

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΩΝ
ΜΟΝΟΤΕΡΠΕΝΙΩΝ ΣΤΗΝ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑ

ΠΑΚΙΟΥΦΑΚΗ ΒΑΣΙΛΕΙΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: Ν. ΜΙΧΑΛΟΠΟΥΛΟΣ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2010

**Μέθοδος προσδιορισμού των μονοτερπενίων
στην ατμόσφαιρα**

**Determination of monoterpenes
in the atmosphere**

Εξεταστική Επιτροπή

- **Μιχαλόπουλος Νικόλαος**
Καθηγητής του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης
Επιβλέπων Καθηγητής

- **Στεφάνου Ευριπίδης**
Καθηγητής του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης

- **Περγαντής Σπύρος**
Αναπληρωτής Καθηγητής του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης

Περίληψη

Τα τερπένια αποτελούν την μεγαλύτερη ομάδα δευτερογενών μεταβολιτών και είναι οργανικές ενώσεις βιογενούς κυρίως προέλευσης. Οι ενώσεις αυτές μπορούν, ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις, να παίζουν σημαντικό ρόλο στην ατμοσφαιρική χημεία τόσο σε τοπικό όσο και σε παγκόσμιο επίπεδο, καθώς αντιδρούν ταχύτατα με τις ρίζες υδροξυλίου και το όζον και παράγουν, μεταξύ άλλων, μονοξειδίο του άνθρακα, συμβάλλοντας άμεσα στην οξειδωτική ικανότητα της ατμόσφαιρας. Έχουν ακόμη, θεωρηθεί ως σημαντικά πρόδρομες ουσίες σχηματισμού του φωτοχημικού όζοντος και των δευτερογενών οργανικών αερολυμάτων (SOA).

Στην παρούσα διατριβή, παρουσιάζεται μια αναλυτική τεχνική για τον προσδιορισμό των τερπενίων και συγκεκριμένα των μονοτερπενίων στην ατμόσφαιρα. Σε αυτή την μέθοδο οι τερπενοειδείς ενώσεις του ατμοσφαιρικού αέρα, παγιδεύονται σε ειδικές στήλες δειγματοληψίας πληρωμένες με κατάλληλο προσροφητικό (Tenax TA). Η ανάλυση των στηλών δειγματοληψίας γίνεται με την μέθοδο της θεμικής εκρόφησης, ενώ ο διαχωρισμός και η ποσοτική ανάλυση των ενώσεων πραγματοποιείται με την μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας GC και η ανίχνευση τους πραγματοποιείται με τον ανιχνευτή ιοντισμού φλόγας FID.

Κατά την διάρκεια της μελέτης, εκτελέστηκαν διάφορες πειραματικές δοκιμές στην λειτουργία του οργάνου και παρουσιάζονται οι παράμετροι ώστε να επιτευχθεί ο καλύτερος διαχωρισμός των ενώσεων αυτών. Επίσης μελετήθηκαν και παρουσιάζονται οι παράμετροι που ελέγχουν την αξιοπιστία της συγκεκριμένης μεθόδου προσδιορισμού όπως είναι η σταθερότητα των δειγμάτων και των προτύπων διαλυμάτων, η επαναληψιμότητα καθώς και το όριο ανίχνευσης της τεχνικής.

Abstract

The terpenes are the largest group of secondary metabolites and they are organic compounds mainly of biogenic origin. These compounds can, even at low concentrations, play an important role in atmospheric chemistry, both locally and globally, as they rapidly react with hydroxyl radicals and ozone, influencing thus the oxidation capacity of the atmosphere. In addition they contribute to photochemical ozone formation and secondary organic aerosols (SOA) production.

In this study, we present an analytical technique for the determination of terpenes namely monoterpenes in the atmosphere. In this method air is trapped in specific columns filled with a suitable sampling adsorbent (Tenax TA). The analysis of the columns is done by thermal desorption, while the separation and quantitative analysis of the compounds was carried out by gas chromatography (GC) equipped with Flame Photometric Detector (FID).

Various experiments were carried during the study to select the optimum parameters to achieve better separation of these compounds. Also parameters that control the reliability of this method, stability of samples and standard solutions, repeatability and detection limit of the technique were also examined.

Ευχαριστίες

Η παρούσα διατριβή πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Περιβαλλοντικών Χημικών Διεργασιών του τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης, υπό την επίβλεψη του καθηγητή κ. Νικολάου Μιχαλόπουλου, τον οποίο θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά για την ανάθεση της εργασίας αυτής καθώς και για την καθοδήγηση για την περάτωση της.

Ευχαριστώ επίσης, τους καθηγητές κ. Ευριπίδη Στεφάνου και κ. Σπύρο Περγαντή, οι οποίοι δέχτηκαν να συμμετάσχουν στην τριμελή εξεταστική μου επιτροπή.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Δρ. Αντώνη Κουβαράκη, την Δρ. Αικατερίνη Μπουγιατιώτη, τον Δρ. Nuredine Yassa και τον Δρ. Γεώργιο Κουβαράκη για τις χρήσιμες συμβουλές τους και την βοήθεια τους κατά την εκμάθηση των επιστημονικών οργάνων.

Ακόμη, ευχαριστώ όλους τους συναδέλφους του εργαστηρίου μου, που μοιραστήκαμε τον ίδιο εργαστηριακό χώρο, για την βοήθεια τους καθώς και για το ευχάριστο κλίμα συνεργασίας καθ'όλη την διάρκεια της παρούσας εργασίας. Ευχαριστώ επίσης τους συναδέλφους από το εργαστήριο του κ. Στεφάνου για τις πολύτιμες συμβουλές και την βοήθεια τους.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την οικογένεια μου αλλά και τον αρραβωνιαστικό μου για την ενθάρρυνση, την ηθική υποστήριξη και συμπαράσταση που μου παρείχαν καθ'όλη την διάρκεια των σπουδών μου.

*ΑΦΙΕΡΩΜΕΝΟ ΣΤΗΝ
ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ ΜΟΥ*

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ	2
1.1. Ατμοσφαιρικοί Ρύπανση	2
1.2. Πτητικές Οργανικές Ενώσεις (VOC's)	4
1.3. Πηγές Εκπομπής Πτητικών Οργανικών Ενώσεων (VOC's)	5
1.4. Βιογενείς Οργανικές Πτητικές Ενώσεις (BVOC's)	7
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΤΕΡΠΕΝΟΕΙΔΗ	8
2.1. Τερπενοειδή	8
2.2. Ιστορική Αναδρομή της Προέλευσης των Τερπενοειδών Ενώσεων	9
2.3. Ταξινόμηση των Τερπενοειδών	10
2.4. Μηχανισμός Σχηματισμού - Βιοσύνθεση των Τερπενοειδών Ενώσεων	14
2.5. Πτητικές Οργανικές Ενώσεις (VOC's) στην Ατμόσφαιρα	16
2.5.1. Χρόνος Παραμονής των VOC's στην Τροπόσφαιρα	16
2.5.2. Μηχανισμοί Απομάκρυνσης των Τερπενοειδών από την Τροπόσφαιρα	18
2.5.3. Τροποσφαιρική Χημεία των Πτητικών Οργανικών Ενώσεων	19
2.5.3.1. Σχηματισμός Ριζών Υδροξυλίου στην Ατμόσφαιρα	19
2.5.3.2. Σχηματισμός Νιτρικών Ριζών στην Ατμόσφαιρα	19
2.5.3.3. Αντιδράσεις των Τερπενίων με τις Ρίζες Υδροξυλίου	20
2.5.3.4. Αντιδράσεις των Τερπενίων με το Όζον	22
2.5.3.5. Αντιδράσεις των Τερπενίων με τις Νιτρικές Ρίζες	24
2.6. Επιπτώσεις της Παρουσίας των Τερπενοειδών στην Ατμόσφαιρα	26
2.7. Επιπτώσεις της Παρουσίας των Τερπενοειδών στην Ανθρώπινη Υγεία	28
2.8. Μετρήσεις των Βιογενών Πτητικών Οργανικών Ενώσεων (BVOC's) στην περιοχή της Μεσογείου και κυρίως στην Ελλάδα	29
2.9. Μέθοδοι Δειγματοληψίας των Βιογενών Πτητικών Οργανικών Ενώσεων	33
2.10. Αναλυτικές Μέθοδοι Προσδιορισμού των Βιογενών Πτητικών Οργανικών Ενώσεων στην Ατμόσφαιρα	36
2.11. Σκοπός της Παρούσας Μελέτης	39

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ & ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ	42
3.1. Εισαγωγή	42
3.2. Προετοιμασία των Στηλών Δειγματοληψίας (cartridges)	44
3.3. Οργανολογία της Μεθόδου Προσδιορισμού των Μονοτερπενίων	47
3.3.1. Δειγματοληψία και Δειγματοληπτικός Εξοπλισμός	47
3.3.1.1. Συνθήκες Δειγματοληψίας	50
3.3.2. Αναλυτική Μέθοδος	51
3.3.3. Σύστημα Θερμικής Εκρόφησης (Thermal Desorber)	54
3.3.3.1. Σύστημα Παροχής Αερίων - Θερμαινόμενη Βαλβίδα	55
3.3.3.2. Σύστημα Εισαγωγής του Δείγματος	55
3.3.3.3. Κρυοπαγίδα	56
3.3.3.4. Γραμμή Μεταφοράς του Δείγματος	56
3.3.3.5. Ρυθμιστές Ροής και Πίεσης	56
3.3.3.6. Οθόνη Αφής	58
3.3.4. Αέριος Χρωματογράφος-Στήλη Διαχωρισμού	60
3.3.5. Σύστημα Ανίχνευσης	60
3.3.6. Καταγραφικό	60
3.4. Επιλογή των Κατάλληλων Συνθηκών για την Ανάλυση	62
3.5. Συνθήκες Ανάλυσης	68
3.6. Ποιοτική και Ποσοτική Ανάλυση των Δειγμάτων	70
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΔΙΑΣΦΑΛΙΣΗ-ΕΛΕΓΧΟΣ της ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ της ΜΕΘΟΔΟΥ	
4.1. Εισαγωγή	73
4.1.1. Αποδοτικότητα της στήλης (Efficiency)	73
4.1.2. Πιστότητα (Precision)	75
4.1.3. Ευαισθησία της Αναλυτικής Μεθόδου	78
4.1.3.1. Σταθερότητα του Σήματος του Ανιχνευτή	78
4.1.3.2. Γραμμικότητα στις Καμπύλες Αναφοράς	79
4.1.4. Διαχωριστική Ικανότητα (Resolution)	81
4.1.5. Όριο Ανίχνευσης και Όριο Ποσοτικοποίησης	84
4.2. Παρεμποδίσεις κατά την Ανάλυση	85
4.2.1. Εξέταση της Συντήρησης των Προτύπων Διαλυμάτων	86
4.2.2. Εξέταση της Παρεμπόδισης του Όζοντος στην Ανάλυση	89

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΕΦΑΡΜΟΓΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	91
5.1. Εφαρμογή της Μεθόδου	91
5.2. Μελλοντική Εργασία	94
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	96
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι: Προσροφητικά Υλικά	104
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ: Πεδία Θερμικού Εκροφητή	106
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ: Διαδικασία Εισαγωγής των Προτύπων στους Σωλήνες Δειγματοληψίας	111
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙV: Οδηγός για την Χρήση των Προσροφητικών	113

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στο κεφάλαιο 1 γίνεται μία μικρή εισαγωγή για την ατμοσφαιρική ρύπανση και την ομάδα των πτητικών οργανικών ενώσεων (VOC's). Στην αρχή, γίνεται μία σύντομη περιγραφή των ενώσεων αυτών. Έπειτα, αναφέρονται οι πηγές τους και ο τρόπος εκπομπής τους στην ατμόσφαιρα. Τέλος, περιγράφονται οι βιογενείς πτητικές οργανικές ενώσεις (BVOC's).

1.1. Ατμοσφαιρική Ρύπανση

Ατμοσφαιρική ρύπανση καλείται η παρουσία στην ατμόσφαιρα ρύπων, δηλαδή κάθε είδους ουσιών, θορύβου, ακτινοβολίας ή άλλων μορφών ενέργειας σε ποσότητα, συγκέντρωση ή διάρκεια που μπορούν να προκαλέσουν αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία, στους ζωντανούς οργανισμούς και στα οικοσυστήματα. Γενικά, μπορούν να καταστήσουν το περιβάλλον ακατάλληλο, για τις επιθυμητές χρήσεις του. Κάτω από ορισμένες συνθήκες, η ατμοσφαιρική ρύπανση μπορεί να φτάσει σε τέτοια επίπεδα, ώστε να δημιουργηθούν ανεπιθύμητες συνθήκες διαβίωσης. Τυπική περίπτωση ατμοσφαιρικής ρύπανσης είναι το "Νέφος". Το "Νέφος" παρουσιάζεται με δύο μορφές:

Νέφος Καπνομίχλης: Σχηματίζεται, όταν έχουμε υψηλή συγκέντρωση ρύπων, όπως το διοξείδιο του θείου και τα αιωρούμενα σωματίδια, σε συνδυασμό με σχετικά χαμηλή θερμοκρασία και μεγάλη σχετική υγρασία.

Φωτοχημικό Νέφος: Παρουσιάζεται, όταν έχουμε υψηλές θερμοκρασίες, μεγάλη ηλιοφάνεια, μικρή σχετική υγρασία και υψηλή συγκέντρωση οξειδίων του αζώτου, υδρογονανθράκων, μονοξειδίου του άνθρακα και δευτερογενών προϊόντων τους.

Οι κυριότεροι ατμοσφαιρικοί ρύποι δίνονται στον παρακάτω πίνακα 1:

Μονοξείδιο του Άνθρακα (CO)	Μεθάνιο (CH ₄)
Μόλυβδος (Pb)	Οξείδια του Θείου (SO _x)
Διοξείδιο του Αζώτου, Οξείδια του Αζώτου (NO ₂ , NO _x)	Αιωρούμενα Σωματίδια (TSP, PM ₁₀ , PM _{2.5})
Όζον (O ₃)	Υπερφθορουδρογονάνθρακες (PFC's)
Διοξείδιο του Άνθρακα (CO ₂)	Πτητικές Οργανικές Ενώσεις (VOC's)
Χλωροφθοράνθρακες (CFC's)	Φθοριωμένοι Υδρογονάνθρακες (HFC's)

Πίνακας 1. Κυριότεροι ατμοσφαιρικοί ρύποι (Σκουληκάρη, 2009)

Οι ατμοσφαιρικοί ρύποι ανάλογα με τον τρόπο παραγωγής τους, διακρίνονται σε πρωτογενείς και δευτερογενείς. Πρωτογενείς, ονομάζονται οι ρύποι που σχηματίζονται στις πηγές ρύπανσης και εκπέμπονται απευθείας στην ατμόσφαιρα. Τέτοιοι είναι κυρίως τα οξείδια του θείου, οι υδρογονάνθρακες, τα οξείδια του αζώτου, ο μόλυβδος και τα αιωρούμενα σωματίδια.

