



Πολυτεχνείο Κρήτης  
Τμήμα Μηχανικών Ορυκτών Πόρων

# Προσδιορισμός συντελεστών κατανομής ιχνηθετών σε συστήματα πετρελαίου-νερού.



Γρηγοριάδου Αναστασία

Εξεταστική επιτροπή:

Καθ. Πασαδάκης Νικόλαος (επιβλέπων)

Καθ. Βαρότσης Νικόλαος

Δρ. Χατζηχρήστος Χρήστος

## Περίληψη

Στην παρούσα εργασία προσδιορίστηκαν πειραματικά οι συντελεστές κατανομής τριών ελαφριών αλκοολών (μεθανόλη, αιθανόλη, 2-προπανόλη) σε δυαδικά συστήματα αποτελούμενα από μια υδατική φάση και μια ελαϊκή φάση. Ως ελαϊκή φάση χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω διαλύτες: εξάνιο, επτάνιο, τολουόλιο, ξυλόλιο και τετραχλωράνθρακας. Η επιλογή των διαλυτών έγινε για την προσομοίωση της συμπεριφοράς των αλκοολών, των πολικών φάσεων και των χαρακτηριστικών των μη-υδατικών φάσεων που απαντώνται στο υπέδαφος (Non-aqueous phase liquids, NAPL) κατά τις διαρροές οργανικών μιγμάτων ή πετρελαίου. Η γνώση των συντελεστών κατανομής είναι σημαντική για την προσομοίωση των διαρροών οργανικών ρύπων στο περιβάλλον. Επίσης, συστατικά όπως οι αλκοόλες που μελετήθηκαν, χρησιμοποιούνται σε μελέτες υπολογισμού του υπολειμματικού βαθμού συγκέντρωσης νερού ή πετρελαίου σε ταμειυτήρες υδρογονανθράκων, όπως οι δοκιμές μονού ή διπλού φρέατος (Single Well Tracer Test, SWTT ή Double Well Tracer Test, DWTT). Ο προσδιορισμός των συντελεστών κατανομής των αλκοολών έγινε μέσω του υπολογισμού της συγκέντρωσής τους στην υδατική φάση. Για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων αυτών, χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της αέριας χρωματογραφίας με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (Flame Ionization Detector, FID) με τρεις διαφορετικές μεθοδολογίες εισαγωγής του δείγματος. Την απευθείας εισαγωγή της υδατικής φάσης (direct injection), την εισαγωγή δείγματος υπερκείμενης φάσης αερίου (Headspace sampling) και την μικροεκχύλιση στερεής φάσης (Solid Phase Microextraction, SPME). Με βάση τα πειραματικά αποτελέσματα, η τεχνική Headspace αποδείχτηκε ότι οδηγεί σε χαμηλότερα όρια ανίχνευσης και ποσοτικού προσδιορισμού των τριών αλκοολών στο νερό. Οι τιμές των συντελεστών κατανομής που προσδιορίστηκαν για τις αλκοόλες στα δυαδικά συστήματα υδατικής-ελαϊκής φάσης βρέθηκαν σε συμφωνία με αντίστοιχα βιβλιογραφικά δεδομένα.

## Abstract

In this study, partition coefficients of three light alcohols (methanol, ethanol, 2-propanol) were experimentally determined in binary systems consisting of an aqueous phase and an oil phase. The oil phase was hexane, heptane, toluene, xylene and carbon tetrachloride. These solvents were used to simulate the behavior of alcohols, polar phases and non-aqueous phase liquids (NAPL) during leakage of organic mixtures or oil. The knowledge of the partition coefficient is important to simulate the leakage of organic pollutants into environment. Also, components such as these alcohols are used in studies to calculate the residual concentration of water or oil in hydrocarbon reservoirs, such as Single Well Tracer Test (SWTT) or Double Well Tracer Test (DWTT). The determination of partition coefficients of alcohols was made by calculating their concentration in the aqueous phase. For the determination of these concentrations, gas chromatography was used (with a flame ionization detector (FID)) with three different sample injection methods. Direct injection, Headspace sampling and Solid Phase Microextraction (SPME). Based on the experimental results, Headspace sampling has been shown to result in lower detection and quantification limits of the three alcohols in water. The values of the partition coefficients for the alcohols in the aqueous-oil phase systems were found in agreement with corresponding bibliographic data.

# Περιεχόμενα

Περίληψη .....	1
Abstract .....	2
Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή .....	5
1.1. Ρύποι μη-υδατικής φάσης (Non-aqueous phase liquids, NAPL) .....	5
1.2. Κατανομή πετρελαϊκών ρύπων στο υπέδαφος .....	5
1.3. Αποκατάσταση μολυσμένων περιοχών .....	7
1.4. Συντελεστής Κατανομής .....	8
1.5. Εφαρμογές Συντελεστών Κατανομής .....	9
Κεφάλαιο 2: Αναλυτικές μέθοδοι-Βελτιστοποίηση-Βαθμονόμηση .....	11
2.1 Χρωματογραφία .....	11
2.1.1 Αέρια Χρωματογραφία .....	14
2.1.2 Το φέρον αέριο.....	15
2.1.3 Εισαγωγή του δείγματος. ....	16
2.1.4 Θερμοστατούμενος κλίβανος. ....	17
2.1.5 Χρωματογραφικές στήλες.....	17
2.1.6 Επίδραση της θερμοκρασίας. ....	18
2.1.7 Ανιχνευτές.....	18
2.1.8 Ποιοτική ανάλυση με αέρια χρωματογραφία. ....	19
2.1.9 Ποσοτική ανάλυση με αέρια χρωματογραφία. ....	20
2.1.10 Εφαρμογές αέριας χρωματογραφίας. ....	20
2.2 Βαθμονόμηση .....	21
2.2.1 Μέθοδος εσωτερικού προτύπου .....	24
2.3 Μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (Solid Phase Microextraction SPME).....	26
2.3.1 Δειγματοληψία SPME.....	27
2.3.2 Ίνες SPME .....	28
2.3.3 Συνθήκες εκχύλισης.....	29
2.3.4 Εφαρμογές SPME στο περιβάλλον .....	30
2.3.5 Περιορισμοί στην τεχνική SPME .....	30
2.3.6 Οργανολογία SPME .....	31
2.3.7 Βελτιστοποίηση Συνθηκών Μικροεκχύλισης στερεής φάσης.....	32
2.3.8 Βαθμονόμηση μικροεκχύλισης στερεής φάσης.....	35
2.4 Αέρια χρωματογραφία με απευθείας εισαγωγή του δείγματος .....	38
2.4.1 Εισαγωγή δείγματος με την τεχνική split .....	38

2.4.2 Εισαγωγή δείγματος με την τεχνική splitless .....	39
2.4.3 Προβλήματα που σχετίζονται με τις τεχνικές split-splitless.....	41
2.4.4 Βελτιστοποίηση συνθηκών αέριας χρωματογραφίας με απευθείας εισαγωγή του δείγματος .....	44
2.4.5 Βαθμονόμηση αέριας χρωματογραφίας με απευθείας εισαγωγή του δείγματος .....	44
2.5 Αέρια χρωματογραφία υπερκείμενης φάσης(Headspace) .....	47
2.5.1 Επίδραση του όγκου του συστήματος.....	48
2.5.2 Επίδραση της θερμοκρασίας .....	50
2.5.3 Επίδραση του χρόνου θερμοστάτισης .....	52
2.5.4 Οργανολογία αέριας χρωματογραφίας υπερκείμενης φάσης.....	53
2.5.5 Βελτιστοποίηση συνθηκών αέριας χρωματογραφίας υπερκείμενης φάσης.....	55
2.5.6 Βαθμονόμηση αέριας χρωματογραφίας υπερκείμενης φάσης .....	57
Κεφάλαιο 3: Πειραματική διαδικασία προσδιορισμού συντελεστών κατανομής .....	60
.....	70
.....	70
Συμπεράσματα .....	71
Βιβλιογραφία.....	72

# Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

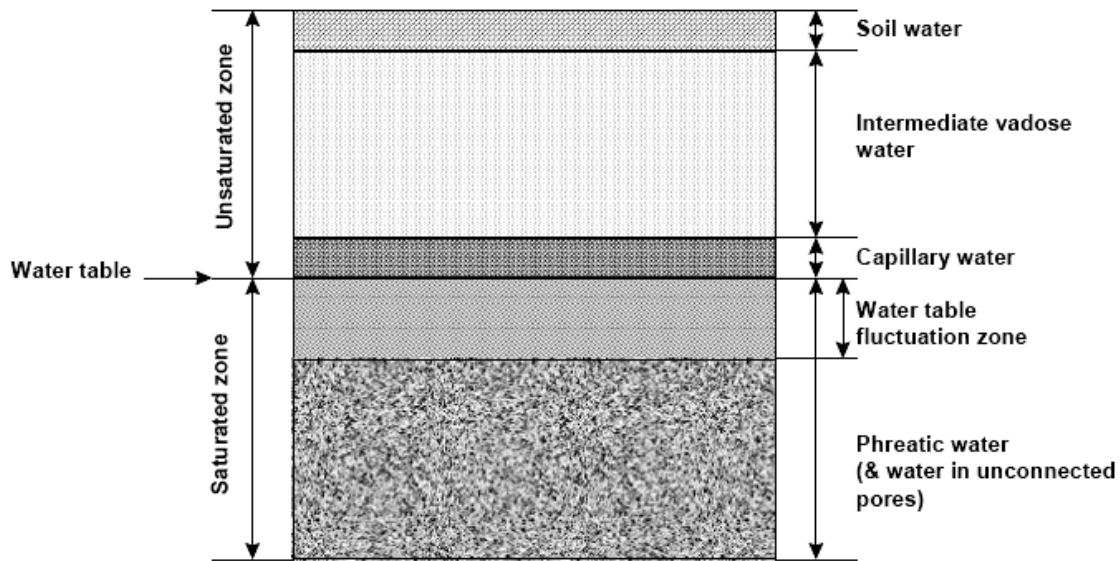
## 1.1. Ρύποι μη-υδατικής φάσης (Non-aqueous phase liquids, NAPL)

Σε κάθε βιομηχανική κοινωνία γίνεται παραγωγή και χρήση υγρών προϊόντων πετρελαίου και βιομηχανικών διαλυτών που έχουν σαν αποτέλεσμα τη μόλυνση τόσο του περιβάλλοντος όσο και της ανθρώπινης υγείας. Η κακή διαχείριση αυτών των χημικών ουσιών θέτει σε κίνδυνο και τα συστήματα των υπόγειων υδάτων μιας και δεν αναμιγνύονται με το νερό οπότε ρέουν ξεχωριστά στο υπέδαφος. Αυτές οι μολυσμένες περιοχές του υπεδάφους ονομάζονται μη-υδατικής φάσης (Non-aqueous phase liquids, NAPL) ή ελαϊκής φάσης. Όταν αυτή η μη-υδατική φάση έχει μια υψηλότερη πυκνότητα από το νερό (π.χ. χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες), τότε ονομάζεται DNAPL (Dense non-aqueous phase liquid). Αντίστοιχα, όταν η μη-υδατική φάση έχει ενώσεις ελαφρύτερες από το νερό (π.χ βενζίνη, diesel), τότε ονομάζεται LNAPL (light non-aqueous phase liquid).

## 1.2. Κατανομή πετρελαϊκών ρύπων στο υπέδαφος

Οι υπόγειοι σχηματισμοί που περιέχουν νερό συνήθως διαχωρίζονται σε οριζόντια στρώματα ανάλογα με το ποσοστό του νερού που υπάρχει στους εδαφικούς πόρους (εικόνα 1 ). Στη ζώνη κορεσμού (saturated zone), όλοι οι πόροι καταλαμβάνονται πλήρως από νερό, ενώ στην υπερκείμενη ζώνη αερισμού (ακόρεστη-unsaturated zone), οι εδαφικοί πόροι περιέχουν νερό, υδρατμούς και ατμοσφαιρικό αέρα. Αυτές τις δυο ζώνες τις διαχωρίζει ο υδροφόρος ορίζοντας (water table). Το μέγεθος του υδροφόρου ορίζοντα καθορίζεται από παράγοντες όπως η βροχόπτωση και η άντληση νερού. Η ακόρεστη ζώνη χωρίζεται περαιτέρω ανάλογα με την ποσότητα νερού που υπάρχει στους εδαφικούς πόρους στις εξής ζώνες:

- Στη ζώνη εδαφικού νερού (soil water zone), η οποία ξεκινά από την επιφάνεια μέχρι το επίπεδο που φτάνουν οι ρίζες των φυτών.
- Στην ενδιάμεση ζώνη αερισμού (intermediate vadose zone), η οποία ξεκινά από την παραπάνω ζώνη έως τη ζώνη τριχοειδών φαινομένων.
- Στη ζώνη τριχοειδών φαινομένων (capillary zone), της οποίας το μέγεθος ποικίλει αντιστρόφως ανάλογα με το μέγεθος των πόρων και ανάλογα με την επιφανειακή τάση (Domenico and Schwartz, 1990).

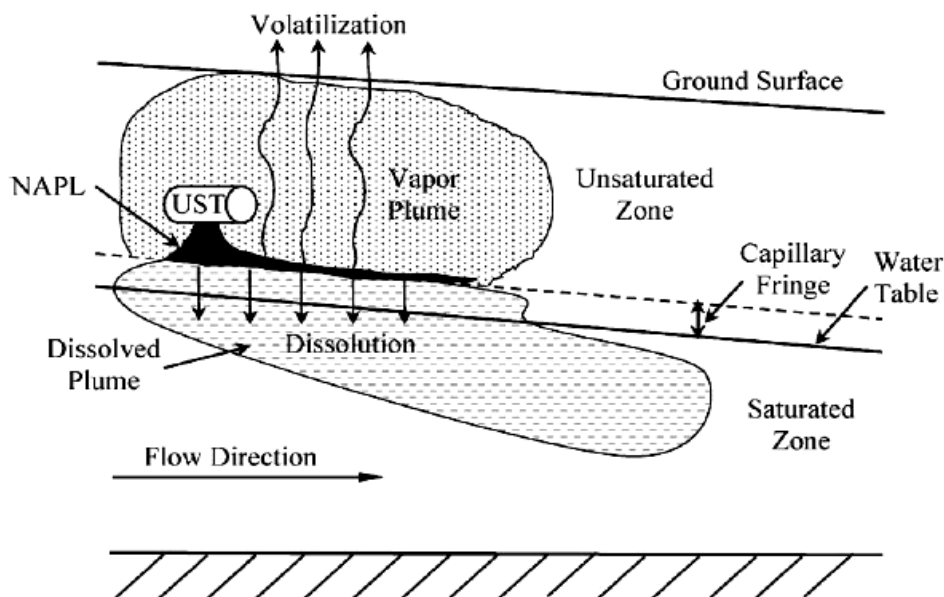


Εικόνα 1- Κατανομή του υπόγειου νερού στο υπέδαφος

Καθώς τα προϊόντα του πετρελαίου ελευθερώνονται στην ακόρεστη ζώνη αρχικά εμφανίζονται υπό συνεχή μορφή από την πηγή ρύπανσης και χαρακτηρίζονται ως NAPLs «ελεύθερης φάσης». Η φάση αυτή κινείται κατακόρυφα υπό την επίδραση της βαρύτητας και των τριχοειδών δυνάμεων. Καθώς η διαρροή συνεχίζεται, το έδαφος γίνεται κορεσμένο και η μολυσμένη περιοχή NAPL αποκτά μεγαλύτερο βάθος. Με τη χρονική εξασθένιση της πηγής διαρροής η μολυσμένη περιοχή NAPL δεν συναντάται πλέον στην «ελεύθερη φάση» αλλά εμφανίζεται με τη μορφή σταγόνων εντός των εδαφικών πόρων, μέρος των οποίων θα προσροφηθεί από τα εδαφικά σωματίδια. Επίσης, λόγω εξάτμισης των πτητικών συστατικών (volatilization) ένα ποσοστό θα βρίσκεται στην αέρια φάση στους εδαφικούς πόρους (vapor plume) και κάποιο άλλο ποσοστό θα προσροφηθεί από τους εδαφικούς κόκκους. Όταν ο ρύπος έρθει σε επαφή με το νερό της ακόρεστης αλλά και στη συνέχεια της κορεσμένης ζώνης, αργά θα διαλυθεί σε αυτό (dissolution). Η κατανομή των πετρελαϊκών ρύπων στο υπέδαφος παρουσιάζεται σχηματικά στην *εικόνα 2*.

Οι διαλυμένοι πετρελαϊκοί ρύποι στο υπόγειο νερό (dissolved plume) παρουσιάζουν μεγαλύτερο ενδιαφέρον λόγω του κινδύνου που προκαλούν για την ανθρώπινη υγεία μέσω της πόσης νερού. Ωστόσο, οι υδρογονάνθρακες σε «ελεύθερη φάση» και οι υδρογονάνθρακες που προσροφώνται στα εδαφικά σωματίδια είναι αυτοί που προκαλούν τη ρύπανση του υπόγειου νερού. Επίσης, οι υδρογονάνθρακες που βρίσκονται στην ακόρεστη ζώνη λόγω εξάτμισης, παράγουν πτητικά οργανικά συστατικά (VOCs) απειλώντας κτίρια και εγκαταστάσεις (Γεωργία, 2004).





Εικόνα 2- Κατανομή πετρελαϊκών ρύπων στο υπέδαφος

### 1.3. Αποκατάσταση μολυσμένων περιοχών

Για τον προσδιορισμό της ποσότητας και της ποιότητας της ελαϊκής φάσης (NAPL) στο υπέδαφος χρησιμοποιούνται μεθοδολογίες ανάλυσης όπως η ανάλυση του εδαφικού αέρα, η ανάλυση πυρήνων από γεωτρήσεις και η ανάλυση των φάσεων (υδατικής και ελαϊκής) από γεωτρήσεις παρακολούθησης (monitoring wells). Η βασική αδυναμία των μεθόδων αυτών είναι ότι περιγράφουν σημειακά την κατάσταση του υπεδάφους με αποτέλεσμα να είναι προβληματική η αποτύπωση της συνολικής εικόνας. Για τη βελτίωση της αξιοπιστίας των μετρήσεων αυτών απαιτείται επίσης μεγάλος αριθμός δειγμάτων-αναλύσεων, πράγμα που δεν είναι πάντα εφικτό τεχνικά ή οικονομικά.

Ένα αντίστοιχο πρόβλημα αντιμετωπίζει και η Μηχανική Ταμιευτήρων όταν χρειάζεται ακριβής προσδιορισμός του υπολειμματικού βαθμού πετρελαίου ή νερού σε νέους ταμιευτήρες ή σε ταμιευτήρες για τους οποίους σχεδιάζεται η εφαρμογή μεθόδων τριτογενούς ανάκτησης (Enhanced Oil Recovery).

Εναλλακτικά έχει προταθεί η χρήση της μεθόδου εισαγωγής ιχνηθετών οι οποίοι κατανέμονται μεταξύ της ελαϊκής και της υδατικής φάσης (partitioning tracers). Ο Davis (1986) καθόρισε έναν ιχνηθέτη ως «ύλη ή ενέργεια που μεταφέρεται από τα υπόγεια νερά και θα παρέχει πληροφορίες σχετικά με την κατεύθυνση κίνησης και την ταχύτητα του νερού αλλά και για πιθανές μολυσματικές ουσίες». Είναι χημικά ή ραδιενεργά υλικά με ιδιότητες τέτοιες ώστε να μπορούν να προστίθενται σε ένα υγρό σε μικρές συγκεντρώσεις χωρίς να επηρεάζεται οποιαδήποτε από τις ιδιότητες του υγρού. Το σύστημα των δύο φάσεων στο υπέδαφος αντιμετωπίζεται ως χρωματογραφική στήλη. Ο χρόνος διαδρομής του κάθε ιχνηθέτη από τη γεώτρηση



εισαγωγής (Injection well) έως τη γεώτρηση παρακολούθησης εξαρτάται από το συντελεστή κατανομής του αλλά και από την αναλογία όγκων των δύο φάσεων. Έτσι, με τη μέτρηση του χρόνου αυτού, και γνωρίζοντας την τιμή του συντελεστή κατανομής για τον συγκεκριμένο ιχνηθέτη στις δύο φάσεις (υδατική και ελαϊκή) της περιοχής μελέτης, μπορεί να υπολογιστεί η αναλογία των όγκων των φάσεων. Έχει αποδειχθεί<sup>[1]</sup> ότι η αξιοπιστία των τιμών του συντελεστή κατανομής, η οποία προσδιορίζεται μόνο πειραματικά σε κάθε τέτοια μελέτη, καθορίζει σε μεγάλο βαθμό και την αξιοπιστία στον προσδιορισμό του όγκου των δύο φάσεων.

Συστατικά τα οποία συνήθως χρησιμοποιούνται ως ιχνηθέτες είναι οι ελαφριές αλκοόλες, όπως η μεθανόλη, η αιθανόλη και η προπανόλη. Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε πειραματικός προσδιορισμός των συντελεστών κατανομής των παραπάνω αλκοολών σε διαφορετικά δυαδικά συστήματα νερού και ελαϊκής φάσης. Ως ελαϊκές φάσεις χρησιμοποιήθηκαν κανονικά αλκάνια, αρωματικοί υδρογονάνθρακες και τετραχλωράνθρακας με στόχο τη διερεύνηση της μεταβολής του συντελεστή κατανομής από την πολικότητα της ελαϊκής φάσης.

#### 1.4. Συντελεστής Κατανομής

Η κατανομή των μορίων ενός δείγματος μεταξύ δύο φάσεων ελέγχεται από μια σταθερά ισορροπίας η οποία ονομάζεται συντελεστής κατανομής και συμβολίζεται με  $K$ . Τα μόρια της ουσίας κινούνται γρήγορα από τη μια φάση στην άλλη και αντίστροφα. Οι συγκεντρώσεις της ουσίας στις δύο φάσεις και ο συντελεστής κατανομής συνδέονται μεταξύ τους με τον παρακάτω τύπο:

$$K = C_s / C_m$$

όπου οι δείκτες  $s$  και  $m$  αναφέρονται στην ακίνητη και τη κινητή φάση αντίστοιχα. Αν η τιμή του  $K$  είναι μεγάλη, ο πληθυσμός των μορίων στην στατική φάση είναι μεγαλύτερος από αυτόν στην κινητή φάση.

Στη χημεία και τη φαρμακολογία, οι δύο φάσεις είναι συνήθως διαλύτες και ο ένας από τους διαλύτες είναι το νερό ενώ ο δεύτερος είναι υδρόφοβος (π.χ. 1-οκτανόλη). Στο παραπάνω ζευγάρι διαλυτών, ο συντελεστής κατανομής καθορίζει πόσο υδρόφιλο («φιλικό προς το νερό») ή υδρόφοβο («μη φιλικό προς το νερό») είναι ένα χημικό συστατικό. Εάν ένας από τους διαλύτες είναι αέριο και ο άλλος είναι υγρό, μπορεί να προσδιοριστεί ένας συντελεστής κατανομής αερίου/υγρού. Για παράδειγμα, ο συντελεστής κατανομής αίματος/αερίου ενός αναισθητικού μετρά πόσο εύκολα μεταφέρεται το αναισθητικό από το αέριο στο αίμα. Οι συντελεστές κατανομής μπορούν επίσης να οριστούν όταν μία από τις φάσεις είναι στερεή, για παράδειγμα όταν η μία φάση είναι ένα τετηγμένο μέταλλο και το δεύτερο είναι ένα στερεό μέταλλο ή όταν και οι δύο φάσεις είναι στερεές. Η κατανομή μιας ουσίας σε ένα στερεό οδηγεί σε ένα στερεό διάλυμα.

Στην περίπτωση που ο ένας διαλύτης είναι το νερό και ο άλλος μια οργανική ουσία (όπως συμβαίνει και στην παρούσα εργασία), τα ανόργανα ιόντα και οι πολικές οργανικές ενώσεις τείνουν να βρίσκονται σε μεγαλύτερο ποσοστό στην υδατική φάση, ενώ οι μη πολικές οργανικές ενώσεις τείνουν να βρίσκονται σε μεγαλύτερο ποσοστό στην οργανική φάση.

## 1.5. Εφαρμογές Συντελεστών Κατανομής.

- *Φαρμακολογία.* Οι συντελεστές κατανομής είναι χρήσιμοι στην εκτίμηση της κατανομής φαρμάκων στο σώμα. Τα υδρόφοβα φάρμακα με υψηλούς συντελεστές κατανομής οκτανόλης/νερού κατανέμονται κυρίως σε υδρόφοβες περιοχές όπως οι λιπιδικές διπλοστιβάδες κυττάρων. Αντιστρόφως τα υδρόφιλα φάρμακα (χαμηλοί συντελεστές κατανομής οκτανόλης/νερού) εντοπίζονται κυρίως σε υδατικές περιοχές όπως ο ορός αίματος.
- *Περιβάλλον.* Η υδροφοβία μιας ένωσης μπορεί να δώσει στους επιστήμονες μια ένδειξη για το πόσο εύκολα θα μπορούσε να αναμιχθεί μια ένωση στα υπόγεια ύδατα για να μολύνει τις διαύλους νερού και την τοξικότητά τους στα ζώα και στην υδρόβια ζωή. Στον τομέα της υδρογεωλογίας, ο συντελεστής κατανομής οκτανόλης-νερού, χρησιμοποιείται για την πρόβλεψη και το μοντέλο της μετανάστευσης διαλελυμένων υδρόφοβων οργανικών ενώσεων στο έδαφος και στα υπόγεια ύδατα.
- *Αγροχημεία.* Τα υδρόφοβα εντομοκτόνα και τα ζιζανιοκτόνα τείνουν να είναι πιο δραστικά. Τα υδρόφοβα αγροχημικά προϊόντα γενικά έχουν μεγαλύτερη ζωή και επομένως εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο δυσμενών περιβαλλοντικών επιπτώσεων.
- *Μεταλλουργία.* Στη μεταλλουργία, ο συντελεστής κατανομής είναι ένας σημαντικός παράγοντας για τον προσδιορισμό του τρόπου κατανομής των διαφορετικών ακαθαρσιών μεταξύ τετηγμένου και στερεοποιημένου μετάλλου. Είναι μια κρίσιμη παράμετρος για τον καθαρισμό χρησιμοποιώντας τήξη ζωνών και καθορίζει πόσο αποτελεσματικά μπορεί να αφαιρεθεί μια ακαθαρσία.
- *Καταναλωτικά προϊόντα.* Πολλές άλλες βιομηχανίες λαμβάνουν υπόψη τους συντελεστές κατανομής, για παράδειγμα στη διαμόρφωση καλλυντικών, τοπικών αλοιφών, βαφών, χρωμάτων μαλλιών και σε πολλά άλλα καταναλωτικά προϊόντα. (Wikipedia, [https://en.wikipedia.org/wiki/Partition\\_coefficient](https://en.wikipedia.org/wiki/Partition_coefficient), 2019)

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιούνται υδατικά διαλύματα αλκοολών τα οποία αναμιγνύονται με οργανικούς διαλύτες. Αρχικά προσδιορίζονται οι συγκεντρώσεις της εκάστοτε αλκοόλης στο υδατικό διάλυμα μετά την ανάμιξή του με τον οργανικό διαλύτη χρησιμοποιώντας την αέρια χρωματογραφία και έπειτα υπολογίζονται οι συντελεστές κατανομής. Θα αναλυθεί η εισαγωγή των διαλυμάτων στο χρωματογράφο η οποία γίνεται με τρεις τρόπους:

- Μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (Solid Phase Microextraction, SPME)
- Απευθείας εισαγωγή του δείγματος στον χρωματογράφο και
- Αέρια χρωματογραφία υπερκείμενης φάσης (Headspace).

