

TARTU ÜLIKOOL  
LOODUS- JA TEHNOLOOGIATEADUSKOND  
Keemia Instituut

Helen Järvpõld

**SOLVENTIDE SEGU KVANTITATIIVSE GAASIKROMATOGRAAFILISE  
ANALÜÜSI METOODIKA OPTIMEERIMINE JA MÕÕTEMÄÄRAMATUSE  
HINDAMINE**

Bakalaureusetöö (12 EAP)

Juhendajad: Koit Herodes, dotsent

Viljar Pihl, teadur

Tartu 2015

## Sisukord

1	Sissejuhatus.....	4
2	Kirjanduse ülevaade.....	5
2.1	Lahustid tööstuses .....	5
2.2	Lenduvate ainete analüüs .....	5
2.3	Gaasikromatograafia .....	6
2.3.1	Kandegaas .....	7
2.3.2	Proovisisestussüsteem .....	8
2.3.3	Kolonn.....	9
2.3.4	Temperatuuriprogramm.....	9
2.3.5	Detektorid.....	10
2.4	Kvantitatiivse analüüsi meetodid .....	11
2.4.1	Pindala normaliseerimine .....	11
2.4.2	Pindala normaliseerimine tundlikkusteguriga .....	11
2.4.3	Välisstandardimeetod ehk kalibreerimisgraafiku meetod .....	12
2.4.4	Sisestandardimeetod.....	12
2.4.5	Lisamismeetod.....	13
3	Materjal, aparatuur ja meetodika .....	15
3.1	Kasutatud ained .....	15
3.2	Aparatuur.....	15
3.2.1	Gaasikromatograafi parameetrid .....	16
3.3	Lahused .....	16
4	Tulemused ja arutelu.....	17
4.1	GC parameetrite optimeerimine .....	17
4.2	Rakendusala.....	19
4.3	Määramatuse hinnang, tõesus ja täpsus.....	22
5	Kokkuvõte.....	25
6	Summary .....	26
7	Kasutatud kirjandus .....	27
8	Tänuavaldused .....	29
9	Lisad.....	30

## KASUTATUD LÜHENDID

Ats	Atsetoon
CAS	Chemical Abstract Service
ECD	Elektronhaardedetektor
EtOAc	Etüülatsetaat
EtOH	Etanool
FID	Leekionisatsioonidetektor
GC	Gaasikromatograaf(ia)
LOÜ	Lenduv orgaaniline ühend
sisest	sisestandard
stdev	standardhälve
TCD	soojujuhtivusdetektor e. kataromeeter

# 1 Sissejuhatus

Lahustid on laialdaselt kasutatavad ained meid ümbritsevas elus. Nad võimaldavad töödelda, rakendada, puhastada ning eraldada erinevaid aineid. Tihti kasutatakse lahustite segusid, et anda lahustitele (segudele) soovitud omadusi ning tõsta protsesside efektiivsust.

Bakalaureusetöö eesmärgiks oli optimeerida analüütiline meetodika solvendisegu (etanool, atsetoon, etüülatsetaat) komponentide kvantitatiivseks määramiseks. Antud töö on tekkinud praktilisest vajadusest koostöös firmaga, mis toodab lahustite segusid. Tartu Ülikooli Katsekojas on ka varasemalt sarnast analüüsi teostatud, kuid varasemate mõõtmiste korral ei olnud meetodika optimeeritud. Samuti puudus määramatuse hinnang.

Eesmärgi saavutamiseks kasutati gaasikromatograafilist meetodit, koostati kalibreerimisgraafik kasutades sisestandardi meetodit ning hinnati analüüsitulemuste määramatus.

## **2 Kirjanduse ülevaade**

### **2.1 Lahustid tööstuses**

Paljude ainete vajalikud omadused ilmnevad olles lahuses. See on ka üks peamine põhjus, miks lahustid leiavad nii laialdast kasutust. Lahusteid kasutatakse kõige rohkem liimides, lakkides ja värvides, samuti elektroonikas, tintides, pestitsiidides, farmaatsias ja tekstiilitööstuses [1].

Lahustite müügilt teeniti 2013. aastal umbes 25 miljardit USA dollarit. Kõige kasutatavamad lahustid on alkoholid, nende turumaht oli 2013. aastal 6,5 miljonit tonni. Enam kasutatavamad alkoholid on etanool, n-butanool, isopropanool ja metanool. Suure osa moodustavad turul ka aromaatsed ühendid, ketoonid, estrid ja eetrid. Kõige kiiremini kasvav lahustite grupp on eetrid (kasv umbes 3,4% aastas). Kolm kõige enamkasutatavat lahustit on etanool, toluen ja atsetoon. Ceresana eksperdid ennustavad, et 2021. aastaks on solventide turumaht kasvanud 4% [2].

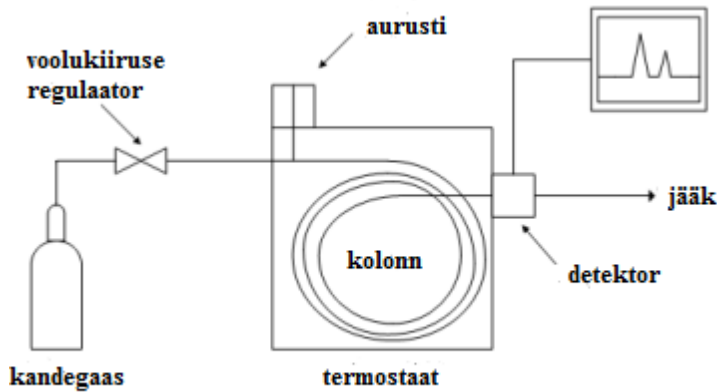
### **2.2 Lenduvate ainete analüüs**

Eesti Standardikeskus on välja andnud kaheosalise standardi (ISO 11890-1:2008 ja ISO 11890-2:2008) lenduvate orgaaniliste ühendite määramiseks värvides ja lakkides. Euroopa Liidus loetakse lenduvaks orgaaniliseks ühendiks (LOÜ) ainet, mille aururõhk on üle 10 Pa 20°C juures. Standardis kirjeldatud meetod eeldab, et analüüsitavad lenduvad ühendid on kas vesi või orgaanilised ained. Meetodi põhimõte on määrata mittelenduva aine sisaldus standardi ISO 3251 järgi. Edasi saab juba veesisalduse määrata Karl Fischeri tiitrimise kaudu. Standardi teine osa kirjeldab meetodit, kuidas identifitseerida lenduvad ained ja määrata nende kontsentratsioon gaasikromatograafia (GC) meetodil [3,4].

Varasemalt on kasutatud lenduvate proovide lahutamiseks ka destilleerimist, kuid GC meetodi efektiivsus on muutnud destillatsiooni vähemkasutatavamaks. Mõlema meetodi puhul on küll tähtis parameeter temperatuur, kuid gaasikromatograafiline analüüs sõltub veel ka statsionaarse faasi polaarsusest. Lisaks, kuna GC kolonnides on analüüdi kontsentratsioonid väga madalad, elimineeritakse aseotroopide teke, mis on sagedane probleem destilleerimise puhul [5].

## 2.3 Gaasikromatograafia

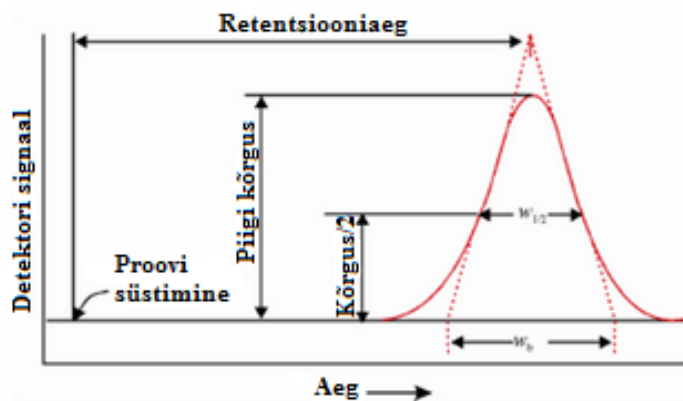
Gaasikromatograafia on üks laialdasemalt kasutatav meetod nii kvalitatiivses kui ka kvantitatiivses analüüsis. GC puhul toimub aurustunud proovi komponentideks lahutamine osakeste jaotumisel mobiilse gaasilise faasi ja vedela või tahke statsionaarse faasi vahel [6].



**Joonis 1.** Gaasikromatograafilise seadme skeem [7].

Inertgaas (mobiilne faas) voolab pidevalt läbi aurusti, kolonni ja detektori. Proov süstitakse aurustisse, kus see aurustub ja juhatakse edasi kolonni. Proov jaotub kolonnis mobiilse ja statsionaarse faasi vahel. Jaotumise aluseks on komponendi suhteline lahustuvus vedelfaasis ja aururõhk [5].

Pärast kolonni liigub kandegaas koos proovi komponendi või komponentidega edasi detektorisse, mis muudab need elektriliseks signaaliks. Signaal salvestatakse arvutis spetsiaalse programmi abil, mis töötleb andmed ja väljastab kromatogrammi, mis kujutab endast elektrilise signaali muutumist reaajas [5, 6].



**Joonis 2.** Tüüpiline kromatogramm [8].

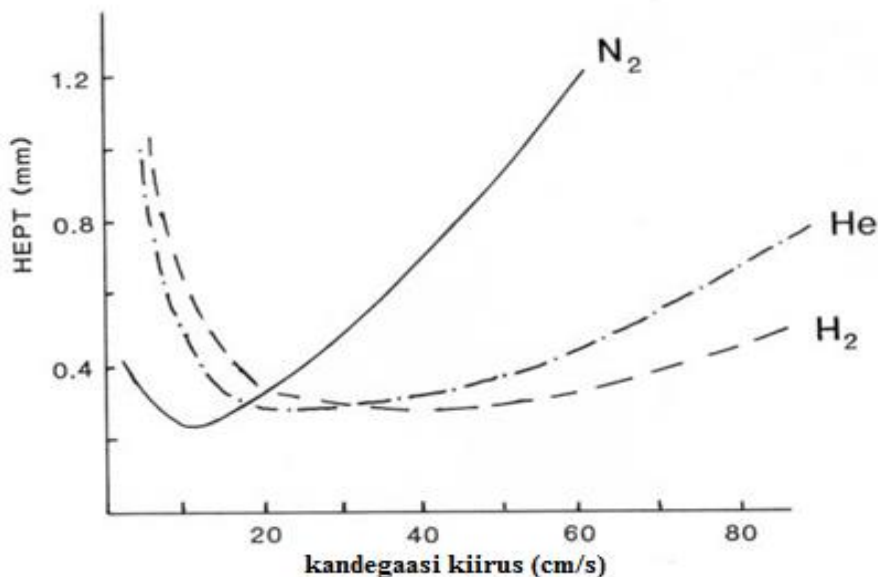
Programm teostab piigi parameetrite (retentsiooniaeg, pindala ja kõrgus) määramise ja arvutab piigi pindalade protsendid. Vaikivaks eelduseks on detektori võrdne tundlikkus kõikide proovi komponentide suhtes [5].

### 2.3.1 Kandegaas

Kandegaasi ülesandeks on kanda proov läbi kolonni. Ta on keemiliselt inertne ning ei interakteeru proovi molekulidega. Kandegaasi vooluhulk peab olema hoolikalt kontrollitud, et tagada optimaalne kromatograafilise protsessi efektiivsus, korratavad retentsiooniajad ning vähendada triivi ja müra [5,6].

Teiseks funktsiooniks on tagada sobiv maatriks detektori jaoks. Erinevate detektorite puhul eelistatakse erinevaid kandegaase. FID puhul võib kasutada nii heeliumi kui lämmastikku.