Μόλις οι πρωτογενείς ρύποι βρεθούν στην ατμόσφαιρα, υπόκεινται σε διασπορά και μεταφορά και ταυτόχρονα σε χημικούς και φυσικούς μετασχηματισμούς που οδηγούν σε αέριους και σωματιδιακούς δευτερογενείς ρύπους. Δευτερογενείς λοιπόν ρύποι, καλούνται όσοι σχηματίζονται στην ατμόσφαιρα από τους πρωτογενείς, μέσω χημικών αντιδράσεων. Οι δευτερογενείς ρύποι παράγονται από πολύπλοκες αντιδράσεις μεταξύ οξειδίων του αζώτου, οξυγόνου και υδρογονανθράκων με την επίδραση του ηλιακού φωτός. Τέτοιοι ρύποι είναι το όζον, τα οξείδια του αζώτου, διάφορες αλδεΐδες και κετόνες και τα νιτρικά υπεροξυακετύλια (PAN).

Οι πηγές εκπομπής των ρύπων χωρίζονται σε δύο κύριες κατηγορίες: τις φυσικές πηγές (έδαφος, ηφαίστεια, πυρκαγιές και ωκεανοί) και τις ανθρωπογενείς (βιομηχανίες, αυτοκίνητα κ.α.).

Τόσο οι πρωτογενείς όσο και οι δευτερογενείς ρύποι απομακρύνονται από την ατμόσφαιρα μέσω της υγρής και της ξηρής εναπόθεσης πάνω στην επιφάνεια της γης. Μέσα από διεργασίες μεταφοράς, μετασχηματισμού και εναπόθεσης μπορούν να επηρεάσουν πλήθος αποδεκτών συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπων, ζώων, υδατικών οικοσυστημάτων, δασών και υλικών.

Τέλος, κάθε ρύπος χαρακτηρίζεται από το χρόνο παραμονής του στην ατμόσφαιρα ή την ημιπερίοδο ζωής του, η οποία εξαρτάται από τον ρυθμό παραγωγής ή καταστροφής του και από την συνολική κατά μέσο όρο μάζα του στην ατμόσφαιρα.

1.2. Πτητικές Οργανικές Ενώσεις (Volatile Organic Compounds)

Οι πτητικές οργανικές ενώσεις (VOC's) αποτελούν μια από τις σημαντικότερες τάξεις αέριων ρύπων, που απαντώνται συχνά στην ατμόσφαιρα, σε διάφορες συγκεντρώσεις, αστικών και βιομηχανικών περιοχών. Υπάρχουν εκατοντάδες ενώσεων που υπάγονται σε αυτήν την κατηγορία όπως οι υδρογονάνθρακες (ισοπρένιο, μονοτερπένια κλπ), οξυγονούχες (μεθανόλη, ακετόνη, ακεταλδεΐδη), αλογονομένες και οργανικές νιτρικές ενώσεις, αρωματικές ενώσεις κ.α..

Σύμφωνα με τον ορισμό που δίνει η Αμερικάνικη Υπηρεσία Περιβάλλοντος (EPA) ως πτητικές οργανικές ενώσεις θεωρούνται οι ενώσεις εκείνες, που στο μόριο τους περιέχουν άτομα άνθρακα και εμφανίζουν τάση ατμών μεταξύ 1 Torr (0,133 kPa) και 760 Torr (101,3 kPa) σε κανονικές συνθήκες θερμοκρασίας και πίεσης (293 K, 101 kPa). Εξαιρούνται τα οργανικά οξέα, οι οργανομεταλλικές ενώσεις καθώς και το μονοξείδιο και το διοξείδιο του άνθρακα (CO και CO₂ αντίστοιχα).

Ο ορισμός αυτός είναι ευρύς και περιλαμβάνει τις ενώσεις με άτομα άνθρακα στο μόριο τους που βρίσκονται στην ατμόσφαιρα ως αέρια, αλλά και αυτές που βρίσκονται προσροφημένες στην επιφάνεια των αιωρούμενων σωματιδίων της ατμόσφαιρας. Για αυτόν ακριβώς τον λόγο οι ενώσεις αυτές ανάλογα με την τάση ατμών τους χωρίζονται σε πολύ πτητικές οργανικές ενώσεις ($V_p \gg 10^{-1}$ kPa), σε πτητικές οργανικές ενώσεις ($V_p > 10^{-1}$ kPa) και σε ημιπτητικές οργανικές ενώσεις (10^{-7} kPa $< V_p < 10^{-1}$ kPa).

Σε πολλές περιπτώσεις ο όρος πτητικές οργανικές ενώσεις αναφέρεται σε ενώσεις που περιέχουν στο μόριο τους μόνο άτομα άνθρακα και υδρογόνου. Στην συγκεκριμένη περίπτωση αναφέρονται και ως πτητικοί μη μεθανικοί υδρογονάνθρακες (Non Methane Hydrocarbons, NMHC), λόγω του ότι το μεθάνιο εξαιρείται από αυτήν την κατηγορία. Την τάξη αυτή κατά 80% περίπου την αποτελούν ενώσεις με 2 έως 10 άτομα άνθρακα στο μόριο τους.

Άλλοι ορισμοί που χρησιμοποιούνται για την περιγραφή αυτών των ενώσεων είναι *υδρογονάνθρακες* (HCs), *δραστικά οργανικά οξέα* (Reactive Organic Gases) και *μη μεθανικές πτητικές οργανικές ενώσεις* (Non Methane VOCs).

1.3. Πηγές Εκπομπής Πτητικών Οργανικών Ενώσεων (VOC's)

Οι πτητικές οργανικές ενώσεις (VOC's) εκπέμπονται στην ατμόσφαιρα ως αέρια από διάφορες ουσίες που βρίσκονται σε στερεή ή υγρή κατάσταση. Οι συγκεντρώσεις ορισμένων VOC's είναι υψηλότερες σε εσωτερικούς χώρους από ότι στο περιβάλλον. Οι πηγές εκπομπής των VOC's χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: τις ανθρωπογενείς και τις βιογενείς (Πίνακας 2).

Ανθρωπογενείς Πηγές	Βιογενείς Πηγές
<ol style="list-style-type: none"> 1. <u>Κινητές Πηγές</u> (αυτοκίνητα, δίκυκλα, πλοία, σιδηρόδρομος, αεροπλάνα) 2. <u>Σημειακές Πηγές</u> <ol style="list-style-type: none"> 2.1. – βιομηχανία (δύλιση πετρελαίου, παραγωγής χάρτου, χημικών, μετάλλων, τροφίμων) 2.2. – χρήση διαλυτών (οικιακή, βιομηχανική ή εμπορική χρήση) 2.3. – επεξεργασία αποβλήτων 2.4. – σταθμοί παραγωγής ενέργειας, κεντρική θέρμανση 2.5. – χρήση χρωμάτων 2.6. – στεγνοκαθαριστήρια 2.7. – υλικά κατασκευής κτιρίων και επίπλων 2.8. – εξοπλισμός γραφείου (εκτυπωτές, φωτοτυπικά μηχανήματα κ.α.) 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Δάση 2. Αγροτικές Καλλιέργειες 3. Καύση Βιομάζας 4. Πυρκαγιές 5. Ηφαίστεια 6. Ωκεανοί

Πίνακας 2. Κύριες πηγές εκπομπής ανθρωπογενών και βιογενών πτητικών οργανικών ενώσεων (Μπακέας, 1997)

Ο παρακάτω πίνακας 3 δείχνει μια εκτίμηση των ετήσιων εκπομπών οργανικών ενώσεων σε παγκόσμια κλίμακα που οφείλονται σε βιογενείς και θαλάσσιες πηγές και σε καύση βιομάζας. Εκτιμήσεις σαν και αυτήν εμπεριέχουν μεγάλο ποσοστό αβεβαιότητας, καθώς οι παράγοντες που ελέγχουν τις βιογενείς εκπομπές ποικίλουν και έχουν σαν αποτέλεσμα σημαντικές διαφοροποιήσεις ανάλογα με την χρονική περίοδο, την εποχή, την γεωγραφική θέση κλπ.

Πηγή	Ισοπρένιο	Μονοτερπένια	Άλλες ενεργές οργανικές ενώσεις ^a	Άλλες λιγότερο ενεργές οργανικές ενώσεις ^b	Σύνολο VOC
Δάση	372	95	177	177	821
Καλλιέργειες	24	6	45	45	120
Θάμνοι	103	25	33	33	194
Ωκεανοί	0	0	2.5	2.5	5
Άλλες	4	1	2	2	9
Σύνολο	503	127	260	260	1150

Πίνακας 3. Εκτίμηση παγκόσμιου ρυθμού εκπομπών VOC's (Tg C/ yr) (Guenther et al., 1995). ^a με χρόνο ζωής < 1 ημέρας, ^b με χρόνο ζωής >1 ημέρας



Εικόνα 1. Δάσος κωνοφόρων δένδρων

1.4. Βιογενείς Οργανικές Πτητικές Ενώσεις (BVOC's)

Στην τροπόσφαιρα μεταφέρονται μεγάλες ποσότητες βιογενών υδρογονανθράκων από την βλάστηση (δέντρα, θάμνους, δρεπτά και γρασιδι). Ως BVOC's μπορούν να χαρακτηριστούν εκείνες οι ενώσεις που οι εκπομπές αυτών, προέρχονται από τους κηρούς της εφυμενίδας των φύλλων των ανώτερων φυτών (Κάβουρας, 1998). Οι εκπομπές των BVOC's, σε παγκόσμια κλίμακα εκτιμώνται από 500-1150 Tg C y⁻¹ (1 Tg = 10¹² gr) (Guenther et al., 1995) υπερβαίνοντας κατά πολύ τα 100 Tg C y⁻¹ των ανθρωπογενών VOC's (Atkinson and Arey, 2003). Μεταξύ των πολυάριθμων BVOC's που υπάρχουν στην ατμόσφαιρα και εκπέμπονται από φυσικές πηγές, το ισοπρένιο και τα μονοτερπένια έχουν μελετηθεί περισσότερο τα τελευταία χρόνια, εξαιτίας της επικράτησης τους στις φυτικές εκπομπές και της σημαντικής τους χημικής αντιδραστικότητας τους (Riba, 1988). Έχει υπολογιστεί ότι το ισοπρένιο και τα μονοτερπένια συνεισφέρουν στις εκπομπές αυτές με 350 Tg C y⁻¹ και 480 Tg C y⁻¹ αντίστοιχα, ενώ το 80% αυτών των ποσοτήτων εκπέμπεται από τροπικά και άλλα δάση και κυρίως από τα κωνοφόρα δέντρα (Ruuskanen, 2009, Κάβουρας, 1998).

Είναι γνωστό ότι το βόρειο ημισφαίριο της Γης καλύπτεται από μεγάλες εκτάσεις δασών με κωνοφόρα δέντρα τα οποία αποτελούν σημαντική πηγή βιογενών εκπομπών (Holzke, 2006). Το αρκτικό δάσος χαρακτηρίζεται από υψηλές πυκνότητες φυλλώματος, που το καθιστούν σημαντική πηγή των BVOC's. Τα κύρια είδη αρκτικών δέντρων που είναι σημαντικοί εκπομποί μονοτερπενίων είναι τα Σκωτσέζικα πεύκα (*Pinus sylvestris*), η ερυθρελάτη της Νορβηγίας και η σημύδα (*Betula pendula* και *Betula pubescens*) (Simpson et al., 1999, Hakola et al., 2000). Μελέτες που έχουν γίνει σχετικά με τις εκπομπές των BVOC's από τα δασικά οικοσυστήματα βασίζονται κυρίως στις εκπομπές αυτών από την επιφάνεια των δέντρων (tree canopies) και λιγότερο στις εκπομπές από πεσμένα φύλλα ή βελόνες, οι οποίες είναι μικρότερες σε σύγκριση με αυτές της επιφάνειας. Αυτό αποδεικνύεται, σε μελέτες των Janson (1993), Janson et al. (1999) και Hayward et al. (2001), που βρήκαν ότι οι εκπομπές των μονοτερπενίων από το έδαφος των δασών το καλοκαίρι, είναι αμελητέες σε σχέση με τις εκπομπές από τα δέντρα. Όμως κατά την διάρκεια των υπολοίπων εποχών (φθινόπωρο ή άνοιξη) το έδαφος των δασών μπορεί να συνεισφέρει στα ποσοστά εκπομπής των εν λόγω ενώσεων. Οι Isidorov et al. (2003, 2005) βρήκαν σε μελέτες τους ότι η αποσύνθεση των πεσμένων φύλλων εκπέμπει πολλές διαφορετικές BVOC's.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΤΕΡΠΕΝΟΕΙΔΗ

Στο κεφάλαιο 2 γίνεται μία περιγραφή των τερπενοειδών ενώσεων με τις οποίες θα ασχοληθούμε στην παρούσα διατριβή. Αναφέρονται στοιχεία, περιγράφονται οι δομές τους, η βιοσυνθετική πορεία σχηματισμού τους και η επίδραση τους στην ατμοσφαιρική χημεία και την ανθρώπινη υγεία. Τέλος, περιγράφονται οι μηχανισμοί απομάκρυνσης τους από την τροπόσφαιρα καθώς και οι αντιδράσεις τους με τα διάφορα οξειδωτικά αυτής (ρίζες OH, νιτρικές ρίζες και O₃).

2.1. Τερπενοειδή

Μία μεγάλη ποικιλία ενώσεων, οι περισσότερες από τις οποίες συναντώνται στο φυτικό κόσμο και έχουν κοινή βιοσυνθετική προέλευση, χαρακτηρίζεται με τον όρο ισοπρενοειδή, τερπενοειδή ή τερπένια. Σε πολλές περιπτώσεις με θερμική διάσπαση των πιο πάνω ομάδων παράγεται ένα αλκένιο, το ισοπρένιο. Επίσης με πολυμερισμό του ισοπρενίου σε κατάλληλες συνθήκες μπορεί να πραγματοποιηθεί χημική σύνθεση των τερπενίων. Γι' αυτό τα τερπένια ονομάζονται και ισοπρενοειδή.