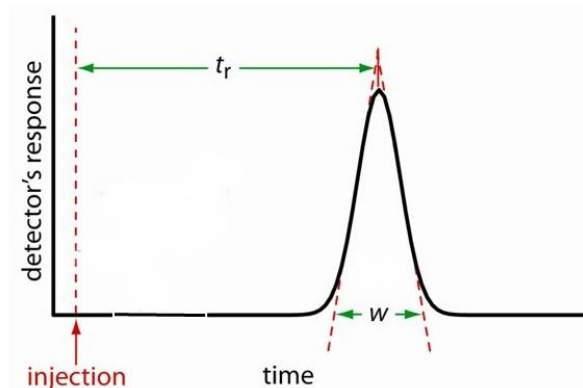
## Κεφάλαιο 2: Αναλυτικές μέθοδοι-Βελτιστοποίηση-Βαθμονόμηση

Σε αυτό το κεφάλαιο θα αναλυθεί η αέρια χρωματογραφία καθώς και οι τρεις αναλυτικές μέθοδοι με τις οποίες συνδυάστηκε προκειμένου να υπολογιστούν οι συντελεστές κατανομής. Για κάθε μέθοδο έγινε βελτιστοποίηση συνθηκών και βαθμονόμηση.

### 2.1 Χρωματογραφία

Η χρωματογραφία είναι μια αναλυτική τεχνική που χρησιμοποιείται συνήθως για το διαχωρισμό ενός μίγματος χημικών ουσιών στα επιμέρους συστατικά του, έτσι ώστε να μπορούν να αναλυθούν λεπτομερώς τα μεμονωμένα συστατικά. Βασίζεται στη διαφορετική κατανομή των συστατικών ενός μίγματος μεταξύ μιας κινητής και μιας στατικής φάσης.

Σε κάθε χρωματογραφικό πείραμα, εισάγεται στην είσοδο της χρωματογραφικής στήλης ένα μίγμα διαφόρων συστατικών. Όλα τα συστατικά ξεκινούν την ίδια χρονική στιγμή αλλά το καθένα από αυτά κινείται με διαφορετική ταχύτητα λόγω του διαφορετικού συντελεστή κατανομής. Μετά το πέρασμα του χρόνου τα συστατικά βρίσκονται σε διαφορετικές θέσεις της στήλης και με αυτόν τον τρόπο διαχωρίζονται. Στην έξοδο τους «εντοπίζονται» από έναν ανιχνευτή. Η γραφική παράσταση της απόκρισης του ανιχνευτή έναντι του χρόνου ονομάζεται χρωματογράφημα (εικόνα 3).



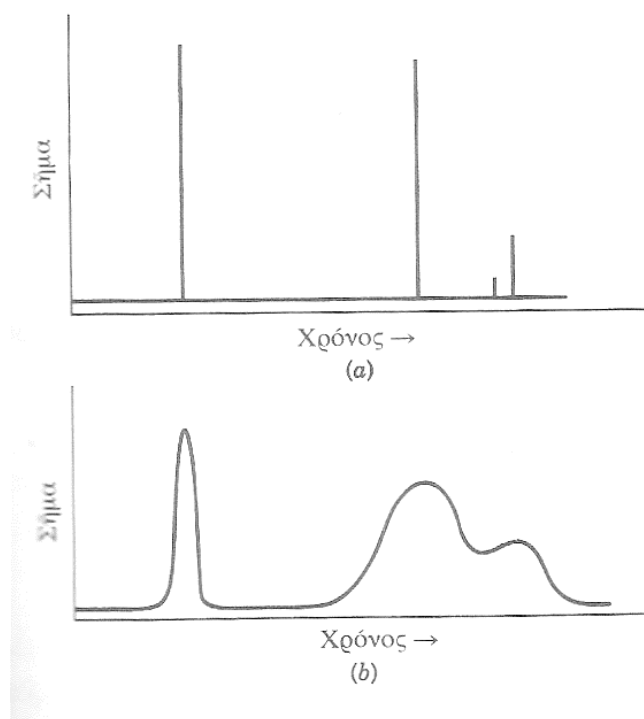
- <http://chemwiki.ucdavis.edu/@api/deki/files/12385/Figure12.09.jpg>

Εικόνα 3- Τυπικό Χρωματογράφημα

Όπου  $t_r$  είναι ο χρόνος συγκράτησης, δηλαδή ο χρόνος που χρειάζεται ένα συστατικό να διατρέξει όλο το μήκος της χρωματογραφικής στήλης και το  $W$  είναι το πλάτος της κορυφής το οποίο παραπέμπει στην εύρεση της συγκέντρωσης του συστατικού.

Σε μια ιδανική χρωματογραφία οι ζώνες των συστατικών που ονομάζονται και κορυφές έκλουσης, δεν παρουσιάζουν τάση διεύρυνσης και συνεπώς η κατανομή κάθε συστατικού με το χρόνο ή τον όγκο στην έξοδο είναι η ίδια με την κατανομή στην είσοδο. Επειδή δε η κατανομή εισόδου είναι συνήθως μια οξεία συμμετρική κορυφή, στο ιδανικό χρωματογράφημα θα εμφανίζονται οξείες συμμετρικές κορυφές που είναι διαχωρισμένες μεταξύ τους, ακόμη και αν το δείγμα περιέχει πολλά συστατικά.

Στην πραγματικότητα η χρωματογραφία δεν είναι ποτέ ιδανική και οι ζώνες των συστατικών, που στην είσοδο της στήλης είναι οξείες, διευρύνονται καθώς διέρχονται μέσα από τη στήλη (εικόνα 4).



Εικόνα 4-Χρωματογραφήματα. α) ιδανική συμπεριφορά, β) μη ιδανική συμπεριφορά

Υπάρχουν πολλοί τύποι χρωματογραφίας. Σε κάθε τύπο το ένα μέρος δηλώνει την κινητή φάση και το άλλο τη στάσιμη. Κάποιοι από αυτούς είναι οι παρακάτω:

- **Χρωματογραφία υγρού-στερεού ή χρωματογραφία προσρόφησης.**

Στη χρωματογραφία υγρού-στερεού, η στάσιμη φάση είναι το στερεό και η κινητή φάση είναι ένα υγρό. Η χρωματογραφία υγρού-στερεού χρησιμοποιείται κυρίως για οργανικές και βιοχημικές αναλύσεις. Οι ουσίες που χρησιμοποιούνται συνήθως σαν υλικά πλήρωσης είναι η αλουμίνα και το διοξείδιο του πυριτίου, που έχουν μεγάλο λόγο εμβαδού επιφάνειας προς τον όγκο. Επειδή υπάρχουν πολύ λίγα υλικά με αυτήν

την ιδιότητα, είναι περιορισμένη και η χρήση αυτού του είδους χρωματογραφίας. Ένας ακόμη περιορισμός είναι και ότι ο συντελεστής κατανομής εξαρτάται συχνά από την ολική συγκέντρωση.

- **Χρωματογραφία υγρού-υγρού ή χρωματογραφία κατανομής.**

Στην τεχνική αυτή η ακίνητη φάση αποτελείται από ένα λεπτό στρώμα ενός υγρού, που βρίσκεται στην επιφάνεια ενός αδρανούς πορώδους στερεού. Υπάρχουν πολλά υγρά που είναι κατάλληλα για αυτήν την διεργασία, για αυτό και η μέθοδος βρίσκει πολλές εφαρμογές. Επίσης ο συντελεστής κατανομής για τα συγκεκριμένα συστήματα είναι σχεδόν ανεξάρτητος της ολικής συγκέντρωσης και έτσι οι διαχωρισμοί είναι αρκετά καλοί.

- **Χρωματογραφία αερίου-υγρού ή αέρια χρωματογραφία.**

Στη χρωματογραφία αερίου-υγρού, η στάσιμη φάση είναι υγρό και η κινητή φάση είναι ένα αέριο. Η αέρια χρωματογραφία είναι η χρησιμότερη και η πιο ευέλικτη μέθοδος διαχωρισμού που αποτέλεσε επανάσταση στην οργανική χημεία. Το σοβαρότερο μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι ότι τα διάφορα συστατικά του μείγματος θα πρέπει να έχουν μια τάση ατμών τουλάχιστον μερικά torr όταν βρίσκονται στη χρωματογραφική στήλη. Το μέγεθος των δειγμάτων που μπορούν να αναλυθούν μπορεί να είναι από ένα μικρογραμμάριο μέχρι 100 γραμμάρια. Είναι τόσο μεγάλη η σημασία αυτής τη μεθόδου που βραβεύτηκε με Νόμπελ και ο Martin που την ανακάλυψε πρόβλεψε ότι θα έρθει μια μέρα που κάθε εργαστήριο θα έχει έναν αέριο χρωματογράφο που θα διαχωρίζει τα συστατικά ενός δείγματος και θα στέλνει τα συστατικά σε έναν ανιχνευτή που θα τα ταυτοποιεί και θα κάνει την ποσοτική ανάλυση.

- **Χρωματογραφία ιονανταλλαγής.**

Η μέθοδος αυτή ανήκει στη χρωματογραφία υγρού-στερεού και όπως λέει και ο τίτλος εφαρμόζεται κυρίως σε ιονισμένα σωμάτια, στα οποία δεν μπορεί να εφαρμοστεί κανένα άλλο είδος χρωματογραφίας. Η χρησιμοποίηση των συνθετικών ρητινών (που έχουν ιονανταλλακτικές ιδιότητες) σαν υλικών πλήρωσης των χρωματογραφικών στηλών λίγο πριν από το Β΄ Παγκόσμιο πόλεμο, έφερε μια επανάσταση στους δύσκολους διαχωρισμούς των μετάλλων των σπάνιων γαιών και των αμινοξέων.

- **Χρωματογραφία σε χαρτί.**

Η χρωματογραφία σε χαρτί ανήκει στη χρωματογραφία υγρού-υγρού και η ακίνητη φάση είναι ένα λεπτό στρώμα νερού που έχει προσροφηθεί σε ένα κομμάτι χαρτί. Εκτός του νερού, μπορούν να χρησιμοποιηθούν και άλλα υγρά σαν ακίνητες φάσεις. Η τεχνική αυτή είναι η πιο απλή από όλα τα είδη της χρωματογραφίας. Μια κηλίδα του δείγματος τοποθετείται κοντά στο ένα άκρο του χαρτιού, που βυθίζεται στο διαλύτη έκλουσης. Με ευαίσθητα αντιδραστήρια εμφάνισης μπορούν να διαχωριστούν και να ταυτοποιηθούν ίχνη από τα συστατικά του δείγματος.

Υπάρχουν και άλλοι τύποι χρωματογραφίας αλλά όλοι χρησιμοποιούν τις ίδιες βασικές αρχές.

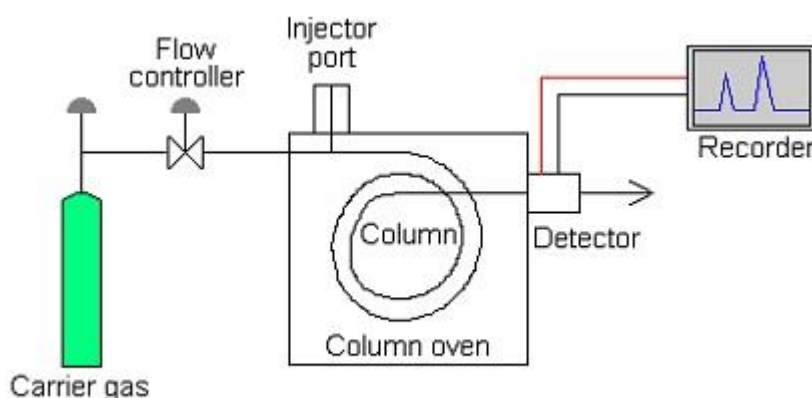
### 2.1.1 Αέρια Χρωματογραφία

Στην παρούσα εργασία εφαρμόσθηκε η αέρια χρωματογραφία στην οποία ως κινητή φάση χρησιμοποιείται ένα ελαφρύ αέριο, ενώ ως στατική φάση ένα υγρό υψηλού σημείου βρασμού σε μορφή λεπτού υμένα πάνω στην εσωτερική επιφάνεια της χρωματογραφικής στήλης. Το φέρον αέριο είναι συνήθως το ήλιο (He), αν και τα τελευταία χρόνια αντικαθίσταται από το υδρογόνο (H<sub>2</sub>), το οποίο υπερέχει ως προς τη διαχωριστική ικανότητα, ενώ πιο σπάνια χρησιμοποιείται και το άζωτο (N<sub>2</sub>).

Πρόκειται για την πιο διαδεδομένη χρωματογραφική τεχνική καθώς διευκολύνει το διαχωρισμό, την ανίχνευση και την ποσοτικοποίηση μεμονομένων συστατικών σε εξαιρετικά πολύπλοκα μίγματα.

#### Οργανολογία αέριας χρωματογραφίας (εικόνα 5):

- Εισαγωγέας δείγματος
- Θερμοστατούμενος κλίβανος
- Στήλη
- Ανιχνευτής
- Καταγραφικό



Εικόνα 5- Σχηματική απεικόνιση αέριου χρωματογράφου



Τα δείγματα εισάγονται είτε στην αέρια φάση είτε ως υγρό, το οποίο εξατμίζεται στιγμιαία στο σύστημα εισαγωγής (split/splitless) ή απευθείας εντός της στήλης (on column). Συνήθως η εισαγωγή γίνεται με μια μικροσύριγγα μέσω ενός ελαστικού διαφράγματος στον εισαγωγέα, ο οποίος βρίσκεται σε υψηλή θερμοκρασία για να εξατμιστούν όλα τα συστατικά του δείγματος.

Η χρωματογραφική στήλη βρίσκεται μέσα σε θερμοστατούμενο κλίβανο. Η θερμοστάτηση με ακρίβεια είναι απαραίτητη καθώς η μεταβολή της θερμοκρασίας επηρεάζει άμεσα τους χρόνους συγκράτησης των συστατικών.

Καθώς τα μόρια εκλούνται από τη χρωματογραφική στήλη μπορούν να ανιχνευτούν από τον ανιχνευτή, μια διάταξη η οποία «εντοπίζει» τα συστατικά του μίγματος στο ρεύμα της κινητής φάσης, όταν αυτή εξέρχεται από τη χρωματογραφική στήλη. Ο πιο διαδεδομένος ανιχνευτής στην αέρια χρωματογραφία είναι ο ανιχνευτής ιονισμού φλόγας (Flame Ionization Detector FID). Η λειτουργία του στηρίζεται στη μέτρηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας μιας φλόγας υδρογόνου στην οποία καίγονται τα συστατικά του μίγματος όταν αυτά εξέρχονται από τη χρωματογραφική στήλη. Αυτό προκαλεί ιόντα τα οποία παράγουν ένα ανιχνεύσιμο ρεύμα. Έτσι, σε συνδυασμό με την αέρια χρωματογραφία διαμορφώνεται ένα διάγραμμα με σειρές κορυφών που αντιστοιχούν στα διάφορα συστατικά. Η ολοκλήρωση του εμβαδού των κορυφών επιτρέπει την ποσοτικοποίηση του κάθε συστατικού. (PECSOK/SHIELDS/CAIRNS/McWILLIAM, 1980)

Βασικό πλεονέκτημα της αέριας χρωματογραφίας είναι η μεγάλη διαχωριστική ικανότητα που έχει ως αποτέλεσμα το διαχωρισμό πολύπλοκων μιγμάτων. Η υψηλή ταχύτητα, η μικρή απαιτούμενη ποσότητα δείγματος, η μεγάλη επαναληψιμότητα και η απλή οργανολογία αποτελούν κάποια ακόμα από τα πλεονεκτήματά της.

Η μέθοδος περιορίζεται από την πτητικότητα των ενώσεων καθώς απαιτούνται σημεία ζέσεως κάτω των 500°C, ενώ η μέγιστη θερμοκρασία των στηλών περιορίζεται περίπου στους 380°C. Επιπλέον, είναι ακατάλληλη για θερμικά ασταθείς ενώσεις και ορισμένα δείγματα μπορεί να απαιτήσουν ειδική προκατεργασία. (Κοκκινοπούλου, 2017)

### 2.1.2 Το φέρον αέριο.

Το φέρον αέριο όπως αναφέρθηκε και παραπάνω μπορεί να είναι το ήλιο, το υδρογόνο και σπανιότερα το άζωτο. Θα πρέπει να είναι σε κανονικές πιέσεις και θερμοκρασίες χημικώς αδρανές, έτσι ώστε οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ του φέροντος αερίου και του δείγματος να μπορούν να αγνοηθούν. Συνεπώς, ο συντελεστής κατανομής ενός συστατικού προσδιορίζεται αποκλειστικά από την πτητικότητα του στην ακίνητη φάση.

Η επιλογή του φέροντος αερίου εξαρτάται από τον τύπο του χρησιμοποιούμενου ανιχνευτή ο οποίος πρέπει να ανιχνεύει τα συστατικά που βρίσκονται στο φέρον αέριο σε πολύ μεγάλη αραίωση. Ειδικότερα, με ανιχνευτή θερμικής αγωγιμότητας χρησιμοποιείται ως φέρον αέριο το ήλιο, το οποίο έχει μεγάλη θερμική αγωγιμότητα και μικρή πυκνότητα, ενώ επιτρέπει και μεγάλες ταχύτητες ροής μειώνοντας το χρόνο ανάλυσης. Το υδρογόνο έχει επίσης μικρή πυκνότητα, ωστόσο μειονεκτεί έναντι του ηλίου γιατί είναι εύφλεκτο και δραστικό έναντι οξειδωτικών και ακόρεστων ενώσεων. Με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας προτιμάται το άζωτο, ενώ με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων απαιτείται άζωτο ή αργό.

Η καθαρότητα του φέροντος αερίου παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάλυση, καθώς ακαθαρσίες και υγρασία ενδέχεται να δημιουργήσουν θόρυβο στον ανιχνευτή. Για αυτόν τον λόγο πριν τη διέλευση του από τη στήλη διέρχεται από φίλτρα που περιέχουν ξηραντικές ουσίες για να απομακρυνθεί κάθε ίχνος υγρασίας.

### 2.1.3 Εισαγωγή του δείγματος.

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως το δείγμα εισάγεται ως υγρό, το οποίο εξατμίζεται στιγμιαία στο σύστημα εισαγωγής (split/splitless) ή εισάγεται απευθείας εντός της στήλης (on column). Στην πρώτη περίπτωση (εισαγωγέας split/splitless), το δείγμα εισάγεται σε μια θερμαινόμενη θύρα έγχυσης ως υγρό και στη συνέχεια εξατμίζεται γρήγορα και πλήρως ο διαλύτης του δείγματος καθώς και όλα τα συστατικά που θα αναλυθούν. Στη συνέχεια το δείγμα, αφού έχει εξατμιστεί, μεταφέρεται στην κεφαλή της χρωματογραφικής στήλης. Στη δεύτερη περίπτωση (εισαγωγέας on column), το δείγμα εισάγεται απευθείας στη χρωματογραφική στήλη. Με αυτήν την τεχνική το δείγμα δεν εξατμίζεται καθόλου και για αυτόν το λόγο χρησιμοποιείται κυρίως για συστατικά που έχουν υψηλό σημείο ζέσεως και δε θα μπορούσαν να μεταφερθούν στη χρωματογραφική στήλη με την τεχνική split/splitless.

Η εισαγωγή του δείγματος πρέπει να γίνεται σε πολύ μικρό χρόνο και στο μικρότερο δυνατό όγκο. Με την άμεση εισαγωγή αποφεύγονται φαινόμενα διάχυσης, ενώ με το μικρό όγκο εισαγωγής αυξάνεται η διαχωριστικότητα του συστήματος. Η βραδεία εισαγωγή οδηγεί σε διεύρυνση κορυφών και κακό διαχωρισμό. Το μέγεθος του δείγματος καθορίζεται από την ποσότητα που είναι διαθέσιμη, από τη χωρητικότητα της στήλης και από την ευαισθησία του ανιχνευτή. Για υγρά δείγματα είναι συνήθως της τάξεως των  $\mu\text{l}$ , ενώ για τα αέρια της τάξεως των  $\text{ml}$ . Τα στερεά δείγματα τοποθετούνται είτε σε γυάλινο φυαλίδιο το οποίο σπάει μόλις εισαχθεί στο θάλαμο, είτε διαλύονται σε έναν διαλύτη πριν την εισαγωγή τους.

### 2.1.4 Θερμοστατούμενος κλίβανος.

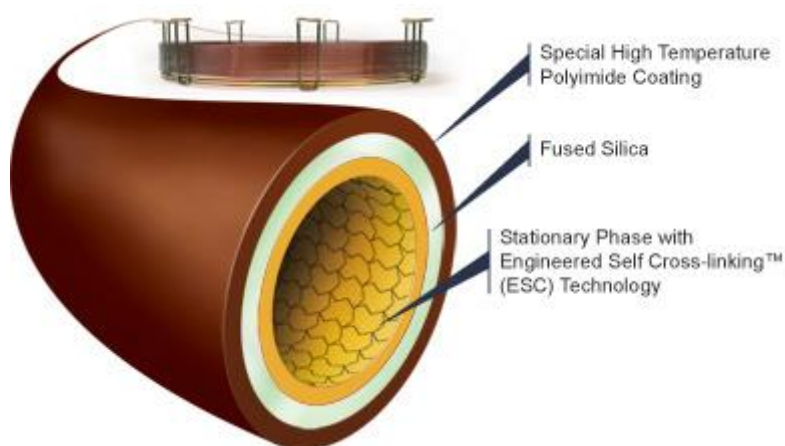
Ο ρόλος του θερμοστατούμενου κλιβάνου είναι η θερμοστάτηση της στήλης, σε θερμοκρασία υψηλότερη του σημείου ζέσεως των συστατικών του μείγματος. Η θερμοκρασία επηρεάζει τη διαχωριστική ικανότητα της χρωματογραφικής στήλης. Με τη μείωση της θερμοκρασίας αυξάνεται η διαχωριστική ικανότητα και ο χρόνος συγκράτησης των συστατικών. Για αυτόν το λόγο θα πρέπει να υπάρχει μια βέλτιστη σχέση ανάμεσα σε αυτά τα δύο μεγέθη καθώς με την αύξηση του χρόνου παραμονής των συστατικών μέσα στη στήλη, οι κορυφές παραμορφώνονται λόγω εντονότερης διάχυσης κατά μήκος της στήλης.

### 2.1.5 Χρωματογραφικές στήλες.

Οι στήλες στην αέρια χρωματογραφία είναι δύο ειδών κυρίως, οι πληρωμένες και οι τριχοειδείς.

Οι πληρωμένες στήλες έχουν μεγάλη χωρητικότητα και χρόνο ζωής. Έχουν μήκος μέχρι και 20m και διάμετρο από 3 έως και 10mm. Κατασκευάζονται από χαλκό, χάλυβα ή γυαλί και συνήθως έχουν μικρό μήκος και μεγάλη εσωτερική διάμετρο.

Οι τριχοειδείς έχουν μήκος από 10 έως 60m και διάμετρο από 0,2 έως 1,2mm. Συνήθως κατασκευάζονται από γυαλί ή οργανικά πολυμερή, έχουν πολύ μικρή χωρητικότητα αλλά παρέχουν υψηλό διαχωρισμό (εικόνα 6).



Εικόνα 6- Χρωματογραφική στήλη

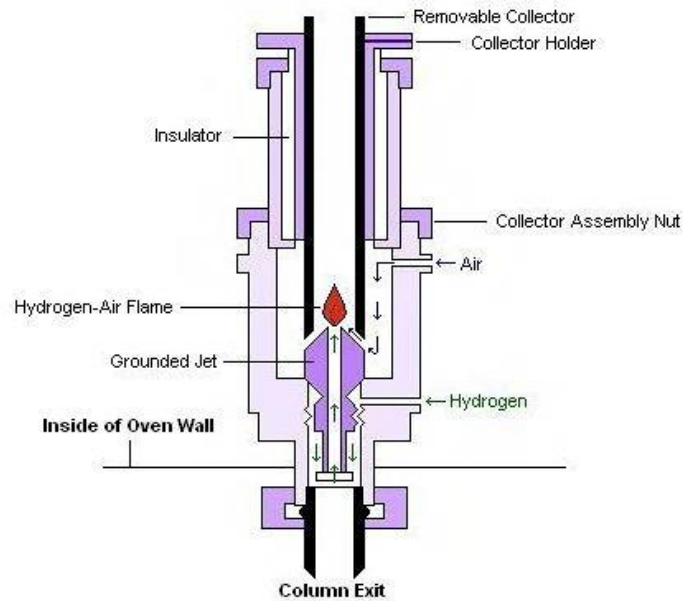
## 2.1.6 Επίδραση της θερμοκρασίας.

Η θερμοκρασία πρέπει να ελέγχεται σε τρία βασικά στάδια της χρωματογραφίας. Κατά την εισαγωγή του δείγματος, στη χρωματογραφική στήλη και στον ανιχνευτή. Όταν εισάγεται το δείγμα πρέπει η θερμοκρασία να είναι υψηλή και περίπου 50°C πάνω από το σημείο βρασμού των συστατικών για να μπορούν να εξατμιστούν γρήγορα και να εισαχθεί στη στήλη η μεγαλύτερη δυνατή συγκέντρωση. Η θερμοκρασία της στήλης όπως αναφέρθηκε είναι από τους πιο βασικούς παράγοντες για το διαχωρισμό των συστατικών. Σε υψηλές θερμοκρασίες τα συστατικά έχουν την τάση να βρίσκονται περισσότερο στην αέρια φάση και να εκκλύονται μαζί συνεπώς να μη γίνεται καλός διαχωρισμός. Σε χαμηλότερες θερμοκρασίες όμως τα συστατικά βρίσκονται περισσότερο στην υγρή φάση και έτσι εκκλύονται σιγά και διαχωρίζονται καλύτερα. Τέλος, ο ανιχνευτής πρέπει να είναι θερμός έτσι ώστε όταν τα συστατικά βρίσκονται σε αυτόν να μη συμπυκνώνονται.

## 2.1.7 Ανιχνευτές.

Με τη χρήση των ανιχνευτών «εντοπίζονται» τα συστατικά του δείγματος που εκκλύονται από τη στήλη και καταγράφονται. Ο ανιχνευτής καταγράφει τη μεταβολή μιας συγκεκριμένης φυσικής ιδιότητας δίνοντας κάποιο ηλεκτρικό σήμα ανάλογο της συγκέντρωσης (μοριακό κλάσμα) ή της παροχής μάζας. Ένας ιδανικός ανιχνευτής θα πρέπει να έχει χαμηλό όριο ανίχνευσης, γραμμική και ομοιόμορφη απόκριση για μεγάλο εύρος συγκεντρώσεων για όλες τις ουσίες, απλή ρύθμιση, μικρό χρόνο απόκρισης, χαμηλό θόρυβο, μικρό εσωτερικό όγκο και μεγάλη σταθερότητα. Επίσης θα πρέπει να είναι απλός, φθηνός, ανθεκτικός και ασφαλής στη λειτουργία του. Υπάρχουν διάφορα είδη ανιχνευτών, με τους κυριότερους να είναι ο ανιχνευτής θερμικής αγωγιμότητας (Thermal Conductivity Detector, TCD), ο ανιχνευτής ιονισμού φλόγας (Flame Ionization Detector, FID), ο ανιχνευτής αζώτου φωσφόρου (Nitrogen Phosphorus Detector, NPD), ο ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων (Electron Capture Detector), ο φλογοφωτομετρικός ανιχνευτής (Flame Photometry Detector) και τα φασματομέτρα μάζας (Mass Spectrometer).