Kromatograafilise protsessi efektiivsuse seisukohast tagaks suurima efektiivsuse (kõige madalam teoreetiline taldriku kõrgus) lämmastik, kuid sellega on analüüs liialt aeglane. Vesinik annaks heeliumiga peaaegu sama efektiivsuse ja võimaldab kasutada suuremat voolukiirust, kuid vesinikku kasutatakse harva selle ohtlikkuse tõttu [5].



**Joonis 3.** Kromatograafilise protsessi efektiivsuse sõltuvus erinevate kandegaaside korral[9].

### 2.3.2 Proovisisestussüsteem

Proovi sisestussüsteem peaks toime tulema mitmekesiste proovidega, sealhulgas gaaside, vedelike ja tahkistega. Enamjaolt sisestatakse proov kromatograafi süstlaga. [5]

Vedelike puhul tuleks arvestada, et nad paisuvad aurustudes märkimisväärselt. Seega tuleks sisestada väikesed proovikogused (tavaliselt mikrolitrid või mikrolitri osad). Süstlad on peaaegu et universaalne vahend vedelike või tahke aine lahuste sisestamiseks. Tavaliselt kasutatakse 1, 5 või 10 mikrolitriiseid süstlaid. Olukorras, kus vedelas faasis proovi kuumutatakse kiire aurustumise eesmärgil, tuleks vältida ülekuumutamist, mis põhjustab proovi termilise lagunemise [5].

#### 2.3.2.1 Proovi automaatsisestaja (Autosampler)

Proove saab sisestada ka automaatselt kasutades mehhaanilisi seadmeid, mis on gaasikromatograafi külge paigaldatud. Proovi automaatsisestaja matkib inimese poolt teostatavat süstimise protsessi. Pärast solventiga loputamist loputab masin süstla läbi ka prooviga ning seejärel süstib fikseeritud koguse aurustisse. Proovi automaatsisestaja koosneb alusest, millel on proovid, standardid ja pesusolvendid. Automaatika võimaldab teostada süstimisprotsessi kõiki protsesse, nt süstla pesemine, loputamine ja proovi sisestamine. Automaatsisestaja võimaldab proove analüüsida järelvalveta ja üleöö. Autosampleri puhul on hinnatud suhteline standardhälve 0,2% parem kui käsitsi süstimise puhul [5].

#### 2.3.2.2 Jagajaga/jagajata (split/splitless) sisestus

Joajagajaga ning jagajata proovisisestuse korral kasutatakse ühte ja sama aurustit. Kui analüüti on proovis rohkem kui 0,1%, siis eelistatakse tavaliselt joajagajaga proovisisestust. Hea lahutuvus saadakse väikeste proovikoguste ( $\leq 1 \mu\text{l}$ ) analüüsimisel. Kogu proovi süstimise korral satuks liiga palju analüüti väikese sisediameetriga kolonni, mis põhjustaks kolonni ülelaadimise. Seega juhib joajagajaga kolonni ainult paar protsenti proovist. Ülejäänud juhitakse kandegaasi abil jääkidesse [10].

Lahuste analüüsimiseks, kus analüüdi sisaldus on vähem kui 0,01%, on sobilik joajagajata proovisisestus. Süstitavad proovikogused on sellise meetodi puhul suuremad (paar mikrolitrit) [10].

### 2.3.3 Kolonn

Gaasikromatograafias kasutatakse kahte tüüpi kolonne: täidis- ja kapillaarkolonne. Esialgu kasutati analüüsidel ainult tädiskolonne. Need kolonnid on tavaliselt tehtud kas roostevabast terasest või klaasist ning nende pikkus ei ületa 6 meetrit. Enamikel analüüsidel kasutatakse pikki ja väikese sisediameetriga kapillaarkolonne, mis on valmistatud kvartsist ning on kaetud polüimiidiga, et kaitsta kolonni niiskuse eest [5,11].

On olemas kolme tüüpi kapillaarkolonne. Esimese puhul katab kolonni sisemist seinu 0,1-0,5 µm paksune kiht statsionaarset vedelat faasi. Teise puhul on sisemise seinu külge kinnitatud tahked osakesed, mis on kaetud statsionaarse vedela faasiga ning kolmanda puhul on tahked osakesed ise statsionaarne faas [10].

Kapillaarkolonnide sisediameeter on tavaliselt 0,1-0,53 mm ja pikkus 15-100 m, tavalisem pikkus on 30 m. Väikese sisediameetriga kolonnid pakuvad küll paremat lahutust kui tädiskolonnid, kuid vajavad kõrgemat rõhku ning väiksemaid proovi koguseid. Statsionaarne faas valitakse põhimõttel, et sarnane lahustub sarnases. Mittepolaarsete ainete analüüsil kasutatakse mittepolaarset kolonni ja polaarsete puhul polaarset kolonni. Võrreldes tädiskolonnidega on kapillaarkolonnid kõrgema efektiivsusega ja tagavad kõrgema tundlikkuse ning lühema analüüsiaja [10].

### 2.3.4 Temperatuuriprogramm

Hea lahutuvuse tagamiseks mõistliku aja vältel on kolonn termostateeritud. Temperatuuriprogramm on üks lihtsamaid ja efektiivsemaid viise, kuidas mõjutada ainete lahutamist. Temperatuuri kontrollitakse aurustist detektorini [5].

Aurusti peaks olema piisavalt kuum, et aurustada kogu proov kiiresti ilma et ilmneks kadusid efektiivsuses. Samas ei tohi aurusti olla liiga kuum, muidu toimuks termiline lagunemine või keemiline protsess. Et tagada süstimise järel kiire aurustumine, peaks aurusti temperatuur olema umbes 50°C kõrgem kui proovi keemistemperatuur [5].

Kolonni puhul kasutatakse konstantsest temperatuurist (isotermiline analüüs) või temperatuuriprogrammi, mis tähendab, et temperatuurist tõstetakse analüüsi kestel. See on vajalik selleks, et tõsta analüütide aururõhku ja vähendada hiljem elueeruvate ainete retentsiooniaegsid [10].

Kolonni temperatuur peaks olema piisavalt kõrge, et proovi komponendid liiguksid mõistliku kiirusega läbi kolonni. Temperatuur ei pea olema kõrgem kui proovi keemistemperatuur; sageli eelistatakse hoida kolonni temperatuur madalamal kui on keemistemperatuur. GC puhul peab temperatuur olema üle kondenseerumispunkti, kuid mitte üle keemispunkti [5].

Detektori temperatuur sõltub rakendatavast detektori tüübist. Üldine reegel on see, et detektori temperatuur peaks olema piisavalt kõrge, et vältida proovi ja/või vedela faasi kondenseerumist. Kondenseerumise tagajärjeks on laiad piigid või üldse piikide kadumine [5].

### 2.3.5 Detektorid

Kaks kõige enamkasutatavat detektorit on leekionisatsioonidetektor ja soojusjuhtivusdetektor. Lisaks kasutatakse veel elektronhaardedetektorit (ECD), mille tundlikkus ainete suhtes, mis sisaldavad elektronegatiivset rühma, on väga kõrge. Seetõttu kasutatakse seda detektorit laialdaselt halogeenitud pestitsiidide analüüsimiseks [12].

#### 2.3.5.1 Soojusjuhtivusdetektor (TCD)

TCD oli üks varajasemaid detektoreid GC jaoks. Anorgaaniliste ühendite (nt vesi, CO, CO<sub>2</sub> ja H<sub>2</sub>) puhul leiavad nad siiani laialdast kasutust [5].

Soojusjuhtivus näitab aine võimet transportida soojust kuumemast piirkonnast külmemasse piirkonda. Levinuim kandegaas, mida kasutatakse koos soojusjuhtivusdetektoriga, on heelium. Heeliumil on teine kõrgeim soojusjuhtivus pärast vesinikku, seega iga heeliumiga segatud analüüt alandab gaasivoolu soojusjuhtivust. Kolonnist tulev eluaat liigub üle kuuma volfram-reenium õlgelemendi (filamendi). Kui analüüt väljub kolonnist, siis gaasivoolu juhtivus alaneb, filamendi temperatuur tõuseb ja selle elektriline takistus suureneb ning pinge üle filamendi muutub. Detektor registreeribki pinge muutust [10].

TCD puhul peab kasutama kandegaasi, mille soojusjuhtivus erineb märgatavalt analüüsitava proovi omast. Kõige laialdasemalt kasutatakse heeliumi ja vesinikku, mille soojusjuhtivuse väärtused on ühed kõrgemad [13].

Detektori eelised on lihtsus, lai lineaarne dünaamiline ala (u. 5 suurusjärku), ta on mittedestruktiivne ning tuvastab nii orgaanilisi kui ka anorgaanilisi ühendeid. Piiranguks on detektori madal tundlikkus [6].

### 2.3.5.2 Leekionisatsioonidetektor (FID)

See on detektor, mis on välja töötatud spetsiaalselt GC jaoks ja seetõttu on ka kõige laialdasemalt kasutatav [5].

Kolonnist väljuv eluaat põletatakse vesiniku ja õhu segus. Süsiniku aatomid moodustavad CH· radikaale, mis omakorda moodustavad CHO<sup>+</sup> ioone ja elektrone:



Antud detektor ei avasta ühendeid, mis ei sisalda orgaanilist süsinikku. Kõige tähtsam neist on vesi, sest see ühend põhjustab tihti piikide „sabatamist“. See omadus muudab FIDi üheks kasulikumaks detektoriks, sest võimaldab analüüsida enamus orgaanilisi proove, isegi neid mis on saastatud veega ja lämmastiku ning väevli oksiididega [5,6].

Detektori eelisteks on kõrge tundlikkus (u 10<sup>-13</sup> g/s), lai lineaarne ala (u. 10<sup>7</sup>), lihtsus ja madal müratase. Puudusteks on destruktiivsus ja enamasti vajab ta lisagaase [5,6].

## 2.4 Kvantitatiivse analüüsi meetodid

### 2.4.1 Pindala normaliseerimine

Pindala normaliseerimise puhul eeldatakse, et piigi pindala protsent on võrdne massiprotsendiga. Kui X on tundmatu analüüt, siis

$$\text{pindala}\%X = \left[ \frac{A_x}{\sum_i(A_i)} \right] \times 100$$

kus A<sub>x</sub> on tundmatu analüüdi piigi pindala ja nimetaja kõikide piikide pindalade summa [5].

Normaliseerimine oma kõige lihtsamal vormis eeldab, et kõik proovi komponendid elueeruvad ja et neil on võrdsed tundlikkustegurid [14].

### 2.4.2 Pindala normaliseerimine tundlikkusteguriga

Tundlikkusteguri piirangu saame eemaldada, kui saadaval on standardained. Tundlikkustegurite saamiseks tuleb antud standardained kromatografeerida. Üks aine valitakse standardiks ja tema tundlikkustegurile f antakse suvaline väärtus nagu 1,00. Standardist ja muudest analüütidest valmistatakse massi järgi lahused ja need kromatografeeritakse. Kahe piigi pindalad (A<sub>s</sub> ja A<sub>x</sub>) mõõdetakse ja tundmatu aine tundlikkustegur f<sub>x</sub> arvutatakse järgmiselt:

$$f_x = f_s \times \left(\frac{A_s}{A_x}\right) \times \left(\frac{m_x}{m_s}\right)$$

kus  $m_x/m_s$  on tundmatu aine massisuhe standardisse. Kui tundmatu proov lahutub, siis iga piigi pindala mõõdetakse ja korrutatakse läbi temale määratud faktoriga. Seejärel arvutatakse protsent nagu eelnevalt:

$$\text{massi}\%X = \left[\frac{A_x f_x}{\sum_i(A_i f_i)}\right] \times 100$$

Ka see normaliseerimise meetod eeldab, et kõik proovi komponendid on elueerunud. Meetodi peamiseks eeliseks on see, et ta elimineerib vajaduse täpse proovi koguse süstimiseks [14].

