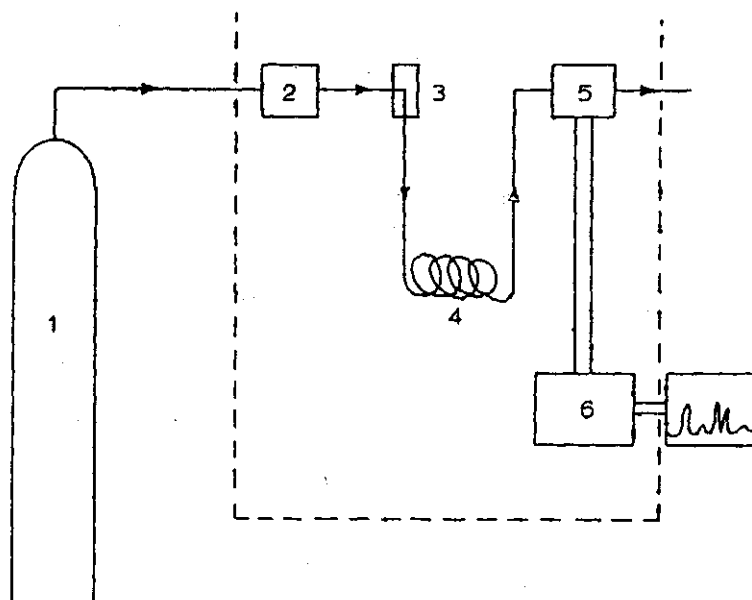


Fig. 1. Schematisch overzicht gaschromatograaf

- | | | |
|---|------------------|--|
| 1 | Cilinder | : gevuld met de mobiele fase (dragergas); de meest gebruikte gassen zijn stikstof, waterstof, helium, argon en koolzuur. |
| 2 | Gasregeling | : hiermee kan de gasstroom door de kolom worden geregeld. |
| 3 | Injektiesysteem: | aan het begin van de kolom; hier wordt het monster in de kolom geïnjecteerd. |

- 4 Kolom : belangrijkste onderdeel van de apparatuur, omdat hierin de scheiding van de stoffen wordt bewerkstelligd; bevindt zich in een thermostaat en is gevuld met een inerte drager, waarop de stationaire fase is aangebracht.
- 5 Detektor : bevindt zich aan het eind van de kolom en detekteert de inmiddels gescheiden componenten in het dragergas.
- 6 Registratiesysteem: versterkt en registreert het signaal van de detektor; bestaat uit een elektronisch versterkersgedeelte in de gaschromatograaf en een recorder.

Het uiteindelijk verkregen chromatogram is de grafische voorstelling van het detektorsignaal uitgezet tegen de tijd verlopen sedert het moment van injekteren van het monster. Zodra één van de componenten door de detektor komt wordt een piek geregistreerd (fig. 2). De plaats van een piek in het chromatogram is karakteristiek voor de betreffende komponent. Onder standaardcondities zal de komponent steeds na dezelfde tijd (retentietijd) uit de kolom treden, onafhankelijk van zijn concentratie en van de andere componenten in het mengsel. De retentietijd is afhankelijk van de kolomtemperatuur, de doorstroomsnelheid en de aard van het dragergas en van de eigenschappen van de stationaire fase en de te analyseren verbinding. Vooral de keuze van de stationaire fase is belangrijk, omdat de eigenschappen van de stationaire fase bepalen of een groep verbindingen wel of niet kan worden gescheiden.

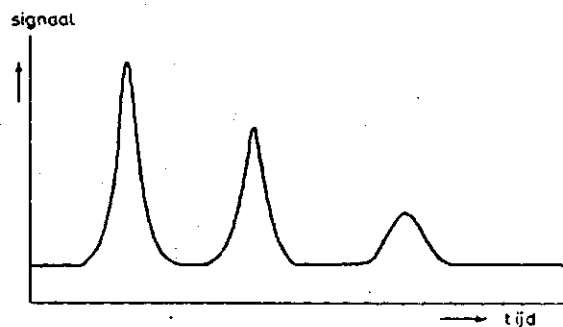


Fig. 2. Gaschromatogram detektorsignaal als functie van de tijd

De scheiding van de verschillende componenten in een mengsel wordt beter, naarmate de retentietijden van de componenten meer van elkaar verschillen. Zoals ook blijkt uit fig. 2 wordt de breedte van de pieken groter, naarmate de retentietijd van een component groter is.