Ο πιο διαδεδομένος ανιχνευτής και αυτός που χρησιμοποιήθηκε και στην παρούσα εργασία είναι ο ανιχνευτής ιονισμού φλόγας (εικόνα 7). Η αρχή λειτουργίας του βασίζεται στο ότι η ηλεκτρική αγωγιμότητα ενός αερίου λόγω ιονισμού είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των φορτισμένων σωματιδίων μέσα σε αυτό. Ο ιονισμός γίνεται με φλόγα, δηλαδή το εκκλυόμενο από τη στήλη αέριο περνά από φλόγα υδρογόνου. Η φλόγα αυτή γίνεται κίτρινη όταν περνούν οργανικά συστατικά και παρατηρείται σημαντική αύξηση της έντασης του ρεύματος λόγω των ιόντων που παράγονται, το οποίο ενισχύεται και μετά αποστέλλεται στο καταγραφικό. Ο FID είναι σχετικά απλός, αποκρίνεται στην παροχή μάζας, χρησιμοποιείται για ποσοτικές αναλύσεις επειδή έχει μεγάλη περιοχή γραμμικής απόκρισης και είναι πολύ ευαίσθητος.



Εικόνα 7- Σχηματική απεικόνιση ανιχνευτή ιονισμού φλόγας

### 2.1.8 Ποιοτική ανάλυση με αέρια χρωματογραφία.

Η αέρια χρωματογραφία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ποιοτική ανάλυση και την ταυτοποίηση των συστατικών αγνώστων μιγμάτων, για την καθαρότητα οργανικών ενώσεων και για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας διαφόρων τεχνικών διαχωρισμού. Η ταυτοποίηση αυτή μπορεί να γίνει με βάση:

- Τον χρόνο συγκράτησης  $t_r$ , που όπως αναφέρθηκε είναι ο χρόνος που χρειάζεται ένα συστατικό να διατρέξει όλο το μήκος της χρωματογραφικής στήλης. Αν είναι γνωστή η ταυτότητα των συστατικών μπορεί να γίνει αναγνώριση με βάση το χρόνο συγκράτησης.
- Τη μέθοδο εμβολιασμού (spiking), στην οποία αφού γίνει ανάλυση του δείγματος με αέρια χρωματογραφία, προστίθεται γνωστή ποσότητα του συστατικού που ενδιαφέρει και πραγματοποιείται νέα ανάλυση. Η κορυφή που παρουσιάζει αύξηση μετά τον εμβολιασμό αντιστοιχεί στην ουσία.
- Τους δείκτες Kovats, οι οποίοι εκφράζουν τη σχετική συγκράτηση της ουσίας ως προς τα κανονικά αλκάνια.
- Με συλλογή των εκλουόμενων συστατικών και περαιτέρω ανάλυση με άλλες τεχνικές.

### 2.1.9 Ποσοτική ανάλυση με αέρια χρωματογραφία.

Πέραν της ποιοτικής ανάλυσης, η αέρια χρωματογραφία είναι μια τεχνική που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον ποσοτικό προσδιορισμό ενώσεων. Αυτό μπορεί να γίνει με τη γνώση του συντελεστή απόκρισης του ανιχνευτή με τον παρακάτω τύπο:

$$R = \frac{\text{Εμβαδόν}}{\text{mol}}$$

Η ποσότητα της ουσίας που εκλύεται δίνοντας κορυφή με εμβαδόν A υπολογίζεται σε mol ως εξής:

$$Q = \frac{A}{R}$$

Όταν το χρωματογράφημα αντιπροσωπεύει όλα τα συστατικά του δείγματος, ισχύει:

$$\% \text{ mol του συστατικού } \beta = \frac{A_{\beta}/R_{\beta}}{\sum A_i/R_i} \times 100$$

Η μέτρηση του Εμβαδού μπορεί να γίνει με μια από τις παρακάτω τεχνικές:

- Με τριγωνισμό. Χρησιμοποιώντας τις εφαπτόμενες στα σημεία καμπής των δύο πλευρών της κορυφής έκλουσης και υπολογίζοντας το εμβαδόν τριγώνου που σχηματίζεται με τη γραμμή βάσης.
- Μετρώντας το ύψος της κορυφής έκλουσης και το πλάτος της στο μισό του ύψος και στη συνέχεια πολλαπλασιάζοντας αυτές τις δύο αποστάσεις.
- Χρησιμοποιώντας μηχανικό ή ηλεκτρονικό εξάρτημα του καταγραφέα που υπολογίζει αυτόματα το εμβαδόν ή κάποιο πρόγραμμα επεξεργασίας χρωματογραφικής ανάλυσης. (PECSOK/SHIELDS/CAIRNS/McWILLIAM, 1980)

### 2.1.10 Εφαρμογές αέριας χρωματογραφίας.

Η αέρια χρωματογραφία χρησιμοποιείται κυρίως για την ανίχνευση, την ταυτοποίηση και τον προσδιορισμό οργανικών ουσιών σε πολύπλοκα δείγματα, αλλά και για τον προσδιορισμό διαφόρων φυσικοχημικών ιδιοτήτων. Επιπλέον, εφαρμόζεται στη βιολογική και βιοχημική έρευνα και χρησιμοποιείται για την ανάλυση αερίων καυσίμων, καυσαερίων αυτοκινήτων, για την ταυτοποίηση φυσικών προϊόντων, βιολογικών δειγμάτων και τροφίμων, αιθέριων ελαίων, εντομοκτόνων, λιπασμάτων, ναρκωτικών και αλκοολούχων ποτών. (PECSOK/SHIELDS/CAIRNS/McWILLIAM, 1980) (Κοκκινοπούλου, 2017)

## 2.2 Βαθμονόμηση

Πριν ξεκινήσει οποιοδήποτε πείραμα είναι απαραίτητο να γίνει η βαθμονόμηση του οργάνου που θα χρησιμοποιηθεί.

Η βαθμονόμηση βρίσκεται στο επίκεντρο της χημικής ανάλυσης και είναι η διαδικασία με την οποία σχετίζεται η απόκριση ενός οργάνου με την τιμή που μετράται με το όργανο αυτό (στη χημεία συνήθως πρόκειται για την συγκέντρωση της αναλυόμενης ουσίας). Πιο συγκεκριμένα, προσδιορίζει τη σχέση ανάμεσα σε ένα μετρούμενο μέγεθος ενός αναλυτικού συστήματος (mA, mV, εμβαδόν), με ένα ποσοτικό χαρακτηριστικό του δείγματος που αναλύεται.

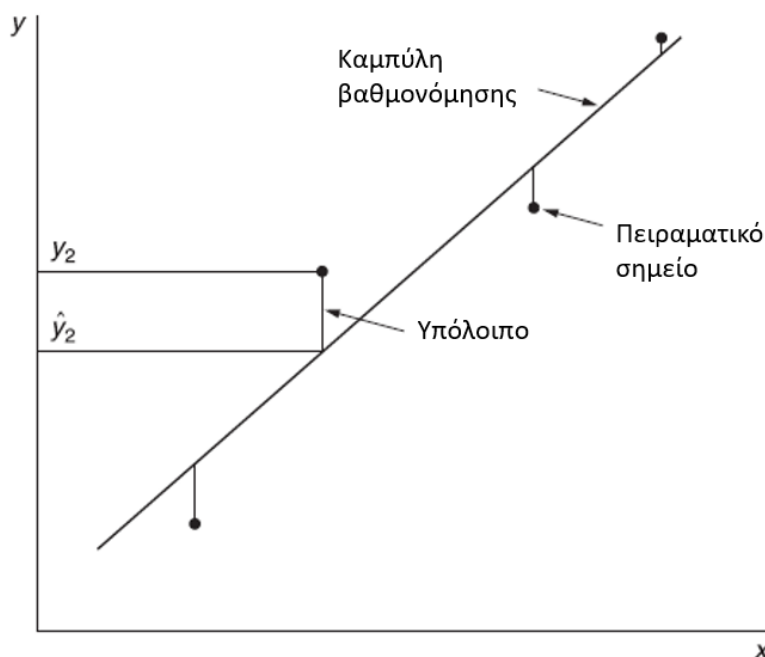
Μια βαθμονόμηση είναι απαραίτητο να γίνει για τους εξής λόγους:

- Χρησιμοποίηση ενός καινούριου οργάνου
- Μετά από επιδιόρθωση ή τροποποίηση του οργάνου
- Όταν έχει παρέλθει ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα λειτουργίας
- Μετά από συγκεκριμένες ώρες λειτουργίας
- Πρίν ή/και μετά από μια κρίσιμη μέτρηση
- Μετά από κάποια βλάβη του οργάνου
- Όποτε είναι αμφίβολες οι ενδείξεις του οργάνου
- Όταν απαιτείται από τον κατασκευαστή ή τον πελάτη. (Wikipedia, <https://en.wikipedia.org/wiki/Calibration>, 2019)

Ένα τυπικό παράδειγμα στην αναλυτική χημεία είναι η βαθμονόμηση του χρωματογράφου στην αέρια χρωματογραφία (GC) . Τα ύψη ή τα εμβαδά των κορυφών σε αυτή τη μέθοδο είναι μετρημένα ως συνάρτηση της συγκέντρωσης του συστατικού που αναλύεται σε μια σειρά πρότυπων διαλυμάτων («διαλύματα βαθμονόμησης») και μια γραμμική εξίσωση προσαρμόζεται στα δεδομένα (εικόνα 8). Έχοντας προσαρμόσει την καλύτερη ευθεία μέσα από τα σημεία, θα μετρηθεί το άγνωστο διάλυμα δοκιμής και το ύψος ή το εμβαδόν της κορυφής της καμπύλης βαθμονόμησης στη συνέχεια θα προβληθεί προς τα κάτω στον άξονα x για να δώσει τη συγκέντρωση. Η εξίσωση υπολογίζεται από τα δεδομένα της βαθμονόμησης και στη συνέχεια αναστρέφεται για να δώσει τη συγκέντρωση του διαλύματος δοκιμής. Αν και το γράφημα δεν είναι πλέον απαραίτητο, είναι καλό να σχεδιάζεται για έναν γρήγορο οπτικό έλεγχο για τα υπερβολικά υψηλά σημεία ή για την ύπαρξη καμπυλότητας.

Επειδή μπορεί να γίνει επιλογή για το ποιές θα είναι οι τιμές των συγκεντρώσεων της βαθμονόμησης, η συγκέντρωση είναι η ανεξάρτητη μεταβλητή, με την ένδειξη του αναλυτικού οργάνου να είναι η εξαρτημένη μεταβλητή.





Εικόνα 8- Σχηματική απεικόνιση μιας γραμμικής καμπύλης βαθμονόμησης

Μια απλή γραμμική σχέση έχει τη μορφή:

$$Y = a + bx$$

όπου το  $Y$  είναι η ένδειξη του οργάνου, το  $x$  είναι η ανεξάρτητη μεταβλητή, η οποία στην προκειμένη περίπτωση είναι η συγκέντρωση και τα  $a$  και  $b$  είναι οι συντελεστές γνωστοί ως η «τομή» και η «κλίση» και προσδιορίζονται από έναν αριθμό μετρήσεων του  $Y$  για τις τιμές  $x$ .

Μια γραμμική βαθμονόμηση είναι ένα μοντέλο που έχει γραμμικούς συντελεστές στις ποσότητες, αλλά χρησιμοποιείται συχνά με την πιο περιορισμένη έννοια της γραμμικότητας στην ανεξάρτητη μεταβλητή. Δεν υπάρχει λόγος να χρησιμοποιηθούν απαραίτητα γραμμικές σχέσεις στην βαθμονόμηση για τις ανεξάρτητες μεταβλητές. Από εμπειρία είναι γνωστό ότι οι περισσότερες σχέσεις στη χημεία δεν είναι αυστηρά γραμμικές, αλλά οι συνθήκες χρήσης ενός οργάνου ή μιας μεθόδου επιλέγονται ώστε να λειτουργεί στο γραμμικό μοντέλο. Υπάρχουν πλεονεκτήματα στο να έχει κανείς ένα γραμμικό μοντέλο: στο παρελθόν ήταν το πιο εύκολο να αναπαρασταθεί, έχει ένα καλά κατανοητό στατιστικό μοντέλο και τα δεδομένα μπορούν να προσαρμοστούν σε μια εξίσωση με μοναδικές παραμέτρους. Ωστόσο, υπάρχουν και μη γραμμικά μοντέλα προσαρμογής δεδομένων. (D. Brynn Hibbert, 2006)

Οι συντελεστές της εξίσωσης υπολογίζονται από τα δεδομένα με τους παρακάτω τύπους:

$$b = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sum_{i=1}^{i=n} (x_i - \bar{x})^2}$$

$$a = \bar{y} - b\bar{x}$$

Όπου  $x_i$  είναι μια συγκέντρωση,  $\bar{x}$  είναι η μέση συγκέντρωση όλων των συγκεντρώσεων και χρησιμοποιείται για τον καθορισμό της καμπύλης βαθμονόμησης και  $\bar{y}$  είναι ο μέσος όρος όλων των μετρούμενων αποκρίσεων, αθροίζοντας την απόκριση για κάθε μεμονωμένο βαθμονομητή και διαιρώντας με τον αριθμό των βαθμονομητών. Το  $n$  αναφέρεται στον αριθμό των δοκιμών ανάλυσης.

Η διακύμανση  $s^2$  υπολογίζεται με τον τύπο:

$$s^2 = \frac{1}{n-1} \sum (x_i - \bar{x})^2$$

Και η τυπική απόκλιση  $s$  :

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum (x_i - \bar{x})^2}$$

Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι για τη βαθμονόμηση:

- Μέθοδος πολλαπλών εξωτερικών προτύπων/ Καμπύλης αναφοράς (multiple external standards/calibration curve)
- Μέθοδος παρεμβολής (bracketing)
- Μέθοδος ενός εξωτερικού προτύπου (single external standard)
- Μέθοδος προσθήκης γνωστής ποσότητας (standard addition method)
- Μέθοδος πολλαπλών προσθηκών γνωστών ποσοτήτων (multiple standard addition)
- Μέθοδος μείωσης κατά γνωστή ποσότητα (standard subtraction)

- Μέθοδος εσωτερικού προτύπου (internal standard)
- Μέθοδος κανονικοποίησης (normalization) (ΚΟΥΠΠΑΡΗΣ)

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος εσωτερικού προτύπου για τη βαθμονόμηση του οργάνου.

## 2.2.1 Μέθοδος εσωτερικού προτύπου

Η μέθοδος εσωτερικού προτύπου χρησιμοποιείται κυρίως όταν είναι αναγκαστικά διαφορετικές οι ποσότητες του δείγματος που εισάγονται για ανάλυση ή σε περιπτώσεις όπου είναι αδύνατη η έκλυση όλων των συστατικών του δείγματος.

Το εσωτερικό πρότυπο είναι μια γνωστή ποσότητα κάποιας ένωσης που είναι διαφορετική από το συστατικό που αναλύεται και προστίθεται στα πρότυπα και στα άγνωστα διαλύματα προσέχοντας να έχει αυστηρά πάντα την ίδια συγκέντρωση. Το ιδανικό εσωτερικό πρότυπο πρέπει να παρουσιάζει παρόμοιες φυσικοχημικές ιδιότητες με το συστατικό που αναλύεται και η μέθοδος να αποκρίνεται κατά τον ίδιο τρόπο με αυτό, αλλά να μπορεί να μετράται χωρίς να το επικαλύπτει. Πρέπει να παρέχει ένα σήμα παρόμοιο με το σήμα του αναλυόμενου συστατικού με τους περισσότερους τρόπους, αλλά αρκετά διαφορετικό ώστε τα δύο σήματα να διακρίνονται εύκολα από το όργανο.

Στη χρωματογραφία χρησιμοποιούνται εσωτερικά πρότυπα για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης συστατικών με υπολογισμό του σχετικού συντελεστή απόκρισης.

Ο συντελεστής απόκρισης (response factor) υπολογίζεται με τον παρακάτω τύπο:

$$RF = \frac{\text{Σήμα αναλύτη} / \text{Συγκέντρωση αναλύτη}}{\text{Σήμα προτύπου} / \text{Συγκέντρωση προτύπου}}$$

Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι ότι βοηθάει στους υπολογισμούς για διάφορες αλλαγές που μπορεί να προκύψουν στην απόκριση του χρωματογράφου και του όγκου του δείγματος που εισάγεται σε αυτόν. Επίσης οι χρόνοι συγκράτησης του εσωτερικού προτύπου και του αναλύτη μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον υπολογισμό του σχετικού χρόνου συγκράτησης ο οποίος με τη σειρά του χρησιμοποιείται για να αντισταθμίσει τυχόν μετατοπίσεις του χρόνου συγκράτησης.

Το κύριο μειονέκτημα της μεθόδου στην βαθμονόμηση είναι ότι το εσωτερικό πρότυπο πρέπει να είναι ένωση η οποία δεν βρίσκεται στα δείγματα που αναλύονται

για να παράξουν μια σαφή απόκριση στον ανιχνευτή του χρωματογράφου. (University, 2018)

Στη συγκεκριμένη εργασία ως εσωτερικό πρότυπο χρησιμοποιήθηκε η 1-προπανόλη, η οποία προστέθηκε διατηρώντας την ποσότητα και τη συγκέντρωσή της σταθερή σε όλα τα δείγματα που αναλύθηκαν. Η ίδια ποσότητα αυτού προστέθηκε και στα πρότυπα διαλύματα βαθμονόμησης. Έπειτα υπολογίστηκε ο συντελεστής απόκρισης RF σύμφωνα με τον παραπάνω τύπο.

## 2.3 Μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (Solid Phase Microextraction SPME)

Η μικροεκχύλιση στερεάς φάσης SPME (Solid Phase Microextraction) είναι μια πολύ απλή και αποτελεσματική μέθοδος προετοιμασίας δειγμάτων χωρίς διαλύτες, που εφευρέθηκε από τον Pawliszyn το 1990<sup>1</sup>. Έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως σε διάφορους τομείς αναλυτικής χημείας όπως στην ανάλυση του περιβάλλοντος και των τροφίμων. Χρησιμοποιείται συστηματικά σε συνδυασμό με αέρια χρωματογραφία (GC) και φασματομετρία μάζας (GC/MS) και εφαρμόζεται σε μια ευρεία ποικιλία ενώσεων, ειδικά για την εκχύλιση πτητικών και ημιπτητικών οργανικών ενώσεων από περιβαλλοντικά, βιολογικά και δείγματα τροφίμων. Η μέθοδος SPME χρησιμοποιείται επίσης στην υγρή χρωματογραφία (HPLC) με σκοπό να αναλύσει ασθενώς πτητικές ή θερμικά ασταθείς ενώσεις.

Παρά τις προόδους στις τεχνικές διαχωρισμού και ποσοτικού προσδιορισμού, πολλές πρακτικές προετοιμασίας δειγμάτων βασίζονται σε παραδοσιακές τεχνολογίες όπως η εκχύλιση Soxhlet<sup>2</sup> και η εκχύλιση υγρών-υγρών (LLE)<sup>3</sup>, οι οποίες είναι χρονοβόρες, απαιτούν εργασία και απαιτούν επίσης τη χρήση των τοξικών διαλυτών<sup>4</sup>. Η αρχή λειτουργίας οποιασδήποτε μεθόδου είναι να επιτρέψει στους αναλυτές να γίνει διαχωρισμός μεταξύ του μητρικού δείγματος και μιας φάσης εκχύλισης<sup>5</sup>. Παρακάτω παρουσιάζονται τα κύρια βήματα που ακολουθούνται στις διαφορετικές τεχνικές προετοιμασίας του δείγματος.

### Εκχύλιση υγρού-υγρού

- Προσθήκη οργανικών διαλυτών στο δείγμα
- Ανατάραξη σε διαχωριστική χοάνη
- Διαχωρισμός των υδατικών και οργανικών φάσεων
- Απομάκρυνση της οργανικής φάσης
- Εξάτμιση / συμπύκνωση της οργανικής φάσης
- Έγχυση στο όργανο ανάλυσης
- Προετοιμασία δείγματος

---

<sup>1</sup> C.L. Arthur, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 62 (1990) 2145

<sup>2</sup> R.C. Lao, R.S. Thomas, J.L. Monkman, J. Chromatogr. 112 (1975) 681

<sup>3</sup> D. Barcelo, J. Chromatogr. 643 (1993) 117

<sup>4</sup> R.E. Jurtoft, T.W. Gouw, Anal. Chem. 48 (1976) 2195.

<sup>5</sup> A. Pena~lm, E. Pocurull, F. Borrull, R.M. Marc^e, Trends Anal. Chem. 18 (1999) 8.

### Εκχύλιση στερεής φάσης

- Εκχύλιση διαλυτών για την αφαίρεση των παρεμβολών και την εκρόφηση του αναλύτη
- Εξάτμιση / συμπύκνωση της οργανικής φάσης
- Ένεση στο όργανο ανάλυσης

### Μικροεκχύλιση στερεής φάσης

- Έκθεση της ίνας SPME στο δείγμα
- Εκρόφηση αναλυτών στο όργανο ανάλυσης

Είναι φανερό ότι η μέθοδος SPME αναπτύχθηκε για να καθιστά δυνατή τη γρήγορη προετοιμασία των δειγμάτων. Στο πρώτο στάδιο, η επικαλυμμένη ίνα εκτίθεται μέσα στο δείγμα ή στον υπερκείμενο χώρο του και οι αναλυτές χωρίζονται από το μητρικό δείγμα. Στο δεύτερο στάδιο, η ίνα που φέρει πλέον τους συμπυκνωμένους αναλύτες μεταφέρεται στο αναλυτικό όργανο όπου πραγματοποιείται η εκρόφηση, ο διαχωρισμός και η ποσοτικοποίηση των εκχυλισθέντων αναλυτών.

Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι ότι η εκχύλιση είναι γρήγορη, απλή, μπορεί να γίνει συνήθως χωρίς διαλύτες και τα όρια ανίχνευσης μπορούν να φθάσουν σε μέρη ανά τρισεκατομμύριο (ppt) για ορισμένες ενώσεις. Εξοικονομεί χρόνο προετοιμασίας και κόστος και διαθέτει μεγάλες δυνατότητες για εφαρμογές σε πεδία. Η επιτόπου δειγματοληψία μπορεί να γίνει ακόμη και από μη επιστήμονες χωρίς την ανάγκη να υπάρχει εξοπλισμός αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας σε κάθε θέση. Επίσης, τα δείγματα όταν αποθηκεύονται κατάλληλα μπορούν να αναλυθούν μετά από ημέρες στο εργαστήριο χωρίς σημαντική απώλεια πτητικών ουσιών. (Alpendurada, 2000)

## 2.3.1 Δειγματοληψία SPME

Η μέθοδος περιλαμβάνει τη χρήση μιας ίνας από πυριτική ύλη επικαλυμμένης με μια στατική φάση, η οποία μπορεί να είναι ένα υγρό (πολυμερές) ή ένα στερεό (προσροφητικό).

Υπάρχουν τρεις διαφορετικές δειγματοληψίες για τη μέθοδο SPME:

- η άμεση δειγματοληψία (direct),
- η δειγματοληψία υπερκείμενης φάσης (headspace) και
- η δειγματοληψία με τη χρήση μεμβράνης.

Στην άμεση δειγματοληψία, η ίνα τοποθετείται στο νερό ή σε δείγμα αέρα και οι αναλυτές απορροφώνται απευθείας στην επίστρωση ινών από το μητρικό δείγμα. Για

να γίνει ταχύτερη η υδατική εκχύλιση, είναι αναγκαία η ανάδευση. Για τα αέρια δείγματα η φυσική μεταφορά είναι αρκετή για να διευκολύνει την ισορροπία. Για να επιτευχθεί μια πιο αποτελεσματική ανάδευση, στην περίπτωση υδατικών μητρικών δειγμάτων, απαιτείται γρήγορη ροή αυτών, ταχεία κίνηση ινών ή φιαλιδίων και ανάδευση. Αυτές οι προσεγγίσεις απαιτούνται για τη μείωση των επιπτώσεων της θωράκισης υγρών και των μικρών συντελεστών διάχυσης των αναλυτών σε υγρά μητρικά δείγματα σε μια ζώνη κοντά στην ίνα.

Στη δειγματοληψία υπερκείμενης φάσης, δείγμα εδάφους ή νερού τοποθετείται σε φιαλίδιο. Η ίνα τοποθετείται στον αέρα ακριβώς πάνω από το νερό ή το έδαφος, και αναλύει το διαχωρισμό από το μητρικό δείγμα μέσω του αέρα στην επίστρωση ινών. Ο αέρας στο φιαλίδιο χρησιμεύει ως φραγμός μεταξύ της ίνας και του μητρικού δείγματος για την προστασία της ίνας και την εξάλειψη της ρύπανσης από ενώσεις υψηλού μοριακού βάρους και άλλες μη πτητικές παρεμβολές στο μέσο δειγματοληψίας.

Ο τρίτος τρόπος χρήσης χρησιμοποιεί μια μεμβράνη που προστατεύει την ίνα από τα βαριά μολυσμένα δείγματα που μπορεί να τη βλάψουν. (Gary L. Hook, Gregory L. Kimm, Tara Hall, Philip A. Smith,, 2002)

Το πιο συχνό μητρικό δείγμα για την μέθοδο SPME είναι το νερό. Στην ανάλυση των πτητικών οργανικών ενώσεων (VOCs), προκειμένου να αποφευχθεί η μόλυνση της ίνας με το μητρικό δείγμα, δόθηκε μεγάλη προσοχή στη δειγματοληψία της υπερκείμενης φάσης. Η συγκεκριμένη δειγματοληψία προτιμάται λόγω των ταχύτερων χρόνων ισορροπίας για τις πτητικές οργανικές ενώσεις σε σύγκριση με την άμεση δειγματοληψία και λόγω της υψηλότερης επιλεκτικότητας όταν αναλύονται μολυσμένα δείγματα. Επιπλέον, η στήλη της χρωματογραφίας προστατεύεται από τη μόλυνση μη πτητικών ενώσεων υψηλού μοριακού βάρους. (Eva Matisova, Monika Medved'ova, Janka Vraniakova, Peter Simon, 2002)

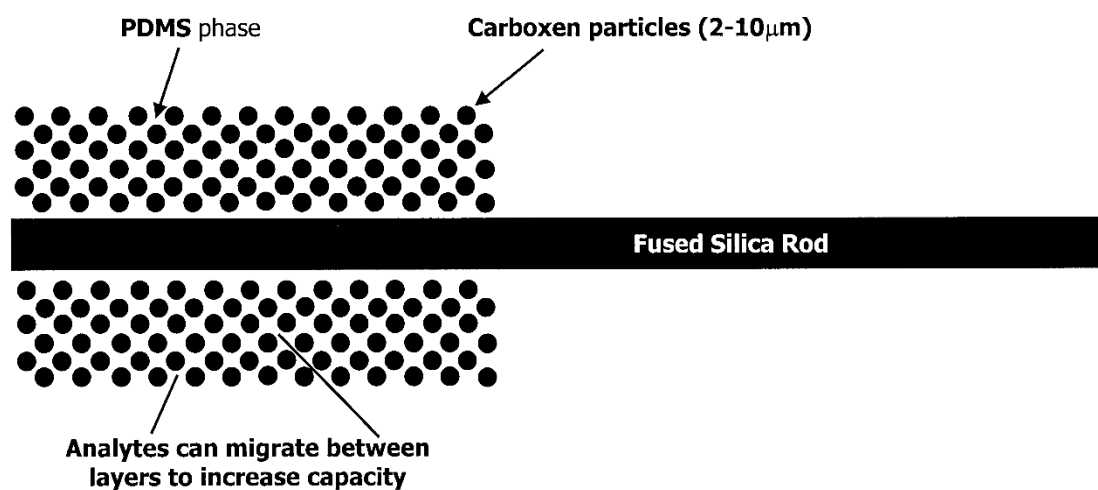
### 2.3.2 Ίνες SPME

Οι πιο δημοφιλείς ίνες που χρησιμοποιούνται είναι αυτές με επικάλυψη απο πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (polydimethylsiloxane, PDMS) καθώς αντέχουν σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες (μέχρι 300°C). Το PDMS είναι μια μη πολική φάση που εξαγεί συστατικά διαλυμένα σε μη πολικούς διαλύτες. Οι ίνες PDMS μπορούν όμως να χρησιμοποιηθούν και για πολικές ενώσεις μετά από βελτιστοποίηση συνθηκών της εκχύλισης όπως το pH, η συγκέντρωση άλατος και η θερμοκρασία (εικόνα 9). Παρότι στο εμπόριο κυκλοφορούν οι PDMS ίνες σε διάφορα πάχη, συνήθως επιλέγονται αυτές με τη λεπτότερη επικάλυψη που επιτυγχάνει το απαιτούμενο όριο ανίχνευσης. Κατά γενικό κανόνα, όταν εφαρμόζεται άμεση υδατική εκχύλιση με μαγνητική ανάδευση, ένα πάχος των 100mm παρέχει χρόνους εξισορρόπησης μικρότερους από μία ώρα για ενώσεις στις οποίες έχουν εκτιμηθεί οι σταθερές κατανομής μικρότερες



από 10000. Για ενώσεις με πιο υψηλές σταθερές κατανομής χρησιμοποιούνται ίνες με λεπτότερο πάχος μιας και ο χρόνος εξισορρόπησης είναι μικρότερος.