#### 2.4.3 Välisstandardimeetod ehk kalibreerimisgraafiku meetod

Seda meetodid kasutatakse tavaliselt graafiliselt. Teadaolevad analüüdikogused kromatografeeritakse, mõõdetakse piigi pindalad ja joonestatakse kalibreerimiskõver. Kui standardlahused varieeruvad üksteisest kontsentratsiooni poolest, siis peab kolonni süstima konstantse koguse proove ja standardeid. Käsitsi süstimine on sageli ebarahuldavate tulemustega ja limiteerib meetodit. Paremad tulemused saadakse proovi automaatsisestajaga [5].

Nii kalibreerimisgraafiku kui ka lisamismeetod põhinevad lineaarsel regressioonil. See on statistiline meetod, mis asetab sirge läbi punktisarve selliselt, et jääkliikmete hälvete ruutude summa oleks minimaalne.

Lineaarse regressiooni sisendiks on punktide koordinaadid:  $C_1, C_2, \dots, A_1, A_2, \dots$

Lineaarse regressiooni väljundiks on regressioonisirge võrrandi  $A = a \times C + b$  koefitsendid tõus ehk lineaarliige  $a \pm$  viga või määramatus, ja algordinaat ehk vabaliige  $b \pm$  viga või määramatus.

Proovi lahuse kontsentratsiooni saab leida valemi järgi:  $C_x = (A_x - b)/a$

Oluline on see, et  $A_x$  väärtusest nii üles kui ka alla peab jääma vähemalt üks kalibreerimispunkt [17].

#### 2.4.4 Sisestandardimeetod

See meetod on kasulik tehnikate puhul, milles sisestava proovi hulk ei ole hästi korratav. Sisestandardimeetod ei nõua täpset või järjepidavat proovi kogust või tundlikkusteguri kasutamist, kuna viimane on juba meetodisse sisse arvestatud. Seepärast on

see meetod hea käsitsi süstimise puhul. Selle meetodi puhul ei tohi valitud standard olla proovi komponent ja ei tohi kattuda ühegi proovi piigiga. Teatud kogus standardit lisatakse igale proovile – sellest ka nimetus sisestandard [5].

Sisestandard ei tohi reageerida proovis sisalduvate komponentidega ning peab olema kõrge puhtusega. Samuti peab ta proovi lahusega moodustama homogeense lahuse [14].

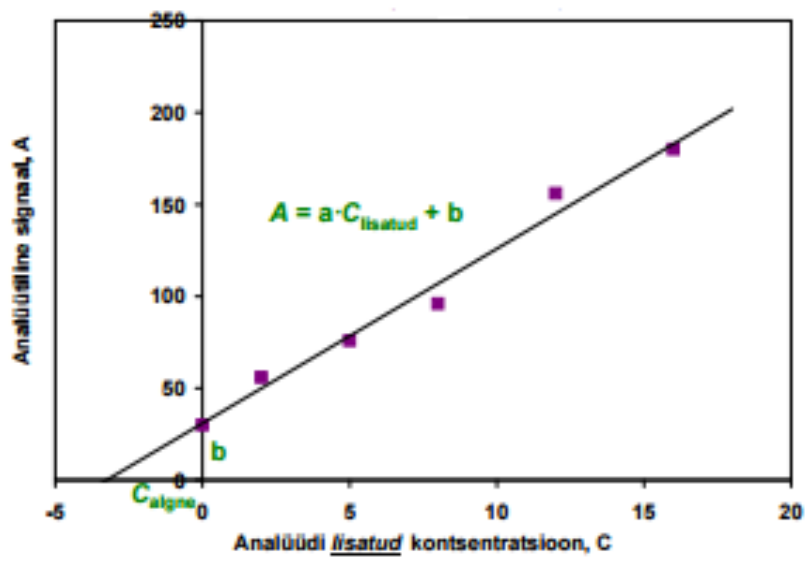
Enne keemilist derivatiseerimist või muud reaktsiooni lisatakse proovile standardit, mille kontsentratsioon on ligilähedane analüüdi omale. Kui määratakse palju analüüte ja et täita eelnevaid kriteeriume, siis võib kasutada mitmeid sisestandardeid. Valmistatakse kolm või rohkem kalibreerimislahust analüüdi/analüütide puhastest ainetest. Teatud kogus sisestandardit lisatakse igasse kalibreerimislahusesse ja tundmatusse lahusesse. Tavaliselt lisatakse sama kogus standardit mahu järgi, näiteks 1,00 ml. Määratakse piikide pindalad ja arvutatakse analüüdi piigi pindala suhe sisestandardi piigi pindalasse [5].

#### 2.4.5 Lisamismeetod

Selle meetodi puhul lisatakse proovile samuti standardit, aga lisatav aine on sama mis uuritav analüüt. See nõuab hästi korratavat proovi kogust ja paneb piirangu käsitsi süstimisele.

Meetodi põhimõte: standardi poolt põhjustatud täiendav, kasvav signaal on proportsionaalne lisatava standardi kogusega ja seda võrdelisust saab kasutada analüüdi kontsentratsiooni määramiseks alguses proovis. Vajalike arvutuste jaoks saab kasutada võrrandeid, aga kõige paremini näeb põhimõtet graafiliselt. Joonis 4 näitab tüüpilist lisamismeetodi kalibreerimisgraafikut. Tuleb tähele panna, et signaal on olemas ka siis, kui standardit pole veel lisatud; see esindab algset kontsentratsiooni, mis on kindlaks määratud. Kuna proovile lisatakse kasvav kogus standardit, siis suureneb ka signaal. Et leida algne „tundmatu“ analüüdi kontsentratsioon, siis ekstrapoleeritakse sirget seni, kuni see lõikub abstsiss-teljega; abstsissi absoluutväärtus on otsitav kontsentratsioon [15].

Vajaduse korratava proovi koguse järele saab kõrvaldada kombineerides lisamismeetodit *in situ* sisestandardimeetodiga. Matisova ja kolleegid [16] valisid süsivesinike kvantitatiivsel analüüsil petrooleumis etüülbenseeni lisatavaks standardiks, aga nad kasutasid tundmatut kõrvalolevat piiki sisestandardina, mille suhtes tulemused arvutati. Sellise protseduuriga kõrvaldasid nad sõltuvuse proovi suurusest ja tagasid parema kvantiseerimise kui pindalade normaliseerimise meetodiga.



Joonis 4. Lisamismeetodi graafik [17].

### 3 Materjal, aparatuur ja meetodika

#### 3.1 Kasutatud ained

Kalibreerimislahuste valmistamisel kasutati etanooli (puhtusega 95,0%), atsetooni (Sigma-Aldrich (GC), puhtus  $\leq 99,5\%$ ) ja etüülatsetaati (Sigma-Aldrich (GC),  $\leq 99,5\%$ ). Sisestandardina kasutati isopropüülatsetaati (Sigma-Aldrich). Sisestandardi lahuste valmistamiseks kasutati tolueni (Реахим „чда“).

GC puhul kasutati mobiilfaasina heeliumi puhtusega 6.0, FID puhul kasutati vesinikku puhtusega 6.0, lämmastikku (*make-up* gaas) puhtusega 5.0 ning trassist tulevat suruõhku (õliaurude sisaldus  $\leq 0,01\%$  ja kastepunkt  $-40^{\circ}\text{C}$ , filtreerimise efektiivsus 7.0 ( $0,01\mu$ )).

**Tabel 1.** Kasutatud ained ja nende keemilised ning füüsilised omadused [18].

Ühend (CAS nr)	Molekulmass, g/mol	Keemistemperatuur, $^{\circ}\text{C}$	Tihedus, $\text{g}/\text{cm}^3$
Atsetoon (67-64-1)	58,078	56,05	0,7845
Etüülatsetaat (141-78-6)	88,106	77,11	0,9003
Etanool (64-17-5)	46,068	78,29	0,7893
Isopropüülatsetaat (108-21-4)	102,132	88,6	0,8718
Tolueen (108-88-3)	92,139	110,63	0,8668

#### 3.2 Aparatuur

Proovide analüüsimiseks kasutati gaasikromatograafi Agilent 7890A.

Kolonniks oli kapillaarkolonn DB-5ms, mille pikkus oli 30 m, sisediaameeter 0,53 mm ning statsionaarse faasi (fenüülarüleen) kihi paksus 1,5  $\mu\text{m}$ . Tegemist on mittepolaarse kolonniga.

Lahuste valmistamiseks kasutati erineva mahuga automaatpipette (Eppendorf) ning analüütilist kaalu Sartorius BP 210 S (max kaalutis 210 g; d=0,1 mg).

Proovi süstimiseks kromatograafi kasutati proovide automaatsisestajat, 10 µl süstlaga.

### 3.2.1 Gaasikromatograafi parameetrid

Automaatne proovisisestussüsteem: proovi ruumala süstimisel 0,5 µl, enne süsti loputati süstalt 2 korda tolueeniga (5 µl) ning 4 korda prooviga (1 µl).

Aurusti: aurusti temperatuur 250°C; joajagamissuhe 40:1; rõhk 4,2454 psi (29,27 kPa); kandegaasi kiirus läbi kolonni 6 ml/min, läbi joajagamisklapi 240 ml/min ja septumi puhastus 3 ml/min. Kandegaasi säästmise eesmärgil vähendati läbi joajagamisklapi väljuva kandegaasi voolukiirust 2 min pärast proovi sisestamist 240 ml/min → 20 ml/min.

Kolonni temperatuuriprogramm: algtemperatuur 40° C, mida hoitakse 2 min, siis tõstetakse temperatuuri 40° C/min kuni saavutatakse temperatuur 120° C, mida hoitakse 4 min. Kromatografeerimise järgseks puhastamiseks hoitakse kolonni temperatuuri 3 min 230°C.

Detektor: temperatuur 300° C; vesiniku voolukiirus 30 ml/min; õhu voolukiirus 400 ml/min, make-up gaasi voolukiirus 25 ml/min.

### 3.3 Lahused

Kalibreerimislahused valmistati kaalumise teel. Kõigepealt valmistati 4 erinevat lahust, kus erines kolme analüüsitava komponendi kontsentratsioon. Valmistati ka 4 erinevat sisestandardi lahust tolueeniga. Kalibreerimislahused valmistati kolme analüüdi segu ja sisestandardi lahuse kokku segamisel (1:1). Kokku saadi 16 lahust, mis on tähistatud vastavalt (L1S1-L4`S4). Lahused säilitati 4°C juures. Lahuste kaalumisandmed ja arvutatud kontsentratsioonid on toodud lisa 1.

## 4 Tulemused ja arutelu

### 4.1 GC parameetrite optimeerimine

Algsed kromatografeerimise parameetrid valiti toetudes varasematele eksperimentidele ja kogemustele. Sellele järgnes erinevate parameetrite (make-up gaasi voolukiirus, joajagamissuhe, aurusti ja detektori temperatuur, süstitava proovi kogus) muutmine, et leida, milline kombinatsioon tagab kõrgeima efektiivsuse.

Aurusti temperatuuri vähendades täheldati, et see muudab analüüsi vähem efektiivsemaks ja võib sisse tuua analüüsi segavaid piike, sest ka pärast *post run*'i ilmnedid piigid. Kui aurusti temperatuur oli 250°C, registreeriti kromatogrammil 17 piiki. Aurusti temperatuuri alandamisel 200°C-ni oli piike kromatogrammil ainult 14. Kromatogrammilt puuduvad ained võivad elueeruda *post run*'i või järgmise süstitava proovi ajal nn *ghost* piigina. Seetõttu kasutati töös aurusti temperatuuri 250°C.