Τα τερπένια ή τερπενοειδή αποτελούν την μεγαλύτερη ομάδα δευτερογενών μεταβολιτών και είναι οργανικές ενώσεις βιογενούς κυρίως προέλευσης. Ο όρος τερπένια προέρχεται από την λέξη «τερεβινθίνη». Τερεβινθίνη, η λεγόμενη «ρητίνη των πεύκων», είναι μια ουσία που ρέει κατά την κοπή του φλοιού και του νέου ξύλου πολλών ειδών πεύκων (Pinaceae). Η τερεβινθίνη περιέχει «οξέα ρητίνης» και μερικούς υδρογονάνθρακες που αναφέρονται ως τερπένια.

Οι βιολογικές και βιοχημικές λειτουργίες των τερπενίων δεν έχουν ακόμη διερευνηθεί πλήρως. Πολλά φυτά παράγουν πτητικά τερπένια, προκειμένου να προσελκύσουν τα έντομα για την γονιμοποίηση ή να απομακρύνουν ορισμένα ζώα που χρησιμοποιούν αυτά τα φυτά ως τροφή. Όπως αποδείχτηκε από προκαταρκτικές έρευνες, τα τερπένια παίζουν σημαντικό ρόλο ως ρυθμιστές αύξησης (φυτοορμόνες) των φυτών.

Η κατανομή των τερπενίων γίνεται σε διάφορα μέρη των φυτών. Συγκεκριμένα, αυτά βρίσκονται στα αδενικά τριχώματα, σε ιστούς των ριζών, στα αδενικά κύτταρα, σε ενδοκυτταρικές κοιλότητες, κανάλια και μεσοκυττάριους χώρους (Sedlakova et al. 2002). Σύμφωνα με τους Bohlmann et al., υπάρχουν πάνω από 1000 μονοτερπένια, περισσότερα από 7000 σεσκιτερπένια και περισσότερα από 3000 διτερπένια.

2.2. Ιστορική Αναδρομή της Προέλευσης των Τερπενοειδών Ενώσεων

Η ιστορία των τερπενίων συνδέεται με διάφορους πολιτισμούς. Καθώς τα τερπένια βρίσκονται σε μεγάλο βαθμό σε αιθέρια έλαια, χρησιμοποιήθηκαν για πρώτη φορά στην Αρχαία Αίγυπτο για διάφορους θρησκευτικούς λόγους. Η καμφορά, εισήχθη στην Ευρώπη, από τους Άραβες της Ανατολής τον 11^ο αιώνα. Τον 12^ο αιώνα, ο Arnaut de Villanosa περιγράφει την απόσταξη ελαίων από το δενδρολίβανο και το φασκόμηλο. Ο ίδιος έφτιαξε ένα «διάλυμα» από έλαια τερεβινθίνης και δενδρολίβανου.

Αξίζει να σημειωθεί ότι υπάρχουν περίπου 60 έλαια τα οποία περιγράφονται στην έκδοση της Νυρεμβέργης "Dispensatorium Valerii cordi", η οποία γράφτηκε το 1592. Αναλύσεις ελαίων τερεβινθίνης έγιναν το 1818 από τον JJ Houston de la Billardiure. Το 1866, ο Dumas, πρότεινε το όνομα "τερπένια", που προέρχονται από την τερεβινθίνη, αντί το όνομα «καμφορά», για τις κρυσταλλικές οξυγονωμένες ουσίες που προέρχονται από τα αιθέρια έλαια. Το 1887 ο Wallach πρώτος έκανε την υπόθεση για τα μονοτερπένια, ότι αποτελούνται από μονάδες ισοπρενίου και πρότεινε τον «ισοπρενικό κανόνα». Η αφθονία των τερπενίων στην φύση σε συνδυασμό με τις πολύ ενδιαφέρουσες εφαρμογές τους οδήγησαν από νωρίς τους χημικούς στη διερεύνηση της δομής τους. Έτσι πολλά μόνο- σέски- και διτερπένια (C₁₀, C₁₅ και C₂₀ αντίστοιχα) απομονώθηκαν και μελετήθηκαν στα τέλη του 19^{ου} αιώνα. Μετά από μελέτες παρατηρήθηκε, ότι η δομή των περισσότερων ενώσεων όλων των κατηγοριών των τερπενίων μπορεί να διαιρεθεί σε μονάδες ισοπρενίου, οι οποίες συνδέονται «κεφαλή-ουρά».

Ο μεγάλος ερευνητής Leopold Ruzicka, ο οποίος τιμήθηκε το 1939 με βραβείο Nobel για τις εργασίες του στον τομέα των τερπενίων, συνέβαλε καθοριστικά στην εξήγηση της δημιουργίας των τερπενικών σκελετών. Το 1953 διατύπωσε συνολικά το «βιογενετικό κανόνα του ισοπρενίου» ο οποίος καθορίζει ότι:

1. Όλα τα τερπένια είναι μόρια με δομή πολλαπλάσια της μονάδας του ισοπρενίου.
2. Οι μονάδες ισοπρενίου στα μόρια των τερπενίων συνδέονται «κεφαλή-ουρά».
3. Μια αρχικά σχηματισμένη δομή μπορεί στη συνέχεια, με διάφορες ενζυματικές πορείες, να αναδιαταχθεί με αποτέλεσμα την δημιουργία μιας ποικιλίας σκελετών με τον ίδιο αριθμό ατόμων άνθρακα.

2.3. Ταξινόμηση των Τερπενοειδών

Η ταξινόμηση των τερπενίων γίνεται ανάλογα με τον αριθμό C_5 μονάδων που περιέχουν στο μόριο τους. Όλες οι ενώσεις αυτού του τύπου (τερπενοειδή) αποτελούνται από δομικές μονάδες ισοπεντανίου ή ισοπρένιου, οι οποίες με κατάλληλο συνδυασμό οδηγούν σε διάφορους σκελετούς μονοτερπενίων με C_{10} (τερπένια με δέκα άτομα άνθρακα στο μόριο), σεσκιτερπενίων με C_{15} (τερπένια με δεκαπέντε άτομα άνθρακα στο μόριο), διτερπενίων με C_{20} (τερπένια με είκοσι άτομα άνθρακα στο μόριο), σεσσετερπενίων με C_{25} (τερπένια με εικοσιπέντε άτομα άνθρακα στο μόριο), τριτερπενίων με C_{30} (τερπένια με τριάντα άτομα άνθρακα στο μόριο), τετρατερπενίων με C_{40} (τερπένια με σαράντα άτομα άνθρακα στο μόριο) και πολυτερπενίων με $> C_{40}$ (τερπένια με περισσότερο από 40 άτομα άνθρακα στο μόριο).

Σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί πολλές απ' τις ενώσεις αυτές. **Οι περισσότεροι λοιπόν γνωστές βιογενείς οργανικές πτητικές ενώσεις είναι το αιθυλένιο, το ισοπρένιο και τα μονοτερπένια που εκπέμπονται από τα φυτά.** Το ισοπρένιο είναι η σημαντικότερη απλή οργανική πτητική ένωση που εκπέμπεται από τα φυτά. Η παγκόσμια εκπομπή του εκτιμάται ότι γίνεται κατά 45 % από τα τροπικά δάση, κατά 28 % από τους θάμνους, κατά 11 % από τα δρεπτά και μόνο 16 % από την Μεσογειακή και Βόρεια βλάστηση. Τα μονοτερπένια αντίθετα με το ισοπρένιο που εκπέμπεται περισσότερο από τα τροπικά δάση, εκπέμπονται περισσότερο από δάση της Βόρειας ζώνης. Το αιθυλένιο είναι μια φυτική ορμόνη που εκπέμπεται κατά μερικά Tg ετησίως από τα φυτά, ενώ μικρότερα ποσοστά εκπέμπονται από τους ωκεανούς και το έδαφος.

Εκπομπές των BVOC's από δάση της Βόρειας ζώνης έχουν μελετηθεί ευρέως (e.g. Janson, 1993, Janson and Claes de Serves, 2001, Hakola et al., 2000, 2003). Τα μονοτερπένια εκπέμπονται από διάφορα φυτά κυρίως όμως κωνοφόρα, όπως πεύκα, ορισμένα φυλλοβόλα, όπως η βελανιδιά καθώς και από θάμνους. Τα εκπεμπόμενα όμως τερπενοειδή εξαρτώνται από το φυτό (Ruuskanen, 2009).

Έχει αποδειχθεί ότι τα μονοτερπένια εκπέμπονται σε μεγαλύτερες ποσότητες από τα κωνοφόρα σε σχέση με τα πλατύφυλλα δέντρα ενώ κατά ένα μεγάλο ποσοστό (>75%) εκπέμπονται από την επάνω επιφάνεια των φύλλων (Κάβουρας, 1998).

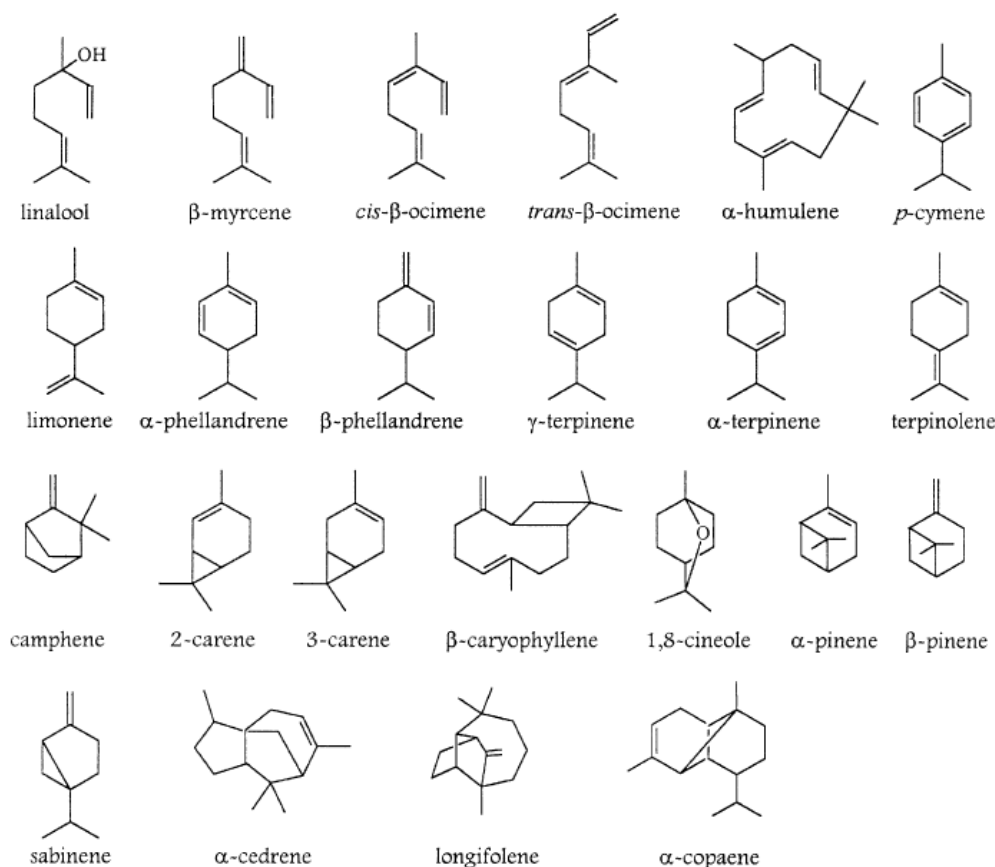
Μια λεύκα (*Populus tremula*) για παράδειγμα, εκπέμπει ισοπρένιο αλλά όχι μονοτερπένια, ενώ, τα Σκωτσέζικα πεύκα (*Pinus sylvestris*) εκπέμπουν μονοτερπένια και όχι ισοπρένιο.

Το ισοπρένιο, στις περισσότερες περιπτώσεις παράγεται στους χλωροπλάστες και δεν αποθηκεύεται στα φύλλα, αλλά μόλις παραχθεί διαχέεται διαμέσου των φύλλων και εκπέμπεται από τα στόματα αυτών (Lerdau, 1997). Τα μονοτερπένια είναι γνωστό ότι αποτελούν μέρος της ρητίνης των δέντρων, παράγονται και αποθηκεύονται σε ειδικούς αγωγούς (ρητινοφόρους αγωγούς), αδένες ή τριχώματα των φυτών πριν από την εκπομπή τους (Holzke, 2006, Lerdau, 1997). Το που θα αποθηκευτούν εξαρτάται από το είδος του φυτού. Για παράδειγμα, στα κωνοφόρα και συγκεκριμένα στις αδενώδεις τρίχες των βελόνων, τα τερπένια αποταμιεύονται στο τροποποιημένο εξωκυττάριο διάστημα μεταξύ της επιδερμίδας και του κυτταρικού τοιχώματος.

Η εκπομπή των μονοτερπενίων είναι βασική συνάρτηση της επίδρασης της θερμοκρασίας των βελόνων των πεύκων στις πιέσεις των ατμών τους και στα μονοπάτια διάχυσης τους, αν και υπάρχουν και άλλοι παράγοντες που είναι σημαντικοί. (Janson and Claes de Serves, 2001). Οι εκπομπές των μονοτερπενίων δεν εξαρτώνται μόνο από εξωγενείς (θερμοκρασία ατμόσφαιρας) αλλά και από ενδογενείς παραμέτρους όπως η κατάσταση της ανάπτυξης των εξεταζόμενων κλάδων του φυτού (Holzke et al., 2006).

Είναι ενδιαφέρουσα η διαπίστωση ότι τόσο οι εκπομπές αιθυλενίου όσο και άλλων VOC's αυξάνονται σημαντικά (κατά έναν παράγοντα που κυμαίνεται ανάμεσα σε μια και δυο τάξεις μεγέθους), όταν το φυτό υφίσταται κάποια πίεση, είτε από μηχανικά μέσα, υψηλές θερμοκρασίες ή και έλλειψη νερού (Ormeño et al., 2006).

Οι διάφορες ενώσεις αυτές παράγονται σε διαφορετικά μέρη των φυτών (φύλλα, άνθη κ.α.) και με διαφορετικές φυσιολογικές διεργασίες. Οι χημικές δομές και τα ονόματα μερικών από τα πιο συνηθισμένα τερπένια που εκπέμπονται στην ατμόσφαιρα παρουσιάζονται στην ακόλουθη εικόνα 2.



Εικόνα 2. Χημικές δομές και ονόματα ορισμένων τερπενίων (Calogirou et al., 1999)

Σύμφωνα με πειράματα που έγιναν σε θαλάμους προσομοίωσης για τον υπολογισμό των εκπομπών των μονοτερπενίων, αυτά βρέθηκε να μειώνονται περισσότερο από 50% κάθε μέρα.