Αυτή η τεχνική προετοιμασίας των δειγμάτων έχει μελετηθεί αρκετά και δείχνει ότι η ποσότητα του αναλυτή που εξάγεται από την επικάλυψη της ίνας είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση της αναλυόμενης ουσίας του δείγματος και ανεξάρτητη από το πώς είναι τοποθετημένη η ίνα. Αυτό σημαίνει πως η ίνα μπορεί να τοποθετηθεί είτε στον υπερκείμενο χώρο είτε μέσα στο δείγμα, αν η επικάλυψή της, ο υπερκείμενος χώρος και ο όγκος του δείγματος διατηρούνται σταθερά.



Εικόνα 9- Σχηματική απεικόνιση ίνας με επικάλυψη PDMS

### 2.3.3 Συνθήκες εκχύλισης

Η διαδικασία εκχύλισης περιλαμβάνει την έκθεση της ίνας σε ένα μικρό όγκο του υδατικού δείγματος ή στον υπερκείμενο χώρο του για ένα ορισμένο χρονικό διάστημα. Η ανάδευση χρησιμοποιείται για την επίτευξη ταχύτερης εξισορρόπησης επειδή ενισχύει τη διάχυση των αναλυτών προς την ίνα. Οι ενώσεις με συντελεστές χαμηλής διάχυσης έχουν μεγάλους χρόνους εξισορρόπησης. Σε αυτή την περίπτωση για να ελαχιστοποιηθεί ο χρόνος ανάλυσης, κατασκευάζεται μια καμπύλη εκχύλισης-χρόνου, που δείχνει την εξάρτηση της ποσότητας του αναλυτή που εξάγεται ως συνάρτηση του χρόνου. Ο μικρότερος αποδεκτός χρόνος επιλέγεται σύμφωνα με το όριο ανίχνευσης της αναλυόμενης ουσίας. Η θερμοκρασία εκχύλισης έχει δύο αντίθετες επιδράσεις στην τεχνική SPME. Αυξάνοντας τη θερμοκρασία, αυξάνεται και ο συντελεστής διάχυσης των αναλυόμενων ουσιών. Από την άλλη πλευρά, καθώς η προσρόφηση είναι μια εξώθερμη διαδικασία, η αύξηση της θερμοκρασίας μειώνει τη σταθερά κατανομής της αναλυόμενης ουσίας. Ο Pawliszyn εισήγαγε μια νέα συσκευή

που επιτρέπει τη θέρμανση του δείγματος και την ταυτόχρονη ψύξη των ινών. Αυτό διευκολύνει τη μαζική μεταφορά αναλυτών από το δείγμα στην επίστρωση της ίνας, αυξάνοντας την αποτελεσματικότητα της διαδικασίας. Το pH του δείγματος είναι σημαντικό για τις ελαφρώς όξινες ή βασικές ενώσεις (π.χ. φαινόλες και αμίνες) επειδή πρέπει να διατηρούνται σε μη ιονισμένη μορφή. Ωστόσο, οι ίνες PDMS δεν μπορούν να εκτεθούν σε δείγμα με pH κάτω 4 ή άνω 10. Η προσθήκη άλατος, συνήθως χλωριούχου νατρίου ή θειικού νατρίου, αυξάνει την ιοντική ισχύ του διαλύματος. Αυτό καθιστά τις οργανικές ενώσεις λιγότερο διαλυτές, αυξάνοντας τους συντελεστές κατανομής αρκετές φορές. Παρόλα αυτά, μετά την εκρόφηση, οι ίνες πρέπει να καθαριστούν πολύ προσεκτικά επειδή γίνονται πιο εύθραυστες.

### 2.3.4 Εφαρμογές SPME στο περιβάλλον

Ένας μεγάλος αριθμός εφαρμογών της τεχνικής SPME μπορεί να βρεθεί στον περιβαλλοντικό τομέα, όπως στον αέρα και στα υπόγεια νερά, στο θαλασσινό νερό, στα λύματα και στα εδάφη. Αν και δεν επιτυγχάνεται πλήρης απομάκρυνση των αναλυτών από το μητρικό δείγμα, η υψηλή ικανότητα συγκέντρωσης και η επιλεκτικότητα αυτής της τεχνικής επιτρέπουν την άμεση και εξαιρετικά ευαίσθητη ανάλυση των εκχυλισμένων μιγμάτων. Συνδυάζοντας την υψηλή ικανότητα συγκέντρωσης και την επιλεκτικότητα των ινών με έναν πολύ ευαίσθητο ανιχνευτή, μπορούν να επιτευχθούν όρια ανίχνευσης μεγέθους ppt. Πρόσφατα η τεχνική SPME εισήχθη ως πολύ χρήσιμη τεχνική για την ανάλυση πεδίων. Ένας φορητός δειγματολήπτης πεδίου έχει σχεδιαστεί για το σκοπό αυτό. Χρησιμοποιείται ένας χειροκίνητος υποδοχέας που αποθηκεύει την ίνα μετά τη δειγματοληψία σφραγίζοντας την με ένα εσωτερικό διάφραγμα. Οι αναλυτές μπορούν να αποθηκευτούν για αρκετές ημέρες πριν από την έναρξη της ανάλυσης, χωρίς σημαντικές απώλειες.

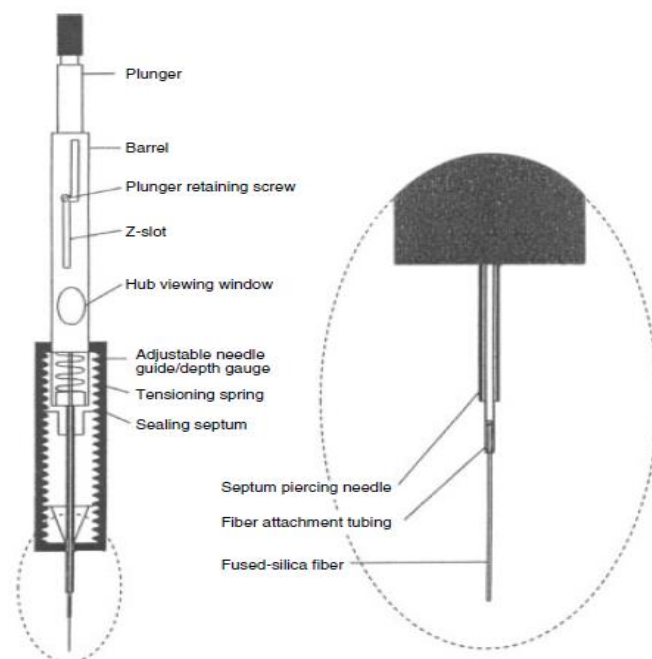
### 2.3.5 Περιορισμοί στην τεχνική SPME

Η ποιότητα των ινών εξαρτάται από τον κατασκευαστή και μερικές φορές η απόδοση είναι διαφορετική από ανάλυση σε ανάλυση. Αυτό σημαίνει ότι πρέπει να γίνει προετοιμασία κάθε ίνας πριν από τη χρήση. Επίσης οι ίνες είναι εύθραυστες και μπορούν εύκολα να σπάσουν. Πρέπει πάντα να γίνεται έκθεση της ίνας σε μια συγκεκριμένη θερμοκρασία και για συγκεκριμένο χρόνο που έχει ορίσει ο κατασκευαστής της όταν χρησιμοποιείται για πρώτη φορά ή όταν δεν έχει χρησιμοποιηθεί για κάποιο χρονικό διάστημα. Η μεταφορά των ινών όταν γίνεται μέτρηση στο πεδίο είναι επίσης ένα πρόβλημα δύσκολο να επιλυθεί ακόμα και σε υψηλές θερμοκρασίες. Κατά συνέπεια, πρέπει να γίνεται ανάλυση της καθαρής ίνας πριν ανάμεσα στις δειγματοληψίες (blank run). Όταν υπάρχει υψηλό ποσοστό

εναιωρούμενης ύλης στο δείγμα, η επίστρωση της ίνας μπορεί να καταστραφεί κατά την ανάδευση. Επίσης ενώσεις υψηλής μοριακής μάζας μπορούν να προσροφηθούν στην ίνα, αλλάζοντας έτσι τις ιδιότητες της επίστρωσης και καθιστώντας την ακατάλληλη. Σε αυτές τις περιπτώσεις, πρέπει να χρησιμοποιηθεί μια ίνα προστατευμένη με μεμβράνη. Αυτά τα δύο τελευταία προβλήματα μπορεί να είναι ένας από τους λόγους της κακής επαναληψιμότητας και γραμμικότητας που μερικές φορές συναντάται όταν εξάγονται αναλύτες από μολυσμένο νερό. Ο σχηματισμός φυσαλίδων αερίου στην επιφάνεια των ινών είναι μερικές φορές δύσκολο να αποφευχθεί και επηρεάζει τους ρυθμούς μεταφοράς μαζών και οδηγεί σε προβλήματα που αναφέρθηκαν προηγουμένως. Πρέπει επίσης να σημειωθούν ορισμένα προβλήματα ευαισθησίας. Η ευαισθησία της τεχνικής SPME είναι ανάλογη προς τον αριθμό των γραμμομορίων αναλυόμενης ουσίας που εξάγεται από το δείγμα. Καθώς αυξάνεται ο όγκος του δείγματος, αυξάνεται και η ποσότητα της αναλυόμενης ουσίας που εξάγεται, μέχρις ότου ο όγκος του δείγματος γίνει σημαντικά μεγαλύτερος από τον όγκο που μπορεί να απορροφήσει η ίνα. Σε αυτό το σημείο, η ευαισθησία της μεθόδου δεν βελτιώνεται με μια περαιτέρω αύξηση του όγκου. Αντίθετα, στην εκχύλιση υγρού-υγρού ή στερεής φάσης, ο όγκος του δείγματος μπορεί να τροποποιηθεί για να βελτιωθεί η ευαισθησία. Ακόμα, η ανάγκη για μεγάλους όγκους δειγμάτων που συλλέγονται καθιστά τα στάδια μεταφοράς και αποθήκευσης πολύ κρίσιμα. (Alpendurada, 2000)

### 2.3.6 Οργανολογία SPME

Η συσκευή που χρησιμοποιείται είναι πολύ απλή. Μοιάζει με τροποποιημένη σύριγγα αποτελούμενη από μία υποδοχή ινών και μία συναρμολογημένη ίνα με αναδιπλούμενο μήκος των 1-2 εκατοστών (εικόνα 10). Η ίδια η ίνα είναι ένα λεπτό τήγμα πυριτίας, επικαλυμμένη με μια λεπτή μεμβράνη πολυμερούς (όπως πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (PDMS)), που χρησιμοποιείται συμβατικά ως υλικό επικάλυψης σε χρωματογραφία. Η βελόνα εισάγεται στην κατάλληλη θέση (π.χ. μέσω ενός διαφράγματος μέσα στην υπερκείμενη φάση). Η επίστρωση πολυμερών ενεργεί σαν ένα «σφουγγάρι», συγκεντρώνοντας τους αναλύτες με διεργασίες απορρόφησης/προσρόφησης. Η εκχύλιση βασίζεται σε μια παρόμοια αρχή με τη χρωματογραφία για διαχωρισμό αερίου-υγρού ή υγρού-υγρού. Η κινητική της διαδικασίας εκχύλισης με τη μέθοδο SPME εξαρτάται από μια σειρά παραμέτρων (π.χ. πάχος φιλμ, ανάδευση του δείγματος) και οι χρόνοι δειγματοληψίας είναι τυπικά της τάξεως των λίγων λεπτών. (Gyorgy Vas and Karoly Vekey, 2004)



Εικόνα 10- Σχηματική απεικόνιση συσκευής SPME (Sigma Aldrich)

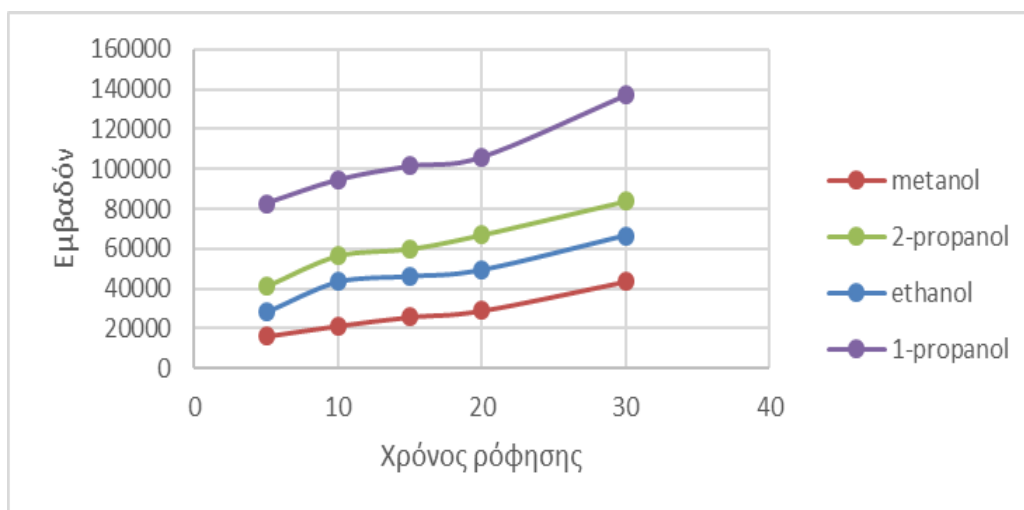
### 2.3.7 Βελτιστοποίηση Συνθηκών Μικροεκχύλισης στερεής φάσης

Στην παρούσα εργασία, για να βρεθούν οι βέλτιστες συνθήκες των πειραμάτων, έγινε διερεύνηση του χρόνου ρόφησης, της προσθήκης NaCl και του χρόνου εκρόφησης.

- Χρόνος ρόφησης.

	Εμβαδόν			
	Μεθανόλη	2-Προπανόλη	Αιθανόλη	1-Προπανόλη
n40C_5min	16024	41325	28334	82750
n40C_10min	21271	56761	43491	94651
n40C_15min	25736	60219	46243	101507
n40C_20min	28899	67269	49481	106041
n40C_20min	25533	55869	41583	97221
n40C_30min	43429	84066	66526	137066

Πίνακας 1- Διερεύνηση χρόνου ρόφησης



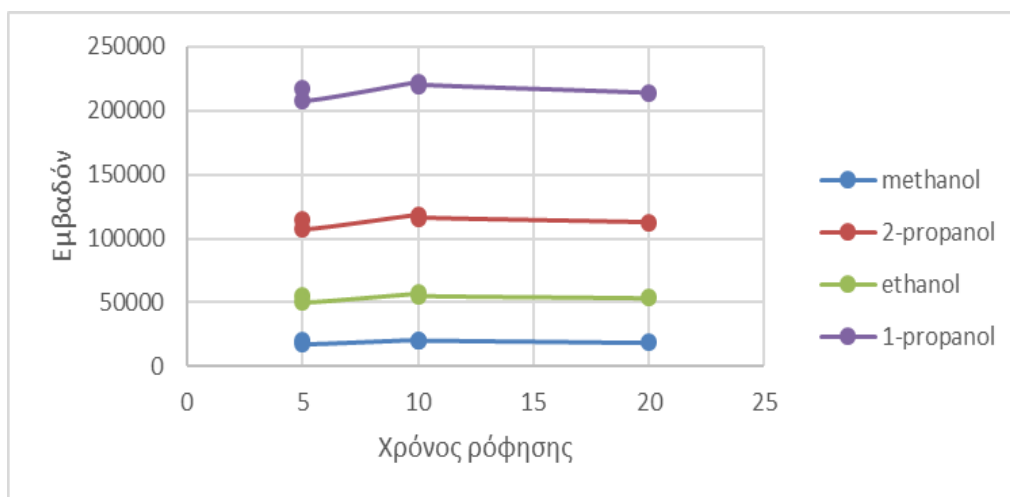
Εικόνα 11- Επίδραση του χρόνου ρόφησης σε συνάρτηση με το εμβαδόν των αλκοολών

Παρατηρήθηκε ότι με την αύξηση του χρόνου ρόφησης υπήρξαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις (εικόνα 11). Για γρήγορα και αποτελεσματικά πειράματα επιλέχθηκε ο χρόνος των 20 λεπτών.

- Χρόνος ρόφησης και προσθήκη NaCl.

	Εμβαδόν			
	Μεθανόλη	2-Προπανόλη	Αιθανόλη	1-Προπανόλη
n40C_5min_NaCl	19752	114764	54736	216948
n40C_10min_NaCl	20716	118517	57470	221927
n40C_20min_NaCl	18507	112805	53843	213729

Πίνακας 2- Διερεύνηση χρόνου ρόφησης και προσθήκης NaCl



Εικόνα 12- Επίδραση του χρόνου ρόφησης και της προσθήκης NaCl σε συνάρτηση με το εμβαδόν των αλκοολών

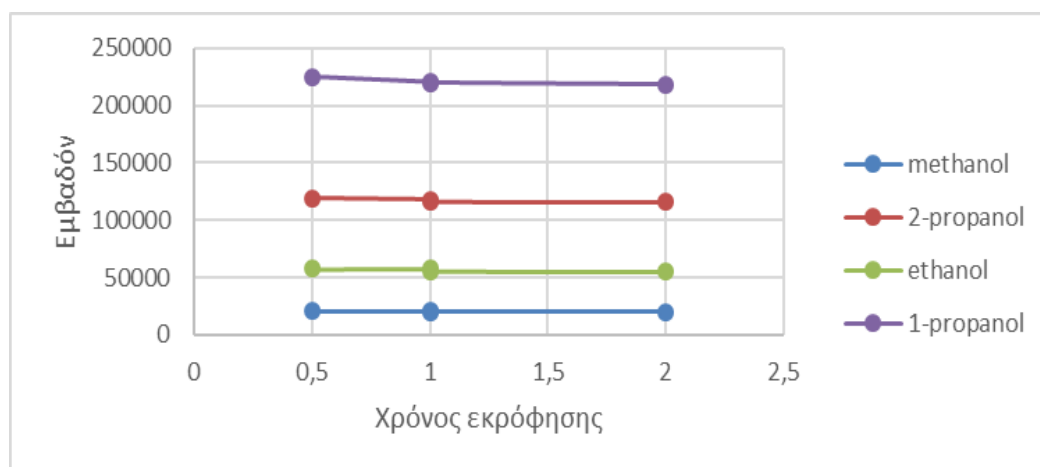
Πέραν όμως από την αύξηση του χρόνου ρόφησης παρατηρήθηκε ότι και η προσθήκη NaCl βελτιώνει την εκχύλιση των αναλυτών (εικόνα 12). Η ποσότητα του NaCl ήταν κάθε φορά 0,5g.

- Χρόνος εκρόφησης.

	Εμβαδόν			
	Μεθανόλη	2-Προπανόλη	Αιθανόλη	1-Προπανόλη
n40C_10min_NaCl_des0,5min	20553	119309	57546	224933
n40C_10min_NaCl_3_des1min	20764	118173	57616	220421
n40C_10min_NaCl_4_des1min	20261	116312	55634	219921
n40C_10min_NaCl_des2min	20035	115789	54907	218360

Πίνακας 3- Διερεύνηση χρόνου εκρόφησης

Η αύξηση του χρόνου εκρόφησης δεν έδωσε ιδιαίτερες μεταβολές στις μετρήσεις (εικόνα 13). Επιλέχθηκε ο χρόνος του ενός λεπτού.



Εικόνα 13- Επίδραση του χρόνου εκρόφησης σε συνάρτηση με το εμβαδόν των αλκοολών

Συνεπώς, η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε για 20 λεπτά στους 40°C. Η εκρόφηση των αναλυτών διεξήχθη επί 1 λεπτό στους 250°C.

Η αέρια χρωματογραφία διεξήχθη σε χρωματογράφο με split/splitless εισαγωγέα και με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας. Η χρωματογραφική στήλη ήταν η BP-20 30m\*0,32mm\*0,5μm. Η θερμοκρασία του εισαγωγέα ήταν 250°C και του ανιχνευτή 280°C. Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα ανάλυσης ήταν: Έναρξη στους 40°C, παραμονή για 10 λεπτά και αύξηση της θερμοκρασίας με ρυθμό 5°C/min μέχρι τους 70°C.

### 2.3.8 Βαθμονόμηση μικροεκχύλισης στερεής φάσης

Στην παρούσα εργασία η μικροεκχύλιση σε στερεά φάση έγινε με δειγματοληψία της υπερκείμενης φάσης (headspace) με τη χρήση ίνας επικαλυμμένης με μεμβράνη μεγέθους 65μm από Carbowax/divinylbenzene, χωρίς εσωτερικό πρότυπο.

Τα πρότυπα διαλύματα παρασκευάστηκαν με αράιωση ενός αρχικού διαλύματος που περιείχε όλες τις αλκοόλες με τις ακόλουθες συγκεντρώσεις:

- 1037ppm Μεθανόλη
- 1047ppm Αιθανόλη
- 1092ppm 2-Προπανόλη

Σε κάθε διάλυμα προστέθηκε 0,5gr NaCl, καθώς η προσθήκη του, όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα, παρατηρήθηκε ότι βελτιώνει συχνά την εκχύλιση των συστατικών. Τα διαλύματα τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια των 13 ml κλεισμένα με διάφραγμα από καουτσούκ σιλικόνης τοποθετημένο στο πώμα. Τα φιαλίδια τοποθετήθηκαν σε ένα δοχείο με μανδύα σε μαγνητικό αναδευτήρα και θερμοστατήθηκαν για 20 λεπτά στους 40°C.

Η ίνα αρχικά ήταν αποτραβηγμένη στη βελόνα της σύριγγας και η τελευταία χρησιμοποιείται για να διεισδύσει στο διάφραγμα των φιαλιδίων με τα διαλύματα. Στη συνέχεια η ίνα εισάγεται στο διάλυμα ωθώντας το έμβολο. Μετά την απορρόφηση του δείγματος, το έμβολο αποσύρεται και συστέλνει την ίνα μέσα στη βελόνα και η σύριγγα αφαιρείται από το φιαλίδιο.

Η ίνα μεταφέρθηκε στον εισαγωγέα του χρωματογράφου, όπου λαμβάνει χώρα η θερμική εκρόφηση και η μεταφορά των αναλυτών στη στήλη αέριας χρωματογραφίας (GC).

Στους πίνακες 4 και 5 φαίνεται ο πίνακας βαθμονόμησης με τη μικροεκχύλιση στερεής φάσης. Για τη βαθμονόμηση χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα που είχαν και τέσσερις αλκοόλες σε διάφορες συγκεντρώσεις. Οι αλκοόλες ήταν η μεθανόλη, η 2-προπανόλη, η εθανόλη και η 1-προπανόλη. Οι στήλες αναγράφουν το εμβαδόν της κάθε αλκοόλης, τη συγκέντρωσή τους σε ppm και τους συντελεστές απόκρισης (RF). Υπολογίστηκαν οι μέσοι όροι του κάθε συντελεστή απόκρισης, η τυπική απόκλιση και η σχετική τυπική απόκλιση εκφρασμένη επί τοις εκατό(%).

Παρατηρήθηκε ότι υπάρχει επαναληψιμότητα στη μέθοδο. Τα ποσοστά της τυπικής σχετικής απόκλισης (%) δείχνουν το σφάλμα των μετρήσεων. Διατηρήθηκαν σε σχετικά χαμηλές τιμές κάνοντας έτσι τη βαθμονόμηση αξιόπιστη για τη συνέχεια της πειραματικής διαδικασίας.



Ανάλυση	MeOH(ppm)	MeOH(Εμβαδόν)	2-Prop(ppm)	2-Prop(Εμβαδόν)	EtOH(ppm)	EtOH(Εμβαδόν)	1-Prop(ppm)	1-Prop(Εμβαδόν)
500ppm_40C_20min_1	5570	463626	5170	2095036	5140	1141528	5220	3888893
500ppm_40C_20min_1	5570	474936	5170	1811749	5140	1059463	5220	3302070
500ppm_40C_20min_1	5570	494979	5170	1728351	5140	1045702	5220	3100950
2500ppm_40C_20min_1	2428	225311	2432	848311	2408	502039	2468	1538835
2500ppm_40C_20min_1	2428	242416	2432	892850	2408	537309	2468	1595450
2500ppm_40C_20min_1	2428	218670	2432	795029	2408	479227	2468	1449447
2500ppm_40C_20min_1	2428	209022	2432	804145	2408	471317	2468	1417928
1500ppm_40C_20min_1	1513	162129	1478	632228	1541	369073	1509	994983
1000ppm_40C_20min_1	1270	109134	1180	375500	1170	218522	1340	756095
1000ppm_40C_20min_1	1270	127614	1180	419771	1170	251192	1340	810237
1000ppm_40C_20min_1	1270	119106	1180	398665	1170	237244	1340	787921
500ppm_40C_20min_1	568	53619	598	219083	588	108639	588	339089
500ppm_40C_20min_1	568	60134	598	245453	588	122563	588	370374

Πίνακας 4- Βαθμονόμηση με τη μέθοδο SPME

Κατά τη διάρκεια της βαθμονόμησης με τη μέθοδο SPME, η ίνα της σύριγγας έσπασε καθιστώντας τη μέθοδο δυσκολότερη και πιο χρονοβόρα από τις άλλες δύο. Συνεπώς, η διαδικασία για τον υπολογισμό των συντελεστών κατανομής δεν συνεχίστηκε.

MeOH_RF	2-Prop_RF	EtOH_RF	1-Prop_RF	
83	405	222	745	
85	350	206	633	
89	334	203	594	
93	349	208	624	
100	367	223	646	
90	327	199	587	
86	331	196	575	
107	428	240	659	
86	318	187	564	
100	356	215	605	
94	338	203	588	
94	366	185	577	
106	410	208	630	
average_RF	93	360	207	617
stdev	8	35	15	48
Rel stdev %	8	10	7	8

Πίνακας 5- Υπολογισμός συντελεστών απόκρισης, τυπικής απόκλισης και σχετικής τυποκής απόκλισης (%) με τη μέθοδο SPME.

## 2.4 Αέρια χρωματογραφία με απευθείας εισαγωγή του δείγματος

Σε αυτή τη μέθοδο λαμβάνεται το υγρό δείγμα με μια σύριγγα και εισάγεται απευθείας στο χρωματογράφο μέσω ενός εισαγωγέα split/splitless.

Δύο από τις πρωταρχικές τεχνικές για την εξάτμιση του δείγματος και την εισαγωγή του στη χρωματογραφική στήλη είναι η split και η splitless. Πρόκειται για τεχνικές που εισάγουν το δείγμα σε μια θερμαινόμενη θύρα έγχυσης ως υγρό και στη συνέχεια εξατμίζεται γρήγορα και πλήρως ο διαλύτης του δείγματος καθώς και όλα τα συστατικά που θα αναλυθούν. Στη συνέχεια το δείγμα, αφού έχει εξατμιστεί, μεταφέρεται στην κεφαλή της χρωματογραφικής στήλης.