Als een mengsel van laag- en hoogkokende verbindingen moet worden gescheiden zullen bij een lage kolomtemperatuur de laagkokende verbindingen wel goed worden gescheiden, terwijl de hoogkokende pas laat en met een verbrede piek uit de kolom komen. Bij een hoge temperatuur zullen de hoogkokende goed worden gescheiden, terwijl de laagkokende zullen gaan samenvallen. Om alle componenten goed te kunnen scheiden, is het mogelijk temperatuurprogrammering toe te passen. Hiertoe wordt het monster bij een lage kolomtemperatuur geïnjecteerd, zodat de laagkokende componenten goed worden gescheiden. Tijdens de analyse wordt de temperatuur dan langzaam verhoogd tot een temperatuur waarbij ook de hoogkokende componenten een scherpe piek geven. Een complicatie is dat bij het verhogen van de temperatuur de stationaire fase voor een klein deel verdampt ('bleeding'), waardoor de basislijn van het chromatogram gaat verlopen. Dit kan worden tegengegaan door te werken met twee kolommen en twee detectoren. In één kolom wordt het monster geïnjecteerd. Het verschilsignaal van beide detectoren wordt geregistreerd, waardoor de 'bleeding' van beide kolommen tegen elkaar wegvallen en alleen de pieken van de componenten worden geregistreerd.

Het oppervlak van een piek is evenredig met de concentratie van de desbetreffende component. Met behulp van een integrator kan het piekoppervlak worden gemeten. Door het oppervlak te vergelijken met het piekoppervlak verkregen met een standaardoplossing van bekende concentratie, wordt het mogelijk de concentraties van de componenten in het monster te berekenen.

3. GEBRUIKTE APPARATUUR

Bij dit onderzoek is gebruik gemaakt van een Packard-Becker gaschromatograaf (model 417), uitgevoerd met een dubbele vlamionisatiedetektor. In de detektor bevindt zich een kleine waterstofvlam, waar-

in de te meten organische verbindingen worden verbrand en deels geioniseerd. De ionenstroom in de vlam wordt gemeten. In de zuivere waterstofvlam is de ionenstroom klein. Komt er echter een organische stof in de vlam dan zal de ionenstroom toenemen en op de recorder wordt, na versterking, een piek verkregen.

De pieken zijn geregistreerd op een recorder uitgerust met een elektronische integrator (model BD 12 van Kipp en Zonen).

Voor de analyse van vluchtige vetzuren is gebruik gemaakt van een glazen kolom (2,50 m lang \emptyset inwendig 2 mm) gevuld met Carbopack A 60-80 mesh waarop als stationaire fase 0,3% SP1000 en 0,3% H_3PO_4 was aangebracht (Chrompack Nederland B.V.). In de loop van het onderzoek was voornoemde kolomvulling niet langer verkrijgbaar. Het onderzoek is toen voortgezet met de kolomvulling 3% Carbowax 20 m en 0,5% H_3PO_4 op Carbopack B 60-80 mesh (Chrompack Nederland B.V.).

Als dragergas is stikstof gebruikt.

In alle gevallen werd een hoeveelheid van 1 μ l monster geïnjecteerd met een S.G.E. injectiespuit.

4. ANALYSE VLUCHTIGE VRIJE VETZUREN

4.1. S c h e i d i n g v a n v l u c h t i g e v r i j e v e t z u r e n

Sinds enkele jaren is het mogelijk om vluchtige vrije vetzuren in waterige oplossing zonder voorbereiding gaschromatografisch te bepalen. Een overzicht van de te gebruiken kolommen is gegeven door VAN HUUSTEEN (1970). Vele van deze kolommen geven echter een slechte scheiding tussen de zuren en de iso-zuren en zijn minder geschikt voor lage concentraties (< 100 mg/l). De slechte scheiding wordt vooral veroorzaakt door het polaire karakter van de zuren, waardoor ze in het injectiestuk of in de kolom worden geadsorbeerd aan metalen delen of aan het vaste dragermateriaal op plaatsen waar de coating met de stationaire fase ontbreekt. De scheiding wordt verbeterd door het gebruik van een glazen kolom en het toevoegen van H_3PO_4 , wat de voor adsorptie geschikte plaatsen in de kolom desactiveert.