Detektori make-up gaasi voolukiiruse alandamisel (25 ml/min → 15 ml/min → 10 ml/min), vähenesid piikide pindalade suhted paari protsendi ulatuses. Jäädi voolukiiruse juurde väärtusega 25 ml/min.

Detektori temperatuuri alandamine 50°C võrra vähendas piikide pindalaid paari protsendi võrra. Dessler ja Ciganek [18] uurisid detektori temperatuuri mõju piikide pindaladele erinevate ühendite korral. Leiti, et detektori temperatuuride vahemikus 120-340°C muutusid mõnede ainete piikide pindalad mitmekümne protsendi võrra. Kõige kõrgemad signaalid registreeriti temperatuuride vahemikus 250-300°C. Ka käesolevas töös leiti optimaalseks detektori temperatuuriks 300°C.

Optimeerimise aluseks olnud meetodika kohaselt teostati GC analüüs 50-60 korda lahjemate lahustega. Tulemuseks olid väiksemad piigi pindalad, mis muutis piigi pindala suhtelise määramatuse suuremaks. Antud töös kasutati kõrgema kontsentratsiooniga (väiksema lahjendusastmega) lahuseid ning varieeriti ka sisestandardi kontsentratsiooni, et uurida sisestandardi kontsentratsiooni mõju mõõtemääramatusele.

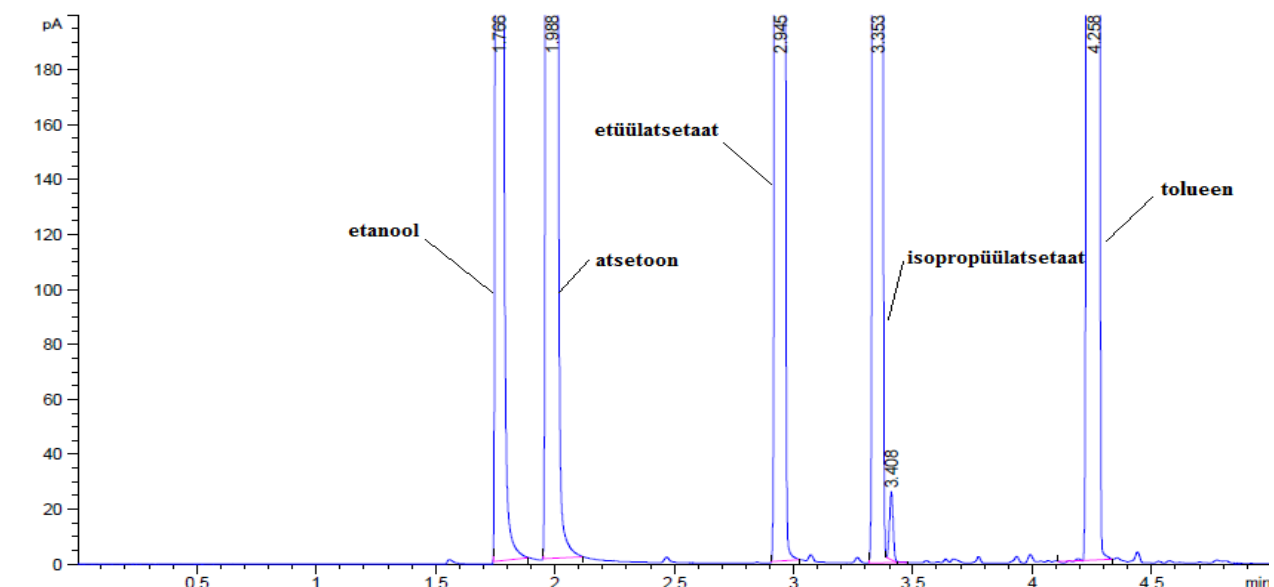
Kuna proovi ettevalmistus, sh lahjendamine nõuab lisatööd ja on vigade allikaks, siis otsiti ka võimalusi uuritavate lahuste analüüsiks ilma lahjendamata. Et vältida kolonni ja detektori ülekoormamist analüütidega, tuleb vähendada kolonni jõudva aine hulka. Seda on võimalik teha süstides süsteemi väiksema koguse proovi või kasutades suuremat

joajagamissuhet. Sisestava proovi ruumala 0,1µl korral oli piikide pindalade korduvus oluliselt madalam, mistõttu jäädi 0,5 µl süsti suuruse juurde. Kui kolonni jõudva analüüdi kogust reguleerida joajagamissuhte abil, siis peaks joajagamissuhe olema 200:1, st joajagamisklapist peaks väljuma gaas kiirusega 1200 ml/min. Nii suure kiirusega gaasi väljalaskmist instrument ei võimalda ja see põhjustaks ka suure kandegaasi kulu. Seega, proovi lahjendamine osutus mõõdapääsmatuks.

Antud töö tüüpiline kromatogramm on antud joonisel 5. Analüütide piikide ja retentsiooniaegade määramiseks kasutati üksikute puhaste standardainete lahuseid. Ükski piikidest ei kattunud teisega. Ainult sisestandardi (isopropüülatsetaat) piigi kõrval ilmnis toluenist pärit lisand, mida automaatne integreerimine mõnel juhul sisestandardi piigi pindala sisse arvestas. Muutes integreerimise parameetreid sai piikide pindalad eraldi integreerida.

Analüütide keskmised retentsiooniajad:

- 1) etanool –  $t_r = 1,77$  min
- 2) atsetoon –  $t_r = 1,99$  min
- 3) etüülatsetaat –  $t_r = 2,95$  min
- 4) isopropüülatsetaat, sisestandard –  $t_r = 3,35$  min

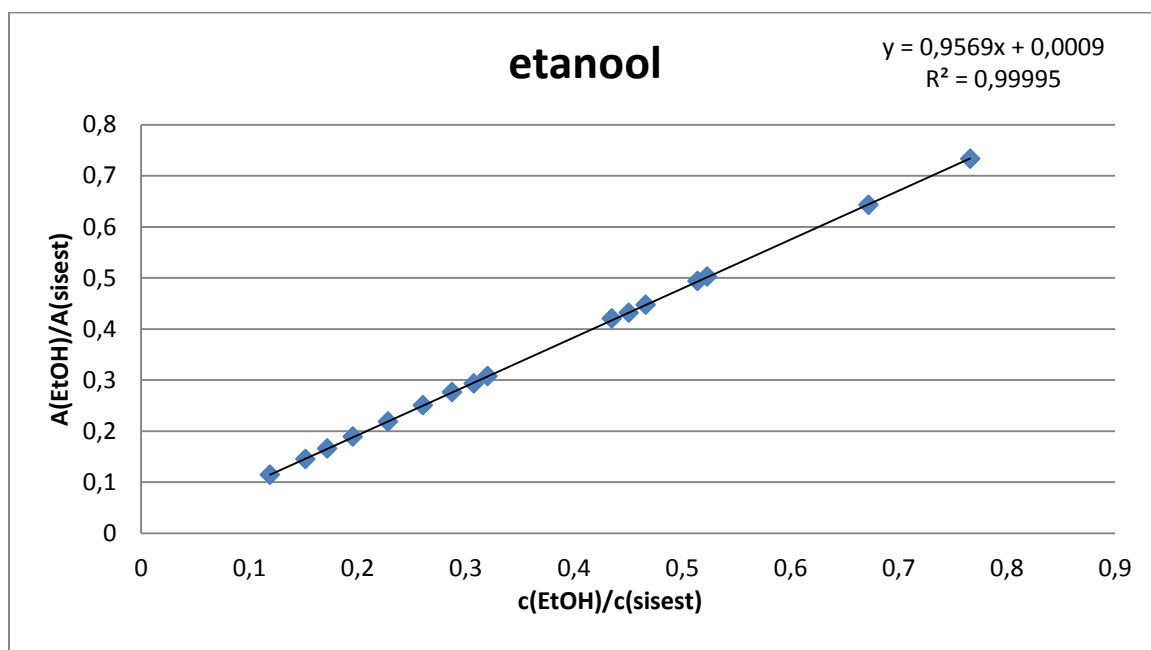


**Joonis 5.** Kalibreerimislahuste mõõtmisel saadud näidiskromatogramm.

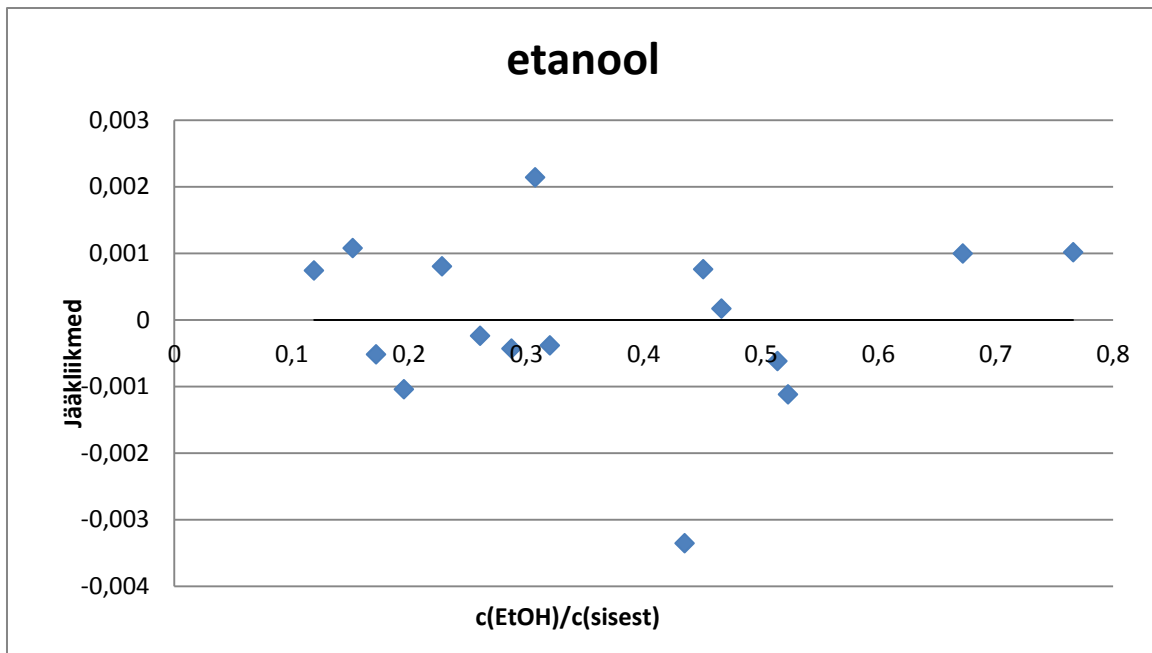
## 4.2 Rakendusala

Metoodika koostati 3 komponendi määramiseks solventide segus. Kalibreerimislahused valmistati suhteliselt kitsas vahemikus, sest käesoleva töö puhul on analüütide ligilähedane sisaldus proovis teada. Tundmatute proovide korral tuleks kindlasti kalibreerimislahuste kontsentratsioonide ulatust suurendada.