Στην πρώτη τεχνική (split), μόνο ένα κλάσμα από το δείγμα που έχει εξατμιστεί μεταφέρεται στη στήλη. Το υπόλοιπο απομακρύνεται μέσω μιας γραμμής εξαερισμού. Γι αυτόν το λόγο η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται μόνο όταν οι συγκεντρώσεις του δείγματος είναι τόσο υψηλές, ώστε η απόρριψη ενός μέρους του δείγματος να μην επηρεάζει τη συγκέντρωση των αναλυτών και τον ανιχνευτή στο να παράξει σήμα. Όταν όμως οι συγκεντρώσεις των αναλυτών είναι πολύ μικρές και δεν υπάρχει περιθώριο να απορριφθεί μέρος του δείγματος, τότε προτιμάται η δεύτερη τεχνική (splitless) κατά την οποία το μεγαλύτερο μέρος του εξατμισθέντος δείγματος εισάγεται στη χρωματογραφική στήλη.

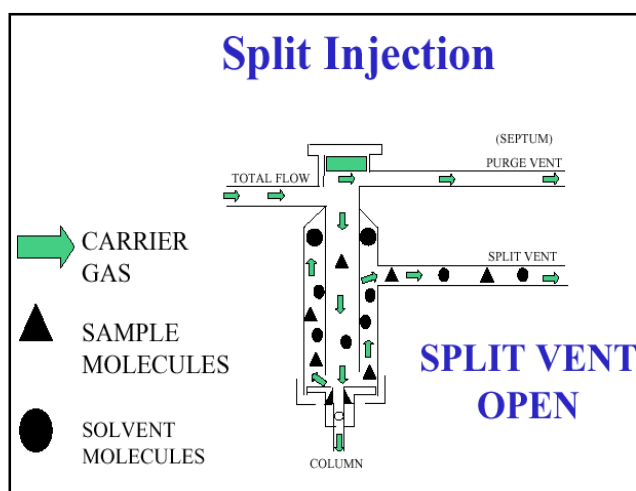
Η διαδικασία εκτέλεσης είτε μιας split εισαγωγής είτε μιας splitless ελέγχεται με την αλλαγή της διαδρομής και του ρυθμού ροής του φέροντος αερίου μέσω του εισαγωγέα. Η διαδρομή του αερίου καθορίζεται από μια βαλβίδα που υπάρχει στη θύρα έγχυσης. Στην τεχνική split, το φέρον αέριο μετακινεί γρήγορα το εξατμισθέν δείγμα με ελάχιστη μόνο ποσότητα να κατευθύνεται προς την κεφαλή της χρωματογραφικής στήλης. Στην τεχνική splitless, το φέρον αέριο με ένα σχετικά αργό ρυθμό ροής κατευθύνει το μεγαλύτερο μέρος του εξατμισθέντος δείγματος στην κεφαλή της χρωματογραφικής στήλης.

### 2.4.1 Εισαγωγή δείγματος με την τεχνική split

Κατά τη λειτουργία της split εισαγωγής, η βαλβίδα είναι πάντα ανοιχτή. Όλο το φέρον αέριο που εισέρχεται στον εισαγωγέα ρέει προς την κεφαλή της χρωματογραφικής στήλης. Στην κορυφή της στήλης, το φέρον αέριο χωρίζεται σε δύο μέρη: ένα τμήμα του εισέρχεται στη στήλη και ένα τμήμα του αφήνεται να διαφύγει από τον εισαγωγέα, μέσω της βαλβίδας. Η ποσότητα που εισέρχεται στη στήλη προσδιορίζεται από την πίεση του φέροντος αερίου μέσα στον εισαγωγέα και τις διαστάσεις της χρωματογραφικής στήλης. Όταν το δείγμα εξατμιστεί πλήρως συμπεριφέρεται με τον ίδιο τρόπο όπως το φέρον αέριο. Οι ατμοί του δείγματος

διασπώνται στις ίδιες αναλογίες με το φέρον αέριο, επιτρέποντας έτσι να εισαχθεί μόνο ένα κλάσμα του δείγματος στην κεφαλή της χρωματογραφικής στήλης (εικόνα 14). Μια αναλογία 50:1 είναι μια καλή αναλογία για να ξεκινήσει κανείς την εισαγωγή του δείγματος με την τεχνική split. Η σωστή ρύθμιση της θερμοκρασίας του εισαγωγέα είναι σημαντική έτσι ώστε να επιτευχθούν ομοιόμορφες και καλές κορυφές. Η θερμοκρασία του εισαγωγέα πρέπει να είναι αρκετά υψηλή για να εξατμιστούν γρήγορα όλα τα συστατικά του δείγματος. Στην τεχνική split, ο χρόνος παραμονής του δείγματος στον εισαγωγέα είναι πολύ μικρός λόγω του υψηλού ρυθμού ροής του φέροντος αερίου, για αυτόν το λόγο και η εξάτμιση του δείγματος πρέπει να γίνει όσο το δυνατόν ταχύτερα. Ωστόσο, δεν πρέπει να είναι και τόσο υψηλές ώστε να προκαλούν θερμική διάσπαση του δείγματος. Όταν η θερμοκρασία ρυθμίζεται σωστά, η τεχνική split εισαγωγής παρέχει πολύ καλές αποκρίσεις. Τα δείγματα που εισάγονται υπο συνθήκες σταθερής θερμοκρασίας, πίεσης και ροής εξατμίζονται και διασπώνται με συνέπεια.

Η τεχνική split είναι εύκολη στη χρήση της, μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο για ποιοτικές όσο και για ποσοτικές αναλύσεις, παρέχει στενή ζώνη αναλυτών στη στήλη, προστατεύει τη στήλη από τα συστατικά του δείγματος και μπορεί εύκολα να αυτοματοποιηθεί. Παρόλα αυτά έχει και κάποια μειονεκτήματα καθώς δεν είναι κατάλληλη για την ανάλυση ιχνηθετών, γίνονται διακρίσεις μεταξύ των συστατικών και οι αναλυτές είναι ευαίσθητοι στη θερμική διάσπαση.



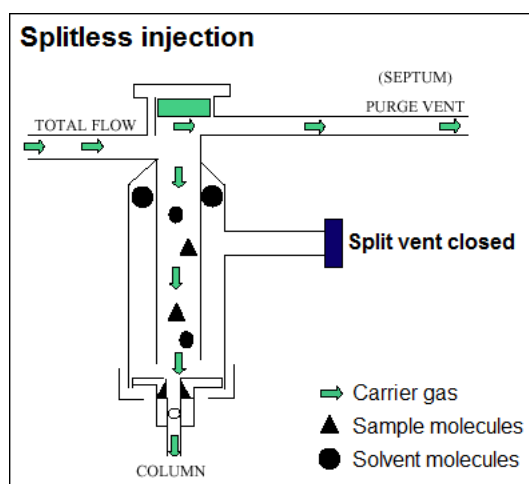
Εικόνα 14- Σχηματική απεικόνιση τεχνικής split

## 2.4.2 Εισαγωγή δείγματος με την τεχνική splitless

Κατά τη λειτουργία της splitless εισαγωγής, η βαλβίδα ανοίγει και κλείνει αλλάζοντας έτσι τη διαδρομή του φέροντος αερίου. Στην αρχή παραμένει κλειστή έτσι ώστε να οδηγεί όλο το φέρον αέριο από τον εισαγωγέα προς τη χρωματογραφική στήλη. Ο ρυθμός ροής της στήλης καθορίζεται από την πίεση του φέροντος αερίου στον εισαγωγέα και της διαστάσεις της στήλης. Μετά από έναν καθορισμένο χρόνο, η

βαλβίδα ανοίγει και η διαδικασία συνεχίζεται όπως και στην τεχνική split. Αυτός ο τρόπος επιτρέπει στο εξατμισθέν δείγμα που υπάρχει στον εισαγωγέα να μεταφερθεί όλο στη χρωματογραφική στήλη (εικόνα 15).

Η τεχνική splitless είναι εύκολη στη χρήση της, κατάλληλη για αναλύσεις ιχνηθετών, δεν υπάρχει μεγάλος κίνδυνος για διάκριση των συστατικών και είναι εύκολο να αυτοματοποιηθεί. Τα μειονεκτήματά της είναι ότι χρειάζεται μεγάλη προσοχή έτσι ώστε να βελτιστοποιηθούν οι συνθήκες, υπάρχει ρίσκο ανάποδης ροής και οι αναλυτές είναι ευαίσθητοι στη θερμική διάσπαση. (RESTEK, «Operating Hints for Using Split/Splitless Injectors», 2002)



Εικόνα 15- Σχηματική απεικόνιση τεχνικής splitless

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε η τεχνική splitless.

Οι κρίσιμες παράμετροι της τεχνικής splitless είναι οι εξής:

- Ο splitless χρόνος
- Η συγκέντρωση του δείγματος
- Η αρχική θερμοκρασία του φούρνου
- Ο τύπος του διαλύτη
- Τα χαρακτηριστικά της στατικής φάσης
- Ο όγκος του δείγματος που εισάγεται
- Η ταχύτητα εισαγωγής
- Η θερμοκρασία του εισαγωγέα

Ο splitless χρόνος είναι ένας σημαντικός παράγοντας. Πρόκειται για τον χρόνο που το δείγμα βρίσκεται μέσα στον εισαγωγέα και εξατμίζεται ο οποίος θα πρέπει να είναι αρκετά μεγάλος ώστε να επιτρέπει τη μεταφορά ολόκληρου του δείγματος στη στήλη. Ωστόσο, δεν πρέπει να είναι πολύ μεγάλος για να αποφευχθεί η απόσβεση της κορυφής του διαλύτη που προκαλείται από ίχνη ατμού διαλύτη που εισέρχονται στη στήλη μόλις εξατμιστεί. Ο χρόνος προσδιορίζεται μέσω πειραμάτων και διαφέρει ανάλογα με τη σύνθεση του δείγματος, το μήκος της χρωματογραφικής στήλης, την ταχύτητα ροής του φέροντος αερίου και τη διαμόρφωση του εισαγωγέα. Συνήθως 20 δευτερόλεπτα με 1 λεπτό είναι ένας ικανοποιητικός χρόνος.

Σε μια splitless εισαγωγή, η ταχύτητα εισαγωγής του δείγματος διαφέρει σημαντικά από την άμεση και τη split εισαγωγή. Στην τεχνική split είναι σημαντικό να γίνεται η εισαγωγή όσο το δυνατόν γρηγορότερα, προκειμένου να αποφευχθεί η διασπορά της ζώνης έγχυσης. Επειδή η θερμοκρασία της στήλης στην τεχνική splitless είναι χαμηλότερη από το σημείο βρασμού του διαλύτη, θα υπάρξει παγίδευση του διαλύτη. Συνεπώς, όλη η διαδικασία εξάτμισης και η ταχύτητα εξάτμισης δεν έχουν καμία επίδραση στο πλάτος της ζώνης έγχυσης. Συνεπώς, η εισαγωγή του δείγματος μπορεί να πραγματοποιηθεί αργά, βελτιώνοντας έτσι την ποσοτικοποίηση. (LibreTexts, 2016 )

Η θερμοκρασία του εισαγωγέα στην τεχνική splitless είναι σημαντική, όπως και για την τεχνική split. Η θερμοκρασία πρέπει να είναι αρκετά υψηλή ώστε να εξατμίζεται πλήρως το δείγμα, αλλά όχι τόσο υψηλή ώστε να προκαλεί θερμική διάσπαση του δείγματος. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό επειδή ο χρόνος παραμονής για ένα δείγμα στον εισαγωγέα splitless είναι μακρύτερος, σε σύγκριση με τον split εισαγωγέα.

Αφού γίνει η εισαγωγή του δείγματος στο χρωματογράφο, η διαδικασία της μέθοδου συνεχίζεται όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα στη θεωρία της αέριας χρωματογραφίας. Τα συστατικά εκλούνται από τη χρωματογραφική στήλη, ανιχνεύονται από τον ανιχνευτή και διαμορφώνεται έτσι το διάγραμμα με σειρές κορυφών που αντιστοιχούν στα διάφορα συστατικά.

### 2.4.3 Προβλήματα που σχετίζονται με τις τεχνικές split-splitless

Όταν οι δύο αυτές τεχνικές εφαρμόζονται σωστά, μπορούν να δώσουν πολύ καλές κορυφές στο χρωματογράφημα και να υπάρξουν αξιόπιστα αποτελέσματα. Παρόλα αυτά υπάρχουν και κάποιοι περιορισμοί που σχετίζονται με την εξάτμιση του δείγματος όταν αυτό εισέρχεται στον εισαγωγέα.

*Θερμική διάσπαση:* Η θερμοκρασία του εισαγωγέα είναι ένας κρίσιμος παράγοντας για τη βελτιστοποίηση των δύο αυτών τεχνικών εξαερισμού του δείγματος. Εάν η θερμοκρασία του εισαγωγέα είναι πολύ χαμηλή, οι αναλυτές υψηλού μοριακού βάρους δεν θα εξατμιστούν πλήρως και δεν θα μεταφερθούν αποτελεσματικά στην

κεφαλή της χρωματογραφικής στήλης. Εάν η θερμοκρασία του εισαγωγέα είναι πολύ υψηλή, οι θερμικά ευαίσθητες ενώσεις μπορούν να διασπαστούν μέσα σε αυτόν πριν καν φτάσουν στη στήλη.

*Ενεργά συστατικά:* Τα ενεργά συστατικά μπορεί να προκαλέσουν προβλήματα σε αυτές τις δύο τεχνικές. Η μεγάλη επιφάνεια και η θερμότητα που απαιτούνται για την ομοιόμορφη εξάτμιση του δείγματος μπορούν να προκαλέσουν τη διάσπαση αυτών των ενώσεων ή την απορρόφηση τους στην επιφάνεια της επένδυσης του εισαγωγέα. Εάν οι κορυφές και η κακή ανταπόκριση του οργάνου για τα ενεργά συστατικά δεν μπορούν να διορθωθούν με τη χρήση κατάλληλων επενδύσεων στον εισαγωγέα, θα πρέπει να ληφθούν υπόψη και άλλες τεχνικές εισαγωγής του δείγματος όπως η απευθείας εισαγωγή (εισαγωγέας on-column) ή με θερμοπρογραμματιζόμενους εισαγωγείς.

*Διάκριση μοριακού βάρους:* Συνήθως σε τέτοιες τεχνικές χρησιμοποιείται μία θερμοκρασία για την εξάτμιση όλων των αναλυτών κατά την εισαγωγή τους στο χρωματογράφο. Οι ενώσεις που εκτείνονται σε ένα εύρος μοριακών βαρών και σημείων βρασμού θα παρουσιάζουν διαφορές απόκρισης για ίσες συγκεντρώσεις αναλυόμενης ουσίας. Οι αναλυτές υψηλού μοριακού βάρους και υψηλού σημείου ζέσεως θα έχουν αισθητά μειωμένη απόκριση σε σύγκριση με αναλυτές χαμηλότερου μοριακού βάρους και χαμηλότερου σημείου ζέσεως. Αυτό το φαινόμενο είναι πιο έντονο όταν αναλύονται δείγματα που έχουν ένα ευρύ φάσμα μοριακών βαρών και σημείων βρασμού. Δείγματα που περιέχουν αναλυτές με παρόμοιο μοριακό βάρος και σημείο βρασμού παρουσιάζουν μικρότερη διάκριση μοριακού βάρους. Στις τεχνικές split/splitless, εάν για ένα δείγμα χρησιμοποιείται ίδια θερμοκρασία εισαγωγέα, πίεση φέροντος αερίου, μέγεθος δείγματος και διαλύτη δείγματος, η εξάτμιση του δείγματος πρέπει να είναι επαναληπτική διαδικασία. Κάθε διάκριση μοριακού βάρους θα πρέπει να είναι η ίδια από τη μία ένεση στην άλλη. Λόγω αυτής της συνέπειας, πολλοί επιλέγουν να αγνοήσουν αυτή τη διάκριση μοριακού βάρους, εκτός αν υπονομεύει τη συνολική ευαισθησία. Για να αντισταθμιστούν οι διαφορές απόκρισης λόγω της διάκρισης μοριακού βάρους, χρησιμοποιούνται πολλαπλά εσωτερικά πρότυπα για να μιμηθούν το εύρος των μοριακών βαρών και των σημείων βρασμού για τους αναλυτές στο δείγμα. Το πρόβλημα αυτό μπορεί να ελαχιστοποιηθεί επιλέγοντας μία επένδυση στη θύρα έγχυσης που να εξασφαλίζει ότι το δείγμα εξατμίζεται πλήρως και ομοιόμορφα. Οι επενδύσεις που είναι συσκευασμένες με υαλοβάμβακα ή που ενσωματώνουν μια συσκευή εκτροπής ροής βοηθούν στην εξάτμιση του δείγματος και τη μεταφορά του στην κεφαλή της χρωματογραφικής στήλης.

*Διακρίσεις στη βελόνα εισαγωγής:* Κατά τη διάρκεια εισαγωγής του δείγματος, η βελόνα της σύριγγας υφίσταται κάποιο βαθμό θέρμανσης. Η θερμοκρασία αυτή μπορεί να επηρεάσει τη σχετική απόκριση για αναλυτές χαμηλού και υψηλού μοριακού βάρους. Κατά τη διαδικασία απομάκρυνσης του δείγματος από τη σύριγγα, το περιεχόμενο της βελόνας δεν μεταφέρεται πλήρως στον εισαγωγέα. Καθώς η βελόνα αρχίζει να θερμαίνεται, οι αναλυτές χαμηλού μοριακού βάρους αρχίζουν να

εξατμίζονται από τη βελόνα ενώ οι αναλυτές υψηλότερου μοριακού βάρους παραμένουν μέσα στη βελόνα. Επομένως, οι αναλύτες χαμηλότερου μοριακού βάρους θα παρουσιάσουν ενισχυμένη απόκριση σε σύγκριση με αυτούς που έχουν χαμηλότερο μοριακό βάρος. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν τρεις τεχνικές για την ελαχιστοποίηση αυτού του προβλήματος.

- Η πρώτη τεχνική είναι η εισαγωγή του δείγματος όσο το δυνατόν γρηγορότερα. Οι γρήγορες ενέσεις ελαχιστοποιούν τον χρόνο που περνάει η βελόνα στον εισαγωγέα και μειώνει την ποσότητα θέρμανσής της. Όταν γίνονται γρήγορες ενέσεις, το δείγμα μπορεί να εισαχθεί στην είσοδο της στήλης και πάνω στη βάση σύνδεσης του εισαγωγέα.
- Η δεύτερη τεχνική είναι με τη χρήση «καυτής» βελόνας. Οι ενέσεις αυτές εκτελούνται με το τράβηγμα του δείγματος μέχρι το κάνιστρο της σύριγγας, αφήνοντας τη βελόνα κενή. Όταν η βελόνα εισαχθεί στον εισαγωγέα, η ένεση καθυστερεί για μικρό χρονικό διάστημα (3-5 δευτερόλεπτα, για παράδειγμα) για να επιτρέψει στη βελόνα να θερμανθεί πλήρως. Στη συνέχεια, το έμβολο της σύριγγας πιέζεται και το δείγμα εισέρχεται στην επένδυση του εισαγωγέα.
- Η τρίτη τεχνική είναι η χρήση ενός διαλύτη με κάθε ένεση. Αυτή η τεχνική περιλαμβάνει την είσοδο μιας μικρής ποσότητας διαλύτη στη σύριγγα, ακολουθούμενη από μια μικρή ποσότητα αέρα, ακολουθούμενη από την επιθυμητή ποσότητα δείγματος. Ολόκληρος ο διαλύτης, ο αέρας και το δείγμα στη συνέχεια τραβιέται μέσα στο κάνιστρο της σύριγγας, ακριβώς όπως και στη δεύτερη τεχνική. Ο διαλύτης που τραβήχτηκε για πρώτη φορά στη σύριγγα δρα για να ξεπλυθεί ο κύλινδρος και η βελόνα της σύριγγας και μεταφέρει εντελώς όλο το δείγμα κατά τη διαδικασία της έγχυσης.

*Ανάποδη ροή:* Η ανάποδη ροή εμφανίζεται όταν ο όγκος του εξατμισμένου δείγματος υπερβαίνει τον όγκο του εισαγωγέα. Το μεγαλύτερο μέρος του εξατμισμένου δείγματος διαφεύγει από την κορυφή του εισαγωγέα. Ορισμένα από αυτά πηγαίνουν στη γραμμή καθαρισμού των διαφραγμάτων. Ένα άλλο τμήμα του μπορεί να επιστρέψει στη γραμμή παροχής του φέροντος αερίου, και μερικά από αυτά μπορούν να εισαχθούν εκ νέου στον εισαγωγέα. Η ανάποδη ροή μπορεί να προκαλέσει διακεκομμένες κορυφές και κακή ανάλυση.

*Μέγεθος δείγματος και θερμοκρασία εισαγωγέα:* Ο όγκος του εξατμισμένου δείγματος σχετίζεται άμεσα με την ποσότητα εισαγωγής του δείγματος και τη θερμοκρασία του εισαγωγέα. Μια μείωση σε οποιαδήποτε από αυτές τις τιμές θα μεταφραστεί σε μικρότερο εξατμισμένο όγκο δείγματος. Εάν η θερμοκρασία του εισαγωγέα δεν μπορεί να μειωθεί εξαιτίας των προβλημάτων εξάτμισης και η ποσότητα εισαγωγής του δείγματος δεν μπορεί να μειωθεί εξαιτίας των προβλημάτων ευαισθησίας, πρέπει να ελαχιστοποιηθεί η ανάποδη ροή με τη βελτιστοποίηση του ρυθμού εισαγωγής ή με τη ρύθμιση της πίεσης του φέροντος αερίου.

*Προγραμματισμός πίεσης:* Οποιαδήποτε αύξηση της πίεσης του φέροντος αερίου θα βοηθήσει στη μείωση του όγκου του δείγματος. Τα περισσότερα από τα καινούρια μοντέλα αέριας χρωματογραφίας έχουν τη δυνατότητα της ηλεκτρονικής ρύθμισης



πίεσης (EPC) του φέροντος αερίου. Η πίεση μπορεί να προγραμματιστεί έτσι ώστε η πίεση του φέροντος αερίου να είναι αρχικά πολύ υψηλή, κατόπιν να μειώνεται μετά την εισαγωγή του δείγματος για να βελτιστοποιηθεί η ανάλυση. Η ρύθμιση της αρχικής πίεσης του φέροντος αερίου σε υψηλή τιμή θα μειώσει την ποσότητα διαστολής του δείγματος που συμβαίνει στον εισαγωγέα και θα επιταχύνει τη μεταφορά του εξατμισθέντος δείγματος από αυτόν στην κεφαλή της χρωματογραφικής στήλης. (RESTEK, «Operating Hints for Using Split/Splitless Injectors», 2002)

#### 2.4.4 Βελτιστοποίηση συνθηκών αέριας χρωματογραφίας με απευθείας εισαγωγή του δείγματος

Για τη μέθοδο της απευθείας εισαγωγής του δείγματος η αέρια χρωματογραφία διεξήχθη σε χρωματογράφο με split/splitless εισαγωγέα και με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας. Η χρωματογραφική στήλη ήταν η DB-WAX 30m\*0,32mm\*0,25μm. Η θερμοκρασία του εισαγωγέα ήταν 250°C και του ανιχνευτή 260°C. Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα ανάλυσης ήταν: έναρξη στους 40°C, παραμονή για 10 λεπτά και αύξηση της θερμοκρασίας με ρυθμό 30°C/min μέχρι τους 230°C όπου έμενε για 10 λεπτά.

#### 2.4.5 Βαθμονόμηση αέριας χρωματογραφίας με απευθείας εισαγωγή του δείγματος

Τα πρότυπα διαλύματα παρασκευάστηκαν με αραίωση ενός αρχικού διαλύματος που περιείχε όλες τις αλκοόλες με τις ακόλουθες συγκεντρώσεις:

- 1178ppm Μεθανόλη
- 1055ppm Αιθανόλη
- 1331ppm 2-Προπανάλη

Τα διαλύματα αυτά χρησιμοποιήθηκαν για να γίνει η βαθμονόμηση του οργάνου με τη συγκεκριμένη μέθοδο. Τα κλάσματα λήφθηκαν από τα μέσα της υδατικής φάσης με μια σύριγγα και μεταφέρθηκαν σε ένα πρότυπο δείγμα φιάλης αέριας χρωματογραφίας. Η προσθήκη του εσωτερικού προτύπου (1-Προπανάλη) ήταν 5μl. Μετά από κάθε χρήση, η σύριγγα ξεπλύθηκε με απιονισμένο νερό και μεθανόλη για να απομακρυνθούν οι προσμίξεις. Για να αφαιρεθούν τυχόν υπολείμματα, η σύριγγα τοποθετήθηκε στο κενό. Κάθε φιαλίδιο αναλύθηκε στον χρωματογράφο για να προσδιοριστεί η συγκέντρωση αλκοόλης στην υδατική φάση.

Στους πίνακες 6 και 7 φαίνεται ο πίνακας βαθμονόμησης με την απευθείας εισαγωγή του δείγματος στον αέριο χρωματογράφο. Οι στήλες αναγράφουν το εμβαδόν της

κάθε αλκοόλης, τη συγκέντρωση τους σε ppm και τους συντελεστές απόκρισης (RF). Υπολογίστηκαν οι μέσοι όροι του κάθε συντελεστή απόκρισης, η τυπική απόκλιση και η σχετική τυπική απόκλιση εκφρασμένη επι τοις εκατό(%).

Ανάλυση	MeOH(Εμβρόν)	MeOH(ppm)	2-Pror(Εμβρόν)	2-Pror(ppm)	EtOH(Εμβρόν)	EtOH(ppm)	1-Proranol(Εμβρόν)	1-Pror(ppm)
μικ1_1000_15	193353	1178	319741	1331	230982	1055	27835	103
μικ1_1000_15_2	105137	1178	174598	1331	127095	1055	15473	103
μικ1_800_15	93971	942	156317	1065	113355	844	18154	103
μικ1_800_15_2	93381	942	159325	1065	113550	844	18423	103
μικ1_750_15	48359	884	79551	998	58329	791	11923	129
μικ1_600_15	60735	707	100287	799	73231	633	13968	103
μικ1_600_15_2	45563	707	75067	799	55210	633	10586	103
μικ1_500_15	45580	589	75957	666	54247	528	14124	103
μικ1_500_15_2	37596	589	62197	666	45091	528	11568	103
μικ1_300_15	39031	353	64347	399	47064	317	18243	103
μικ1_300_15_2	53630	353	88773	399	64743	317	25170	103
μικ1_200_15	22633	236	36699	266	26959	211	15410	103
μικ1_200_15_2	17688	236	28771	266	21294	211	12197	103
μικ1_100_15	23525	118	38330	133	28162	112	24839	103

Πίνακας 6- Βαθμονόμηση με τη μέθοδο απευθείας εισαγωγής του δείγματος

Analysis_name	MeOH_RF	2PROP_RF	EtOH_RF
mix1_1000_IS	1,64	1,12	1,23
mix1_1000_IS_2	1,68	1,14	1,25
mix1_800_IS	1,77	1,20	1,31
mix1_800_IS_2	1,80	1,19	1,33
mix1_750_IS	1,69	1,16	1,26
mix1_600_IS	1,58	1,08	1,17
mix1_600_IS_2	1,59	1,09	1,18
mix1_500_IS	1,77	1,20	1,33
mix1_500_IS_2	1,76	1,20	1,31
mix1_300_IS	1,60	1,10	1,19
mix1_300_IS_2	1,61	1,10	1,19
mix1_200_IS	1,56	1,08	1,17
mix1_200_IS_2	1,58	1,09	1,17
mix1_100_IS	1,21	0,84	0,96
average_RF	1,63	1,11	1,22
stdev	0,15	0,09	0,10
Rel_stdev %	9	8	8

*Πίνακας 7- Υπολογισμός συντελεστών απόκρισης, τυπικής απόκλισης και σχετικής τυπικής απόκλισης (%) με τη μέθοδο απευθείας εισαγωγής του δείγματος.*

Πατατηρήθηκε ότι υπάρχει επαναληψιμότητα στη μέθοδο. Τα ποσοστά της τυπικής σχετικής απόκλισης (%) δείχνουν το σφάλμα των μετρήσεων. Διατηρήθηκαν σε σχετικά χαμηλές τιμές κάνοντας έτσι τη βαθμονόμηση αξιόπιστη για τη συνέχεια της πειραματικής διαδικασίας.