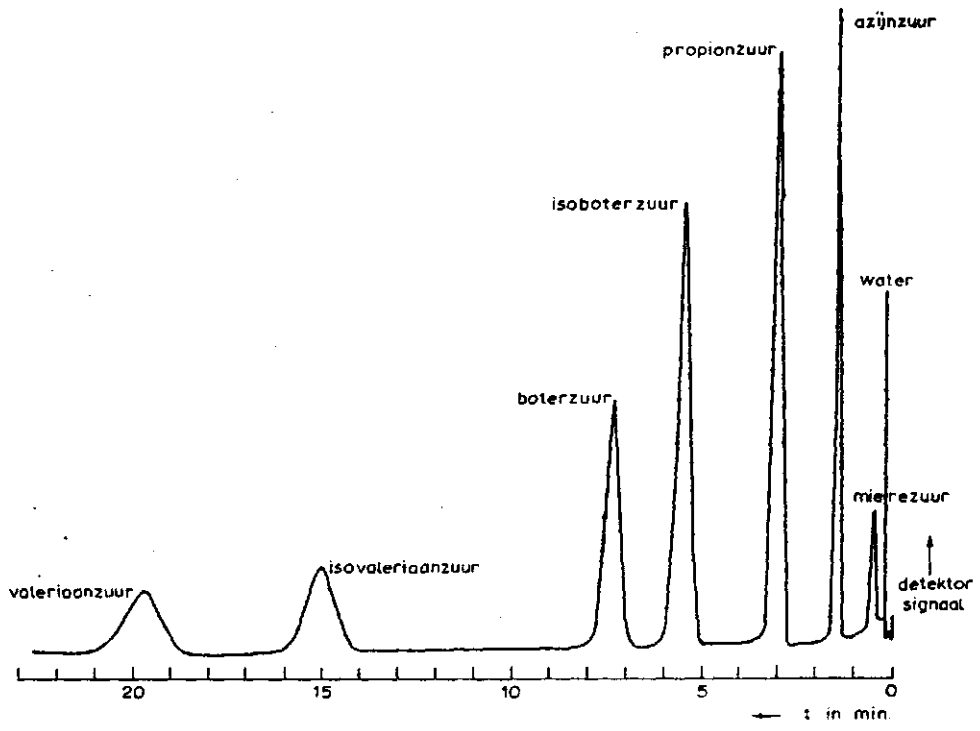


Fig. 3. Gaschromatogram C₂-C₅ zuren

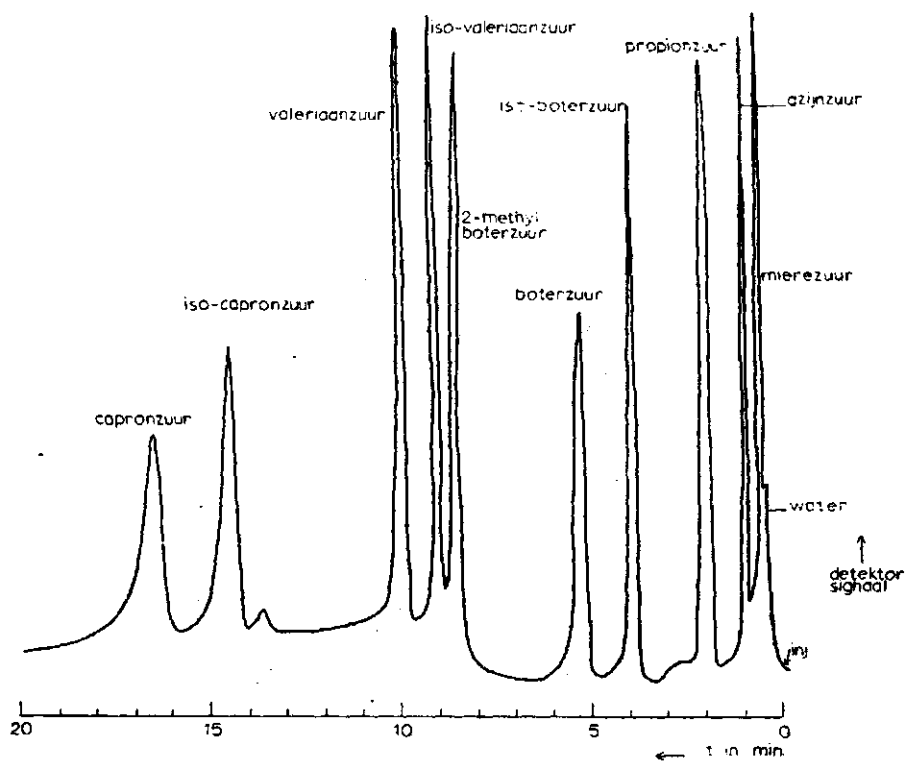


Fig. 4. Gaschromatogram C₂-C₆ zuren

Door VAN HUUSTEEN (1970) zijn de hier gebruikte kolommen, 0,3% SP1000 en 0,3% H_3PO_4 op Carbopack A, en 3% carbowax 20M en 0,5% H_3PO_4 op Carbopack B, niet beschreven. Deze kolommen blijken geschikt te zijn voor lage gehalten (ca. 100 mg/l) terwijl tevens een goede scheiding wordt verkregen ook met de iso-zuren. Met de Carbopack A kolom kunnen de zuren C_2 tot en met C_5 worden bepaald (fig. 3), terwijl met de Carbopack B kolom ook 2 methylboterzuur, capronzuur en iso-capronzuur kunnen worden bepaald (fig. 4).

Door kleine verschillen in bereiding van de kolomvulling door de fabrikant kan het voorkomen dat bij gebruik van de hier beschreven temperaturen een slecht chromatogram wordt verkregen. Een kleine wijziging van de temperatuur kan weer een goed bruikbaar chromatogram leveren.

4.2. Het optreden van spookpieken

Vluchtige vrije vetzuren hebben een sterk polair karakter, wat aanleiding kan geven tot adsorptieverschijnselen in de kolom. In het chromatogram komt dit tot uiting als 'staartvorming' (tailing) en als 'spookpieken' (ghosting). Staartvorming is makkelijk te herkennen (fig. 5), aangezien in dat geval de gevormde piek niet meer symmetrisch is.