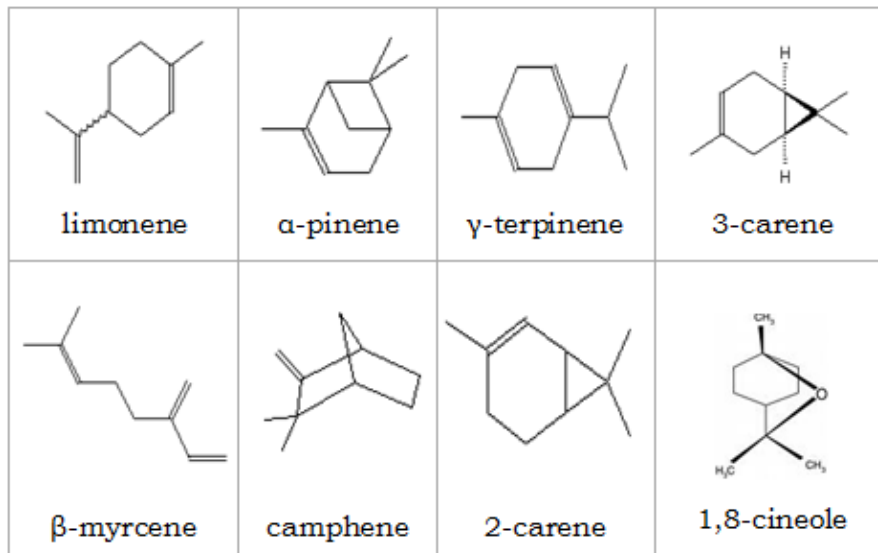
Παράλληλα παρατηρήθηκε ότι οι εκπομπές διαφέρουν από φύλλο σε φύλλο (περίπου 80%) ενώ μειώνονται όσο αυξάνεται η ηλικία του φύλλου. Οι αυξημένες εκπομπές στα νεαρά φύλλα οφείλονται σε μηχανισμό που αναπτύσσουν για να προστατέψουν την ευπαθή αναπτυσσόμενη δομή τους (Κάβουρας, 1998). Βραχυπρόθεσμες εκπομπές ισοπρενοειδών από τα φυτά ελέγχονται κυρίως από την θερμοκρασία, το φως και τον διαθέσιμο άνθρακα για την βιοσύνθεση αυτών των ενώσεων (Lerdau et al., 1997, Fall, 1999).

Γενικά, οι συγκεντρώσεις ισοπρενίου αυξάνονται σημαντικά νωρίς το πρωί μετά την ανατολή του ηλίου με μέγιστο νωρίς το απόγευμα, ενώ οι συγκεντρώσεις των μονοτερπενίων κατά τον ημερήσιο κύκλο είναι οι αντίθετες από αυτές που παρατηρούνται για το ισοπρένιο.

Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η εκπομπή ισοπρενίου από την βλάστηση εξαρτάται σημαντικά τόσο από την θερμοκρασία όσο και από την ένταση της ακτινοβολίας και είναι σχεδόν μηδενική κατά τη διάρκεια της νύχτας.

Τα μονοτερπένια εξακολουθούν να εκπέμπονται και κατά τη διάρκεια της νύχτας, καθώς οι εκπομπές τους εξαρτώνται, κυρίως, από την θερμοκρασία των φύλλων ενώ δεν είναι πολύ ευαίσθητα στην ένταση και πυκνότητα της ακτινοβολίας, αλλά ούτε και στην υγρασία. Οι συγκεντρώσεις τους φτάνουν την μέγιστη τιμή κατά τους μήνες Ιούλιο και Αύγουστο (Hakola et al., 2003).

Τα μονοτερπένια με τα οποία θα ασχοληθούμε στην παρούσα διατριβή και οι δομές τους εμφανίζονται στον ακόλουθο πίνακα 4:



Πίνακας 4. Δομές των πιο συνηθισμένων μονοτερπενίων

Τα παραπάνω μονοτερπένια (πίνακας 4) καλύπτουν το μεγαλύτερο μέρος της εκπεμπόμενης μάζας των τερπενίων που προέρχονται από πηγές βιογενούς προέλευσης (Jaoui and Kamens, 2003, Guenther et al., 1994) και γι' αυτό το λόγω γίνονται αντικείμενα μελέτης στην παρούσα διατριβή. Από αυτά τα ισοπρενοειδή το α-πινένιο και το δ-καρένιο είναι ενώσεις που εκπέμπονται κατά την διάρκεια όλου του έτους και έχει βρεθεί ότι εκπέμπονται περισσότερο από τα δέντρα της οικογένειας Pinus (πεύκα) και συγκεκριμένου είδους πεύκου του P. Sylvestris (Hakola et al., 2003, Holzke, 2006).

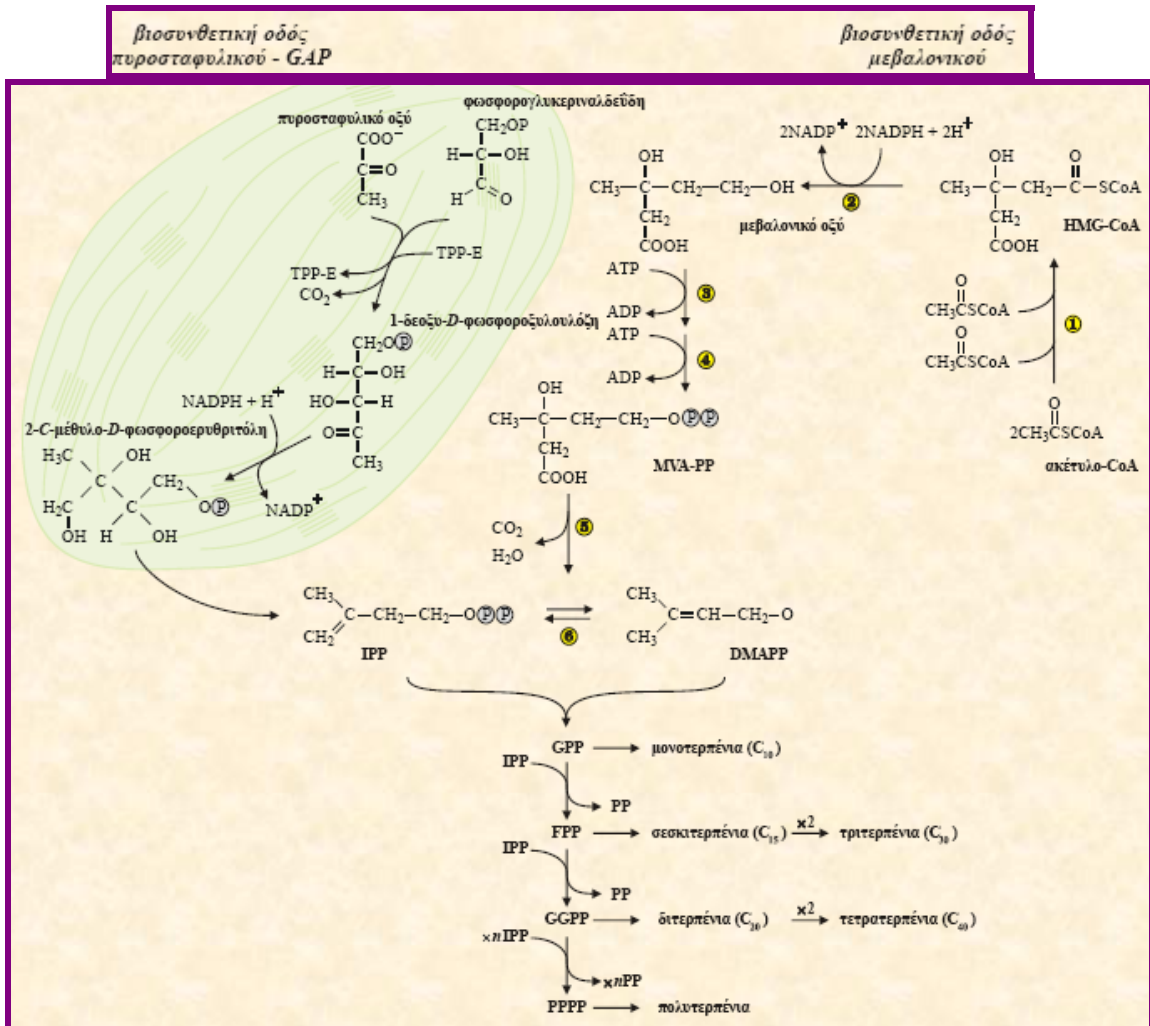
2.4. Μηχανισμός Σχηματισμού – Βιοσύνθεση των Τερπενοειδών Ενώσεων

Τα τερπένια είναι ενώσεις αδιάλυτες στο νερό, οι οποίες παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον τόσο από βιομηχανική όσο και από οικονομική και οικολογική άποψη. Οι πρόδρομες ενώσεις, των τερπενίων είναι ουσιαστικά φωσφορικοί εστέρες αλκοολών που έχουν στο μόριο τους αριθμό ατόμων άνθρακα πολλαπλάσιο του 5. Τα τερπένια μπορεί να είναι κυκλικές ενώσεις ή όχι και η σύνθεσή τους καταλύεται από ειδικά ένζυμα.

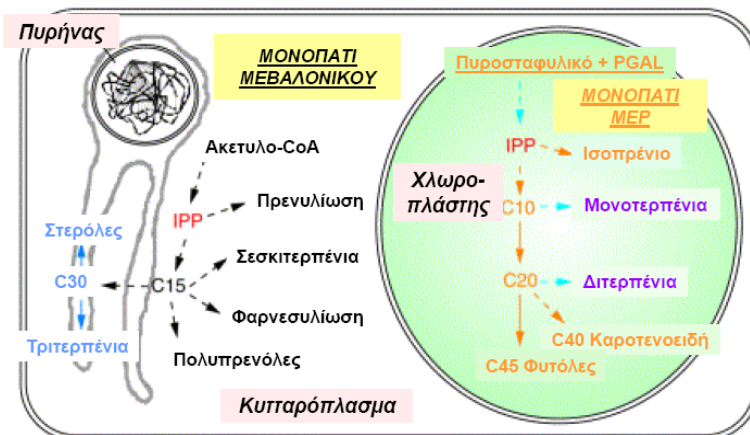
Για την βιοσύνθεσή τους συχνά ακολουθείται η μεταβολική οδός του μεβαλονικού οξέος ή εναλλακτικά, η οδός πυροσταφυλικού οξέος. Το πυροφωσφορικό ισοπεντενύλιο (IPP) και το πυροφωσφορικό διμεθυλαλλύλιο (DMAPP) προϊόντα της βιοσυνθετικής οδού του μεβαλονικού αποτελούν τις πρόδρομες ενώσεις σύνθεσης όλων των τερπενίων. Σύμφωνα με την εικόνα 3 η βιοσυνθετική οδός του μεβαλονικού το οποίο αποτελεί ένα σημαντικό ενδιάμεσο μεταβολίτη οδηγεί στη σύνθεση της βασικής μονάδας με τα πέντε άτομα άνθρακα μέσω της σταδιακής συμπύκνωσης τριών μορίων ακέτυλο συνενζύμου CoA. Τα τελικά προϊόντα της οδού αυτής, το πυροφωσφορικό ισοπεντενύλιο (IPP) και το ισομερές του, που είναι το πυροφωσφορικό διμεθυλοαλλύλιο (DMAPP) συνδυαζόμενα παράγουν τα διάφορα μόρια των τερπενίων και είναι τα ενεργά C₅ δομικά συστατικά των τερπενίων.

Στα κύτταρα, τα δύο αυτά συστατικά βρίσκονται σε ισορροπία και συνδυάζονται για να σχηματίσουν τις διάφορες ομάδες των τερπενοειδών με άτομα άνθρακα πολλαπλάσια του πέντε. Το πυροφωσφορικό ισοπεντενύλιο (IPP) και το πυροφωσφορικό διμεθυλοαλλύλιο (DMAPP) αντιδρούν και δίνουν το πυροφωσφορικό γερανύλιο (GPP) που αποτελεί την πρόδρομο μορφή σχεδόν όλων των μονοτερπενίων με 10 άτομα άνθρακα. Στην συνέχεια το πυροφωσφορικό γερανύλιο μπορεί να συνδεθεί με ένα άλλο μόριο πυροφωσφορικού ισοπεντενυλίου για να δώσει το πυροφωσφορικό φαρνεζύλιο (FPP) την πρόδρομη μορφή σχεδόν όλων των σεσκιτερπενίων (C₁₅). Επίσης η οδός του πυροσταφυλικού οδηγεί στη παραγωγή ισοπρενίου, μονοτερπενίων, διτερπενίων και τετρατερπενίων. Οι μηχανισμοί σχηματισμού των τερπενοειδών ενώσεων στα φυτά συνδέονται άμεσα μεταξύ τους, έτσι ώστε η εκπομπή περισσότερων μονοτερπενίων συχνά να προκύπτει ταυτόχρονα.

Για παράδειγμα, το διφωσφορικό γερανύλιο είναι πρόδρομη ένωση για το α- και το β-πινένιο, το λιμονένιο και το μυρκένιο, η παραγωγή των οποίων σχετίζεται με το ένζυμο συνθετάση του λιμονενίου (Fall, 1999).



Εικόνα 3. Βιοσύνθεση των τερπενοειδών ενώσεων (www.aua.gr)



Current Opinion in Plant Biology

Εικόνα 4. Σχηματική αναπαράσταση του βιοσυνθετικού μονοπατιού των τερπενίων (Chappell, 2002)

2.5. Πτητικές Οργανικές Ενώσεις (VOC's) στην Ατμόσφαιρα

Όπως είναι γνωστό, η τροπόσφαιρα περιέχει εκτός από το όζον, μια ποικιλία από διάφορα οξειδωτικά συστατικά, που παρουσιάζουν υψηλή δραστικότητα από τα οποία τα περισσότερα συμμετέχουν στην φωτοοξείδωση, κατά τη διάρκεια της ημέρας, των εκπεμπόμενων οργανικών ενώσεων, είτε αυτές εκπέμπονται από φυσικές ή ανθρωπογενείς πηγές. Σε αυτά τα συστατικά περιλαμβάνονται οι ρίζες υδροξυλίου ($\text{OH}\cdot$), οι νιτρικές ρίζες ($\text{NO}_3\cdot$) και το όζον (O_3).

