

Procedimiento Normalizado de Trabajo

Principio del método

Los **AOV's** (**Ácidos Fórmico, Acético, Propiónico, Butírico, Isobutírico, Valérico, etc.**) se extraen desde una fase acuosa **en forma no ionizada**, por lo que es **crítico acidificar** la muestra antes de la extracción. Posteriormente se concentran en un disolvente orgánico y, si se analiza por GC, se **derivatizan** (opcionalmente) para mejorar volatilidad y respuesta.

Reactivos y materiales

Reactivos

- Ácido sulfúrico o clorhídrico (concentrado)
- Cloruro sódico (NaCl)
- Disolvente orgánico (uno de los siguientes):
 - Éter dietílico (muy eficaz, volátil)
 - MTBE (más seguro, muy usado)
 - Diclorometano (DCM, buena eficiencia)
- Estándar interno:
 - Ácido 2-etilbutírico
 - Ácido isovalérico deuterado si usas GC-MS)
- Agua ultrapura

Opcional para HRGCGC

- Reactivo de derivatización:
 - $\text{BF}_3\text{-MeOH}$
 - Metanol/ H_2SO_4
 - TMS (BSTFA + 1% TMCS)

Preparación de muestra

1. Tomar **5–20 mL de muestra acuosa** en un tubo o embudo de decantación.
2. Añadir **estándar interno** (concentración conocida).
3. Acidificar a **pH ≤ 2** con H_2SO_4 o HCl.
4. Añadir **NaCl hasta saturación** (efecto *salting-out*).

Extracción

1. Añadir **5–10 mL de disolvente orgánico**.
2. Agitar vigorosamente **2–5 min**.
3. Dejar decantar completamente.
4. Recuperar la fase orgánica.
5. Repetir la extracción **2 veces**.
6. Unir las fases orgánicas.

Con DCM: recoger la **fase inferior**

Con MTBE/éter: recoger la **fase superior**

Secado y concentración

1. Secar con **Na₂SO₄ anhidro**.
2. Filtrar o decantar.
3. Concentrar suavemente bajo:
 - N₂
 - Rotavapor (<30 °C)

Derivatización (muy recomendada para GC)

Opción A – Esterificación metílica (muy usada)

1. Añadir **BF₃-MeOH** (10–14%).
2. Calentar a **60–70 °C, 20–30 min.**
3. Enfriar.
4. Extraer los ésteres con hexano o MTBE.
5. Lavar con solución salina.
6. Inyectar en GC.

Excelente para GC-FID

Respuesta lineal y estable

Opción B – TMS (BSTFA)

1. Evaporar solvente a sequedad.
2. Añadir BSTFA + 1% TMCS.
3. 60 °C, 30 min.
4. Inyección directa GC-MS.

Muy sensible

Menos estable frente a humedad