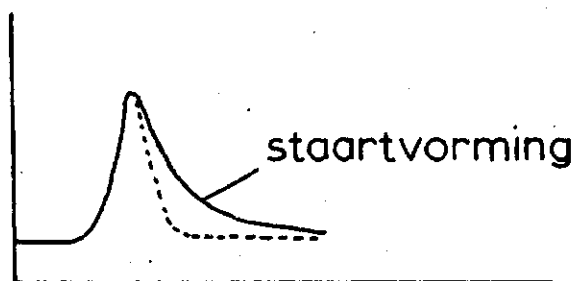


Fig. 5. Staartvorming

Spookpieken daarentegen zijn alleen waar te nemen als men gedestilleerd water injecteert na het injecteren van een monster met vetzuren. Hoewel het gedestilleerde water geen vetzuren bevat, verschijnen er toch pieken in het chromatogram, waarvan de retentietijden dezelfde zijn als die van de vetzuren. Blijkbaar komen de bij de vorige analyses in de kolom geadsorbeerde vetzuren nu door desorptie weer vrij. Deze pieken noemt men 'spookpieken'. Door de moeilijke herkenbaarheid worden deze spookpieken door veel onderzoekers niet onderkend, vooral niet in serie analyses. De adsorptie respectievelijk desorptie van de zuren veroorzaakt namelijk bij de analyse van monsters een verlaging respectievelijk verhoging van het piekoppervlak, die niet opgemerkt wordt als de concentratie van het monster onbekend is.

Onderzoekers, die de spookpieken wel hebben waargenomen (BAKER, 1966; VAN HUYSTEEN, 1970), vermelden vaak als oplossing voor dit probleem het tussentijds injecteren van water ('elueren' van spookpieken). Elueert men daarna echter met oplossingen die mierzuur bevatten, dan kunnen opnieuw grote spookpieken optreden (VAN EENAEME e.a., 1974). Het toevoegen van mierzuur aan het dragergas reduceert het spookeffect, omdat de adsorptieplaatsen nu grotendeels bezet raken met mierzuur (ACKMAN AND SIPOS, 1960; GEDDES AND GILMOUR, 1970; VAN EENAEME e.a., 1974). GEDDES EN GILMOUR (1970) wijzen het injectiegedeelte aan als de plaats waar de adsorptie optreedt. Gezien de retentietijden van de spookpieken (gelijk aan de retentietijden van de vetzuren) moet de adsorptie/desorptie van de zuren inderdaad aan het begin van de kolom plaatsvinden. Vooral de glaswalplug boven in de kolom en de verkoolde resten van voorgaande injecties adsorberen veel zuren en veroorzaken daardoor spookpieken. VAN EENAEME (1970) adviseert het gebruik van een pyrex in plaats van metalen injectiegedeelte, omdat de vetzuren vooral aan metalen onderdelen worden geadsorbeerd. Vanuit dit oogpunt wordt door de meeste onderzoekers ook een glazen in plaats van metalen kolom geadviseerd.

4.3. H e t v o o r k o m e n v a n s p o o k p i e k e n

Bij de hier gebruikte Carbopack A kolom werden na het injecteren

van water spookpieken waargenomen (fig. 6). Ook bij de later gebruikte Carbopack B kolom werden spookpieken waargenomen. Deze spookpieken verschenen op dezelfde wijze als bij de Carbopack A kolom en konden op dezelfde manier worden gereduceerd. In deze nota wordt verder alleen het gedrag van de Carbopack A kolom beschreven. De resultaten gelden eveneens voor de Carbopack B kolom.

Vervanging van de glaswolplug in de kolom door een kwartswolplug en het schoonmaken van het injectiegedeelte verminderden de spookpieken aanzienlijk. Na vulling van de kolom tot in het injectiegedeelte, zodat direkt in de kolomvulling kan worden geïnjecteerd, bleken de spookpieken verwaarloosbaar. Door het injecteren verpulverde echter de kolomvulling, waardoor de kolom verstopt raakte. Het direkt in de kolomvulling injecteren is daarom verder niet meer toegepast. Al deze maatregelen reduceerden de spookpieken tijdelijk, maar waren door vervuiling van het injectiegedeelte voor de lange duur niet afdoende.

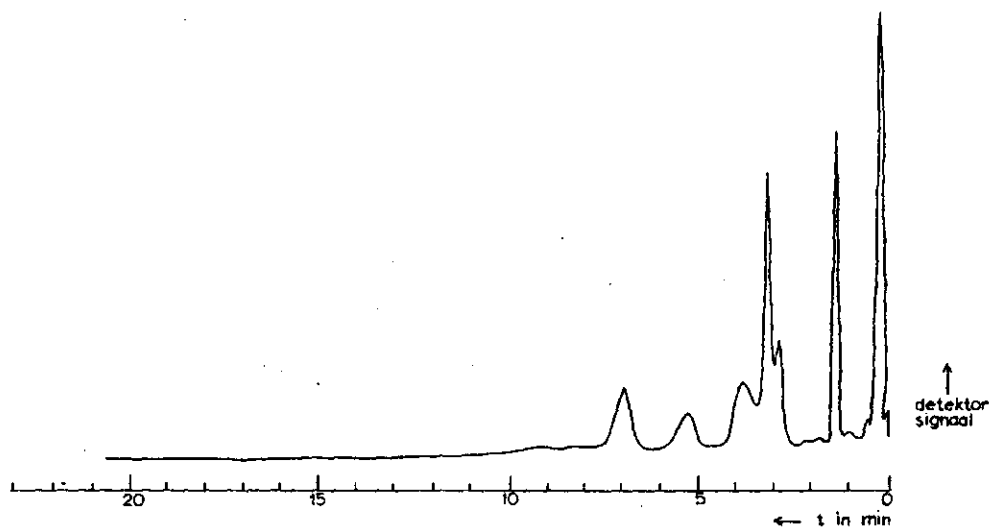


Fig. 6. Spookpieken bij injecteren 1 μ l water (omstandigheden zie fig. 3)