Οι κύριες πορείες απώλειας των εκπεμπόμενων πτητικών οργανικών ενώσεων στην τροπόσφαιρα είναι αφενός μεν οι φυσικές πορείες της υγρής κατακρήμνισης και της ξηρής εναπόθεσης (wet and dry deposition), αφετέρου δε της φωτόλυσης και του μετασχηματισμού αυτών με τις αντιδράσεις με τις ρίζες $\text{OH}\cdot$, $\text{NO}_3\cdot$ και το όζον O_3 . Στην πράξη όμως, οι χρόνοι ζωής των VOC's καθορίζονται από τις αντιδράσεις τους με τα δραστικά οξειδωτικά της ατμόσφαιρας ενώ η απομάκρυνσή τους μέσω ξηρής και υγρής εναπόθεσης θεωρείται αμελητέα.

Πρέπει να σημειωθεί ότι κατά την διάρκεια της ημέρας η κύρια πορεία μετασχηματισμού των VOC's είναι η αντίδραση τους με τις ρίζες υδροξυλίου, ενώ αντίθετα τις νυκτερινές ώρες σημαντικό ρόλο παίζουν οι νιτρικές ρίζες.

2.5.1. Χρόνος Παραμονής των VOC's στην Τροπόσφαιρα

Ο χρόνος ζωής των πτητικών οργανικών ενώσεων λόγω των αντιδράσεων τους με τις ρίζες $\text{OH}\cdot$, $\text{NO}_3\cdot$ και το όζον O_3 δίνεται, για παράδειγμα για την ρίζα $\text{OH}\cdot$ από την σχέση: $t_{\text{OH}} = (k_{\text{OH}} * [\text{OH}])^{-1}$, όπου k_{OH} είναι η σταθερά της αντίδρασης της οργανικής ένωσης με την ρίζα $\text{OH}\cdot$ και η $[\text{OH}]$ είναι η συγκέντρωση της ρίζας στην ατμόσφαιρα.

Συνεπώς, ο χρόνος ζωής των ενώσεων αυτών εκτιμάται μέσω των σταθερών ταχύτητας που έχουν υπολογιστεί για τις αντιδράσεις στην αέρια φάση, πολλών τερπενοειδών με τις ρίζες υδροξυλίου, τις νιτρικές ρίζες και με το όζον, σε συνδυασμό με θεωρητικές τροποσφαιρικές συγκεντρώσεις των οξειδωτικών αυτών συστατικών.

Πρέπει να σημειωθεί ότι κατά την διάρκεια του χειμώνα, όπου οι συγκεντρώσεις των οξειδωτικών και ειδικά των ριζών υδροξυλίου είναι πολύ χαμηλές, ο χρόνος ζωής των βιογενών ενώσεων στην ατμόσφαιρα είναι μεγαλύτερος και η ατμοσφαιρική χημεία τους μπορεί να είναι διαφορετική από ότι σε μια άλλη ενεργά φωτοχημική εποχή. Σύμφωνα με τους Hakola et al., 2003, ο χρόνος ζωής των μονοτερπενίων είναι πενήντα φορές μεγαλύτερος τον μήνα Δεκέμβριο από ότι τον Ιούλιο που υπάρχουν μεγάλες συγκεντρώσεις των ριζών υδροξυλίου. Αυτό δεν ισχύει για την Αυστραλία όπου τον μήνα Ιούλιο, εκεί επικρατεί χειμώνας.

Στον παρακάτω πίνακα 5 υπολογίζονται οι χρόνοι ζωής ορισμένων τερπενίων με βάση τις αντιδράσεις τους με τα οξειδωτικά της ατμόσφαιρας.

Πίνακας 5. Υπολογισμένοι χρόνοι ζωής επιλεγμένων τερπενοειδών με βάση τις αντιδράσεις τους με ρίζες OH, NO₃ και O₃ (Atkinson and Arey, 1998).

<i>Βιογενείς πτητικές οργανικές ενώσεις</i>	Χρόνος ζωής^a που υπολογίζεται από την αντίδραση με		
	OH	NO₃	O₃
Ισοπρένιο	1.4 h	1.6 h	1.3 d
Καμφένιο	2.6 h	1.7 h	18 d
3-καρένιο	1.6 h	7 min	11 h
Λιμονένιο	50 min	5 min	2 h
Μυρκένιο	40 min	6 min	50 min
α-πινένιο	2.6 h	11 min	4.6 h
β-πινένιο	1.8 h	25 min	1.1 d
Σαμπινένιο	1.2 h	7 min	4.6 h

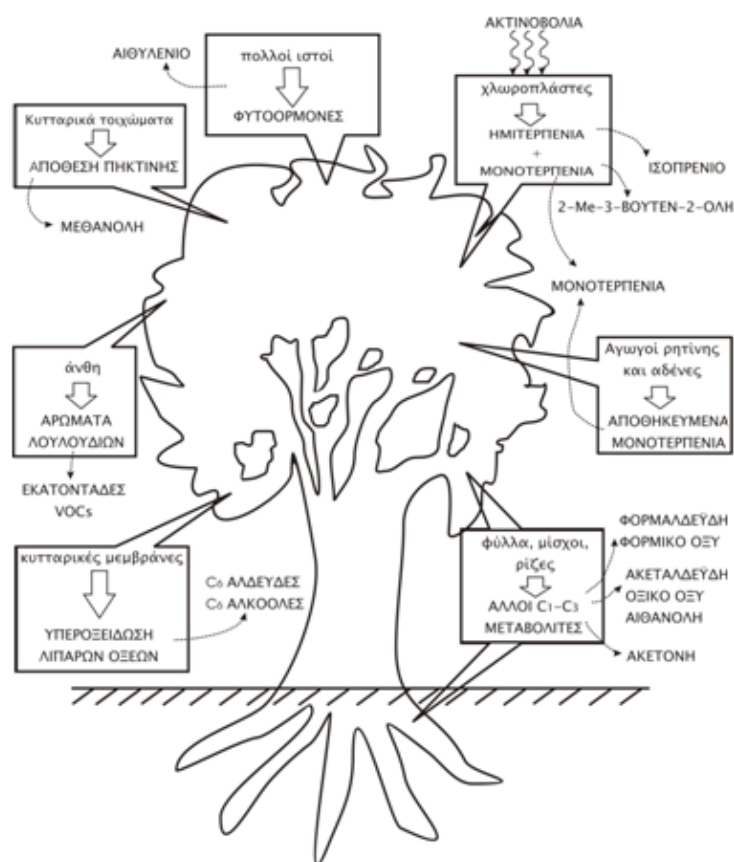
^a χρόνος αποσύνθεσης της ένωσης στο 1/e της αρχική της συγκέντρωσης, θεωρώντας συγκεντρώσεις (molecules cm⁻³) για τα OH, 12ωρο ημερήσιο μέσο όρο 2×10⁶, NO₃ 12ωρο νυκτερινό μέσο όρο 5×10⁸ και O₃ 24ωρο μέσο όρο 7×10¹¹

Οι περισσότερες από τις βιογενείς πτητικές οργανικές ενώσεις είναι άκρως δραστικές στην τροπόσφαιρα με χρόνους ζωής που υπολογίζονται σε μερικές ώρες ή και λιγότερο. Έτσι οι χρόνοι αυτοί είναι ενδεικτικοί και χρήσιμοι για την κατάταξη της δραστηριότητας των ενώσεων αυτών (Atkinson and Arey, 1998).

2.5.2. Μηχανισμοί Απομάκρυνσης των Τερπενοειδών από την Τροπόσφαιρα

Όπως είδαμε, οι κύριοι μηχανισμοί απομάκρυνσης των τερπενοειδών από την τροπόσφαιρα περιλαμβάνουν αντιδράσεις με τα δραστικά οξειδωτικά της ατμόσφαιρας, όπως τις ρίζες υδροξυλίου, τις νιτρικές ρίζες και το όζον. Οι φυσικές διεργασίες της ξηρής και υγρής εναπόθεσης συνεισφέρουν πολύ λιγότερο στην απομάκρυνση των ενώσεων αυτών από την τροπόσφαιρα και για το λόγο αυτό δεν γίνεται αναφορά σε αυτές.

Σε μια περιοχή με ρύπανση, το ισοπρένιο και τα μονοτερπένια μπορούν να καταστραφούν από τις αντιδράσεις με όζον και τις ρίζες υδροξυλίου κατά τη διάρκεια της ημέρας, ενώ κατά τη διάρκεια της νύχτας μπορούν να αντιδράσουν και με τις νιτρικές ρίζες και με το όζον. Από τη στιγμή που ορισμένα μονοτερπένια, κυρίως το α-πινένιο και το λεμονένιο αντιδρούν πιο γρήγορα με το όζον και τις νιτρικές ρίζες απ' ό,τι το ισοπρένιο, οι συγκεντρώσεις τους κατά τη διάρκεια της ημέρας εμφανίζουν ελάχιστο, παρόλο που οι εκπομπές τους εμφανίζουν μέγιστο (Cao and Hewitt, 1995).

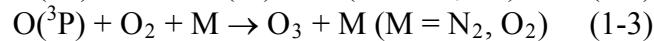


Εικόνα 5. Σχηματική απεικόνιση των μηχανισμών παραγωγής ορισμένων VOC's που εκπέμπονται βιογενώς (Fall, 1999)

2.5.3. Τροποσφαιρική Χημεία των Πτητικών Οργανικών Ενώσεων

2.5.3.1. Σχηματισμός Ριζών Υδροξυλίου στην Ατμόσφαιρα

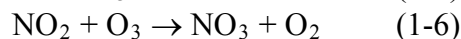
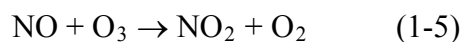
Η σπουδαιότητα των ριζών υδροξυλίου (OH) οφείλεται στο ότι αντιδρούν με όλες τις οργανικές ενώσεις, εκτός των χλωροφθορανθράκων (CFC's) και των αλογονομένων ενώσεων που δεν περιέχουν άτομα υδρογόνου (Atkinson, 1994). Φωτόλυση του όζοντος σε μήκη κύματος ≥ 290 nm στην τροπόσφαιρα έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή διεγερμένων ατόμων οξυγόνου $O(^1D)$, τα οποία είτε επανέρχονται στην βασική κατάσταση $O(^3P)$ είτε αντιδρούν με υδρατμούς και σχηματίζουν ρίζες υδροξυλίου (Atkinson et al., 1996):



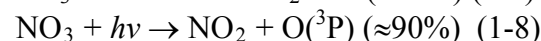
Η φωτόλυση του όζοντος, που έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό ριζών υδροξυλίου, συμβαίνει μόνο κατά τη διάρκεια της ημέρας. Αντιθέτως, η αντίδραση του όζοντος με αλκένια (συμπεριλαμβανομένων και βιογενών αλκενίων όπως τα μονοτερπένια) που οδηγεί στο σχηματισμό OH τόσο κατά τη διάρκεια της ημέρας, όσο και της νύχτας είναι πολύ σημαντική (Paulson and Orlando, 1996). Τροποσφαιρικές πηγές ριζών υδροξυλίου αποτελούν, επίσης, η φωτόλυση του νιτρώδους οξέος (HONO), της φορμαλδεΐδης (HCHO) και άλλων καρβονυλικών ενώσεων παρουσία μονοξειδίου του αζώτου (Jenkin and Clemitshaw, 2000).

2.5.3.2. Σχηματισμός Νιτρικών Ριζών στην Ατμόσφαιρα

Η παρουσία του μονοξειδίου του αζώτου στην τροπόσφαιρα, από φυσικές και ανθρωπογενείς πηγές έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό των νιτρικών ριζών, μέσω των αντιδράσεων (Atkinson et al, 1996):

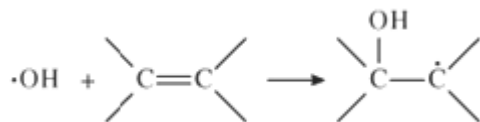


Καθώς η νιτρική ρίζα φωτοδιασπάται ταχύτατα (χρόνος ζωής περίπου 5 sec) και αντιδρά άμεσα και με το NO, οι συγκεντρώσεις των νιτρικών ριζών παραμένουν πολύ χαμηλές κατά τη διάρκεια της ημέρας, ενώ αυξάνονται την νύχτα σε επίπεδα που είναι μετρήσιμες.

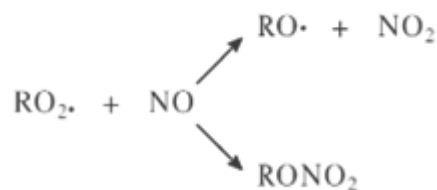


2.5.3.3. Αντιδράσεις των Τερπενίων με τις Ρίζες Υδροξυλίου

Η προσθήκη ριζών υδροξυλίου στον διπλό δεσμό C=C των τερπενίων είναι η πορεία που υπερισχύει και οδηγεί στον σχηματισμό β-ύδροξυ-άλκυλο ριζών:

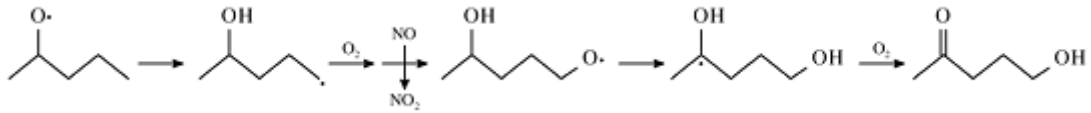


Οι ρίζες αυτές στην συνέχεια αντιδρούν ταχύτατα με το οξυγόνο και σχηματίζουν β-ύδροξυ-άλκυλο-υπερόξυ ρίζες. Τερπένια που περιέχουν συζυγιακούς διπλούς δεσμούς (π.χ. α-τερπινένιο) σχηματίζουν γ-ύδροξυ-αλλυλικές ρίζες οι οποίες μπορούν να ισομεριστούν προτού αντιδράσουν περαιτέρω. Οι β-υδροξυ-άλκυλο-υπερόξυ ρίζες μπορούν να αντιδράσουν στην συνέχεια με μονοξείδιο του αζώτου σχηματίζοντας β-ύδροξυ-άλκοξυ ρίζες καθώς και μικρή ποσότητα β-ύδροξυ-άλκυλο νιτρικών ριζών. Οι αντιδράσεις αυτές είναι σημαντικότερες σε ρυπασμένες περιοχές ([NO] > 30 ppt).