## 2.5 Αέρια χρωματογραφία υπερκείμενης φάσης(Headspace)

Η στατική αέρια χρωματογραφία υπερκείμενης φάσης είναι μια τεχνική ανάλυσης στην οποία τα πτητικά συστατικά μπορούν να εξαχθούν από ένα υδατικό διάλυμα και να εισαχθούν σε χρωματογράφο για ανάλυση. Η μέθοδος αυτή βρίσκει εφαρμογή σε αναλύσεις αλκοολών στο αίμα και σε φαρμακευτικά προϊόντα, ποτά, προϊόντα διατροφής, αρώματα και καλλυντικά, όταν τα συστατικά βρίσκονται διαλυμένα σε υδατική φάση.

Σε ένα σύστημα υγρής-αέριας φάσης, η γνώση του συντελεστή κατανομής  $K$  του συστατικού ανάμεσα σε αυτές τις δύο φάσεις και της αναλογίας των φάσεων  $\beta$  είναι πολύ σημαντική για τη συγκεκριμένη μέθοδο.

$$K = C_w / C_g$$

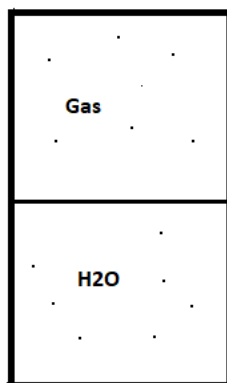
$$\beta = V_g / V_s$$

όπου  $C_w$ : συγκέντρωση συστατικού στην υδατική φάση

$C_g$ : συγκέντρωση συστατικού στην αέρια φάση

$V_g$ : όγκος αέριας φάσης

$V_s$ : όγκος δείγματος που αναλύεται



Εικόνα 14- Σχηματική απεικόνιση φιαλιδίου συστήματος υγρής-αέριας φάσης

Σε συστήματα με χαμηλές τιμές του συντελεστή κατανομής  $K$ , τα συστατικά συγκεντρώνονται πιο εύκολα στην αέρια υπερκείμενη φάση. Η τιμή του συντελεστή κατανομής εξαρτάται από τη θερμοκρασία.

Όταν η αναλογία των φάσεων  $\beta$  μειώνεται, στα συστήματα με υψηλές τιμές συντελεστή κατανομής, τα πτητικά συστατικά συγκεντρώνονται λιγότερο στην αέρια υπερκείμενη φάση. Συνεπώς, συστήματα που περιέχουν ενώσεις με υψηλές τιμές  $K$

πρέπει να βελτιστοποιηθούν ώστε να παρέχουν την χαμηλότερη τιμή  $K$  πριν γίνουν αλλαγές στον λόγο  $\beta$ .

Οι συντελεστές κατανομής και η αναλογία φάσεων μπορούν μαζί να καθορίσουν την τελική συγκέντρωση πτητικών συστατικών στην αέρια υπερκείμενη φάση. Η συγκέντρωση αυτή μπορεί να εκφραστεί ως:

$$C_g = C_o / (K + \beta)$$

(όπου  $C_g$  είναι η συγκέντρωση των πτητικών συστατικών στην αέρια φάση και  $C_o$  είναι η αρχική συγκέντρωση των πτητικών συστατικών στο σύστημα που αναλύεται). Χαμηλότερες τιμές και για τα δύο θα έχει ως αποτέλεσμα υψηλότερες συγκεντρώσεις των πτητικών συστατικών στην αέρια φάση.

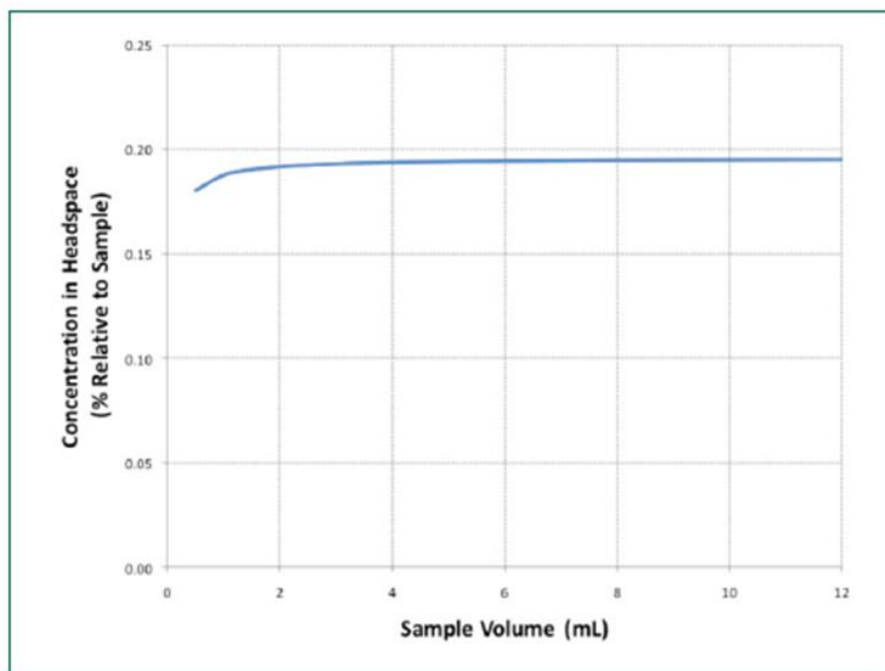
Η εξίσωση αυτή δείχνει τα εξής:

- Εάν μειωθεί το  $K$ , για παράδειγμα αυξάνοντας τη θερμοκρασία του φιαλιδίου, τότε αυτό θα έχει ως αποτέλεσμα να «περάσει» περισσότερη ποσότητα ένωσης στην αέρια υπερκείμενη φάση. Με αυτόν τον τρόπο υπάρχει ο κίνδυνος να αυξηθεί η πίεση μέσα στο φιαλίδιο που αυτό επηρεάζει τη διαδικασία προετοιμασίας ή ακόμη και να προκαλέσει διαρροή ή θραύση σε ακραίες περιπτώσεις.
- Για τον αξιόπιστο ποσοτικό προσδιορισμό των πτητικών συστατικών σε άγνωστα διαλύματα, απαιτείται η βαθμονόμηση του συστήματος αέριας χρωματογραφίας υπερκείμενης φάσης με διαλύματα των συστατικών αυτών σε νερό, η οποία πρέπει να πραγματοποιηθεί στις ίδιες συνθήκες ώστε οι τιμές των  $K$  και  $\beta$  να διατηρηθούν σταθερές.

### 2.5.1 Επίδραση του όγκου του συστήματος

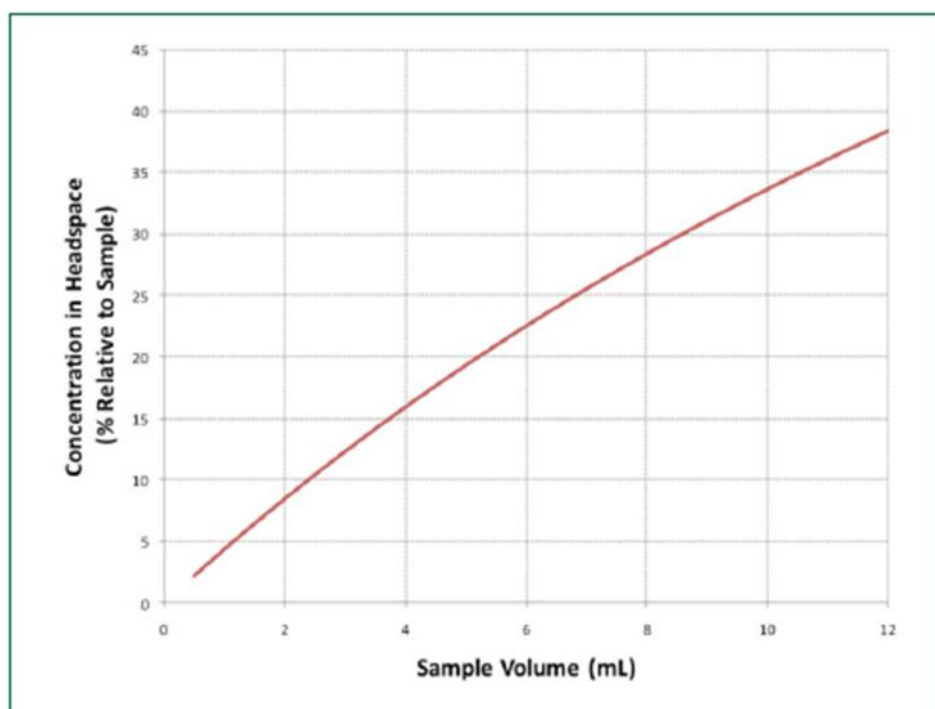
Αν το  $K$  είναι χαμηλό (η ένωση προτιμά την υπερκείμενη φάση), τότε η τιμή του  $\beta$  επηρεάζει σημαντικά τη συγκέντρωση στην αέρια υπερκείμενη φάση. Αντίθετα, αν το  $K$  είναι υψηλό (η ένωση προτιμά την υδατική φάση), τότε η αλλαγή του λόγου  $\beta$  θα έχει μικρή επιρροή στη συγκέντρωση της αέριας υπερκείμενης φάσης.

Στην περίπτωση μίας ένωσης με υψηλό συντελεστή κατανομής τέτοια όπως η αιθανόλη σε νερό όπως φαίνεται στην *εικόνα 17*, το αποτέλεσμα της αλλαγής του όγκου του συστήματος κάνει μικρή διαφορά στη συγκέντρωση των ατμών της αιθανόλης στην αέρια υπερκείμενη φάση.



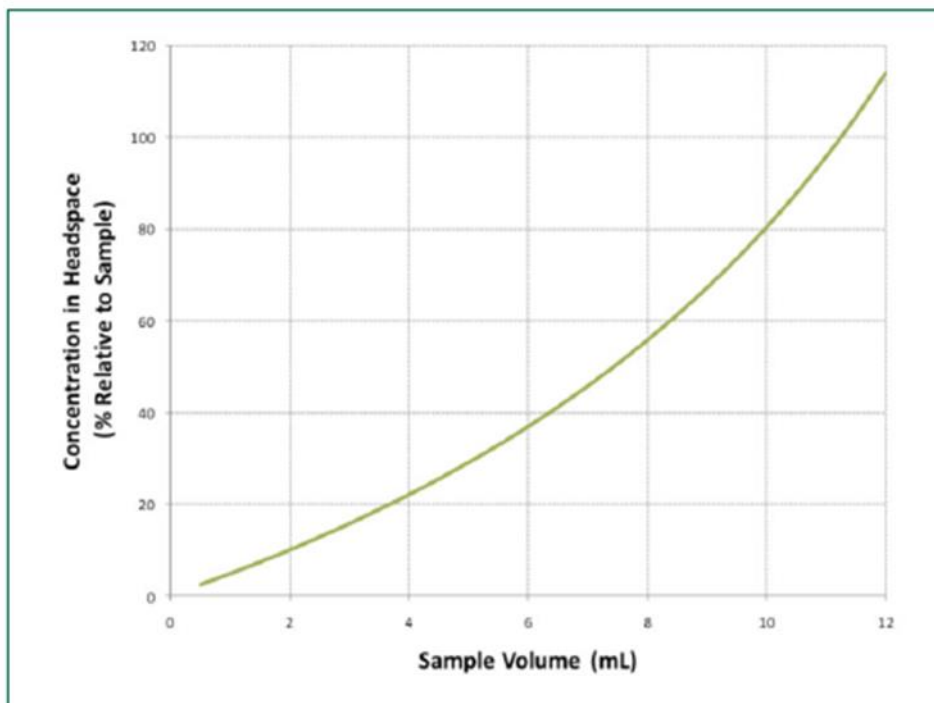
Εικόνα 17- Μεταβολή συγκέντρωσης αέριας υπερκείμενης φάσης σε σχέση με τον όγκο του συστήματος για την αιθανόλη σε νερό.

Σε καταστάσεις με χαμηλότερες τιμές του συντελεστή κατανομής  $K$  όπως φαίνεται στην εικόνα 18 για το τολουόλιο σε νερό, υπάρχει περίπου αναλογική σχέση μεταξύ όγκου δείγματος και συγκέντρωσης στην αέρια υπερκείμενη φάση.



Εικόνα 1815- Μεταβολή συγκέντρωσης αέριας υπερκείμενης φάσης σε σχέση με τον όγκο του συστήματος για το τολουόλιο σε νερό.

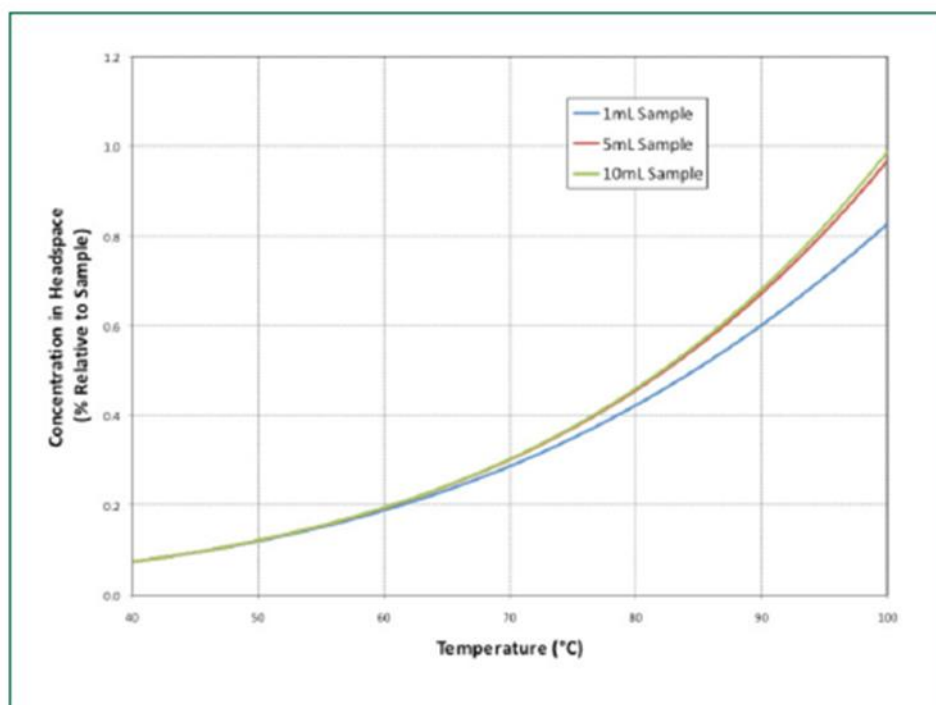
Με πολύ χαμηλή τιμή για τον συντελεστή κατανομής  $K$  όπως φαίνεται στην *εικόνα 19* για το η-εξάνιο, μια μικρή αλλαγή στον όγκο προκαλεί μεγάλη αύξηση στη συγκέντρωση της αέριας υπερκείμενης φάσης. Σε αυτές τις περιπτώσεις, το όριο ανίχνευσης ενισχύεται σημαντικά από την αύξηση του όγκου του δείγματος.



*Εικόνα 19- Μεταβολή συγκέντρωσης αέριας υπερκείμενης φάσης σε σχέση με τον όγκο του συστήματος για το η-εξάνιο σε νερό.*

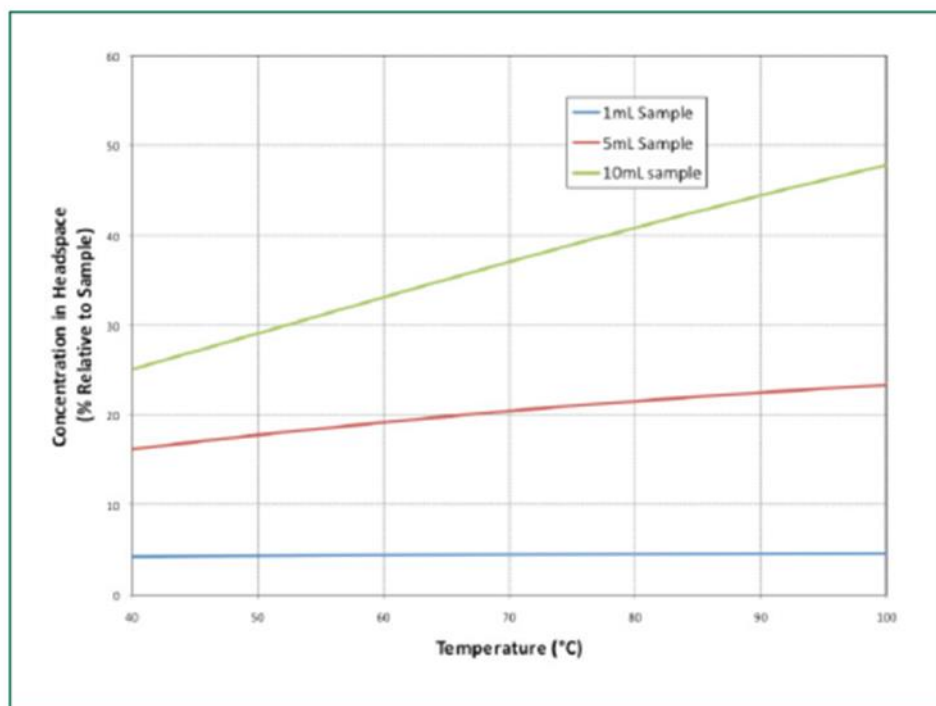
## 2.5.2 Επίδραση της θερμοκρασίας

Από την *εικόνα 20* βλέπουμε ότι η συγκέντρωση των πτητικών συστατικών στην αέρια υπερκείμενη φάση επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από μια αλλαγή θερμοκρασίας για μια ένωση όπως η αιθανόλη με υψηλές τιμές του  $K$ . Αυτό το διάγραμμα υπογραμμίζει την ανάγκη για ακριβή έλεγχο της θερμοκρασίας του φιαλιδίου κατά τη διάρκεια του σταδίου προετοιμασίας. Για παράδειγμα, αν η θερμοκρασία του φιαλιδίου μεταβάλλεται μόνο κατά  $1^{\circ}\text{C}$  από μια καθορισμένη θερμοκρασία των  $60^{\circ}\text{C}$ , η μεταβολή της συγκέντρωσης αιθανόλης στην αέρια υπερκείμενη φάση θα αλλάξει κατά περίπου 5%. Για να επιτευχθεί ακρίβεια 0,5%, η θερμοκρασία του φιαλιδίου πρέπει να ελέγχεται κατά  $0,1^{\circ}\text{C}$ .



Εικόνα 20- Μεταβολή συγκέντρωσης αέριας υπερκείμενης φάσης σε σχέση με τη θερμοκρασία για την αιθανόλη σε νερό.

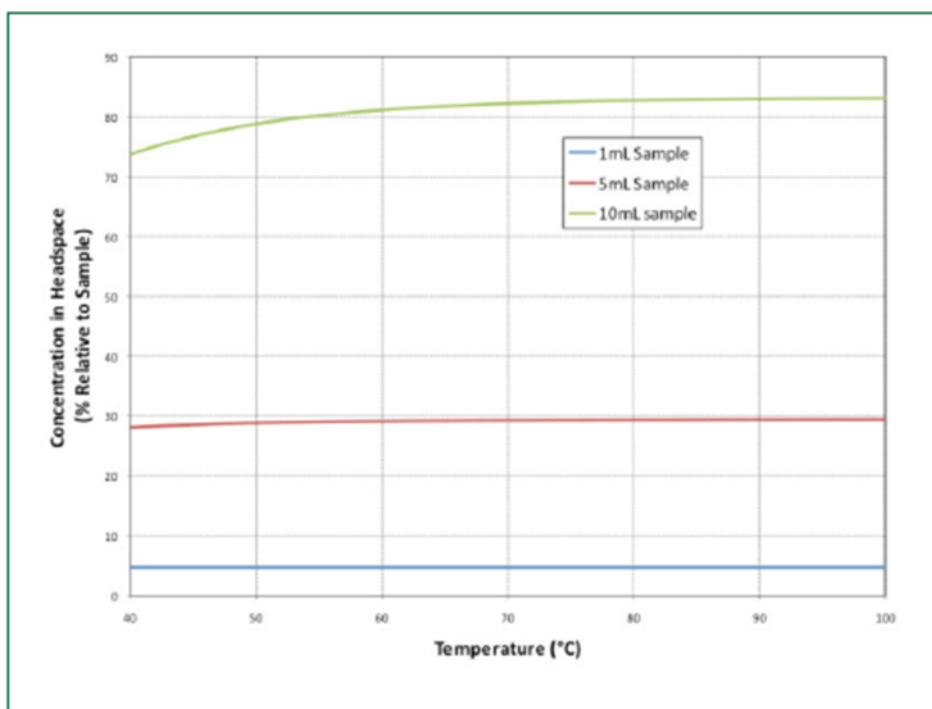
Για χαμηλότερες τιμές του συντελεστή κατανομής  $K$ , η σχέση είναι περίπου ανάλογη, όπως φαίνεται στην εικόνα 21.



Εικόνα 21- Μεταβολή συγκέντρωσης αέριας υπερκείμενης φάσης σε σχέση με τη θερμοκρασία για το τολουόλιο σε νερό.



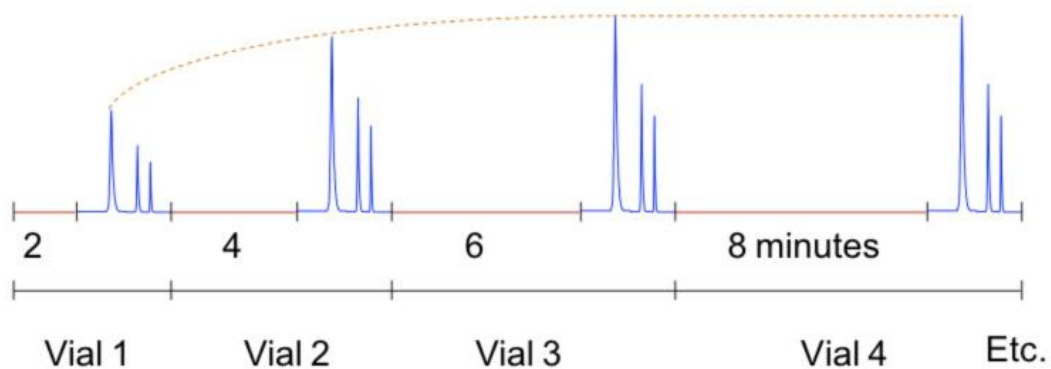
Όταν η τιμή του συντελεστή κατανομής  $K$  είναι χαμηλή, υπάρχει μικρή μόνο μεταβολή στη συγκέντρωση της αέριας υπερκείμενης φάσης καθώς η θερμοκρασία αυξάνεται όπως φαίνεται στην εικόνα 22.



Εικόνα 22- Μεταβολή συγκέντρωσης αέριας υπερκείμενης φάσης σε σχέση με τη θερμοκρασία για το *n*-εξάνιο σε νερό

### 2.5.3 Επίδραση του χρόνου θερμοστάτισης

Ένας άλλος παράγοντας που πρέπει να εξεταστεί είναι ο χρόνος της θερμοστάτισης. Είναι δύσκολο να μοντελοποιηθεί αυτή η κινητική συμπεριφορά και έτσι στις περισσότερες περιπτώσεις, πρέπει να γίνουν πειράματα για να καθοριστεί ο απαραίτητος χρόνος θερμοστάτισης. Αυτό περιλαμβάνει την ανάλυση μίας σειράς πανομοιότυπων συστημάτων με γνωστές ποσότητες των συστατικών που θα αναλυθούν. Οι συνθήκες είναι οι ίδιες για κάθε ανάλυση εκτός από τον χρόνο θερμοστάτισης ο οποίος αυξάνεται μεταξύ διαδοχικών αναλύσεων. Στο τέλος αυτής της αλληλουχίας πειραμάτων δημιουργείται μια γραφική παράσταση της μέγιστης απόκρισης έναντι του χρόνου θερμοστάτισης για κάθε συστατικό και καθορίζεται το σημείο πέρα από το οποίο η απόκριση του οργάνου δεν αυξάνεται πλέον. Αυτό απεικονίζεται στην εικόνα 23 στην οποία καθώς αυξάνεται ο χρόνος, παρατηρείται ότι η απόκριση του αέριου χρωματογράφου έχει μεγιστοποιηθεί σε περίπου 6 λεπτά. Συνήθως η επιλογή του χρόνου θερμοστάτισης θα είναι λίγο περισσότερο από αυτή, για παράδειγμα 8 λεπτά, για να επιτραπούν πιθανές μεταβολές στη μεταφορά θερμότητας μέσα στο φιαλίδιο. (Tipler, 2013)



Εικόνα 23- Επίδραση της αύξησης του χρόνου θερμοστάτισης

## 2.5.4 Οργανολογία αέριας χρωματογραφίας υπερκείμενης φάσης

Στην εικόνα 24 φαίνεται ένα ενδεικτικό σύστημα αέριας χρωματογραφίας υπερκείμενης φάσης το οποίο αποτελείται από έναν δειγματολήπτη υπερκείμενης φάσης και έναν χρωματογράφο.



Εικόνα 24- Agilent 7694E Δειγματολήπτης Headspace

Ο δειγματολήπτης υπερκείμενης φάσης αποτελείται από:

- τους υποδοχείς των φιαλιδίων
- τον φούρνο,
- μια σύριγγα,
- τον βρόγχο και
- τη γραμμή μεταφοράς.

Ο δειγματολήπτης παρέχει αυτόματη δειγματοληψία έτσι ώστε να μη χρειάζεται την προσοχή του χειριστή ο οποίος μπορεί να προγραμματίσει και το χρόνο που θα διαπανηθεί σε κάθε ανάλυση.

Ο φούρνος περιέχει ένα κυκλικό καρουσέλ από αλουμινίο που μπορεί να χωρέσει μέχρι δέκα φιαλίδια δείγματος των 10 ή 20 ml. Για τη θέρμανση χρησιμοποιείται μια αντίσταση θέρμανσης. Ένας ανεμιστήρας με κινητήρα στο κέντρο του καρουσέλ κυκλοφορεί τον αέρα για διατήρηση σταθερής και ομοιόμορφης θερμοκρασίας. Το καρουσέλ μπορεί να ανακινηθεί για να βοηθήσει τα συστατικά να εκλύονται στον υπερκείμενο χώρο γρηγορότερα.

Τα δείγματα θερμαίνονται και μόλις ολοκληρωθεί ο χρόνος θερμοστάτισης, εισάγεται μια βελόνα δειγματοληψίας μέσω του διαφράγματος του φιαλιδίου και το φιαλίδιο του δείγματος υποβάλλεται σε συμπίεση για να παρέχει μια τελική πίεση από 1,5atm έως 2,0atm (22,5 έως 30 psig). Η σύριγγα θερμαίνεται σε θερμοκρασία συγκρίσιμη με τη θερμοκρασία του φιαλιδίου του δείγματος. Αυτό ελαχιστοποιεί τη διαφορά πίεσης και τυχόν συμπύκνωση του δείγματος.