Toevoegen van mierzuur aan het dragergas om de spookpieken te reduceren was moeilijk te realiseren. Er kon namelijk geen wasflesje met mierzuur in het gastoevoersysteem worden geplaatst, aangezien de voordruk 5 atmosfeer moest zijn om de gewenste gassnelheid van 40 ml per minuut te krijgen. Bovendien moet in verband met andere analyses de kolom regelmatig worden verwisseld. Als er mierzuur in het dragergas zou zitten, zou dit elke keer een lange stabilisatietijd vereisen.

Daarom is nagegaan of het toevoegen van mierzuur aan de monsters het effect van spookpieken zou kunnen verminderen. Aanvankelijk gaf het injekteren met 15% mierzuur enorme spookpieken te zien. Na herhaaldelijk injekteren verdwenen deze spookpieken op een kleine piek van azijnzuur en propionzuur na. Bij deze werkwijze komen dus de geabsorbeerde zuren door desorptie weer vrij en worden de adsorptieplaatsen bezet met mierzuur, omdat mierzuur sterker wordt geabsorbeerd dan de andere, hogere vetzuren en bij deze bewerking bovendien in overmaat aanwezig is. Het injekteren van 15% mierzuur gaf echter een grote staart aan de mierzuur piek (fig. 7).

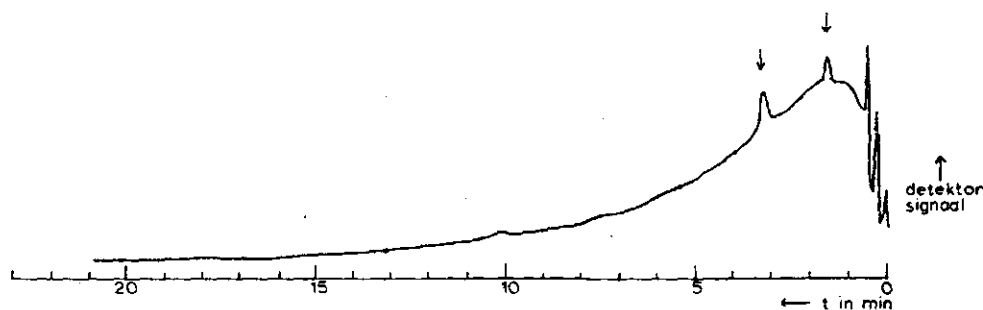


Fig. 7. Spookpieken bij injekteren 1 μ l 15% mierzuur (omstandigheden zie fig. 3)

Bij injectie van 1% mierzuur bleek deze staart verdwenen te zijn en werd een goede basislijn verkregen met eveneens nog slechts kleine pieken van azijnzuur en propionzuur (fig. 8).

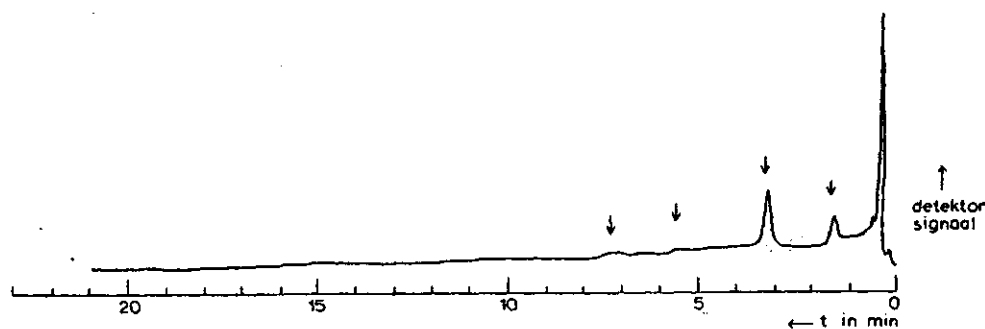


Fig. 8. Spookpieken bij injecteren 1 μ l 1% mierzuur (omstandigheden zie fig. 3)

Nadat meerdere keren een monster met vetzuren was geïnjecteerd werd geëlueerd met 1 μ l 1% mierzuur. Er verschenen spookpieken van azijnzuur, propionzuur, iso-boterzuur en boterzuur, terwijl voor iC_5 en C_5 geen spookpiek is waargenomen. De volgorde in grootte van de spookpieken is: $C_3 > C_2 >> C_4$ iC_4 . Bij de tweede injectie met 1% mierzuur waren de spookpieken als praktisch verdwenen (tabel 1). Er bleven kleine pieken van azijnzuur en propionzuur zichtbaar.