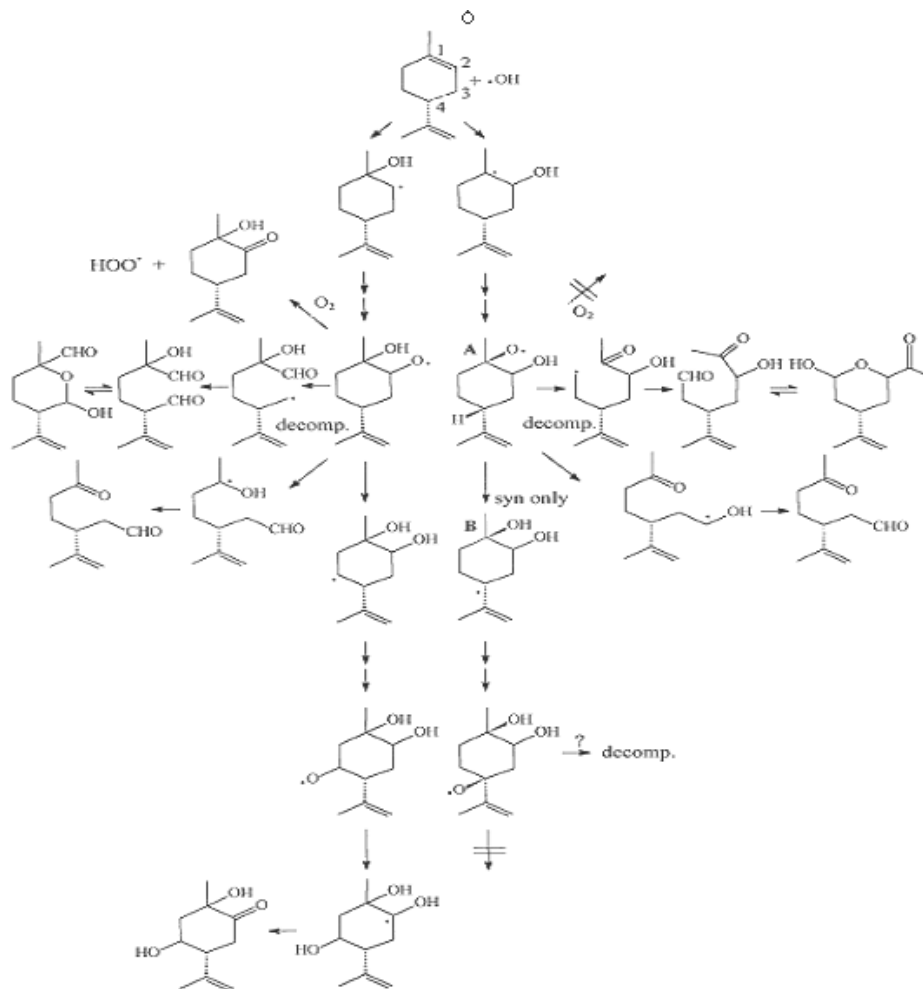


Η δεύτερη πορεία είναι σημαντική για ρίζες μεγαλύτερου ανθρακικού σκελετού και της αντιστοιχεί στο 14% των αντιδράσεων των άλκυλο-υπερόξυ ριζών του ισοπρενίου και πιθανότατα ακόμα μεγαλύτερο ποσοστό των ριζών των τερπενίων (Paulson and Seinfeld, 1992).

Στην τροπόσφαιρα οι β-ύδροξυ-άλκοξυ ρίζες έχουν τρεις πιθανές πορείες αντίδρασης: αποσύνθεση, ισομερισμό και αντίδραση με μοριακό οξυγόνο. Ενώ για τα μικρότερα μόρια η κυρίαρχη πορεία είναι η αποσύνθεση, για τις ρίζες των τερπενίων δεν αντιπροσωπεύει ποσοστό μεγαλύτερο του 15% των αντιδράσεων. Η αντίδραση με μοριακό οξυγόνο είναι ακόμη μικρότερης σημασίας από την αποσύνθεση, οπότε ο ισομερισμός παραμένει ως η κύρια πορεία αντίδρασης των ριζών μεγαλύτερης ανθρακικής αλυσίδας. Ο ισομερισμός γίνεται με μια 1,5-μετατόπιση ατόμου υδρογόνου μέσω μιας εξαμελούς μεταβατικής κατάστασης. Κατά προτίμηση σχηματίζονται τριτοταγείς μεταβατικές ρίζες, έναντι των δευτεροταγών και πρωτοταγών, με λόγο 25:10:1 αντίστοιχα (Calogirou et al., 1999).



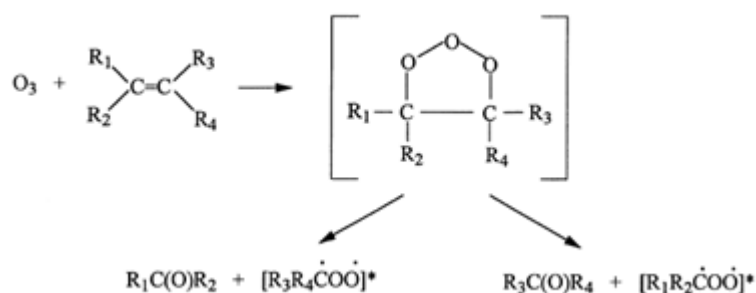
Στην περίπτωση που σχηματίζονται κυκλοέξυλο-οξύ ρίζες, η πορεία της αποσύνθεσης αποκτά μεγαλύτερη σημασία. Εξαιτίας του μεγάλου βαθμού υποκατάστασης των ατόμων άνθρακα και των στερεοχημικών παρεμποδίσεων από τους δακτυλίους που περιέχονται πολλές φορές στα τερπένια, ο ισομερισμός δεν είναι πάντοτε δυνατός. Ως παράδειγμα δίνεται η οξείδωση του λιμονενίου από ρίζες υδροξυλίου (εικόνα 6). Εάν η προσβολή του υδροξυλίου γίνει στην θέση 2, δεν μπορεί να γίνει αντίδραση ισομερισμού και αντίδρασης με μοριακό οξυγόνο, επειδή δεν υπάρχει άτομο υδρογόνου στην θέση 1. Απόσπαση ατόμου υδρογόνου από την θέση 4 της 2-ύδροξυ-κυκλοέξυλο-όξυ ρίζας (A) είναι δυνατή μόνο εφόσον το οξυγόνο είναι σε θέση *syn* με το άτομο υδρογόνου. Δεν έχει γίνει γνωστό εάν η διϋδροξυ-κυκλοέξυλο-οξύ ρίζα (B) που προκύπτει δίνει προϊόντα αποσύνθεσης.



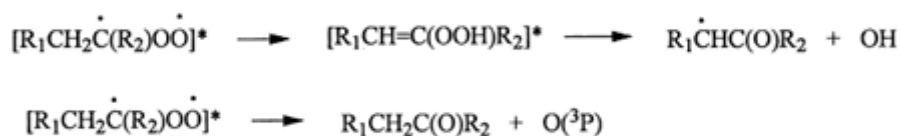
Εικόνα 6. Μηχανισμός οξείδωσης λιμονενίου από ρίζες υδροξυλίου (Calogirou et al., 1999)

2.5.3.4. Αντιδράσεις των Τερπενίων με το Όζον

Η αντίδραση των τερπενίων με προσθήκη όζοντος στον διπλό δεσμό C=C οδηγεί στον σχηματισμό διαφόρων καρβονυλικών ενώσεων. Αρχικά η προσθήκη του όζοντος στον διπλό δεσμό οδηγεί στον σχηματισμό ενός οζονιδίου, το οποίο είναι πολύ ασταθές και αποσυντίθεται σχηματίζοντας μια καρβονυλική ένωση και μια διεγερμένη ενδιάμεση δίριζα (ενδιάμεσο Criegee). Η αντίδραση αποσύνθεσης του οζονιδίου εξαρτάται από την δομή του αρχικού αλκενίου επομένως και από τις δομές των σχηματιζόμενων καρβονυλικών ενώσεων αλλά κυρίως των δίριζων (Atkinson 1997).



Εξαιτίας της ισχυρά εξώθερμης αντίδρασης όζοντος-αλκενίου τα ενδιάμεσα Criegee βρίσκονται σε διεγερμένες ηλεκτρονιακές καταστάσεις (ROO*) και καταστάσεις δόνησης (ROO≠). Μόνο σταθεροποιημένα, μέσω συγκρούσεων, ενδιάμεσα Criegee μπορούν να λάβουν μέρος σε περαιτέρω διμοριακές αντιδράσεις, ενώ τα υπόλοιπα ενεργοποιημένα είδη αποσυντίθενται. Η αποσύνθεση αυτή οδηγεί στο σχηματισμό ριζών, μεταξύ των οποίων συγκαταλέγονται και οι ρίζες υδροξυλίου. Με αυτόν τον τρόπο οι αντιδράσεις όζοντος-αλκενίων δρουν ως πηγή ριζών στην τροπόσφαιρα, γεγονός ιδιαίτερα σημαντικό κατά την απουσία ηλιακού φωτός. Οι αποδόσεις ριζών υδροξυλίου φαίνεται να είναι μεγαλύτερες όταν ο διπλός δεσμός των αλκενίων είναι εσωτερικός, παρά όταν είναι ακραίος και συζυγιακός (Atkinson and Aschmann, 1993).

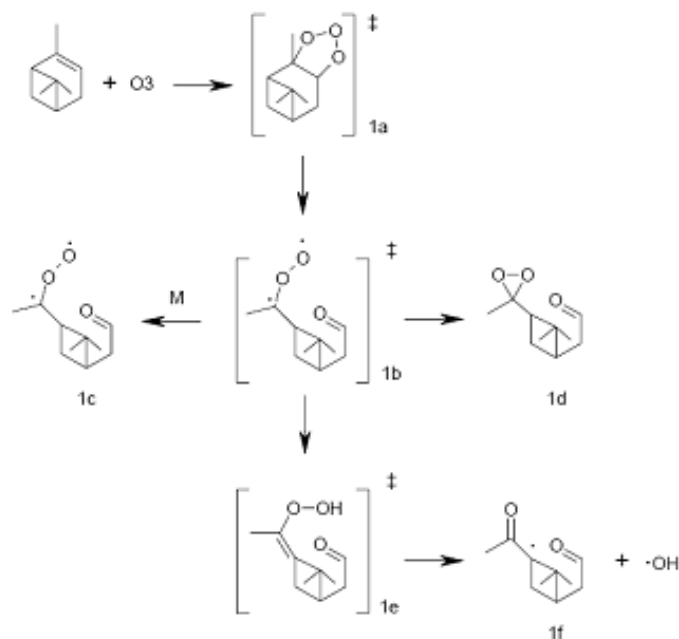


Τα σταθεροποιημένα ενδιάμεσα Criegee μπορούν να αντιδράσουν και με μόρια νερού στην τροπόσφαιρα, σχηματίζοντας οργανικά οξέα. Η αντίδραση αυτή πραγματοποιείται μέσω ασταθών ύδροξυ-άλκυλο-υδροϋπεροξειδίων (OHCH₂OOH).

Επιπλέον, από παράπλευρες αντιδράσεις μπορούν να σχηματιστούν αλδεΐδες και υπεροξείδιο του υδρογόνου. Τέλος, αποσύνθεση του αρχικού οζονιδίου μπορεί, επίσης, να οδηγήσει στον σχηματισμό εποξειδίων σε ποσοστό που φτάνει το 5% (Atkinson et al., 1994).

Ως παράδειγμα δίνεται η αντίδραση του α -πινενίου με όζον (εικόνα 7). Η αντίδραση ξεκινάει με τον σχηματισμό του αρχικού οζονιδίου (1a), το οποίο ταχύτατα αποσυντίθεται σε καρβονυλική ένωση και στην διεγερμένη ενδιάμεση δίριζα (1b) που αποτελεί το ενδιάμεσο Criegee (CI). Το CI διεγερμένης κατάστασης δόνησης μπορεί να σταθεροποιηθεί από το περιβάλλον αέριο (1c) ή να αντιδράσει μέσω περαιτέρω μονομοριακών αντιδράσεων.

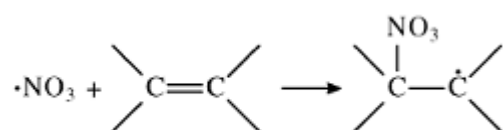
Οι αντιδράσεις αυτές περιλαμβάνουν κλείσιμο του δακτυλίου προς διοξυράνιο (1d) είτε αποσύνθεση προς ριζικά είδη (1f). Ο ισομερισμός προς διοξυράνια φαίνεται να παρεμποδίζεται εάν το CI είναι διϋποκατεστημένο, ή *syn* μονοϋποκατεστημένο αλλά μπορεί να προκύψει εάν το CI δεν είναι υποκατεστημένο. Ο σχηματισμός ριζών υδροξυλίου γίνεται μέσω ενός διεγερμένου υδρο-υπερόξυ ενδιάμεσου (1e) το οποίο προκύπτει από μια πενταμελή μεταβατική κατάσταση. Αυτές οι αντιδράσεις φαίνεται ότι εξαρτώνται από την πίεση, γεγονός που δίνει έμφαση στον ρόλο των διαδοχικών αντιδράσεων του σταθεροποιημένου CI που οδηγούν κυρίως σε θερμική αποσύνθεση και σχηματισμό ριζών OH (Fick et al., 2002).



Εικόνα 7. Μηχανισμός οξείδωσης α -πινενίου από το όζον

2.5.3.5. Αντιδράσεις των Τερπενίων με τις Νιτρικές Ρίζες

Ενώ κατά τη διάρκεια της ημέρας, το σημαντικότερο οξειδωτικό είδος στην τροπόσφαιρα είναι οι ρίζες OH, κατά τη διάρκεια της νύχτας είναι οι νιτρικές ρίζες που σχηματίζονται από την αντίδραση του όζοντος με NO₂. Εξαιτίας της αντίδρασης αυτής, ο χρόνος ημιζωής των τερπενίων στην τροπόσφαιρα ποικίλει ανάμεσα σε 4 min και 18 h. Στην περίπτωση των τερπενίων, και για την αντίδραση με νιτρικές ρίζες υπερισχύει η πορεία προσθήκης στον διπλό δεσμό C=C, παρά η απόσπαση ατόμου υδρογόνου. Η ηλεκτρονιόφιλη ρίζα NO₃ προσβάλλει τον διπλό δεσμό σχηματίζοντας ένα ενδιάμεσο προσθήκης.