Το αέριο της υπερκείμενης φάσης υπό πίεση στη συνέχεια αφήνεται να διαφύγει μέσω ενός βρόγχου δειγματοληψίας. Στο βήμα αυτό το αέριο αντί να οδηγηθεί απευθείας στη χρωματογραφική στήλη ή τη γραμμή μεταφοράς, παραμένει στον βρόγχο δειγματοληψίας. Ο βρόγχος δειγματοληψίας έχει σταθερή χωρητικότητα 1 mL. Διατηρείται σε θερμοκρασία συνήθως 15°C πάνω από εκείνη του φιαλιδίου για την αποφυγή συμπύκνωσης του δείγματος.

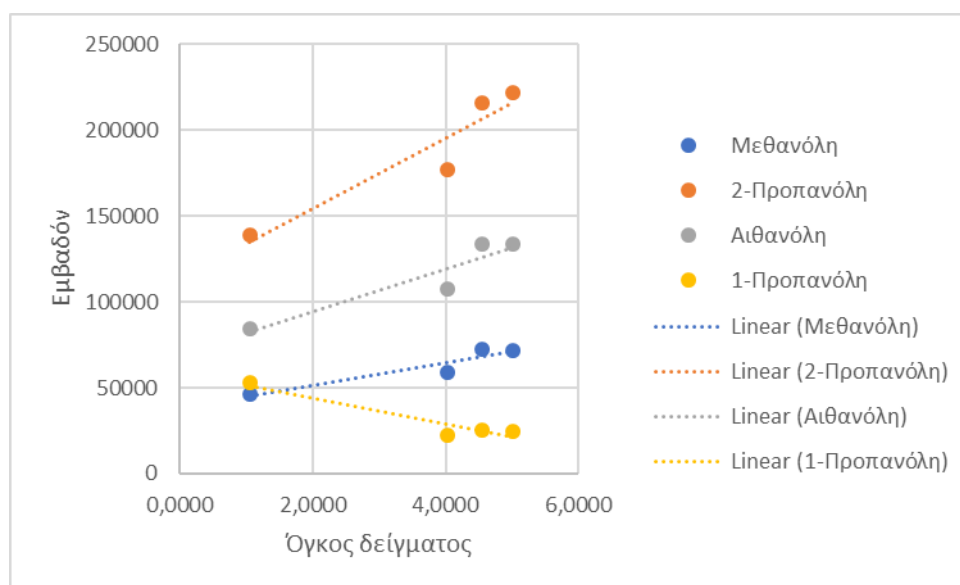
Η γραμμή μεταφοράς είναι ένα μικρό κομμάτι σωλήνα το οποίο χρησιμοποιείται για να μεταφέρει το δείγμα από τον αυτόματο δειγματολήπτη στο χρωματογράφο. Το υλικό του πρέπει να επιλέγεται με τέτοιο τρόπο έτσι ώστε να ταιριάζει με τα δείγματα που αναλύονται. Υπάρχουν πολλά διαφορετικά υλικά όπως ο ανοξείδωτος χάλυβας, το νικέλιο, το οξείδιο του πυριτίου. Η εσωτερική διάμετρος της γραμμή μεταφοράς πρέπει να επιλεγεί ανάλογα με την εσωτερική διάμετρο της χρωματογραφικής στήλης, τον ρυθμό ροής της και την παροχή από το αυτόματο δειγματολήπτη. Για την εξάλειψη του νεκρού όγκου, χρησιμοποιείται η μικρότερη δυνατή διάμετρος. Η θερμοκρασία της γραμμής μεταφοράς πρέπει να ρυθμιστεί ανάλογα με το δείγμα. Οι τυπικές θερμοκρασίες κυμαίνονται από 80°C έως 125°C. Για να ελαχιστοποιηθούν τυχόν προβλήματα όπως η συμπύκνωση νερού στα υδατικά δείγματα, χρησιμοποιείται υψηλότερη θερμοκρασία (~ 125°C έως 150°C). (RESTEK, «A Technical Guide for Static Headspace Analysis Using GC», 2000)

## 2.5.5 Βελτιστοποίηση συνθηκών αέριας χρωματογραφίας υπερκείμενης φάσης

Στην παρούσα εργασία, για να βρεθούν οι βέλτιστες συνθήκες των πειραμάτων, έγινε διερεύνηση του όγκου δείγματος που θα αναλυθεί και του χρόνου θερμοστάτισης.

- **Όγκος του δείγματος**

Σε διάλυμα που είχε όλες τις αλκοόλες με συγκέντρωση 600ppm έγιναν αναλύσεις με τέσσερις διαφορετικούς όγκους δείγματος 1ml, 4ml, 4,5ml και 5ml.

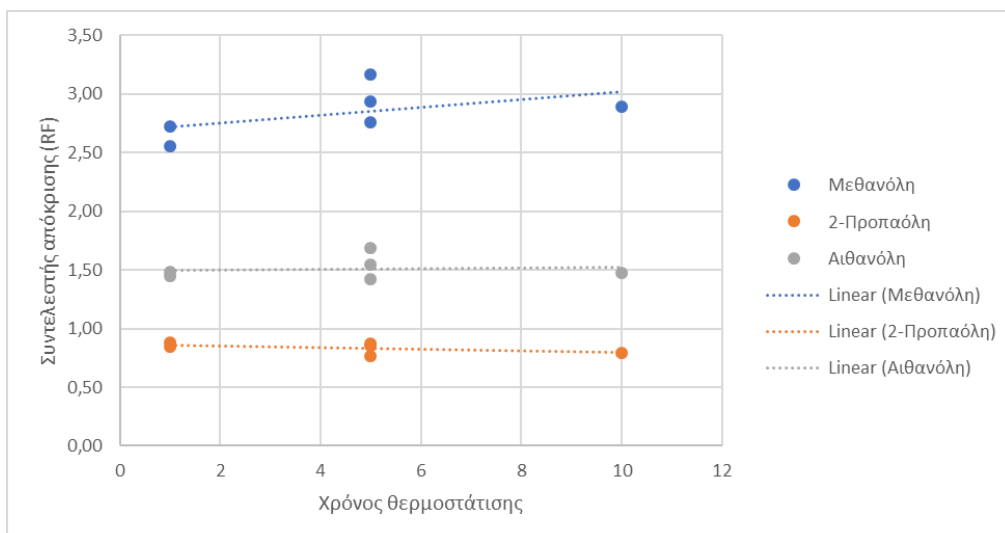


Εικόνα 2516- Επίδραση του όγκου του δείγματος σε συνάρτηση με το εμβαδόν των αλκοολών

Με εξαίρεση την 1-προπανάλη (εσωτερικό πρότυπο) παρατηρήθηκε ότι ο καλύτερος όγκος δείγματος για αναλύσεις ήταν 4,5ml (εικόνα 25). Όπως αναφέρθηκε και στη θεωρητικό μέρος της μεθόδου, η συγκέντρωση και η απόκριση στην αέρια χρωματογραφία είναι σε μεγάλο βαθμό ανεξάρτητες από τον όγκο του δείγματος.

- **Χρόνος θερμοστάτισης**

Έγινε δοκιμή με τρεις χρόνους για τη θερμοστάτιση του δείγματος 1, 5 και 10 λεπτά και συγκρίθηκαν με τους συντελεστές απόκρισης των αλκοολών. Παρατηρήθηκε ότι μεγαλύτερες τιμές (συνεπώς καλύτερες αποκρίσεις) είχαν στα 5 λεπτά θερμοστάτισης του δείγματος γι' αυτό και επιλέχθηκε αυτός ο χρόνος (εικόνα 26).



Εικόνα 26- Επίδραση του χρόνου θερμοστάτισης σε σχέση με τον συντελεστή απόκρισης των αλκοολών

Συνεπώς, χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω συνθήκες ανάλυσης για την αέρια χρωματογραφία υπερκείμενης φάσης (HEADSPACE):

- Όγκος διαλύματος: 4,5ml
- Όγκος εσωτερικού προτύπου: 1μl
- Συγκέντρωση εσωτερικού προτύπου: 984ppm
- Θερμοκρασία φιαλιδίου: 80°C
- Χρόνος ανακίνησης: 2min
- Χρόνος θερμοστάτισης: 5min
- Θερμοκρασία βρόγχου: 100°C
- Θερμοκρασία φούρνου: 45°C

Η αέρια χρωματογραφία διεξήχθη σε χρωματογράφο με split/splitless εισαγωγέα και με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας. Η χρωματογραφική στήλη ήταν η DB-WAX 30m\*0,32mm\*0,25μm. Η θερμοκρασία του εισαγωγέα ήταν 250°C και του ανιχνευτή 250°C. Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα ανάλυσης ήταν: Έναρξη στους 45°C, παραμονή για 5,5 λεπτά και με αύξηση της θερμοκρασίας με ρυθμό 20°C/min μέχρι τους 150°C.

## 2.5.6 Βαθμονόμηση αέριας χρωματογραφίας υπερκείμενης φάσης

Τα πρότυπα διαλύματα παρασκευάστηκαν με αραίωση ενός αρχικού διαλύματος που περιείχε όλες τις αλκοόλες με τις ακόλουθες συγκεντρώσεις:

- 1220ppm Μεθανόλη
- 1225ppm Αιθανόλη
- 1100ppm 2-Προπανόλη

Τα διαλύματα αυτά χρησιμοποιήθηκαν για να γίνει η βαθμονόμηση του οργάνου με τη συγκεκριμένη μέθοδο. Η παρασκευή των δειγμάτων ξεκίνησε από υψηλότερες συγκεντρώσεις και συνέχιζε προς τις χαμηλότερες φτιάχνοντας κάθε φορά νέο διάλυμα των 4,5ml. Η προσθήκη του εσωτερικού προτύπου ήταν 1μl. Τα διαλύματα τοποθετήθηκαν σε γυάλινα φυαλίδια των 10ml με βιδωτό καπάκι και διάφραγμα. Μετά από κάθε χρήση, η σύριγγα ξεπλύθηκε με απιονισμένο νερό και μεθανόλη για να απομακρυνθούν οι προσμίξεις. Για να αφαιρεθούν τυχόν υπολείμματα, η σύριγγα τοποθετήθηκε στο κενό.

Τα δείγματα τοποθετήθηκαν στον δειγματολήπτη και αρχικά θερμάνθηκαν σε δεδομένη θερμοκρασία και για δεδομένο χρόνο μέχρι να φτάσουν σε κατάσταση ισορροπίας. Έτσι οι πιο πτητικές ενώσεις μεταφέρονται στην αέρια (υπερκείμενη) φάση. Αντιστρόφως, τα λιγότερο πτητικά (και περισσότερο ανεπιθύμητα από το χρωματογράφο) συστατικά που αντιπροσωπεύουν το μεγαλύτερο μέρος του δείγματος τείνουν να παραμείνουν στην υγρή φάση.

Αφού ανακινήθηκαν και ήρθαν σε ισορροπία οι δύο φάσεις, ένα κλάσμα λήφθηκε από την υπερκείμενη φάση με τη σύριγγα του οργάνου και το υποπολλαπλάσιο δείγμα κρατήθηκε στον βρόγχο. Ο βρόγχος έχει σταθερή χωρητικότητα η οποία είναι 1 mL. Διατηρείται σε θερμοκρασία συνήθως 15 °C πάνω από εκείνη του φιαλιδίου για την αποφυγή συμπύκνωσης του δείγματος. Στη συνέχεια μέσω της γραμμής μεταφοράς και του φέροντος αερίου εγχύθηκε στον χρωματογράφο σαν να ήταν υγρή ένεση.

Στους πίνακες 8 και 9 φαίνεται ο πίνακας βαθμονόμησης με την αέρια χρωματογραφία υπερκείμενης φάσης. Για τη βαθμονόμηση χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα που είχαν και τέσσερις αλκοόλες σε διάφορες συγκεντρώσεις. Οι αλκοόλες ήταν η μεθανόλη, η 2-προπανόλη, η εθανόλη και η 1-προπανόλη. Οι στήλες αναγράφουν το εμβαδόν της κάθε αλκοόλης, τη συγκέντρωσή τους σε ppm και τους συντελεστές απόκρισης (RF). Υπολογίστηκαν οι μέσοι όροι του κάθε συντελεστή απόκρισης, η τυπική απόκλιση και η σχετική τυπική απόκλιση εκφρασμένη επί τοις εκατό(%).

Ανάλυση	MeOH(Εμβασδόν)	MeOH(ppm)	2-Prop(Εμβασδόν)	2-Prop(ppm)	EtOH(Εμβασδόν)	EtOH(ppm)	1-Prop(Εμβασδόν)	1-Prop(ppm)
mix_600_IS10	58840	665	177264	661	107531	688	22455	99
mix_600_IS10	72736	665	216068	661	133860	688	25595	88
mix_300_IS10	38937	409	106838	387	66838	389	20482	88
mix_300_IS10	41104	409	118453	387	71892	389	25068	89
mix_200_IS10	42405	227	176615	264	77191	212	48885	88
mix_200_IS10	44794	227	186430	264	81256	212	47228	87
mix_100_IS10	29322	152	106237	163	36683	109	49985	88
mix_100_IS10	31294	152	106196	163	36531	109	44666	89
mix_100_IS10	25728	119	88232	111	51256	116	56334	78
mix_60_IS10	15119	67,9	51090	63,3	29635	66,2	63017	85
mix_60_IS10	13027	67,9	44473	63,3	25690	66,2	48136	81
mix_40_IS10	9975	48	34388	44,8	20264	46,8	61798	91
mix_40_IS10	10762	48	35845	44,8	20991	46,8	68334	87
mix_10_IS10	4598	17,8	17117	20,2	6182	12,3	62266	82
mix_10_IS10	4757	17,8	18264	20,2	6361	12,3	73198	86
mix_5_IS10	2495	8,32	10178	9,43	3392	5,75	71428	89
mix_5_IS10	2564	8,32	11184	9,43	3776	5,75	51113	54
mix_20_IS10	5747	25,9	20394	24,1	11410	25,2	48344	72
mix_20_IS10	5916	25,9	20110	24,1	11422	25,2	53803	73

Πίνακας 8- Βαθμονόμηση με τη μέθοδο HEADSPACE.

Analysis_name	MeOH_RF	2PROP_RF	EtOH_RF
mix_600_IS10	2,55	0,84	1,44
mix_600_IS10	2,66	0,89	1,49
mix_300_IS10	2,45	0,85	1,36
mix_300_IS10	2,81	0,92	1,53
mix_200_IS10	2,96	0,83	1,52
mix_200_IS10	2,76	0,77	1,42
mix_100_IS10	2,94	0,87	1,68
mix_100_IS10	2,45	0,77	1,50
mix_100_IS10	3,34	0,91	1,64
mix_60_IS10	3,32	0,92	1,65
mix_60_IS10	3,11	0,85	1,54
mix_40_IS10	3,28	0,89	1,57
mix_40_IS10	3,52	0,99	1,76
mix_10_IS10	2,93	0,89	1,51
mix_10_IS10	3,19	0,94	1,65
mix_5_IS10	2,69	0,75	1,37
mix_5_IS10	3,10	0,81	1,45
mix_20_IS10	3,02	0,79	1,48
mix_20_IS10	3,21	0,88	1,62
average_RF	2,96	0,86	1,54
stdev	0,31	0,06	0,11
Rel_stdev %	11	7	7

*Πίνακας 9- Υπολογισμός συντελεστών απόκρισης, τυπικής απόκλισης και σχετικής τυπικής απόκλισης (%) με τη μέθοδο HEADSPACE.*

Παρατηρήθηκε ότι υπάρχει επαναληψιμότητα στη μέθοδο. Τα ποσοστά της τυπικής σχετικής απόκλισης (%) δείχνουν το σφάλμα των μετρήσεων. Διατηρήθηκαν σε σχετικά χαμηλές τιμές κάνοντας έτσι τη βαθμονόμηση αξιόπιστη για τη συνέχεια της πειραματικής διαδικασίας.



### Κεφάλαιο 3: Πειραματική διαδικασία προσδιορισμού συντελεστών κατανομής

Όπως αναφέρθηκε στην εισαγωγή της παρούσας εργασίας, προσδιορίστηκαν πειραματικά οι συντελεστές κατανομής των παρακάτω αλκοολών: μεθανόλη, αιθανόλη και 2-προπανόλη. Ο προσδιορισμός αυτός έγινε σε δυαδικά συστήματα με τους παρακάτω οργανικούς διαλύτες: επτάνιο, εξάνιο, ξυλόλιο, τολουόλιο και τετραχλωράνθρακας.

Τα διαλύματα αλκοολών παρασκευάστηκαν με απιονισμένο (DI) νερό σε ογκομετρική φιάλη των 100ml. Για την αποφυγή εξάτμισης της καθαρής αλκοόλης, προστέθηκε στη φιάλη πρώτα μια μικρή ποσότητα απιονισμένου νερού και έπειτα η καθαρή αλκοόλη. Τα διαλύματα αλκοόλης αναδεύτηκαν σε μηχανικό αναδευτήρα για 1 ώρα (εικόνα 27).



Εικόνα 27- Αναδευτήρας

Υπολογίστηκε η συγκέντρωση των διαλυμάτων αλκοόλης για κάθε πείραμα όπως φαίνεται στους πίνακες 10 και 11 σύμφωνα με τον τύπο:

$$C = \frac{m}{V}$$

όπου C η συγκέντρωση των διαλυμάτων αλκοόλης, m η μάζα της αλκοόλης και V ο όγκος του διαλύματος αλκοόλης.

Πείραμα	Μάζα αλκοόλης (mg)	Όγκος δ/τος αλκοόλης (ml)	Συγκέντρωση δ/τος αλκοόλης (mg/L)
MeOH_Hexane	65,6	100	656
MeOH_Heptane	65,6	100	656
MeOH_Toluene	65,6	100	656
MeOH_Xylene	65,6	100	656
MeOH_CTET	65,6	100	656
EtOH_Hexane	67,1	100	671
EtOH_Heptane	67,1	100	671
EtOH_Toluene	67,1	100	671
EtOH_Xylene	67,1	100	671
EtOH_CTET	67,1	100	671
2Prop_hexane	68,3	100	683
2Prop_heptane	68,3	100	683
2Prop_Toluene	68,3	100	683
2Prop_Xylene	68,3	100	683
2Prop_CTET	68,3	100	683

Πίνακας 10- Υπολογισμός συγκέντρωσης διαλυμάτων αλκοολών (μέθοδος HEADSPACE)

Πείραμα	Μάζα αλκοόλης (mg)	Όγκος δ/τος αλκοόλης (ml)	Συγκέντρωση δ/τος αλκοόλης (mg/L)
MeOH_Hexane	20,8	0,1	208
MeOH_Heptane	20,8	0,1	208
MeOH_Toluene	20,8	0,1	208
MeOH_Xylene	20,8	0,1	208
MeOH_CTET	10,5	0,1	105
EtOH_Hexane	10,1	0,1	101
EtOH_Heptane	10,1	0,1	101
EtOH_Toluene	10,1	0,1	101
EtOH_Xylene	10,1	0,1	101
EtOH_CTET	11,9	0,1	119
2Prop_hexane	9,7	0,1	97
2Prop_heptane	15,2	0,1	152
2Prop_Toluene	15,2	0,1	152
2Prop_Xylene	9,7	0,1	97
2Prop_CTET	15,2	0,1	152

Πίνακας 11- Υπολογισμός συγκέντρωσης διαλυμάτων αλκοολών (μέθοδος απευθείας εισαγωγής δείγματος)

Στη συνέχεια, περίπου 10g κάθε διαλύματος αλκοόλης μεταφέρθηκε σε ένα γυάλινο φιαλίδιο των 40 mL, που ακολουθείται από την προσθήκη περίπου 10g του οργανικού διαλύτη. Οι μεταφορές πραγματοποιήθηκαν με πιπέτες μίας χρήσης και σε κάθε βήμα γίνονταν μετρήσεις μάζας. Συνεπώς, για κάθε οργανικό διαλύτη παρασκευάστηκαν τρία διαλύματα. Για παράδειγμα για το εξάνιο ήταν: μεθανόλη-εξάνιο, αιθανόλη-εξάνιο και 2-προπανόλη-εξάνιο. Η 1-προπανόλη προστέθηκε αργότερα ως εσωτερικό πρότυπο διατηρώντας κάθε φορά την ποσότητά της σταθερή.

Για τον υπολογισμό του όγκου του οργανικού διαλύτη που προστέθηκε σε κάθε πείραμα, βρέθηκε αρχικά η πυκνότητα του κάθε οργανικού διαλύτη και υπολογίστηκε σύμφωνα με τον παρακάτω τύπο:

$$V = \frac{m}{\rho}$$

όπου V ο όγκος του οργανικού διαλύτη, m η μάζα του οργανικού διαλύτη και ρ η πυκνότητα του οργανικού διαλύτη (πίνακες 12 και 13).

Πείραμα	Όγκος νερού (ml)	Μάζα οργ. διαλύτη (g)	Πυκνότητα οργ. διαλύτη (g/L)	Όγκος οργ. διαλύτη (L)
MeOH_Hexane	10	10,0336	655	0,02
MeOH_Heptane	10	10,0298	703	0,01
MeOH_Toluene	10	10,1188	867	0,01
MeOH_Xylene	10	9,8858	857	0,01
MeOH_CTET	10	10,1351	1590	0,01
EtOH_Hexane	10	10,0327	655	0,02
EtOH_Heptane	10	10,1278	703	0,01
EtOH_Toluene	10	10,0717	867	0,01
EtOH_Xylene	10	10,0853	857	0,01
EtOH_CTET	10	12,4339	1590	0,01
2Prop_hexane	10	10,0513	655	0,02
2Prop_heptane	10	10,0617	703	0,01
2Prop_Toluene	10	10,0215	867	0,01
2Prop_Xylene	10	10,1224	857	0,01
2Prop_CTET	10	10,0587	1590	0,01

Πίνακας 12- Υπολογισμός όγκου οργανικού διαλύτη (μέθοδος HEADSPACE)

Πείραμα	Όγκος νερού (ml)	Μάζα οργ. διαλύτη (g)	Πυκνότητα οργ. διαλύτη (g/L)	Όγκος οργ. διαλύτη (L)
MeOH_Hexane	0,01	10,0104	655	0,02
MeOH_Heptane	0,01	10,0616	703	0,01
MeOH_Toluene	0,01	10,0081	867	0,01
MeOH_Xylene	0,01	10,0115	857	0,01
MeOH_CTET	0,01	10,0127	1590	0,01
EtOH_Hexane	0,01	9,9979	655	0,02
EtOH_Heptane	0,01	10,0051	703	0,01
EtOH_Toluene	0,01	10,0626	867	0,01
EtOH_Xylene	0,01	10,0432	857	0,01
EtOH_CTET	0,01	10,0993	1590	0,01
2Prop_hexane	0,01	10,0273	655	0,02
2Prop_heptane	0,01	10,0004	703	0,01
2Prop_Toluene	0,01	10,059	867	0,01
2Prop_Xylene	0,01	10,0689	857	0,01
2Prop_CTET	0,01	10,0289	1590	0,01

Πίνακας 13- Υπολογισμός όγκου οργανικού διαλύτη (μέθοδος απευθείας εισαγωγής του δείγματος)

Τα φιαλίδια καλύφθηκαν με βιδωτά καπάκια με διαφράγματα και τοποθετήθηκαν στον αναδευτήρα για 1 ώρα με 200rpm για την αποκατάσταση της ισορροπίας της αλκοόλης μεταξύ των δύο φάσεων.

Μετά την ανάδευση, τα φιαλίδια κρατήθηκαν ανεστραμμένα. Για τα πιο πυκνά υγρά (τετραχλωράνθρακας), τοποθετήθηκε στο φιαλίδιο πρώτα ο οργανικός διαλύτης και έπειτα η αλκοόλη. Ο προσανατολισμός των φιαλιδίων (ανεστραμμένη ή όρθια) επελέγη έτσι ώστε να μπορούν να ληφθούν τα υδατικά δείγματα χωρίς να έρχονται σε επαφή με τον οργανικό διαλύτη. Με τους συγκεκριμένους οργανικούς διαλύτες διατηρήθηκαν ανεστραμμένα τα διαλύματα που περιείχαν εξάνιο, επτάνιο, ξυλόλιο, τολουόλιο, ενώ για τον τετραχλωράνθρακα το φιαλίδιο διατηρήθηκε σε όρθια θέση για να ληφθεί η υδατική φάση. Μετά από 24 ώρες, τα φιαλίδια τοποθετήθηκαν σε φυγόκεντρο (εικόνα 28) για 20 λεπτά με 1000rpm για να διασφαλιστεί πλήρης διαχωρισμός των φάσεων. (Alfred E. Thal, Jr., Robert C. Knox, and David A. Sabatini, 2007)



Εικόνα 28- Φυγόκεντρος

Τέλος, με μια σύριγγα λήφθηκαν δείγματα από την υδατική φάση και τοποθετήθηκαν σε γυάλινα φιαλίδια των 1,5ml. Προστέθηκε το εσωτερικό πρότυπο το οποίο είχε κάθε φορά την ίδια συγκέντρωση (1000rpm) και ακολούθησε η εισαγωγή τους στο χρωματογράφο για ανάλυση. Το κάθε πείραμα έγινε από δύο φορές και χρησιμοποιήθηκαν οι μέσοι όροι των συγκεντρώσεων που βρέθηκαν.

Οι συγκεντρώσεις αλκοόλης στην φάση με τον οργανικό διαλύτη προσδιορίστηκαν από τους υπολογισμούς ισοζυγίου μάζας, χρησιμοποιώντας τη μάζα της αλκοόλης αρχικά στην υδατική φάση και τη μάζα που απομένει μετά την εξισορρόπηση. Η αρχική μάζα της αλκοόλης στην υδατική φάση υπολογίστηκε σύμφωνα με τον παρακάτω τύπο:

$$m = C * V$$

όπου m η μάζα της αλκοόλης στην υδατική φάση, C η συγκέντρωση της αλκοόλης και V ο όγκος της υδατικής φάσης (πίνακες 14 και 15).

Πείραμα	Συγκέντρωση δ/τος αλκοόλης (mg/L)	Όγκος νερού (ml)	Μάζα δ/τος αλκοόλης (g)
MeOH_Hexane	656	10	6,56
MeOH_Heptane	656	10	6,56
MeOH_Toluene	656	10	6,56
MeOH_Xylene	656	10	6,56
MeOH_CTET	656	10	6,56
EtOH_Hexane	671	10	6,71
EtOH_Heptane	671	10	6,71
EtOH_Toluene	671	10	6,71
EtOH_Xylene	671	10	6,71
EtOH_CTET	671	10	6,71
2Prop_hexane	683	10	6,83
2Prop_heptane	683	10	6,83
2Prop_Toluene	683	10	6,83
2Prop_Xylene	683	10	6,83
2Prop_CTET	683	10	6,83

Πίνακας 14- Υπολογισμός αρχικής μάζας αλκοόλης στην υδατική φάση (HEADSPACE)

Πείραμα	Συγκέντρωση δ/τος αλκοόλης (mg/L)	Όγκος νερού (ml)	Μάζα δ/τος αλκοόλης (g)
MeOH_Hexane	208	0,01	2,08
MeOH_Heptane	208	0,01	2,08
MeOH_Toluene	208	0,01	2,08
MeOH_Xylene	208	0,01	2,08
MeOH_CTET	105	0,01	1,05
EtOH_Hexane	101	0,01	1,01
EtOH_Heptane	101	0,01	1,01
EtOH_Toluene	101	0,01	1,01
EtOH_Xylene	101	0,01	1,01
EtOH_CTET	119	0,01	1,19
2Prop_hexane	97	0,01	0,97
2Prop_heptane	152	0,01	1,52
2Prop_Toluene	152	0,01	1,52
2Prop_Xylene	97	0,01	0,97
2Prop_CTET	152	0,01	1,52

Πίνακας 15- Υπολογισμός αρχικής μάζας αλκοόλης στην υδατική φάση (μέθοδος απευθείας εισαγωγής του δείγματος)

Η τελική μάζα της αλκοόλης στην υδατική φάση υπολογίστηκε μετά την ανάλυση του χρωματογράφου πολλαπλασιάζοντας τον όγκο της υδατικής φάσης με τη συγκέντρωση που βρέθηκε από την ανάλυση της αέριας χρωματογραφίας. Για τον

υπολογισμό της μάζας της αλκοόλης στην ελαϊκή φάση έγινε αφαίρεση της τελικής μάζας αλκοόλης στην υδατική φάση από την αρχική (πίνακες 16 και 17).