Tabel 1. Spookpieken bij elueren met 1% mierzuur (relatief oppervlak)

Injectie	Zuur	C_2	C_3	iC_4	C_4	iC_5	C_5
Monster		66	98	113	85	50	47
1 μ l 1% C_1		20	20	5	6	-	-
2e maal 1% C_1		3	7	-	-	-	-
3e maal 1% C_1		1	7	-	-	-	-
4e maal 1% C_1		1	7	-	-	-	-

Op de nu 'schone' kolom werd een standaardmonster met bekende concentraties aan vetzuren geïnjecteerd. Het oppervlak van vooral de azijnzuur- en propionzuurpiek was kleiner dan verwacht, doordat op de schone kolom adsorptie plaats vond. Daarom is vervolgens 1 ml mierzuur aan 100 ml monster toegevoegd (1 vol. %), in de veronderstelling dat mierzuur preferent geadsorbeerd wordt, waardoor de adsorptie van de te bepalen vetzuren zou afnemen.

De standaardmonsters (S) bevatten C_2 t/m C_5 zuren elk in een concentratie van 0,01% v.v. in 1% mierzuur. Verder is ook gewerkt met monsters perkolatiewater (P) van een vuilstort waaraan 1 ml mierzuur per 100 ml monster is toegevoegd. Perkolatiewater is het regenwater, wat door een vuilstort perkoleert en aan de onderzijde van het stort wordt afgetapt.

Het optreden van spookpieken is onderzocht door na injecties van de monsters achtereenvolgens 1% en 15% mierzuur (resp. 1% C_1 en 15% C_1) te injecteren. Er werd telkens 1 μ l geïnjecteerd, waarna het relatief oppervlak is gemeten (tabel 2).

Tabel 2. Relatief oppervlak van spookpieken na injekteren van monsters in 1% mierzuur

Monster	Zuur	C ₂	C ₃	iC ₄	C ₄	iC ₅	C ₅
1% C ₁		1	6	-	-	-	-
S		61	93	116	81	55	45
1% C ₁		1	7	-	-	-	-
S		63	95	119	84	52	48
1% C ₁		5	14	-	-	-	-
1% C ₁		2	6	-	-	-	-
15% C ₁		2	5	-	-	-	-
S		66	97	116	83	53	50
S		66	96	113	82	53	50
S		64	92	110	85	50	46
S		66	98	113	81	50	46
S		63	95	115	88	50	45
1% C ₁		3	9	-	-	-	-
1% C ₁		2	7	-	-	-	-
15% C ₁		2	5	-	-	-	-
15% C ₁		2	5	-	-	-	-
P		194	124	49	283	7	38
1% C ₁		4	6	3	-	-	-
P		196	122	47	274	6	40
P		196	125	48	280	7	39
P		195	127	49	280	7	39
P		195	125	50	280	6	41
P		195	127	47	284	6	38
1% C ₁		7	10	-	3	-	-
1% C ₁		3	11	-	-	-	-
15% C ₁		3	5	-	-	-	-

Uit tabel 2 blijkt, dat de toevoeging van mierzuur tot gevolg heeft, dat er, behalve C_2^- en C_3^- -spookpieken, verder geen meetbare spookpieken meer optreden, d.w.z. er treedt geen noemenswaardige adsorptie meer op.

De afwijking in de analyseresultaten is hiermee voor de vetzuren, iso-boterzuur, boterzuur, iso-valeriaanzuur en valeriaanzuur verwaarloosbaar klein geworden. Voor azijnzuur en propionzuur is de afwijking groter (5-10%), omdat bij deze zuren een geringe adsorptie/desorptie blijft optreden.

Indien 1% C_1 in een nieuwe kolom wordt geïnjecteerd verschijnen er spookpieken met een relatief oppervlak van 1 à 2. Deze pieken kunnen worden toegeschreven aan verontreinigingen in de mierzuur. Na verloop van tijd werden de spookpieken door vervuiling van de kolom echter groter tot ze het niveau uit tabel 2 hadden bereikt. Grotere spookpieken zijn niet meer waargenomen. Bij de analyse van monsters wordt echter vergeleken met standaardmonsters, die op hun beurt ook door dit verschijnsel worden beïnvloed. Daardoor zal in de praktijk de gemaakte fout gering zijn. Dit blijkt ook uit de ijkgrafieken in par. 5.

Bij de Carbopack B kolom zijn voor 2 methylboterzuur, capronzuur en iso-capronzuur geen spookpieken waargenomen.

5. LINEARITEIT VAN DE DETEKTOR

Om na te gaan of de detektor lineair reageert op de hoeveelheid zuur zijn standaardoplossingen van de zuren gemaakt in concentraties oplopend van 0 tot 200 mg zuur per liter (in 1% mierzuur). Van deze oplossing is telkens 1 μ l geïnjecteerd. Van de gemeten pickoppervlakken zijn ijklijnen gemaakt voor elk van de zuren (fig. 8).