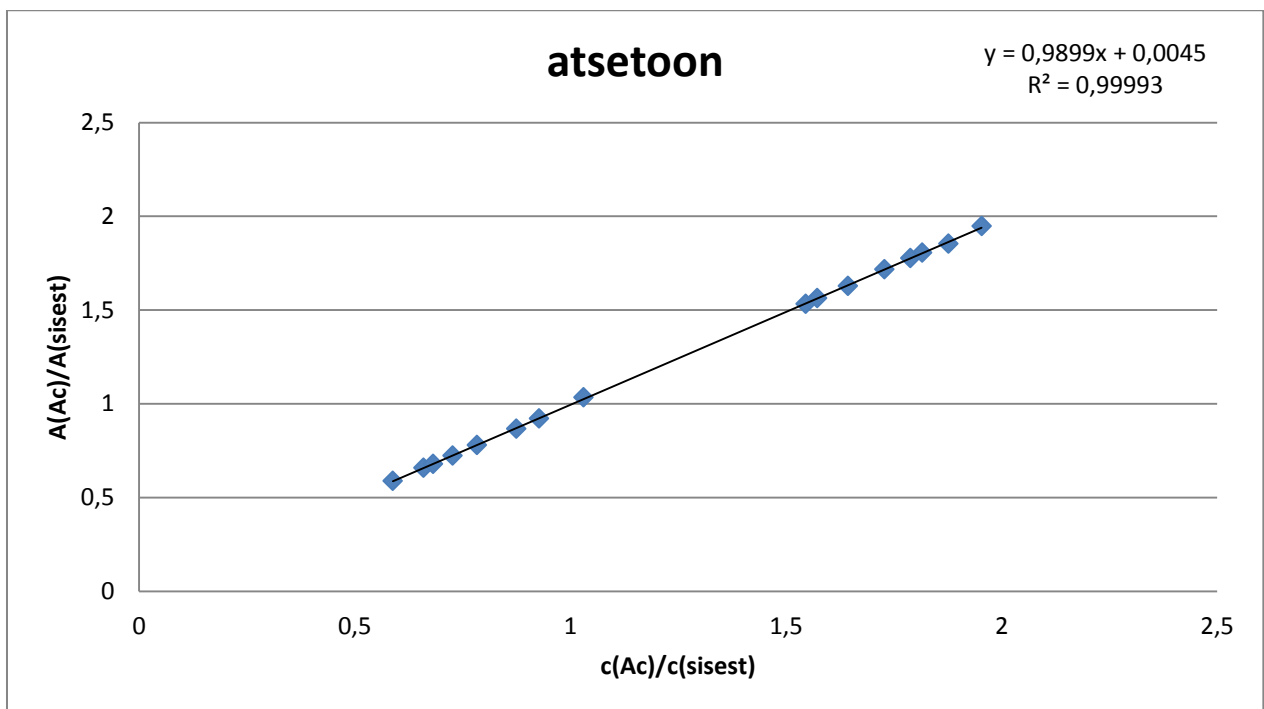
Iga proovi analüüsiti 5 korda. Saadud tulemuste põhjal koostati lineaarset regressiooni kasutades kalibreerimissirge. Visuaalselt on näha, et lineaarsus on väga hea, seda kinnitavad ka saadud  $R^2$  väärtused (etanool: 0,99995; atsetoon: 0,99993; etüülatsetaat: 0,99996). Teostatud jääkliikmete analüüsilt on näha, et jääkliikmed on juhuslikult jaotunud, mis viitab heale lineaarsusele ja süstemaatiliste efektide puudumisele (Joonised 6-11).



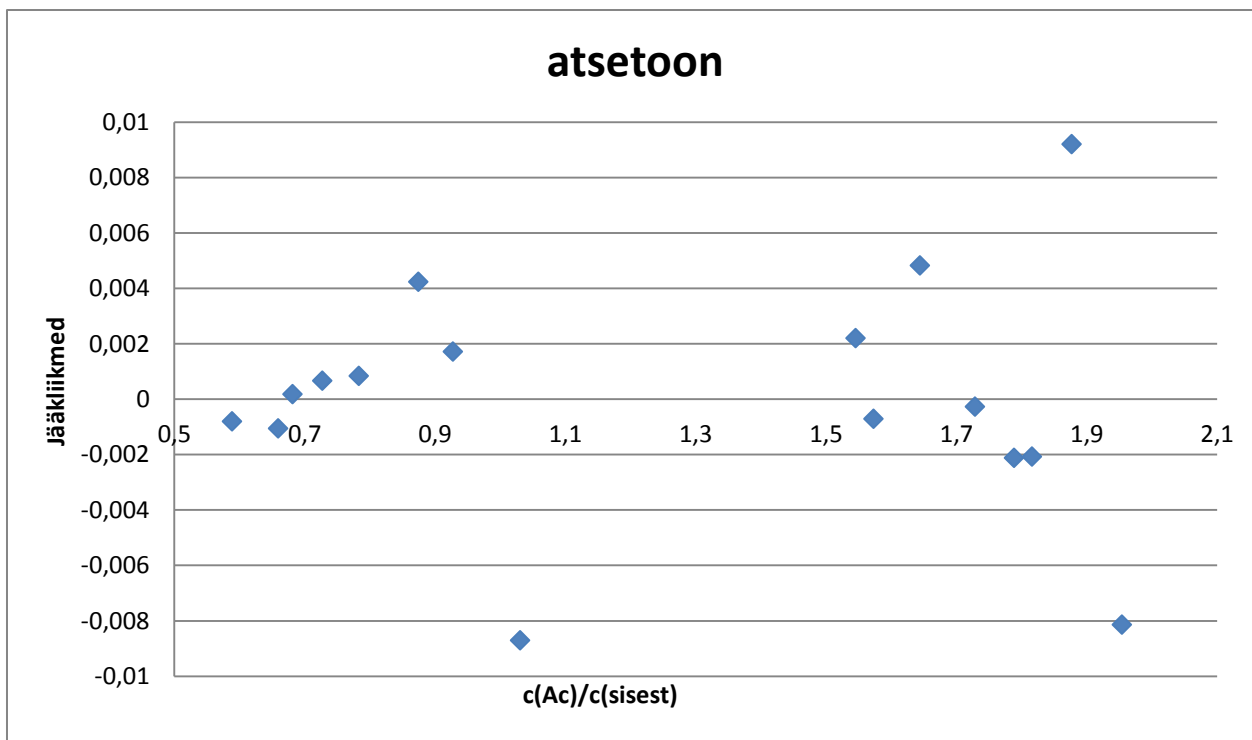
Joonis 6. Etanooli kalibreerimissirge.



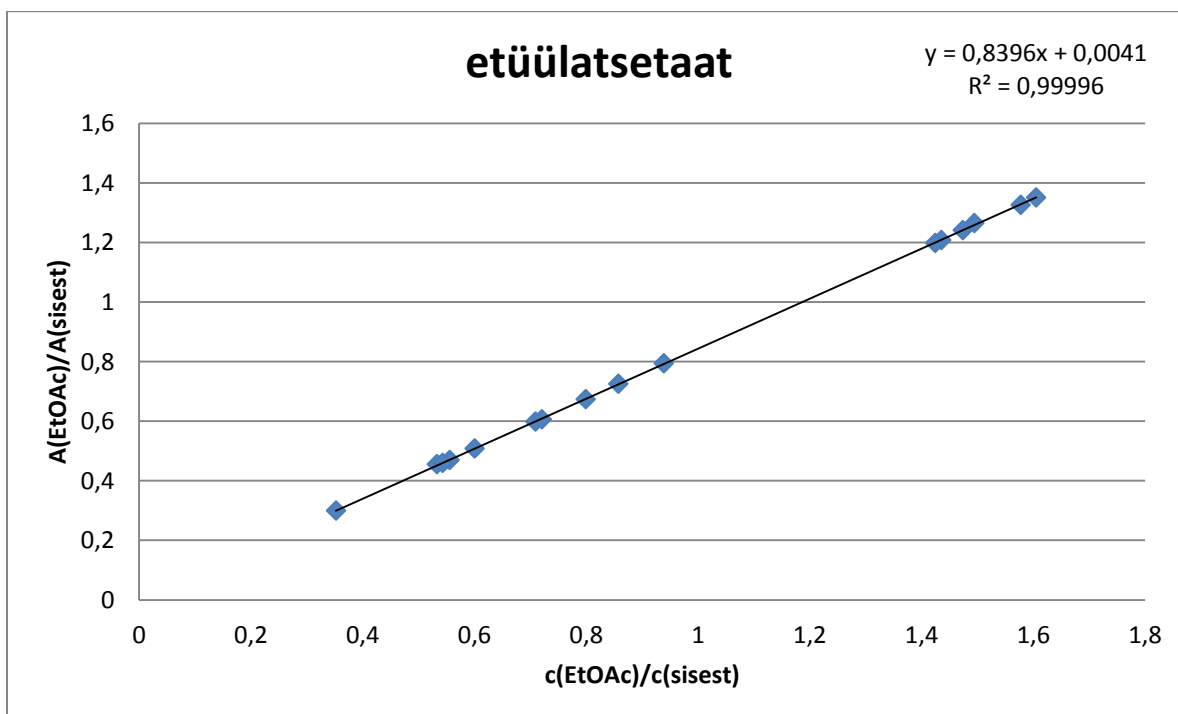
**Joonis 7.** Jääkliikmete analüüs etanooli puhul.



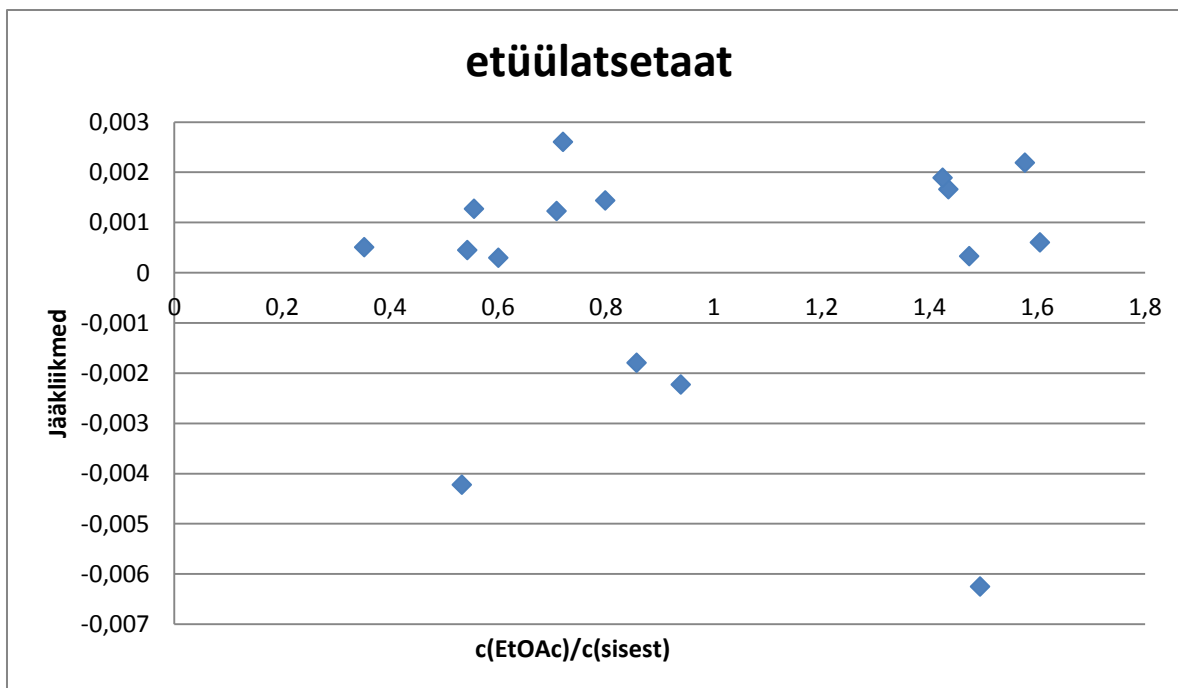
**Joonis 8.** Atsetooni kalibreerimissirge.



**Joonis 9.** Jääkliikmete analüüs atsetooni puhul.



**Joonis 10.** Etüülatsetaadi kalibreerimissirge.



**Joonis 11.** Jääkliikmete analüüs etüülatsetaadi puhul.

#### 4.3 Määramatuse hinnang, tõesus ja täpsus

Kõigile kolmele lahustite segu komponendi analüüsitulemusele koostati määramatuse hinnangud kasutades ISO GUM lähenemist. Mudeli sisendsuuruste määramatuse hinnangud saadi katsetulemustest või eksperthinnangutest. Kasutati konservatiivseid hinnanguid, st pigem ülehinnatud kui liiga madalaid määramatusi.