Πείραμα	Μάζα αλκοόλης(υδατική φάση)	Μάζα αλκοόλης(ελαϊκή φάση)
	(mg)	(mg)
MeOH_Hexane	5,7	0,9
MeOH_Heptane	6,9	-0,4
MeOH_Xylene	4,8	1,8
MeOH_CTET	5,8	0,8
EtOH_Hexane	6,4	0,3
EtOH_Heptane	6,5	0,2
EtOH_Toluene	6,1	0,6
EtOH_Xylene	5	1,7
EtOH_CTET	6,5	0,3
2Prop_hexane	6,1	0,7
2Prop_heptane	6,4	0,4
2Prop_Toluene	6,2	0,7
2Prop_Xylene	5,1	1,7
2Prop_CTET	6,3	0,5

Πίνακας 16- Υπολογισμός μάζας αλκοόλης στην υδατική και στην ελαϊκή φάση(HEADSPACE)

Πείραμα	Μάζα αλκοόλης(υδατική φάση)	Μάζα αλκοόλης(ελαϊκή φάση)
	(mg)	(mg)
MeOH_Hexane	1,79	0,29
MeOH_Heptane	2,03	0,05
MeOH_Toluene	1,82	0,26
MeOH_Xylene	1,48	0,60
MeOH_CTET	0,92	0,13
EtOH_Hexane	0,96	0,05
EtOH_Heptane	0,97	0,04
EtOH_Toluene	0,89	0,12
EtOH_Xylene	0,66	0,35
EtOH_CTET	1,15	0,04
2Prop_hexane	0,90	0,07
2Prop_heptane	1,43	0,09
2Prop_Toluene	1,32	0,20
2Prop_Xylene	0,63	0,34
2Prop_CTET	1,42	0,10

Πίνακας 17- Υπολογισμός μάζας αλκοόλης στην υδατική και στην ελαϊκή φάση (μέθοδος απευθείας εισαγωγής του δείγματος)

Οι συντελεστές κατανομής αλκοόλης στη συνέχεια προσδιορίστηκαν από την ακόλουθη εξίσωση:

$$K = \frac{C_{oil}}{C_{water}}$$

όπου  $C_{oil}$  είναι η συγκέντρωση αλκοόλης στη φάση με τον οργανικό διαλύτη και  $C_{water}$  είναι η συγκέντρωση αλκοόλης στην υδατική φάση (πίνακες 18 και 19)

Πείραμα	Συγκέντρωση αλκοόλης(υδατική φάση)	Συγκέντρωση αλκοόλης(ελαϊκή φάση)	Συντελεστής κατανομής K
	(ppm)	(ppm)	
MeOH_Hexane	566,1	58,7	0,1037
MeOH_Xylene	475,3	156,6	0,3295
MeOH_CTET	576,9	124,1	0,2151
EtOH_Hexane	638,4	21,3	0,0334
EtOH_Heptane	652,8	12,6	0,0193
EtOH_Toluene	609,3	53,1	0,0871
EtOH_Xylene	497	147,8	0,2974
EtOH_CTET	645,2	33	0,0511
2Prop_hexane	609,3	48,1	0,0789
2Prop_heptane	641,5	29	0,0452
2Prop_Toluene	617	57,1	0,0925
2Prop_Xylene	513,6	143,5	0,2794
2Prop_CTET	630,6	82,9	0,1315

Πίνακας 18- Υπολογισμός συντελεστών κατανομής (HEADSPACE)

Πείραμα	Συγκέντρωση αλκοόλης(υδατική φάση)	Συγκέντρωση αλκοόλης(ελαϊκή φάση)	Συντελεστής κατανομής K
	(ppm)	(ppm)	
MeOH_Hexane	179,1	18,9	0,1055
MeOH_Heptane	202,5	3,8	0,0188
MeOH_Toluene	182,4	22,1	0,1214
MeOH_Xylene	148,1	51,3	0,3466
MeOH_CTET	92,0	20,6	0,2237
EtOH_Hexane	95,5	3,6	0,0375
EtOH_Heptane	97,3	2,6	0,0266
EtOH_Toluene	88,5	10,7	0,1214
EtOH_Xylene	66,3	29,6	0,4475
EtOH_CTET	115,4	5,7	0,0493
2Prop_hexane	90,2	4,5	0,0495
2Prop_heptane	143,0	6,3	0,0442
2Prop_Toluene	132,0	17,2	0,1306
2Prop_Xylene	62,8	29,1	0,4633
2Prop_CTET	141,6	16,5	0,1164

Πίνακας 19- Υπολογισμός συντελεστών κατανομής (μέθοδος απευθείας εισαγωγής του δείγματος)

Συνοπτικά οι συντελεστές κατανομής που υπολογίστηκαν από τη μέθοδο απευθείας ανάλυσης και τη μέθοδο HEADSPACE φαίνονται στις πίνακες 20 και 21.

**Συντελεστές Κατανομής μεταξύ αλκοολών και διαφόρων οργανικών διαλυτών**

Ιχνηθέτες	Οργανικοί Διαλύτες				
	Εξάνιο	Επτάνιο	Τολουόλιο	Ξυλόλιο	Τετραχλωράνθρακας
Μεθανόλη	0,1055	0,0188	0,1214	0,3466	0,2237
Αιθανόλη	0,0375	0,00266	0,1214	0,4475	0,0493
2-Προπανάλη	0,0495	0,0442	0,1306	0,4633	0,1164

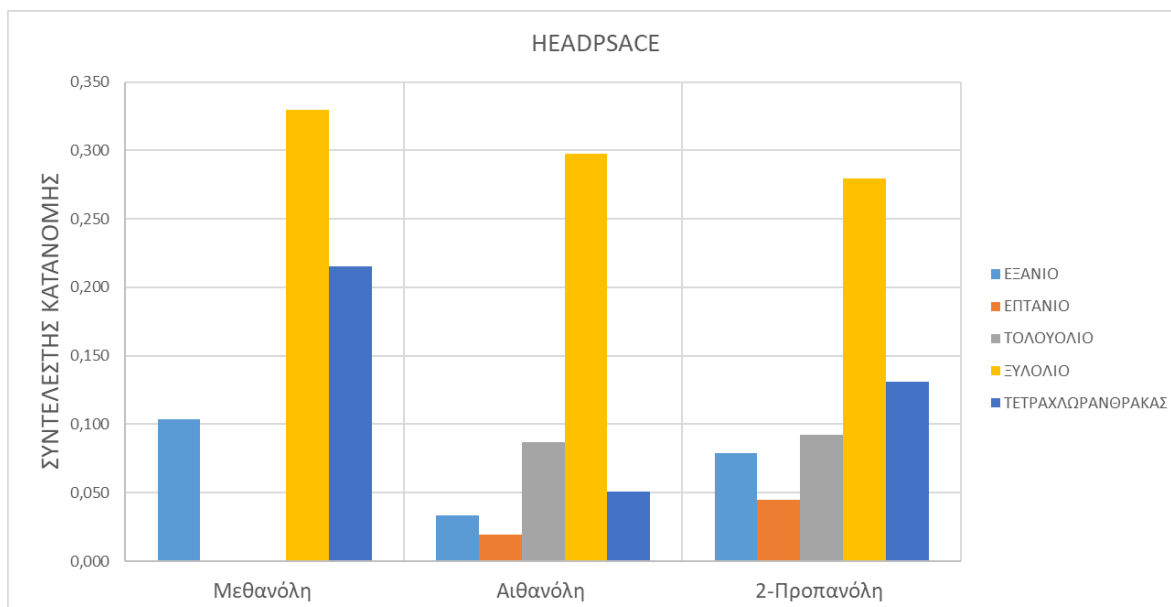
Πίνακας 20- Μέθοδος απευθείας εισαγωγής του δείγματος.

**Συντελεστές Κατανομής μεταξύ αλκοολών και διαφόρων οργανικών διαλυτών**

Ιχνηθέτες	Οργανικοί Διαλύτες				
	Εξάνιο	Επτάνιο	Τολουόλιο	Ξυλόλιο	Τετραχλωράνθρακας
Μεθανόλη	0,1037	-	-	0,3296	0,2151
Αιθανόλη	0,0333	0,0193	0,0871	0,2974	0,0512
2-Προπανάλη	0,0789	0,0451	0,0925	0,2793	0,1314

Πίνακας 21- Μέθοδος HEADSPACE.

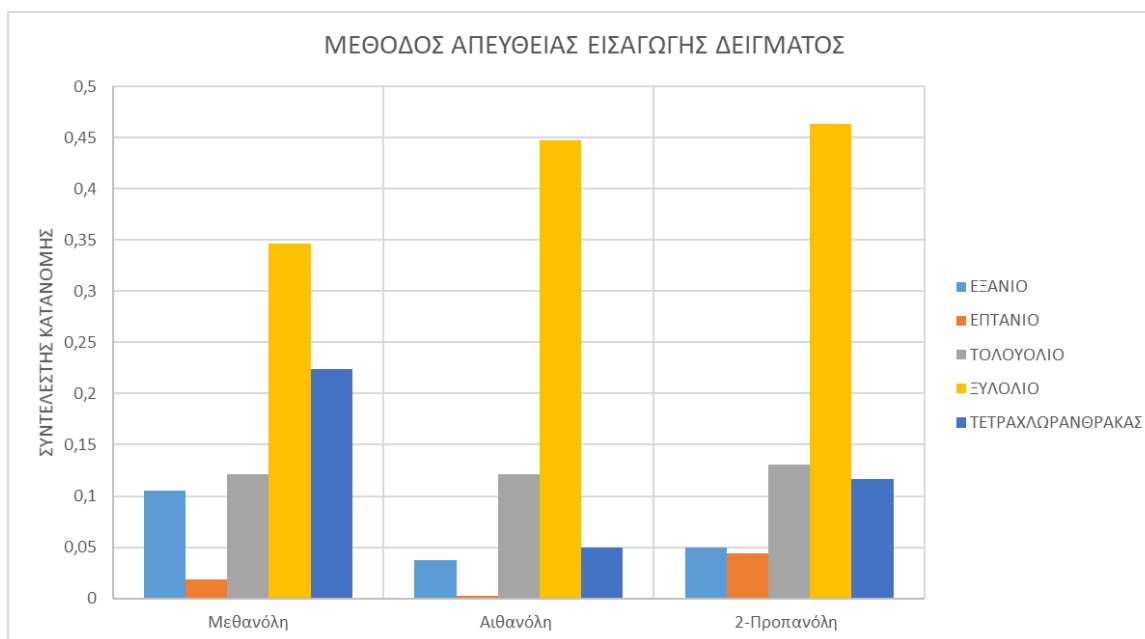
6



Εικόνα 29- Συντελεστές κατανομής μεταξύ αλκοολών και διάφορων οργανικών διαλυτών (μέθοδος HEADSPACE)

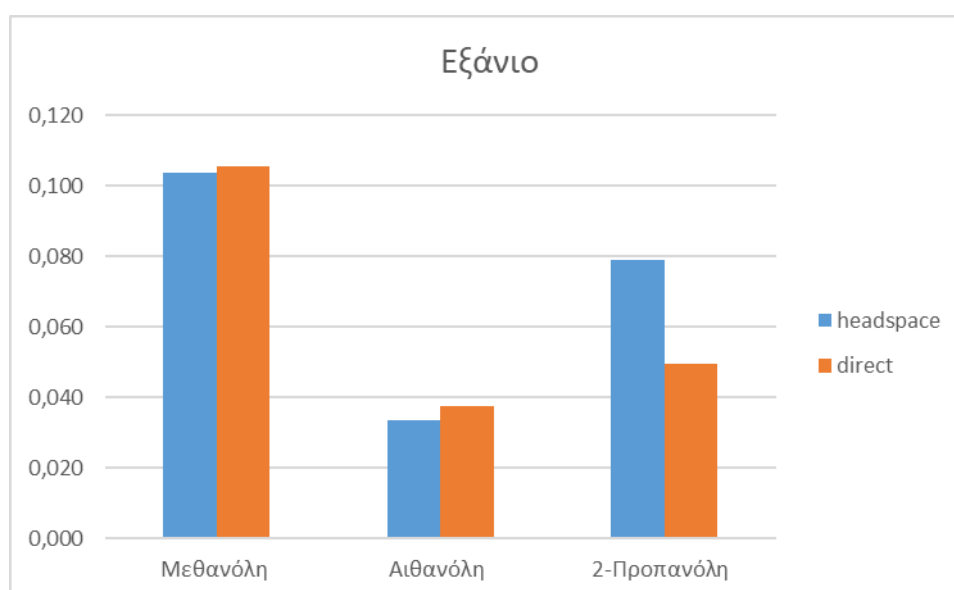
Λόγω επαναχρησιμοποιημένου δείγματος τα δυαδικά συστήματα Μεθανόλη-Επτάνιο και Μεθανόλη-Τολουόλιο δεν έδωσαν τιμές για το συντελεστή κατανομής.



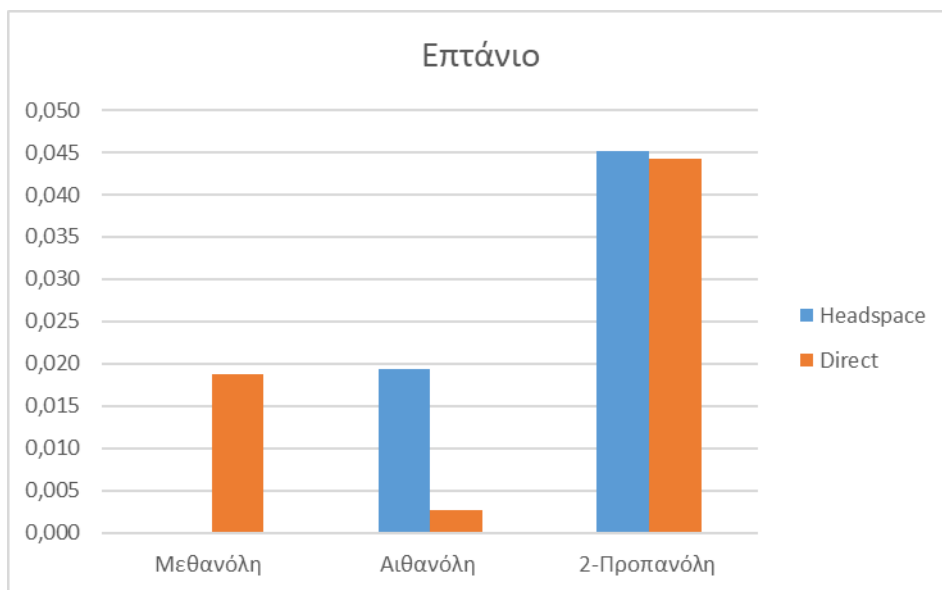


Εικόνα 30- Συντελεστές κατανομής μεταξύ αλκοολών και διάφορων οργανικών διαλυτών (μέθοδος απευθείας εισαγωγής του δείγματος)

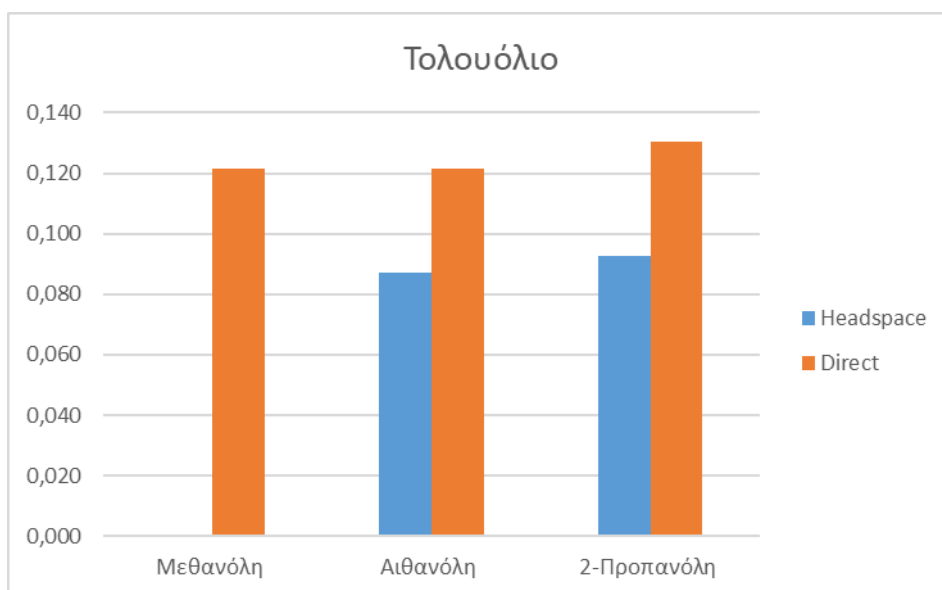
Από τα παραπάνω διαγράμματα (εικόνες 29 και 30) είναι φανερό ότι οι δυο μέθοδοι συμπίπτουν αρκετά στον υπολογισμό των συντελεστών κατανομής. Και οι τρεις αλκοόλες διαλύονται περισσότερο στο ξυλόλιο. Ακολουθεί ο τετραχλωράνθρακας (με εξαίρεση την αιθανόλη), το τολουόλιο, το εξάνιο και τέλος το επτάνιο. Πιο αναλυτικά η σύγκριση των δύο μεθόδων φαίνεται και στα παρακάτω διαγράμματα (εικόνες 31 με 35) για κάθε οργανικό διαλύτη. Ο τετραχλωράνθρακας και το εξάνιο φάνηκε να δίνουν και στις δύο μεθόδους πολύ κοντινές τιμές για το συντελεστή κατανομής.



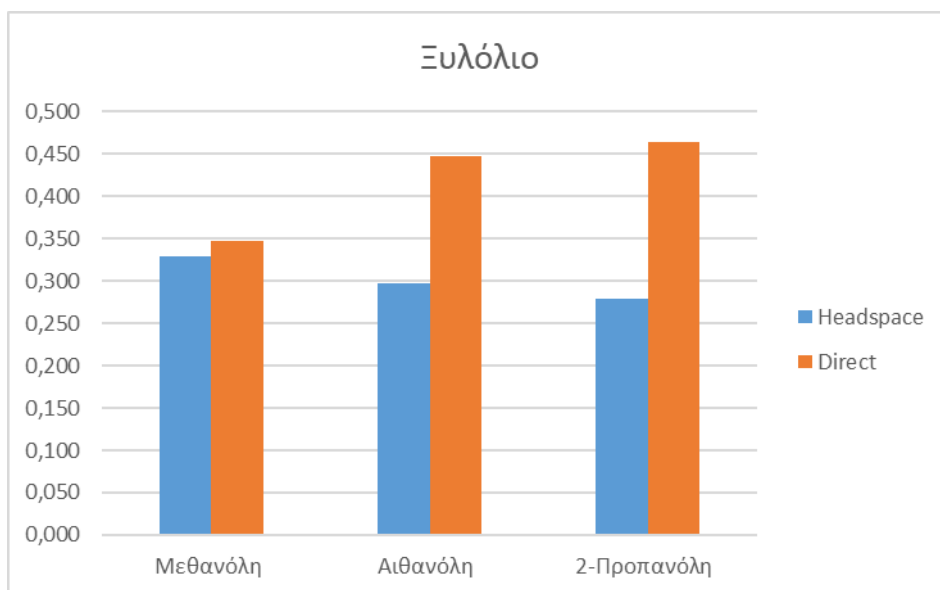
Εικόνα 31- Σύγκριση συντελεστών κατανομής των μεθόδων HEADSPACE και απευθείας εισαγωγής του δείγματος για το εξάνιο.



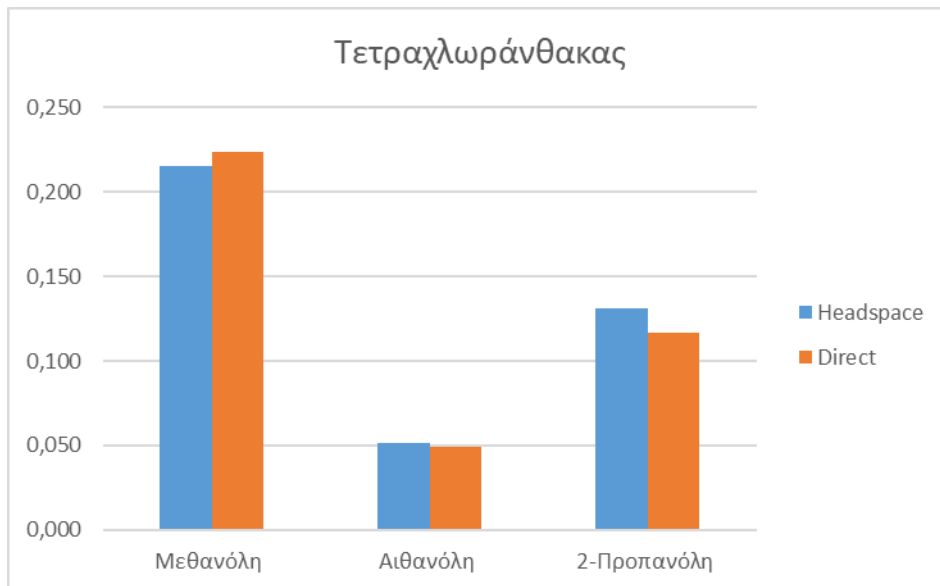
Εικόνα 32- Σύγκριση συντελεστών κατανομής των μεθόδων HEADSPACE και απευθείας εισαγωγής του δείγματος για το επτάνιο.



Εικόνα 33- Σύγκριση συντελεστών κατανομής των μεθόδων HEADSPACE και απευθείας εισαγωγής του δείγματος για το τολουόλιο.



Εικόνα 34- Σύγκριση συντελεστών κατανομής των μεθόδων HEADSPACE και απευθείας εισαγωγής του δείγματος για το ξυλόλιο.



Εικόνα 35- Σύγκριση συντελεστών κατανομής των μεθόδων HEADSPACE και απευθείας εισαγωγής του δείγματος για τον τετραχλωράνθρακα.

## Συμπεράσματα

Η γνώση των συντελεστών κατανομής είναι σημαντική για την προσομοίωση των διαρροών οργανικών ρύπων στο περιβάλλον και την αποκατάσταση των μολυσμένων περιοχών. Στην παρούσα εργασία προσδιορίστηκαν πειραματικά οι συντελεστές κατανομής τριών ελαφριών αλκοολών (μεθανόλη, αιθανόλη, 2-προπανόλη) σε δυαδικά συστήματα αποτελούμενα από μια υδατική και μια ελαϊκή φάση. Ως ελαϊκή φάση χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω οργανικοί διαλύτες: εξάνιο, επτάνιο, τολουόλιο, ξυλόλιο και τετραχλωράνθρακας. Ο προσδιορισμός των συντελεστών κατανομής των αλκοολών έγινε με τον υπολογισμό της συγκέντρωσής τους στην υδατική φάση, χρησιμοποιώντας την αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας με τρεις διαφορετικές μεθοδολογίες εισαγωγής του δείγματος. Με βάση τα πειραματικά αποτελέσματα η εισαγωγή δείγματος υπερκείμενης φάσης αερίου (Headspace sampling) φάνηκε ότι οδηγεί σε χαμηλότερα όρια ανίχνευσης και ποσοτικού προσδιορισμού των τριών αλκοολών στο νερό σε σύγκριση με τις άλλες δύο μεθόδους (direct injection, solid phase microextraction). Η τεχνική αυτή αποτελεί ένα πολύ ισχυρό αναλυτικό εργαλείο για τους επιστήμονες μιας και είναι γρήγορη και αποτελεσματική. Υπάρχουν πολλές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται με βάση αυτήν και άλλες που μπορούν να αναπτυχθούν έτσι ώστε να οδηγεί σε ακόμα πιο γρήγορα και καλύτερα αποτελέσματα.

## Βιβλιογραφία

- Alfred E. Thal, Jr., Robert C. Knox, and David A. Sabatini. (2007). «*Estimating Partition Coefficients of Tracers*». Research Gate.
- Alpendurada, M. d. (2000). «*Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis*». Journal of Chromatography A, Elsevier.
- D. Brynn Hibbert, J. J. (2006). «*DATA ANALYSIS FOR CHEMISTRY, An Introductory Guide for Students and Laboratory Scientists*».
- Eva Matisova, Monika Medved'ova, Janka Vraniakova, Peter Simon. (2002). «*Optimisation of solid-phase microextraction of volatiles*». Journal of Chromatography A, Elsevier.
- Gary L. Hook, Gregory L. Kimm, Tara Hall, Philip A. Smith,. (2002). «*Solid-phase microextraction (SPME) for rapid field sampling and analysis by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)*». Research Gate.
- Gyorgy Vas and Karoly Vekey. (2004). «*Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis*». JMS, Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com).
- LibreTexts, C. (2016 ). *Splitless Injection* .
- PECSOK/SHIELDS/CAIRNS/McWILLIAM, [. (1980). «Σύγχρονες μέθοδοι στη Χημική Ανάλυση». Γ.Α. ΠΝΕΥΜΑΤΙΚΟΣ.
- RESTEK. (2000). «*A Technical Guide for Static Headspace Analysis Using GC*».
- RESTEK. (2002). «*Operating Hints for Using Split/Splitless Injectors*».
- Tipler, A. (2013). «*AN INTRODUCTION TO HEADSPACE SAMPLING IN GAS CHROMATOGRAPHY FUNDAMENTALS AND THEORY*». PerkinElmer Corporation.
- University, D. B. (2018). *Course: "EVS 123"*.
- Wikipedia. (2019). <https://en.wikipedia.org/wiki/Calibration>.
- Wikipedia. (2019). [https://en.wikipedia.org/wiki/Partition\\_coefficient](https://en.wikipedia.org/wiki/Partition_coefficient).
- Γεωργία, Κ. (2004). "Προσδιορισμός και αξιολόγηση ρύπανσης υπεδάφους σε διυλιστήριο πετρελαίου με χρήση τεχνικών *fingerprinting* και πολυπαραμετρικής ανάλυσης".
- Κοκκινοπούλου, Κ. (2017). « Χαρακτηρισμός Υπολείμματος Απόσταξης Βενζίνης» .
- ΚΟΥΠΠΑΡΗΣ, Μ. (n.d.). «ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΕΝΟΡΓΑΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ» .

Νίκος Πασαδάκης (2015) «Γεωχημεία Πετρελαίου», Τζιόλα.

Gangfeng Ouyang<sup>1</sup>, Yong Chen, Lucie Setkova, Janusz Pawliszyn, « Calibration of solid-phase microextraction for quantitative analysis by gas chromatography»

Aukse Tankeviciute, Rita Kulikauskaite, Rolandas Kazlauskas, Vida Vickackaite, « Solid phase microextraction of alcohols from aqueous solutions: comparison oh headspace and direct»

Gangfeng Ouyang, Janusz Pawliszyn, «A critical review in calibration methods for solid-phase microextraction»

Shang-Da Huang, Chi-Phone Cheng, Yu-Hsiang Sung, «Determination of benzene derivatives in water by solid-phase microextraction»

[https://en.wikipedia.org/wiki/Solid-phase\\_microextraction](https://en.wikipedia.org/wiki/Solid-phase_microextraction)

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jms.606/abstract;jsessionid=12783652B020FA41452494FB750D1D0C.f03t04>