Uit fig. 8 blijkt dat de ijklijnen rechtlijnig zijn in het onderzochte concentratiebereik. Opvallend is dat de ijklijnen van azijnzuur en propionzuur niet door de oorsprong gaan. Dit wordt veroorzaakt door de eerder gesignaleerde 'rest' spookpiek, want het intercept is namelijk ongeveer gelijk aan het oppervlak van de in hoofdstuk 4.3. gevonden spookpieken.

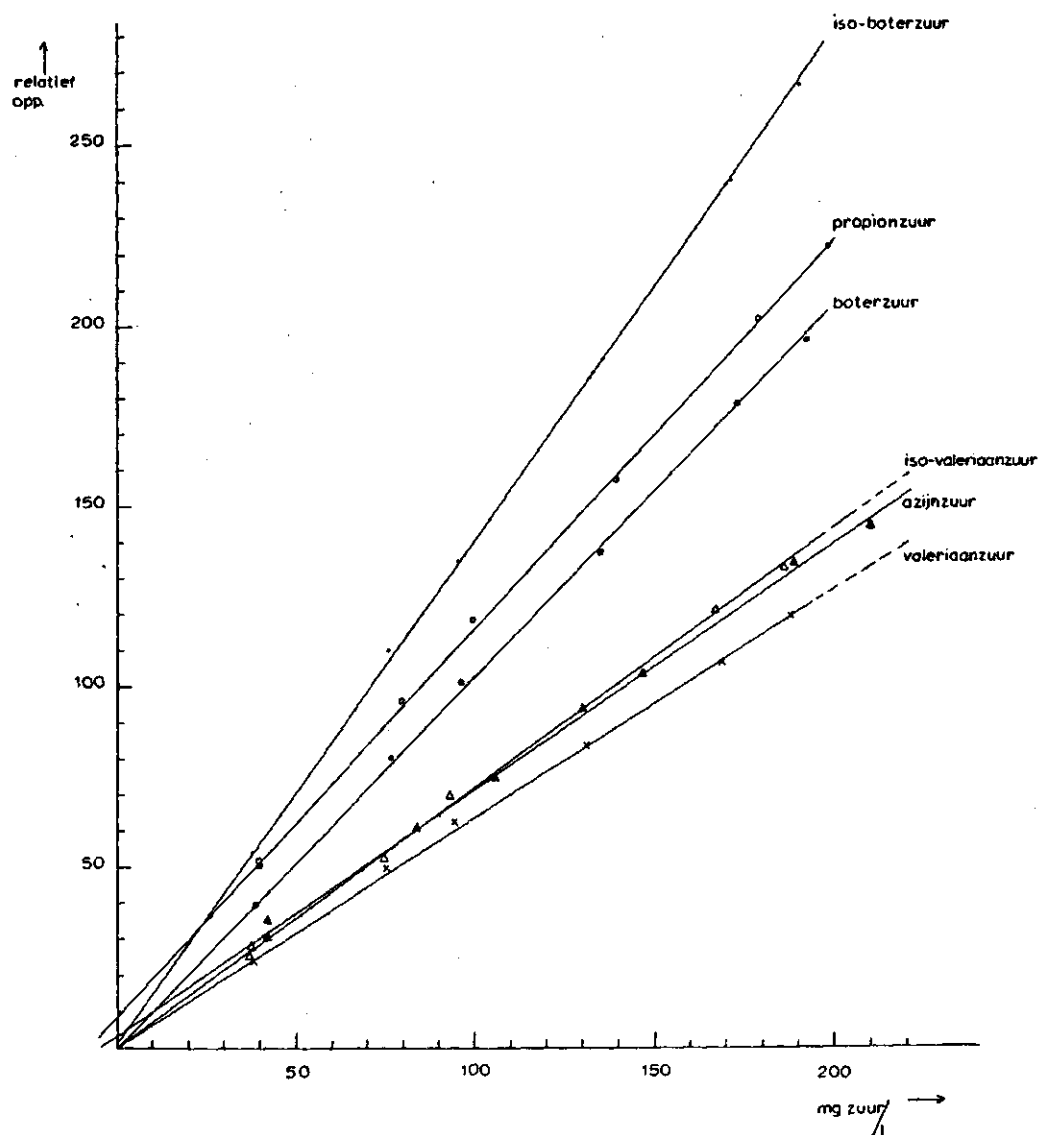


Fig. 9. Ijklijnen voor C₂-C₅ zuren

Met de Carbopack B kolom worden dezelfde ijklijnen verkregen als met de Carbopack A kolom. 2 methylboterzuur, capronzuur en iso-capronzuur geven hierbij ook rechte ijklijnen.

6. VOORBEHANDELING EN ANALYSE VAN MONSTERS

Het toevoegen van mierzuur heeft niet alleen een gunstig effect op de vorming van spookpieken. Ook de houdbaarheid van de monsters wordt er door vergroot. De gehalten aan vetzuren in monsters perko-

latiewater, waaraan 1 ml mierzuur per 100 ml was toegevoegd, waren na één week nog niet veranderd. De monsters dienen in goed afsluitbare glazen of polyetheen flessen bij 4°C te worden bewaard.