Määramatuse hinnangu aluseks oli järgnev mudel:

$$\%komp = \frac{C_x \cdot m(\text{proovilahus})}{m(\text{proov})} \cdot y_x \text{kord} \cdot 100\% = \frac{\left( \frac{\bar{S}_x}{S_{sise}} - b \right) \cdot m(\text{sisest})}{a \cdot m(\text{proov})} \cdot y_x \text{kord} \cdot 100\%$$

kus  $\frac{S_x}{S_{sise}}$  on mõõdetud pindalade suhe,  $a$  on kalibreerimisgraafiku tõus,  $b$  on kalibreerimisgraafiku vabaliige,  $m(\text{sisest})$  sisestandardi mass proovilahuses,  $m(\text{proovilahus})$  proovilahuse kogumass,  $m(\text{proov})$  proovi mass proovilahuses,  $y_x \text{kord}$  on pindalade suhte määramise korduvust iseloomustav suurus, mille väärtus on 1 ja määramatus hinnatakse korduskatsetest.

Kui sisendsuurused ja nende määramatuse hinnangud on tarkvarasse sisestatud või tarkvara enda poolt leitud, võib määramatuse arvutuse läbi viia Kragteni maatriksmeetodi abil [20].

Määramatuse arvutamisel võeti arvesse järgnevaid komponente:

- triiv – suhteline määramatus 0,01;
- segajad – segajate all mõeldakse lisandit, mis elueerus sisestandardi lähedal ja mis võis seetõttu mõjutada sisestandardi piigi pindala arvutust. Segajast tingitud absoluutseks määramatuseks hinnati 0,0005 pindalaühikut;
- lenduvus – kuna analüüsitavad ained on lenduvad, siis üheks määramatuse allikaks on kindlasti lahuste valmistamisel esinev ainete lenduvus. Lenduvuse absoluutseks määramatuseks võeti 0,0005 g;
- piikide integreerimisest tingitud standardmääramatus hinnati erinevate kasutajate poolt integreeritud piikide pindalade keskmise standardhälvena – 84,2 pindalaühikut;
- kaalumine – absoluutne määramatus 0,0002 g;
- pindalade suhte korduvuse hinnanguks kasutati piikide pindalade suhte aritmeetilise keskmise standardhälvet;
- standardainete ja sisestandardi puhtuse arvessevõtmisel lähtutu „puhtus mitte vähem kui“ põhimõttest, st kui nt aine deklareeritud puhtus on 99,8%, siis standardmääramatus  $u = \frac{1-0,998}{2\sqrt{3}}$

Kõikidele kalibreerimislahustele arvutati piigi pindalade põhjal massiprotsendiline sisaldus koos laiendmääramatusega (Lisa 4).

Etanoolil oli kõrgeim laiendmääramatus (0,57%) lahuse L4S2 puhul, madalaim laiendmääramatus (0,21%) saavutati lahuste L1S2 ja L1S4 korral. Atsetoonil oli kõrgeim laiendmääramatus (0,98%) lahuste L4S3 ja L1S4 puhul, madalaim (0,73%) aga L3S1 korral. Etüülatsetaadil oli kõrgeim laiendmääramatus (0,83%) lahuste L3S2 ja L3S4 puhul, madalaim aga L4S2 puhul.

Tulemustest on näha, et ei tekkinud tendentsi, kus mingi lahuse laiendmääramatus oleks kõigi komponentide puhul antud valimikust suurem. Sellest võib järeldada, et sisestandardi kontsentratsioon testitud vahemikus ei mõjuta tulemuste mõõtemääramatust. Kõige lihtsam on valmistada sisestandardi lahus suhtes 1:1. Kui määravaks osutub sisestandardi hind, võib valmistada ka madalama kontsentratsiooniga sisestandardi lahused.

Määramatuse hinnanguid võrreldi kirjanduses toodud analoogiliste töödega. Keerulise analüüdi (õlireostus) määramisel mullas saadi laiendmääramatuseks ( $k=2$ ) 9-19% lihtsamate (alifaatsed ühendid) ja 23-32% keerukamate analüütide (aromaatsed ühendid) korral [21]. Need määramatused on oluliselt suuremad käesolevas tööst leitudest, kuna tegemist oli madalate kontsentratsioonide määramisega väga keerulisest maatriksist (muld). Suurimateks määramatuse allikateks olid selles töös ekstraheerimise saagis, kalibreerimisfaktor ja proovi homogeensus [21]. Kuna käesolevas töös olid proovid homogeensed ja proovi ekstraheerimise etapp puudus, siis suurima määramatuse põhjustas proovi ja standardainete lahuste pindalade määramatus.

Jimenez jt [21] hindasid piikide pindalade määramisega seotud määramatusi sama lahuse kordussüstide standardhälbe kaudu ja leidsid, et erinevate ainete korral on suhteline standardmääramatus vahemikus 0,008-0,04. Käesolevas töös lähtuti pindala määramatuse hindamisel teiselt alustelt: kromatograafilisi piike integreerisid üksteisest sõltumatult 4 inimest ja lisaks ka tarkvara automaatne integraator. Tulemuste standardhälbe alusel hinnati suhteliseks standardmääramatuseks 0,008, mis on kirjanduse andmetega kooskõlas.

Tõesuse ja kordustäpsuse hindamiseks kasutati ühte kaalumise teel valmistatud kalibreerimislahustest, mida lahjendati tolueni ja sisestandardi seguga vahekorras 1:1, kuid sisestandardi erinevate kontsentratsioonidega. Tõesus ja kordustäpsus on esitatud tabelis 2.

**Tabel 2.** Lahuse L1 komponentidele leitud tõesus ja täpsus.

L1		etanool	atsetoon	etüülatsetaat
Sisaldus (%)	Massi järgi arvutatud	8,46	51,62	39,48
	Leitud	8,39	51,52	39,40
		8,40	51,36	39,42
		8,40	51,57	39,37
		8,47	51,84	39,67
	Keskmine	8,41	51,57	39,47
Tõesus	Saagis	99,50%	99,91%	99,97%
	Viga (%)	-0,04	-0,05	-0,01
	Suhteline viga	-0,50%	-0,09%	-0,03%
Kordustäpsus	Stdev	0,00035	0,00196	0,00141
	Suhteline stdev	0,42%	0,38%	0,36%

## 5 Kokkuvõte

Töö eesmärgiks oli koostada analüüsimetoodika, mida saaks Tartu Ülikooli Katsekojas kasutada komponentide kvantitatiivseks määramiseks lahustite segudes GC/FID meetodil ning anda hinnang analüüsitulemuste määramatusele.

Töös optimeeriti gaasikromatograafi parameetrid nagu aurusti ja detektori temperatuurid, make-up gaasi voolukiirus jmt. Sisestandardi kontsentratsiooni optimeerimiseks ja mõõtemääramatuse hindamiseks koostati kõigi analüütide jaoks 16 punktist koosnevad kalibreerimissirged.

Määramatuse hindamiseks kasutati Kragteni maatriksmeetodit. Leiti määramatuse allikad, anti neile hinnangud ning loodi mudel, mida saab kasutada kõikide analüüsitulemuste määramatuste hindamiseks. Kõigi komponentide määramisel jäid laienmääramatused ( $k=2$ ) alla 1%, mis on antud rakenduse jaoks igati sobilik. Metoodika valideeriti tõesuse ja kordustäpsuse osas.

Tööd võib tulevikus edasi arendada, uurides rohkem GC parameetreid ning laiendades kalibreerimislahuste kontsentratsioonivahemikku. Lisaks võiks täpsemalt määrata määramatuse allikad ja nende väärtused.

Vajadusel on väljatöötatud lähenemist võimalik kasutada ka teiste solvendisegude analüüsimiseks.

## 6 Summary

Helen Järvpõld

### **Optimization of quantitative gas chromatographic method for analysis of solvent mixtures and estimation of measurement uncertainty.**

Solvents are widely used compounds that surround us. They enable to process, apply, extract and separate different materials. Mixtures of solvents are frequently used to improve their properties and enhance their applicability.

The aim of the thesis was to optimize the analytical method to determine quantitatively the components of solvent mixture (ethanol, acetone, ethyl acetate). This particular thesis is the result of the practical need of the company, who produces these mixtures of solvents. Similar analysis has been performed in Testing Centre of the University of Tartu before, but it didn't present a detailed assessment of uncertainty.

To achieve the goal, the method of gas chromatography was used. Suitable parameters for GC were found and 16 calibration solutions were composed during the experiment. The result of the experiment was a calibration curve for each component, which showed high linearity.

Kragten's matrix was used to estimate the uncertainty. Sources of uncertainty were found, then assessed and a model was prepared, which can be used in all of the samples when estimating the combined uncertainty.

This study can be developed in the future by researching more of GC parameters and widening the concentration range of calibration solutions. It's also possible to check if the method is suitable for analyzing the other mixtures of solvents. In addition to that, it's possible to find out how much the uncertainty would change when using compounds with higher purity.

## 7 Kasutatud kirjandus

1. Flick, E. W. *Industrial Solvents Handbook*, 5th Ed; Noyes Data Corporation: New Jersey, 1998; lk 1-2.
2. Market Study: Solvents (3rd Edition). <http://www.ceresana.com/en/market-studies/chemicals/solvents> viimati alla laetud 11.05.2015.
3. Dewulf, J., Van Langenhove, H., Wittmann, G. Analysis of volatile organic compounds using gas chromatography. *TrAC*. **2002**, 21, 9/10, lk 637-646.
4. EVS-EN ISO 11890-1:2008 – Värvid ja lakid – Lenduvate orgaaniliste ühendite määramine – Osa 1: Diferentseerimismeetod; lk 4-5.
5. McNair, H. M., Miller, J. M. *Basic Gas Chromatography*; A Wiley-Interscience: New York, 1998, lk 11, 14-28, 97-99, 112-119, 134-140.
6. Holler, F. J., Crouch S. R. *Skoog and West`s Fundamentals of Analytical Chemistry*, 9th Ed. Cengage Learning EMEA: Andover, 2014; lk 887-909.
7. <http://www.chromatographer.com/gas-chromatography/> viimati alla laetud 25.05.2015.
8. <http://www.expertsmind.com/topic/concept-of-theoretical-plates/typical-chromatogram-912665.aspx> viimati alla laetud 25.05.2015.
9. Gas chromatography and lipids. [http://lipidlibrary.aocs.org/GC\\_lipid/03\\_theor/index.htm](http://lipidlibrary.aocs.org/GC_lipid/03_theor/index.htm) viimati alla laetud 25.05.2015.
10. Harris, D. C.; *Quantitative Chemical Analysis*; 7th Ed. W. H. Freeman and Company: New York, 2007; pp 528-551.
11. Ettre, L.S. Evolution of Capillary Columns for Gas Chromatography. *LCGC*, **2001**, 19, 48.
12. Sawyer, D. T., Heineman, W. R., Beebe, J. M. *Chemistry Experiments for Instrumental Methods*, John Wiley & Sons: Toronto, 1984; lk 321-327.
13. Lawson, A. E., Miller, J. M. Thermal conductivity detectors in gas chromatography. *J. Chromatog. Sci.*, **1966**, 4, 273.
14. Clement, R. E., Ed. *Gas Chromatography*; A Wiley-Interscience: USA, 1990, lk. 123-127.