Όπως και στην περίπτωση της προσθήκης OH, η προσβολή από τις ρίζες NO₃ γίνεται κατά προτίμηση στην λιγότερο υποκατεστημένη θέση. Η β-νίτροξυ-άλκυλο ρίζα που προκύπτει αντιδρά ταχύτατα με οξυγόνο, σχηματίζοντας β-νίτροξυ-άλκυλο-υπερόξυ ρίζα. Αυτή στη συνέχεια μπορεί να αντιδράσει με NO, σχηματίζοντας μια β-νίτροξυ-άλκοξυ ρίζα ή μια ρίζα με δυο νιτρικές ομάδες. Απουσία NO η β-νίτροξυ-άλκυλο-υπερόξυ ρίζα μπορεί να αντιδράσει με υπερόξυ ρίζες (HO₂ ή RO₂) που βρίσκονται στην τροπόσφαιρα σχηματίζοντας νίτροξυ-υπεροξειδία, νίτροξυ-καρβονυλικές ενώσεις και νίτροξυ-αλκοόλες. Η χημεία της προσθήκης νιτρικών ριζών στα τερπένια δεν έχει ερευνηθεί πλήρως, κυρίως λόγω της δυσκολίας απομόνωσης των ασταθών νιτρικών προϊόντων (Calogirou et al., 1999).

(1) Αντιδράσεις τερπενίων με ρίζες υδροξυλίου (OH)	
<p>→ Σχηματισμός β-ύδροξυ-άλκυλο ριζών $>C=C< + OH \rightarrow >C(OH)C^*<$ → Ισομερισμός προς αλλυλική γ-ύδροξυ-άλκυλο ρίζα (για συζυγιακά διένια)</p>	
(i) Αντίδραση με O ₂	<p>→ Σχηματισμός β-ύδροξυ-άλκυλο-υπερόξυ ριζών $>C(OH)C^*< + O_2 \rightarrow >C(OH)C(OO^*)<$</p>
(ii) Αντίδραση με NO	<p>→ Σχηματισμός β-ύδροξυ-άλκοξυ ριζών $>C(OH)C(OO^*)< + NO \rightarrow >C(OH)C(O^*)< + NO_2$ ↓ * Αντίδραση με O₂ (μικρής σημασίας) * Αποσύνθεση (~15 % των αντιδράσεων) * Ισομερισμός (μέσω μιας 1,5-μετατόπισης υδρογόνου)</p>
(iii) Αντίδραση με NO	<p>→ Σχηματισμός β-ύδροξυ-άλκυλο νιτρικών ενώσεων $>C(OH)C(OO^*)< + NO \rightarrow >C(OH)C(ONO_2)<$</p>
(2) Αντιδράσεις τερπενίων με όζον (O₃)	
<p>→ Σχηματισμός ενδιάμεσου οζονιδίου $R_1R_2C=CR_3R_4 + O_3 \rightarrow [R_1R_2C(OOO)CR_3R_4]^\ddagger$</p>	
(i) Αποσύνθεση	→ Σχηματισμός εποξειδίων (ποσοστό που φτάνει το 5 %)
(ii) Αποσύνθεση	<p>→ Σχηματισμός καρβονυλικών ενώσεων και διριζών</p> $[R_1R_2C(OOO)CR_3R_4]^\ddagger \rightarrow R_1R_2CO + \boxed{[R_3R_4C^*OO^*]}$ <p>ή</p> $R_3R_4CO + \boxed{[R_1R_2C^*OO^*]}$ <p style="text-align: center;">↙ Σταθεροποίηση μέσω:</p> <p>α) Σύγκρουσης με άλλα μόρια β) Σχηματισμού εστέρα → αποσύνθεση προς αλκάνια γ) Σχηματισμού υδροϋπεροξειδίου → αποσύνθεση προς OH και υποκατεστημένης άλκυλο ρίζας δ) Πιθανής απόσπασης ενός ατόμου O(³P)</p>
(3) Αντιδράσεις τερπενίων με νιτρικές ρίζες (NO₃)	
<p>→ Σχηματισμός β-νίτροξυ-άλκυλο ριζών : $>C=C< + NO_3 \rightarrow >C(ONO_2)C^*<$</p>	
(i) Αντίδραση με NO	<p>→ Σχηματισμός β-νίτροξυ-άλκοξυ ριζών → Σχηματισμός ριζών με δυο νιτρικές ομάδες</p>
(ii) Αντίδραση με HO ₂	→ Σχηματισμός νίτροξυ-υπεροξειδίων
(iii) Αντίδραση με RO ₂	→ Σχηματισμός νίτροξυ-καρβονυλικών ενώσεων και νίτροξυ-αλκοολών

Πίνακας 6: Συνοπτική παρουσίαση των αντιδράσεων των τερπενίων και των προϊόντων τους (Μπουγιαιώτη, 2007)

2.6. Επιπτώσεις της Παρουσίας των Τερπενοειδών στην Ατμόσφαιρα

Τα τερπένια εξαιτίας των δομικών χαρακτηριστικών τους, που είναι ακόρεστοι υδρογονάνθρακες κυρίως με ένα ή περισσότερους διπλούς δεσμούς άνθρακα, μπορεί να αντιδράσουν σε μεγάλο βαθμό με τα συστατικά της ατμόσφαιρας όπως το όζον, τα νιτρικά και ρίζες υδροξυλίου σχηματίζοντας διάφορα προϊόντα οξειδωσης.

Μπορούν, ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις, να παίζουν σημαντικό ρόλο στην ατμοσφαιρική χημεία τόσο σε τοπικό όσο και σε παγκόσμιο επίπεδο, καθώς αντιδρούν ταχύτατα με τις ρίζες υδροξυλίου και το όζον και παράγουν, μεταξύ άλλων, μονοξειδίο του άνθρακα, συμβάλλοντας άμεσα στην οξειδωτική ικανότητα της ατμόσφαιρας.

Έχουν ακόμη, θεωρηθεί ως σημαντικά πρόδρομες ουσίες σχηματισμού του φωτοχημικού όζοντος και των δευτερογενών οργανικών αερολυμάτων (SOA) και της όξινης βροχής (Calogirou et al., 1999).

Τα τελευταία χρόνια έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές μελέτες για το ποσό των αερολυμάτων που σχηματίζεται από την φωτοχημική οξείδωση αλκενίων, καθώς και την εύρεση και ποσοτικοποίηση των ενώσεων που συμβάλλουν στην παραγωγή αυτή. Οι μελέτες αυτές αφορούν την φωτοχημική οξείδωση (και σε μερικές περιπτώσεις την αντίδραση με O_3) ανθρωπογενών, αλλά κυρίως, βιογενών αλκενίων όπως το ισοπρένιο, το α - και β -πινένιο, το 3-καρένιο και το λιμονένιο (Pandis et al. 1991, Hoffmann et al., 1997).

Η απόδοση αερολύματος, που ορίζεται ως η μάζα του σχηματιζόμενου αερολύματος προς το ποσό του αλκενίου που αντιδρά, εξαρτάται από την μάζα του οργανικού αερολύματος που υπάρχει. Με βάση τις μελέτες αυτές τα αλκένια μπορούν να καταταχθούν σύμφωνα με την ικανότητά τους να παράγουν δευτερογενή οργανικά αερολύματα. Έτσι το ισοπρένιο δίνει ασήμαντη απόδοση αερολύματος (Pandis et al., 1991), μικρό ποσοστό απόδοσης προκύπτει για τα 1-οκτένιο, οκιμένιο και α -πινένιο, το ποσοστό φτάνει το 30-40% για το β -πινένιο και το λιμονένιο, ενώ το ποσοστό αγγίζει το 100% για το *trans*-καρυοφυλλένιο.

Σύμφωνα με αναφορές οι βιογενείς πτητικές οργανικές ενώσεις παράγουν περίπου $2,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ δευτερογενών οργανικών αερολυμάτων, όταν επικρατούν ιδανικές φωτοχημικές συνθήκες (Tsigaridis and Kanakidou, 2002).

Αξίζει να σημειωθεί ότι οι αποδόσεις εξαρτώνται από τις αρχικές συνθήκες, τα κυριότερα δραστικά οξειδωτικά (ρίζες OH, NO₃ και O₃), καθώς και από την μάζα ή την επιφάνεια του αερολύματος που βρίσκεται στον θάλαμο αντίδρασης. Έχει, τέλος, παρατηρηθεί ότι για τα βιογενή μονοτερπένια και σεσκιτερπένια που έχουν μελετηθεί, ο σχηματισμός αερολύματος οφείλεται κυρίως στις αντιδράσεις με όζον, παρόλο που οι αντιδράσεις αυτές λαμβάνουν χώρα ταυτόχρονα με τις αντιδράσεις με ρίζες υδροξυλίου.

Σημαντικότερη πηγή στο σχηματισμό αερολυμάτων είναι και η αντίδραση των μονοτερπενίων με νιτρικές ρίζες κατά τη διάρκεια της νύχτας. Αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι τα προϊόντα οξείδωσης των αντιδράσεων με τις ρίζες υδροξυλίου είναι περισσότερο πτητικά. Αντίθετα τα προϊόντα οξείδωσης με τις νιτρικές ρίζες είναι λιγότερο πτητικά με αποτέλεσμα να προσροφώνται στην υπάρχουσα σωματιδιακή φάση και να αυξάνουν την μάζα του αερολύματος. (Hoffmann et al., 1997).

Επίσης, επηρεάζουν την παραγωγή και την απομάκρυνση του όζοντος, ανάλογα με τις συγκεντρώσεις των υδρογονανθράκων και των οξειδίων του αζώτου. Συνεισφέρουν στο παγκόσμιο ισοζύγιο του άνθρακα και παράγουν οργανικά οξέα, συμβάλλοντας στην εναπόθεση οξύτητας σε απομακρυσμένες περιοχές (Cao and Hewitt, 1995).

Συμπερασματικά, τα τερπενοειδή και γενικά όλες οι πτητικές οργανικές ενώσεις, παίζουν σημαντικό ρόλο στην δημιουργία αρκετών περιβαλλοντικών προβλημάτων τα οποία είναι:

- Η φωτοχημική ρύπανση
- Η όξινη βροχή
- Η παραγωγή τροποσφαιρικού όζοντος
- Η καταστροφή του στρατοσφαιρικού όζοντος
- Η δημιουργία αερολυμάτων και
- Οι κλιματικές αλλαγές

2.7. Επιπτώσεις της Παρουσίας των Τερπενοειδών στην Ανθρώπινη Υγεία

Η ικανότητα τους να επιδρούν στην υγεία των ανθρώπινων οργανισμών ποικίλλει. Ορισμένες από τις ενώσεις αυτές είναι υψηλής τοξικότητας ενώ άλλες δεν έχουν καμιά επίδραση. Η έκταση και η φύση της επίδρασης τους στον άνθρωπο εξαρτάται από τη συγκέντρωσή τους, το χρόνο έκθεσης και την κατάσταση της υγείας του ατόμου (Jones, 1999).

Τα συμπτώματα που έχουν αναφερθεί (Bruno et al., 2007) αμέσως μετά από έκθεση σε υψηλές συγκεντρώσεις VOC's (της τάξεως των ppm) είναι:

- Ερεθισμός στα μάτια, τη μύτη και το λαιμό
- Πονοκέφαλος, ζαλάδα, ναυτία, δύσπνοια
- Αίσθημα κόπωσης
- Αδυναμία συγκέντρωσης
- Εξασθένηση της μνήμης

Η παρουσία των παραπάνω συμπτωμάτων εξαρτάται από α) το επίπεδο έκθεσης και τη διάρκεια, β) τον αερισμό των πνευμόνων, γ) τη διάχυση της ένωσης από την τριχοειδή μεμβράνη, δ) τη διαλυτότητα τους στο αίμα, ε) την κυκλοφορία του αίματος μέσα στους ιστούς και τα όργανα, στ) την διάχυση των ενώσεων μέσω της μεμβράνης των ιστών και ζ) την διαλυτότητα των ενώσεων στους ιστούς.

Η μακροχρόνια έκθεση σε VOC's είναι δυνατόν να προκαλέσει βλάβες στο συκώτι και τα νεφρά, διαταραχές στο νευρικό σύστημα, δερματικές παθήσεις και καρκινογένεση και μεταλλαξογένεση.

Η προτεινόμενη ανώτατη τιμή από την Ευρωπαϊκή Ένωση για τις συνολικές οργανικές πτητικές ενώσεις (TVOC's), ώστε να μην υπάρχουν επιπτώσεις στον ανθρώπινο οργανισμό, είναι $200 \mu\text{g}/\text{m}^3$ σε εσωτερικούς χώρους.

2.8. Μετρήσεις των Βιογενών Πτητικών Οργανικών Ενώσεων (BVOC's) στην περιοχή της Μεσογείου και κυρίως στην Ελλάδα.

Οι μετρήσεις των ατμοσφαιρικών συγκεντρώσεων των βιογενών υδρογονανθράκων (ισοπρενίου και μονοτερπενίων) και η ημερήσια διακύμανσή τους έχουν ξεκινήσει από τα τέλη της δεκαετίας του '70 (Riba et al., 1987, Rappengluck et al., 1998, Steinbrecher et al., 2000, Harrison et al., 2001a,b, Pio et al., 2001, Kavouras et al., 2001). Ακόμη, μελέτες έχουν γίνει τόσο για τις ατμοσφαιρικές συγκεντρώσεις των μονοτερπενίων σε διάφορες δασικές, κυρίως, περιοχές (δάση κωνοφόρων όπως ευκαλύπτους, πεύκα και έλατα) (Hakola et al., 2000, Cooke et al., 2001, Harrison et al., 2001a,b), όσο και για τις εκπομπές των ενώσεων αυτών από διάφορες οικογένειες φυτών (Benjamin et al., 1996, Owen et al., 2001).

Πειραματικές διατάξεις που αποσκοπούν στην καταγραφή των εκπομπών των διαφόρων φυτών περιλαμβάνουν ένα σύστημα εγκλεισμού μέρους του φυτού σε κατάλληλο αδρανή θάλαμο (bag enclosure) και άντληση του περιεχόμενου αέρα σε προσροφητικούς σωλήνες. Με τον τρόπο αυτό γίνεται καταγραφή των εκπομπών διαφόρων φυτών με απώτερο σκοπό την δημιουργία λεπτομερών καταλόγων.

Όσον αφορά την ευρύτερη περιοχή της Μεσογείου, μετρήσεις των βιογενών πτητικών οργανικών ενώσεων έχουν γίνει τα τελευταία χρόνια στα πλαίσια διαφόρων προγραμμάτων.

Στην περιοχή της Μεσογείου οι πρώτες μετρήσεις άρχισαν στα πλαίσια της καμπάνιας MECAPHOT-TRACE το φθινόπωρο του 1994, στην ευρύτερη περιοχή των Αθηνών. Τα αποτελέσματα αφορούσαν κυρίως σε ανθρωπογενείς εκπομπές, λόγω της μορφολογίας της περιοχής, ενώ από μονοτερπένια ανιχνεύτηκαν μόνο λεμονένιο και p-cymene.