In de perkolatiewatermonsters met hoge ijzergehalten wordt bij toetreding van luchtzuurstof het onoplosbare ijzer (III) hydroxide gevormd. Door de toevoeging van mierzuur neemt de zuurgraad toe (pH 2,3) en blijft het ijzer volledig in oplossing. Dit heeft het voordeel dat ook de injectienaald niet meer verstopt kan raken door ijzerhydroxide.

Perkolatiewater kan sterk verontreinigd zijn met organische stoffen (C.O.D. waarden tot 70 000 mgO₂/l). Bij de analyse van het perkolatiewater is gebleken dat 50-85% van de C.O.D. veroorzaakt wordt door lagere vetzuren. In tabel 3 is een voorbeeld gegeven van een analyse van perkolatiewater. Het water is voor de analyse zodanig verdund dat de concentraties in het bereik 0-200 mg/l kwamen te liggen. In de tabel is tevens de bijdrage van elk zuur in de C.O.D. waarde gegeven. De analyse is uitgevoerd met de Carbopack C kolom.

Tabel 3. Chromatografische analyse van vetzuren in perkolatiewater met een C.O.D. van 70 000 mgO₂/l

Vetzuur	Mol gew.	Benodigde zuurstof voor oxidatie van 1 mol	Vetzuurgehalte in perkolatiewater	Hiermee overeenkomende C.O.D.
Azijnzuur	60 g	64 g	10 200 mg	10 880 mgO ₂ /l
Propionzuur	74	112	4 230	6 400
Iso-boterzuur	88	160	680	1 240
Boterzuur	88	160	9 160	16 650
2 methylboterzuur	102	208	260	530
Iso-valeriaanzuur	102	208	310	630
Valeriaanzuur	102	208	2 260	4 610
Iso-capronzuur	116	256	150	330
Capronzuur	116	256	6 100	13 500
				54 770 = 78%

7. SAMENVATTING EN CONCLUSIES

De hier gebruikte kolommen 0,3% SP1000; 0,3% H_3PO_4 op Carbopack A en 3% carbowax 20M; 0,5% H_3PO_4 op Carbopack B blijken zeer geschikt te zijn voor de gaschromatografische analyse van vluchtige vrije vetzuren C_2-C_6 . Er wordt een goede scheiding van de zuren verkregen, terwijl de detector lineair reageert tot minstens 200 mg zuur per liter.

Bij de gebruikte kolommen werden 'spookpieken' waargenomen. De grootte van deze spookpieken is afhankelijk van het elutiemiddel. Water elueert minder dan een oplossing van mierzuur wat polairder is en daardoor makkelijker de geadsorbeerde zuren van de adsorptieplaatsen kan verdringen. Op een schone kolom kan bij het injekteren van een monster met zuren adsorptie optreden waardoor kleinere pieken worden verkregen. Het geadsorbeerde gedeelte kan in een volgende analyse weer als spookpiek verschijnen.

Toevoegen van 1 ml mierzuur per 100 ml monster blijkt voldoende te zijn om de spookpieken aanzienlijk te reduceren. De adsorptieplaatsen worden in dit geval hoofdzakelijk bezet met mierzuur, waardoor de adsorptie van de andere zuren verwaarloosbaar wordt. Alleen bij azijnzuur en propionzuur blijven kleine spookpieken bestaan. Ook bij de ijklijnen zijn deze spookpieken zichtbaar als de afsnijding van de y.as.

Door vervanging van de glaswol- door een kwartswolplug blijkt het aantal adsorptieplaatsen af te nemen en neemt het spookpiekeffect sterk af. Verder lijkt het nuttig om geregeld het injectiegedeelte te reinigen, aangezien een schoon injectiegedeelte minder spookpieken geeft.

8. LITERATUUR

- VAN HUYSTEEN, J.J., 1970. The determination of short-chain fatty acids in aqueous solution by gas-liquid chromatography. *Water Research* 1970 4 645-649.
- GEDDES, D.A.M. en M.N. GILMOUR, 1970. The control of ghosting a major source of error in gas liquid chromatography of C₂-C₅ acids. *J. Chromatog Sci* 1970 8 394-397.
- EENAEME, C. VAN, J.M. BIENFAIT, O. LAMBOT en A. PONDANT, 1974. Studies on ghosting, an important source of error in the quantitative estimation of Free Volatile Fatty Acids by G.L.C. I and II. *J. Chromatog Sci* 1974 12 398-410.
- ACKMAN, R.G. en J.C. SIPOS, 1964. Keto-acid polymers as gas-liquid chromatography substrates. *J. Chromatog* 1964 13 337-343.
- BAKER, R.A., 1966. Volatile Fatty Acids in Aqueous Solution by Gas-Liquid Chromatography. *J. Gas Chromatography* 1966 4 418.
- DEELDER, Dr. Ir. R.S. en Ir. J. Konings. *Chromatografie*. Dictaat nr. 6.664. Technische Hogeschool Eindhoven. Sectie Instrumentele Analyse.