15. Matisova, E., Krupcik, J., Cellar, P., Garaj, J. Quantitative analysis of hydrocarbons in gasolines by capillary gas-liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **1984**, *303*, 151-163.
16. Bader, M. A systematic approach to standard addition methods in instrumental analysis. *J. Chem. Educ.* **1980**, *57*, 703.
17. Kvantiseerimine, regressioonanalüüs; <http://tera.chem.ut.ee/~ivo/ak1/Quant.pd> viimati uuendatud 05.09.2014.
18. *Handbook of Chemistry and Physics*, 86th ed.; Lide, D. R., Ed.; CRC Press, United States of America, 2005.
19. Dressler, M., Ciganek, M. Effect of detector temperature of the flame ionization detector response. *J. Chromatogr. A*, **1994**, *679*, 299-305
20. J. Kragten, Calculating standard deviations and confidence intervals with a universally applicable spreadsheet technique. *Analyst*, **1994**, *119*, 2161-2165
21. Jiemenez, O. P., Pastor, R. M., Segovia, O. E. An analytical method for quantifying petroleum hydrocarbon fractions in soils, and its associated uncertainties. *Anal. Methods*, **2014**, *6*, 5527.

## **8 Tänuavaldused**

Töö autor soovib tänada oma juhendajaid dotsent Koit Herodest ja teadur Viljar Pihli. Tänu nende kriitilisele pilgule ja asjakohastele õpetussõnadele on valminud antud bakalaureusetöö. Suured tänud lähevad ka Irja Helmile, kes aitas antud töös välja töötada mudeli määramatuse hindamiseks.

## 9 Lisad

### Lisa 1. Kalibreerimislahused.

KOMPONENTIDE SEGU			
Lahuse tähis	Komponent	m, g	%
L1	EtOH	0,6670	8,46
	Ac	4,0715	51,62
	EtOAc	3,1139	39,48
	Summa	7,8876	
L2	EtOH	0,9675	12,42
	Ac	3,7108	47,65
	EtOAc	3,0584	39,27
	Summa	7,7877	
L3	EtOH	1,1060	14,03
	Ac	3,3253	42,18
	EtOAc	3,3938	43,05
	Summa	7,8834	
L4	EtOH	1,6595	21,51
	Ac	3,9342	50,99
	EtOAc	2,0337	26,36
	Summa	7,7149	
L4`	EtOH	1,6248	20,94
	Ac	3,9747	51,23
	EtOAc	2,0732	26,72
	Summa	7,7584	

SISESTANDARDILAHUSED			
Lahuse tähis	komponent	m, g	%
S1	IS	8,5226	50,2
	tolueen	8,4547	49,8
	Summa	16,9773	
S2	IS	2,1204	24,96
	tolueen	6,3751	75,04
	Summa	8,4955	
S3	IS	3,4431	66,81
	tolueen	1,7105	33,19
	Summa	5,1536	
S4	IS	1,2653	24,78
	tolueen	3,8405	75,22
	Summa	5,1058	

#### KALIBREERIMISLAHUSED (KOMPONENTIDE SEGU + SISESTANDARDI LAHUS 1:1)

	L1S1	L2S1	L3S1	L4S1	L1S2	L2S2	L3S2	L4S2
<b>m(S<sub>x</sub>), g</b>	0,9253	0,9267	0,9209	0,9402	0,9342	0,9394	0,9455	0,9446
<b>m(L<sub>x</sub>), g</b>	0,8343	0,8537	0,8583	0,954	0,8479	0,8505	0,8647	0,8397

	L1S3	L2S3	L3S3	L4S3	L1S4	L2S4	L3S4	L4'S4
<b>m(S<sub>x</sub>), g</b>	0,9245	0,9303	0,9331	0,9413	0,9278	0,9327	0,9378	1,1094
<b>m(L<sub>x</sub>), g</b>	0,8697	0,8598	0,8696	0,8402	0,8703	0,8675	0,8666	0,8822

**Lisa 2.** Mõõdetud proovilahuste piikide pindalad, pindalade suhted ning kontsentratsioonide suhted.

<b>L1S1</b>	A	$A_x/A_s$	keskm( $A_x/A_s$ )	stdev	$c_x/c_s$	<b>L1S2</b>	A	$A_x/A_s$	keskm( $A_x/A_s$ )	stdev	$c_x/c_s$
<b>EtOH</b>	4438,1	0,14489	0,14520	0,00019	0,15189	<b>EtOH</b>	4126,8	0,29267	0,29304	0,00026	0,30751
	4450,6	0,14512					4478	0,29333			
	4650,8	0,14532					4601,8	0,29314			
	4269,8	0,14535					4580,7	0,29315			
	4273,2	0,14530					4372,3	0,29291			
<b>Ac</b>	28191	0,92035	0,92052	0,00059	0,92714	<b>Ac</b>	26114,5	1,85200	1,85334	0,00143	1,87705
	28211,3	0,91990					28326,8	1,85556			
	29453	0,92031					29096,4	1,85346			
	27070,2	0,92149					28962,7	1,85354			
	27073,4	0,92054					27647	1,85213			
<b>EtOAc</b>	18327,4	0,59833	0,59825	0,00025	0,70908	<b>EtOAc</b>	17032,6	1,20793	1,20777	0,00033	1,43558
	18339,5	0,59801					18443	1,20812			
	19137,3	0,59798					18951,8	1,20724			
	17583,8	0,59857					18871,5	1,20773			
	17597,3	0,59834					18029,1	1,20781			
<b>sisest</b>	30630,7					<b>sisest</b>	14100,7				
	30667,7						15265,9				
	32003,2						15698,4				
	29376,4						15625,6				
	29410,3						14927,1				
<b>L2S1</b>	A	$A_x/A_s$	keskm( $A_x/A_s$ )	stdev	$c_x/c_s$	<b>L2S2</b>	A	$A_x/A_s$	keskm( $A_x/A_s$ )	stdev	$c_x/c_s$
<b>EtOH</b>	6786,1	0,21843	0,21827	0,00011	0,22798	<b>EtOH</b>	6668,8	0,43128	0,43136	0,00036	0,45062
	6755,4	0,21822					6617,1	0,43181			
	6934,2	0,21832					6713,3	0,43164			
	6494,8	0,21814					6250,8	0,43104			
	6781,5	0,21826					6434,5	0,43103			
<b>Ac</b>	26931,1	0,86685	0,86582	0,00063	0,87442	<b>Ac</b>	26522,1	1,71522	1,71567	0,00115	1,72840
	26796,6	0,86560					26317,5	1,71740			
	27490,6	0,86551					26692,8	1,71625			
	25781,4	0,86594					24866,6	1,71473			
	26883,1	0,86522					25598	1,71473			
<b>EtOAc</b>	18855	0,60690	0,60661	0,00021	0,72069	<b>EtOAc</b>	18522,3	1,19786	1,19826	0,00027	1,42456
	18776,6	0,60653					18366,8	1,19856			
	19260,6	0,60640					18637,2	1,19830			
	18065,1	0,60676					17379,3	1,19842			
	18843,6	0,60647					17886,4	1,19815			
<b>sisest</b>	31067,9					<b>sisest</b>	15462,8				
	30957,2						15324				
	31762,3						15553				
	29772,9						14501,8				
	31070,7						14928,3				

<b>L3S1</b>	A	$A_x/A_s$	keskm( $A_x/A_s$ )	stdev	$c_x/c_s$	<b>L3S2</b>	A	$A_x/A_s$	keskm( $A_x/A_s$ )	stdev	$c_x/c_s$
<b>EtOH</b>	7532	0,25047	0,25041	0,00015	0,26047	<b>EtOH</b>	7502,2	0,49349	0,49342	0,00028	0,51404
	7831	0,25060					7289,6	0,49326			
	7230,6	0,25034					7176,8	0,49330			
	7720,3	0,25044					7439,7	0,49316			
	7400,4	0,25019					7464,3	0,49388			
<b>Ac</b>	23424,2	0,77894	0,77887	0,00030	0,78314	<b>Ac</b>	23304,6	1,53297	1,53220	0,00055	1,54555
	24345,6	0,77909					22646,5	1,53242			
	22499,7	0,77898					22292	1,53224			
	24013,9	0,77898					23104,6	1,53154			
	23022,7	0,77835					23151,6	1,53183			
<b>EtOAc</b>	20258,8	0,67368	0,67376	0,00015	0,79927	<b>EtOAc</b>	20162,6	1,32629	1,32630	0,00023	1,57739
	21052,5	0,67370					19602,3	1,32642			
	19468,3	0,67403					19298,8	1,32651			
	20768,5	0,67370					20002,6	1,32591			
	19926,7	0,67368					20046,3	1,32637			
<b>sisest</b>	30071,8					<b>sisest</b>	15202,3				
	31248,9						14778,3				
	28883,6						14548,6				
	30827,3						15085,9				
	29579						15113,7				

<b>L4S1</b>	A	$A_x/A_s$	keskm( $A_x/A_s$ )	stdev	$c_x/c_s$	<b>L4S2</b>	A	$A_x/A_s$	keskm( $A_x/A_s$ )	stdev	$c_x/c_s$
<b>EtOH</b>	12481	0,42042	0,42031	0,00014	0,43478	<b>EtOH</b>	11213,1	0,73243	0,73296	0,00046	0,76609
	12098,1	0,42046					11174,1	0,73350			
	11871,1	0,42031					10857,5	0,73263			
	12492,1	0,42009					11237,8	0,73335			
	11972,2	0,42027					10959,1	0,73288			
<b>Ac</b>	30695,7	1,03397	1,03350	0,00064	1,03074	<b>Ac</b>	27601,2	1,80289	1,80439	0,00128	1,81620
	29751,5	1,03399					27514,1	1,80611			
	29198,1	1,03378					26740,1	1,80434			
	30702,4	1,03248					27661,5	1,80512			
	29435	1,03329					26968,1	1,80348			
<b>EtOAc</b>	13530,8	0,45578	0,45571	0,00011	0,53282	<b>EtOAc</b>	12163,8	0,79453	0,79461	0,00016	0,93885
	13113,2	0,45574					12108,8	0,79486			
	12873,3	0,45579					11775,4	0,79457			
	13545,9	0,45553					12176,9	0,79463			
	12981,8	0,45572					11879,6	0,79444			
<b>sisest</b>	29687,3					<b>sisest</b>	15309,4				
	28773,4						15233,9				
	28244						14819,9				
	29736,7						15323,9				
	28486,6						14953,4				

<b>L1S3</b>	A	$A_x/A_s$	keskm( $A_x/A_s$ )	stdev	$c_x/c_s$	<b>L1S4</b>	A	$A_x/A_s$	keskm( $A_x/A_s$ )	stdev	$c_x/c_s$
<b>EtOH</b>	4612,2	0,11419	0,11413	0,00007	0,11907	<b>EtOH</b>	4622,4	0,30665	0,30760	0,00055	0,32010
	4741,5	0,11422					4676,9	0,30773			
	4561,7	0,11411					4546,8	0,30774			
	4729	0,11412					4590,1	0,30801			
	4479,2	0,11403					4671,3	0,30790			
<b>Ac</b>	29233,7	0,72375	0,72329	0,00042	0,72683	<b>Ac</b>	29258,6	1,94098	1,94672	0,00325	1,95386
	30043,1	0,72371					29596,5	1,94739			
	28911,5	0,72321					28783,4	1,94812			
	29959,1	0,72295					29044,3	1,94895			
	28394	0,72283					29555,8	1,94814			
<b>EtOAc</b>	18972,4	0,46971	0,46958	0,00011	0,55588	<b>EtOAc</b>	19054,1	1,26403	1,26500	0,00063	1,49432
	19494,5	0,46961					19224,0	1,26490			
	18774,5	0,46964					18697,1	1,26546			
	19453,5	0,46944					18861,2	1,26564			
	18442,9	0,46951					19191,4	1,26498			
<b>sisest</b>	40392,1					<b>sisest</b>	15074,1				
	41512,5						15198,0				
	39976,6						14775,0				
	41440,2						14902,5				
	39281,5						15171,3				

