**ARBEIDSBESKRIVELSE**
**Institutt for husdyr-og akvakulturvitenskap, NMBU**

---

**Metodenavn: Flyktige fettsyrer (VFA)**
BIOVIT-nr.: Arb1132

---

## 1. Innledning:

Flyktige fettsyrer, volatile fatty acids (VFA), separeres ved gasskromatografi. Kolonne, gassflow og temperaturprogram er hentet fra applikasjonen GC_FF00653. *(www.restek.com/chromatogram/view/GC_FF00653).*

## 2. Reagenser:

" Hjemmelaget" ekstern standard med innhold av syrer tilsvarende gjennomsnittsverdier for vomsaft. Denne lages av rene konsentrerte syrer og fortynnes med destillert $H_2O$ (MilliQ) tilsatt 5 % maursyre. Innhold av syrer skal være: Eddiksyre: 60, propionsyre 20, iso-smørsyre 1,5, smørsyre 20, iso-valeriansyre 1,5 og valeriansyre 1,5; alt i millimol pr liter (mM). Se eget ark for mengder som skal veies inn.

## 3. Utstyr

GC: Trace 1300 med autosampler (Thermo Scientific).
Software: Chromeleon (Thermo Scientific).
Kolonne: Stabilwax – DA 30m, 0,25 mm ID, 0,25µm (Restek, cat. # 11023).

## 4. Prøvemateriale:

Vomsaft som er tilsatt konsentrert maursyre, 9,5 ml vomsaft + 0,5 ml syre i sentrifugerør. Prøvene sentrifugeres i 20min. v/3000 rpm.1-2ml pipetteres over på eppendorf-rør og sentrifugeres på ultrasentrifuge i 10min. v/13000rpm.

## 5. Arbeidsbeskrivelse

Vomsaftprøver og ekstern standard fortynnes 1:4 med $H_2O$ (MilliQ) og fylles i prøveholder (vial) for GC-analyse. *Hvis intern standard skal brukes tilsettes 200 µL av 2-metylvaleriansyre (25 mmol/L løsning) til 800 µL vomsaft FØR fortynning. Det samme gjøres med ekstern standard.*

For analyse: Sett opp følgende sekvens:

- 3 x vann (**kun 0,1 µL**) for vask av system
- 1 x blank (1 % maursyre)
- 5 standard
- 3 x vann (kun 0,1 µL)
- 5-10 prøver (avhenger av repeterbarheten til systemet)
- 3 x vann (kun 0,1 µL)
- 1 x blank
- 5-10 prøver… osv

- Avslutt med 2 x standard og 3 x vann

| | |
|---|---|
| **Kolonne:** | Stabilwax®-DA, 30 m, 0.25 mm ID, 0.25 µm |
| **Injektortemperatur:** | 250 °C |
| **Injeksjonsmetode:** | Splitt 3:200 |
| **Bæregass:** | Helium |
| **Gass flow:** | 3 mL/ min (constant flow) |
| **Starttemperatur:** | 90 °C (2 min) |
| **Temperaturøkning:** | 10 °C/min til 150 °C, 50 °C/min til 250°C (1min) |
| **Analysetid per prøve:** | 11 min |
| **Detektortemperatur:** | 275 °C |
| **Injeksjonsvolum:** | 0,3 µL |

Disse parameterne ligger i metode: «**VFA_optimal**»

## 6. Merknader:

Det er veldig viktig å ha et «rent» system. Maursyra tærer på alle deler i systemet som injeksjonsnål og liner. Sjekk at alt dette er rent før start og sjekk for carry over og sprøytens funksjonalitet underveis.
Operatør må være kjent med bruk av GC og software for uttak av arealer. Egen Excel-fil brukes til beregning av konsentrasjoner i mmol/L og molarprosent for de enkelte syrene. Sum av eddiksyre, propionsyre og smørsyre viser som regel 95% av syremengden. Hvis intern standard benyttes må alle arealer (både i standarder og prøver) deles på areal av intern standard. Dette vil korrigere for variasjoner i injisert volum samt endringer i GCens følsomhet underveis.

## 7. Beregninger:

$$\frac{\text{Areal Fettsyre i prøve}}{\text{Areal Fettsyre i standard}} \times \text{mmol/L Fettsyre i standard} = \textbf{mmol/L Fettsyre i prøve}$$

Husk å ta hensyn til eventuelle fortynninger.
Om intern standard er brukt skal alle arealer deles på arealet av intern standard først.

Excel ark for beregning finnes under:
Labmal -> VFA
*«VFA beregningsark»*

- For tillaging av ekstern standard (eventuelt standard 1-3)

Labmal -> VFA
*«std utregning»*