<b>L2S3</b>	A	$A_x/A_s$	keskm( $A_x/A_s$ )	stdev	$c_x/c_s$	<b>L2S4</b>	A	$A_x/A_s$	keskm( $A_x/A_s$ )	stdev	$c_x/c_s$
<b>EtOH</b>	7029,9	0,16544	0,16590	0,00026	0,17186	<b>EtOH</b>	6117,7	0,44594	0,44691	0,00127	0,46626
	7006,1	0,16601					6255,8	0,44652			
	6991,1	0,16608					6493,6	0,44611			
	6445,2	0,16599					6180,2	0,44691			
	6769,7	0,16597					7271,1	0,44908			
<b>Ac</b>	27940,4	0,65753	0,65804	0,00031	0,65916	<b>Ac</b>	24347,8	1,77478	1,77687	0,00339	1,78836
	27774,7	0,65811					24882,7	1,77607			
	27705,4	0,65818					25814,7	1,77345			
	25563,5	0,65837					24585,8	1,77790			
	26838,5	0,65800					28855,7	1,78218			
<b>EtOAc</b>	19533,6	0,45969	0,45981	0,00012	0,54328	<b>EtOAc</b>	17028,4	1,24125	1,24132	0,00049	1,47395
	19402,1	0,45973					17388,9	1,24118			
	19356,7	0,45984					18058,9	1,24063			
	17860,8	0,45999					17169,3	1,24158			
	18754,8	0,45981					20108,7	1,24195			
<b>sisest</b>	42492,8					<b>sisest</b>	13718,8				
	42203,5						14010,0				
	42094,2						14556,2				
	38828,6						13828,6				
	40788,1						16191,2				

<b>L3S3</b>	A	$A_x/A_s$	keskm( $A_x/A_s$ )	stdev	$c_x/c_s$	<b>L3S4</b>	A	$A_x/A_s$	keskm( $A_x/A_s$ )	stdev	$c_x/c_s$
<b>EtOH</b>	7800,2	0,18904	0,18923	0,00033	0,19570	<b>EtOH</b>	7319,4	0,50259	0,50262	0,00051	0,52313
	7397,5	0,18910					7463,8	0,50213			
	7321,1	0,18893					8000,4	0,50212			
	7804,1	0,18931					7715,1	0,50303			
	7722,1	0,18977					7674,6	0,50324			
<b>Ac</b>	24218,6	0,58694	0,58773	0,00086	0,58840	<b>Ac</b>	22762,4	1,56298	1,56216	0,00211	1,57288
	22980,1	0,58744					23200,7	1,56082			
	22755,1	0,58721					24842,7	1,55916			
	24237,2	0,58794					23984,1	1,56378			
	23971,9	0,58911					23852,9	1,56407			
<b>EtOAc</b>	20952	0,50777	0,50803	0,00021	0,60052	<b>EtOAc</b>	19669,8	1,35062	1,35131	0,00062	1,60528
	19872,6	0,50801					20085,7	1,35126			
	19688	0,50806					21522,9	1,35080			
	20939,9	0,50796					20733,1	1,35181			
	20685,5	0,50835					20619,6	1,35206			
<b>sisest</b>	41262,6					<b>sisest</b>	14563,5				
	39118,8						14864,4				
	38751,1						15933,4				
	41223,6						15337,3				
	40691,7						15250,5				

<b>L4S3</b>	A	$A_x/A_s$	keskm( $A_x/A_s$ )	stdev	$c_x/c_s$	<b>L4'S4</b>	A	$A_x/A_s$	keskm( $A_x/A_s$ )	stdev	$c_x/c_s$
<b>EtOH</b>	11349,8	0,27595	0,27635	0,00026	0,28738	<b>EtOH</b>	10000,2	0,64213	0,64296	0,00072	0,67201
	11200,6	0,27667					9267,0	0,64267			
	11385,8	0,27642					10932,1	0,64277			
	10773,5	0,27631					10375,4	0,64406			
	11258,8	0,27640					10095,8	0,64319			
<b>Ac</b>	27867,4	0,67754	0,67871	0,00083	0,68131	<b>Ac</b>	25299,0	1,62448	1,62695	0,00195	1,64392
	27524,2	0,67988					23486,7	1,62882			
	27962,5	0,67887					27642,1	1,62526			
	26461,4	0,67865					26232,5	1,62841			
	27641,8	0,67861					25550,2	1,62776			
<b>EtOAc</b>	12304,9	0,29917	0,29932	0,00011	0,35219	<b>EtOAc</b>	11295,9	0,72532	0,72585	0,00036	0,85747
	12123,8	0,29947					10472,5	0,72627			
	12329,3	0,29933					12342,0	0,72567			
	11672,8	0,29937					11695,6	0,72602			
	12189,8	0,29926					11395,2	0,72597			
<b>sisest</b>	41130					<b>sisest</b>	15573,6				
	40484,1						14419,5				
	41190						17007,8				
	38991,3						16109,3				
	40733						15696,5				

### Lisa 3. Kalibreerimisgraafikute andmed

etanool	$m_{\text{EtOH}}/m_{\text{side}}$	$A_{\text{EtOH}}/A_{\text{side}}$
L1S1	0,15189	0,145196
L2S1	0,227978	0,218273
L3S1	0,260467	0,250406
L4S1	0,434776	0,420309
L1S2	0,307511	0,29304
L2S2	0,450625	0,431359
L3S2	0,514037	0,493417
L4S2	0,766087	0,73296
L1S3	0,119074	0,114132
L2S3	0,171856	0,165898
L3S3	0,195696	0,18923
L4S3	0,28738	0,27635
L1S4	0,320095	0,307605
L2S4	0,466259	0,446911
L3S4	0,523128	0,502618
L4S4	0,672013	0,642963

atsetoon	$m_{\text{Ac}}/m_{\text{side}}$	$A_{\text{Ac}}/A_{\text{side}}$
L1S1	0,927141	0,920521
L2S1	0,874422	0,865823
L3S1	0,783142	0,778867
L4S1	1,030744	1,033502
L1S2	1,87705	1,85334
L2S2	1,728398	1,715665
L3S2	1,545549	1,532198
L4S2	1,816201	1,804387
L1S3	0,726831	0,72329
L2S3	0,659165	0,658038
L3S3	0,588396	0,58773
L4S3	0,681305	0,678709
L1S4	1,953865	1,946718
L2S4	1,788365	1,776875
L3S4	1,572882	1,562161
L4S4	1,643923	1,626945

slope	0,956864	0,000935	intercept
se(slope)	0,001793	0,000735	se(intercept)
R <sup>2</sup>	0,999951	0,001315	se(y)
F	284732,1	14	df
ss reg	0,492274	2,42E-05	ss resid

slope	0,989885	0,00448	intercept
se(slope)	0,002277	0,00309	se(intercept)
R <sup>2</sup>	0,999926	0,004536	se(y)
F	188957,2	14	df
ss reg	3,887642	0,000288	ss resid

etüülatsetaat	$m_{\text{EtOAc}}/m_{\text{side}}$	$A_{\text{EtOAc}}/A_{\text{side}}$
L1S1	0,709081	0,598246
L2S1	0,720689	0,606613
L3S1	0,799274	0,673759
L4S1	0,532821	0,45571
L1S2	1,435576	1,207765
L2S2	1,424526	1,198261
L3S2	1,577387	1,326299
L4S2	0,938846	0,794607
L1S3	0,555883	0,469578
L2S3	0,543276	0,459813
L3S3	0,600517	0,508029
L4S3	0,352186	0,29932
L1S4	1,494324	1,265002
L2S4	1,47395	1,241318
L3S4	1,605282	1,351312
L4S4	0,857469	0,72585

slope	0,839589	0,004137	intercept
se(slope)	0,001467	0,001565	se(intercept)
R <sup>2</sup>	0,999957	0,002524	se(y)
F	327494,5	14	df
ss reg	2,086559	8,92E-05	ss resid

**Lisa 4.** Kalibreerimissirge järgi arvutatud komponentide sisaldused lahuses koos laiendmääramatusega ( $k=2$ ) ning suhtelise määramatusega.

#### Etanool

Lahuse tähis	Komponendi sisaldus $\pm$ laiendmääramatus	Suhteline määramatus (%)
L1S1	8,39 $\pm$ 0,33	4
L1S2	8,40 $\pm$ 0,21	2,5
L1S3	8,40 $\pm$ 0,45	5,4
L1S4	8,47 $\pm$ 0,21	2,4
L2S1	12,38 $\pm$ 0,29	2,3
L2S2	12,40 $\pm$ 0,29	2,3
L2S3	12,46 $\pm$ 0,39	3,1
L2S4	12,42 $\pm$ 0,30	2,4
L3S1	14,04 $\pm$ 0,29	2,1
L3S2	14,05 $\pm$ 0,34	2,4
L3S3	14,11 $\pm$ 0,37	2,6
L3S4	14,06 $\pm$ 0,34	2,4
L4S1	21,68 $\pm$ 0,44	2
L4S2	21,48 $\pm$ 0,57	2,6
L4S3	21,54 $\pm$ 0,40	1,8
L4S4	20,91 $\pm$ 0,53	2,5

#### Atsetoon

Lahuse tähis	Komponendi sisaldus $\pm$ laiendmääramatus (%)	Suhteline määramatus (%)
L1S1	51,52 $\pm$ 0,82	1,6
L1S2	51,36 $\pm$ 0,95	1,8
L1S3	51,57 $\pm$ 0,94	1,8
L1S4	51,84 $\pm$ 0,98	1,9
L2S1	47,42 $\pm$ 0,77	1,6
L2S2	47,66 $\pm$ 0,87	1,8
L2S3	47,73 $\pm$ 0,95	2
L2S4	47,71 $\pm$ 0,88	1,8
L3S1	42,14 $\pm$ 0,73	1,7
L3S2	42,12 $\pm$ 0,75	1,8
L3S3	42,24 $\pm$ 0,96	2,3
L3S4	42,20 $\pm$ 0,75	1,8
L4S1	51,43 $\pm$ 0,80	1,6
L4S2	51,05 $\pm$ 0,94	1,8
L4S3	50,98 $\pm$ 0,98	1,9
L4S4	51,08 $\pm$ 0,91	1,8

#### Etüülatsetaat

Lahuse tähis	Komponendi sisaldus $\pm$ laiendmääramatus	Suhteline määramatus (%)
L1S1	39,40 $\pm$ 0,64	1,6
L1S2	39,42 $\pm$ 0,74	1,9
L1S3	39,37 $\pm$ 0,72	1,8
L1S4	39,67 $\pm$ 0,75	1,9
L2S1	39,10 $\pm$ 0,63	1,6
L2S2	39,21 $\pm$ 0,72	1,9
L2S3	39,23 $\pm$ 0,73	1,9
L2S4	39,26 $\pm$ 0,75	1,9
L3S1	42,97 $\pm$ 0,78	1,6
L3S2	42,98 $\pm$ 0,83	1,9
L3S3	43,02 $\pm$ 0,74	1,7
L3S4	43,03 $\pm$ 0,83	1,9
L4S1	26,61 $\pm$ 0,51	1,9
L4S2	26,44 $\pm$ 0,47	1,8
L4S3	26,32 $\pm$ 0,81	3,1
L4S4	26,79 $\pm$ 0,47	1,7

## **Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks**

Mina, Helen Järvpõld,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose  
**Solventide segu kvantitatiivse gaasikromatograafilise analüüsi meetodika optimeerimine  
ja mõõtemääramatuse hindamine,**

mille juhendajad on Koit Herodes ja Viljar Pihl,

- 1.1.reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
- 1.2.üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, **28.05.2015**