Μία από τις σημαντικότερες και μεγαλύτερες καμπάνιες που έχουν συμβεί στην περιοχή της Μεσογείου είναι η BEMA (Biogenic Emissions in the Mediterranean Area) (Kesselmeier et al., 1996, Owen et al., 1997, Owen et al., 2001). Οι μετρήσεις εδώ, έγιναν σε τρεις περιοχές της Μεσογείου: στο Castelpoziano της Ιταλίας το 1993 και 1994, στο Montpellier της Γαλλίας το 1995 και στο Cirat της Ισπανίας το 1996 και 1997. Κυριότερος σκοπός του πειράματος, ήταν η καταγραφή των εκπομπών μεγάλου αριθμού φυτών της περιοχής (περίπου 40 ειδών).

Ο αριθμός των ενώσεων που εκπέμπονταν από τα διάφορα είδη φυτών ποικίλει ανάμεσα σε μια μοναδική (ισοπρένιο) μέχρι και 19 διαφορετικές ενώσεις. Με τον τρόπο αυτό τα διάφορα είδη φυτών κατηγοριοποιήθηκαν ανάλογα με την κύρια εκπεμπόμενη ένωση, σε είδη που εκπέμπουν κυρίως ισοπρένιο, σε είδη που εκπέμπουν κυρίως πινένια, σε είδη που εκπέμπουν κυρίως λιναλοόλη και σε είδη που εκπέμπουν κυρίως λιμονένιο (Owen et al., 2001).

Με βάση τα αποτελέσματα αυτών των μετρήσεων μπορούν να εκτιμηθούν οι ροές των διαφόρων BVOC's σε διάφορα περιβάλλοντα, αν είναι γνωστά τα πληθυσμιακά είδη που περιλαμβάνονται στο εκάστοτε περιβάλλον. Η σπουδαιότητα του προγράμματος BEMA έγκειται κυρίως στο γεγονός ότι τα αποτελέσματα έχουν προκύψει από σύγκριση των χρησιμοποιούμενων τεχνικών δειγματοληψίας και ανάλυσης από δέκα διαφορετικά εργαστήρια που έλαβαν μέρος στην καμπάνια. Οι αποκλίσεις των δοκιμών με τα ίδια standard γνωστής συγκέντρωσης είναι αρκετά μικρές για τις περισσότερες ενώσεις (Larsen et al., 1997).

Τέλος, πραγματοποιήθηκε το πείραμα FIELDVOC '94 όπου έγιναν μετρήσεις BVOC's σε ένα δάσος ευκαλύπτων στην Πορτογαλία (Cooke et al., 2001, Pio et al., 2001). Εδώ, εκτός από ενώσεις που εκπέμπονται από τον ευκάλυπτο, προέκυψαν επίσης και ενώσεις ανθρωπογενούς προέλευσης καθώς και ενώσεις βιογενούς προέλευσης αλλά από άλλη οικογένεια φυτών, πιθανότατα λόγω μεταφοράς. Τα μετρούμενα μονοτερπένια εμφάνιζαν χαρακτηριστική ημερήσια διακύμανση με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις να εμφανίζονται κατά τη διάρκεια της νύχτας ενώ κατά τη διάρκεια της ημέρας εμφάνιζαν μέγιστο τις μεσημεριανές ώρες (Cooke et al., 2001). Σημαντικό επίσης είναι το γεγονός ότι εκτιμάται ότι μέχρι και 40 % του μετρούμενου σωματιδιακού οργανικού άνθρακα προκύπτει από βιογενείς εκπομπές πτητικών οργανικών ενώσεων (Pio et al., 2001).

Όσον αφορά μετρήσεις που έγιναν στον Ελλαδικό χώρο, το μεγαλύτερο πείραμα έγινε το καλοκαίρι του 1997 στο Περούλι (Άγραφα Όρη), στα πλαίσια της καμπάνιας AEROBIC (Aerosol formation from Biogenic organic Carbon). Εδώ, έλαβαν μέρος ομάδες από τέσσερα εργαστήρια: του Πανεπιστημίου του Leeds (Αγγλία), του Πανεπιστημίου του Aveiro (Πορτογαλία), του εργαστηρίου LSCE (Γαλλία) και του Πανεπιστημίου της Κρήτης.

Εκτός από μετεωρολογικά δεδομένα, γίνονταν παράλληλα μετρήσεις των συγκεντρώσεων όζοντος, οξειδίων του αζώτου και μονοξειδίου του άνθρακα. Όλες οι ομάδες μετρούσαν περιβαλλοντικές συγκεντρώσεις των βιογενών πτητικών οργανικών ενώσεων. Οι ομάδες από την Αγγλία και την Πορτογαλία μετρούσαν παράλληλα και εκπομπές των φυτών με την διαδικασία εγκλεισμού μέρους του φυτού (bag enclosure) με ταυτόχρονη μέτρηση παραγόντων που επηρεάζουν τις εκπομπές αυτές, όπως η θερμοκρασία του φυλλώματος, η σχετική υγρασία και η φωτοσυνθετικά ενεργή ακτινοβολία (PAR).

Τέλος, η ομάδα του Leeds μετρούσε και σημαντικά, για την κατανόηση της χημείας που λαμβάνει χώρα, οξειδωτικά της ατμόσφαιρας όπως οι ρίζες υδροξυλίου (OH) και οι υπερόξυ ρίζες HO₂ (Harrison et al., 2001). Οι τρεις από τις τέσσερις ομάδες (εκτός της Κρήτης) που μετρούσαν και ελαφρύτερους υδρογονάνθρακες (C5) είχαν μικρές αποκλίσεις στις μετρήσεις ισοπρενίου. Μικρές ήταν και οι αποκλίσεις μεταξύ των ομάδων που μετρούσαν μονοτερπένια (όλες εκτός της Γαλλίας).

Τα κυρίαρχα μετρούμενα μονοτερπένια ήταν τα α- και β-πινένιο, λιμονένιο και καμφένιο, εμφάνιζαν όλα παρόμοια ημερήσια διακύμανση με μέγιστες νυχτερινές συγκεντρώσεις της τάξης των 0.5-2 ppbv. Οι υψηλές συσχετίσεις μεταξύ των περιβαλλοντικών συγκεντρώσεων των μονοτερπενίων υπονοούν κάποια κοινή, τοπική πηγή. Σημαντικό επίσης συμπέρασμα που προκύπτει από τις παράλληλες μετρήσεις των OH είναι ότι παρά τις σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις τους, τα μονοτερπένια και το ισοπρένιο υπερισχύουν στην απομάκρυνση των ριζών αυτών την ημέρα, σε σύγκριση με τους ανθρωπογενείς υδρογονάνθρακες, το CO και το CH₄ (Harrison et al., 2001b).

Σημαντικά συμπεράσματα προέκυψαν επίσης για τον ρόλο των προϊόντων φωτο-οξειδωσης των μονοτερπενίων στον σχηματισμό δευτερογενών αερολυμάτων. Η ομάδα του πανεπιστημίου της Κρήτης έκανε παράλληλα και μετρήσεις των πυρήνων Aitken στην περιοχή των 3-200 nm ενώ γινόταν ταυτόχρονα και δειγματοληψία αέριας και σωματιδιακής φάσης. Από τις μετρήσεις προέκυψε ότι εμφανίζονται δυο μέγιστα στην συγκέντρωση των πυρήνων Aitken, ένα νωρίς το πρωί, που συμπίπτει με μια δραστική μείωση των συγκεντρώσεων των μονοτερπενίων, και ένα δεύτερο μέγιστο μεταξύ 6 και 9 το βράδυ.

Η εμφάνιση του δεύτερου μέγιστου μπορεί να εξηγηθεί μέσω των κύριων προϊόντων φωτο-οξειδωσης των μονοτερπενίων και του ισοπρενίου. Μέρος των προϊόντων αυτών παραμένει στην αέρια φάση, ενώ λιγότερο πτητικά προϊόντα κατανέμονται μεταξύ αέριας και σωματιδιακής φάσης, συμπυκνώνονται πάνω σε προϋπάρχοντα σωματίδια και αυξάνουν την περιβαλλοντική σωματιδιακή μάζα. Πιο συγκεκριμένα, από μετρήσεις στην αέρια και την σωματιδιακή φάση, προέκυψε ότι ενώσεις όπως το πινικό και α -πινονικό οξύ, η πινοναλδεΐδη και η νοπινόνη, όταν εμφανίζαν ελάχιστο στην αέρια φάση ακολουθούσε μέγιστο στην σωματιδιακή φάση και ταυτόχρονη αύξηση του αριθμού των πυρήνων Aitken (Kavouras et al., 1999).

2.9. Μέθοδοι Δειγματοληψίας των Βιογενών Πτητικών Οργανικών Ενώσεων

Όπως είδαμε στις ενότητες που προηγήθηκαν, τα μονοτερπένια (γενικά οι BVOC's) αποτελούν σημαντικό τομέα έρευνας λόγω των επιπτώσεων τους τόσο στον ανθρώπινο οργανισμό όσο και στην χημεία της ατμόσφαιρας, καθώς συμβάλλουν τόσο στην οξειδωτική ικανότητα της, με την παραγωγή όζοντος και ριζών υδροξυλίου, όσο και μέσω των προϊόντων οξείδωσής τους στην παραγωγή δευτερογενών οργανικών αερολυμάτων.

Για την ανάλυση γενικά των αέριων ατμοσφαιρικών ρύπων αλλά και συγκεκριμένα των BVOC's στο περιβάλλον, υπάρχουν δύο τρόποι προσδιορισμού και καταγραφής αυτών. Ο πρώτος τρόπος είναι αυτός που το δείγμα συλλέγεται στο πεδίο δειγματοληψίας και κατόπιν αναλύεται στο εργαστήριο, και ο δεύτερος είναι αυτός της χρήσης φορητών αυτόματων οργάνων για την *in situ* μέτρηση της συγκέντρωσης των ρύπων.

Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα του *in situ* προσδιορισμού είναι η δυνατότητα που αυτός παρέχει για την συνεχή καταγραφή των διακυμάνσεων της συγκέντρωσης των ρύπων και την εξακρίβωση των αιτιών που τις προκαλούν. Η εφαρμογή όμως αυτού απαιτεί την χρήση πολυποίκιλου εξοπλισμού σε κάθε υπάρχουσα θέση δειγματοληψίας. Η δεύτερη εναλλακτική πορεία απαιτεί την χρήση λιγότερου εξοπλισμού με αποτέλεσμα οικονομικό όφελος, που δίνει την δυνατότητα για την χρήση περισσότερων θέσεων δειγματοληψίας.

Η δειγματοληψία και η ανάλυση των συγκεκριμένων ενώσεων είναι μία δύσκολη διαδικασία λόγω της μεγάλης χημικής δραστηριότητας που παρουσιάζουν στην ατμόσφαιρα με αποτέλεσμα οι συγκεντρώσεις τους να είναι χαμηλές. Οι περισσότεροι γνωστές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την συλλογή των δειγμάτων μπορούν να χωριστούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες: **αυτής της συλλογής δείγματος ολικού αέρα και αυτής της προσυγκέντρωσης του δείγματος** (Cao and Hewitt, 1995, Tolnai et al., 2000).

Η πρώτη μέθοδος σχετίζεται με την απευθείας συλλογή και απομόνωση του δείγματος σε ένα μη διαπερατό δοχείο (υάλινο ή μεταλλικό κάνιστρο) ή σε πλαστικούς σάκους (από Teflon). Η συλλογή μεγάλης ποσότητας δείγματος με αποτέλεσμα την δυνατότητα αναλύσεων παραπάνω από μια φορά και η μη επίδραση της υγρασίας καθιστούν αυτή την τεχνική ιδανική για ελαφρούς υδρογονάνθρακες και είναι ευρέως χρησιμοποιούμενη για μετρήσεις συγκεντρώσεων υδρογονανθράκων με μικρή ανθρακική αλυσίδα C₂-C₆ σε αγροτικές, απομακρυσμένες και παραθαλάσσιες περιοχές (Bonsang et al., 1988, Kanakidou et al., 1989, Rudolph and Johnen, 1990, Moschonas and Glavas, 1996).

Στην συγκεκριμένη τεχνική, το δοχείο ή ο σάκος μεταφέρεται στο πεδίο δειγματοληψίας και το δείγμα του αέρα συλλέγεται με το άνοιγμα της βαλβίδας που φέρει το κάνιστρο ή με την χρήση αντλίας που χρησιμοποιείται στους σάκους.

Βασικά μειονεκτήματα της συγκεκριμένης μεθόδου είναι ότι:

- Για να πληρωθούν οι πλαστικοί σάκοι αντλείται αέρας στο εσωτερικό τους με την βοήθεια αντλίας και αυτό μπορεί να αποτελέσει πηγή επιμόλυνσης του δείγματος.
- Τα υάλινα ή μεταλλικά ανοξείδωτα κάνιστρα αν και προκαλούν λιγότερα προβλήματα επιμόλυνσης του δείγματος, κοστίζουν ακριβότερα εξαιτίας του πολύπλοκου και ακριβού εξοπλισμού που απαιτούν για την δειγματοληψία όπως υπερμοριακές αντλίες κενού). Ακόμη, είναι βαριά και συνεπώς η μεταφορά τους περιορίζεται. Τέλος ο καθαρισμός και η συντήρηση των κάνιστρων είναι χρονοβόρος και απαιτεί την χρήση πολύπλοκου και δύσχρηστου εξοπλισμού.
- Το ληφθέν δείγμα ίσως να έχει ένα ποσό υγρασίας το οποίο θα πρέπει να εξατμιστεί πριν την ανάλυση του, με αποτέλεσμα, να υπάρχουν απώλειες λόγω εξάτμισης των λιγότερο πτητικών ενώσεων (Tolnai et al, 2000).
- Ο όγκος των δειγμάτων περιορίζεται σε μερικά dm³ με αποτέλεσμα να δημιουργείται πρόβλημα με το όριο ανίχνευσης της αναλυτικής μεθόδου όταν η συγκέντρωση των προσδιοριζόμενων ενώσεων είναι χαμηλή.
- Η αντιπροσωπευτικότητα του δείγματος μερικές φορές είναι αμφισβητήσιμη, λόγω προσρόφησης του δείγματος από τα τοιχώματα του δοχείου.

Καθώς οι συγκεντρώσεις των υπό μελέτη ενώσεων είναι πολύ χαμηλές και η ευαισθησία των μεθόδων ανάλυσης δεν είναι επαρκής, μεγάλοι όγκοι δείγματος πρέπει να υποστούν προσυγκέντρωση για την ανάλυση. Επίσης, όταν είναι αναγκαία η συνεχής παρακολούθηση των ενώσεων ή είναι απαραίτητη η προσυγκέντρωση του δείγματος, η χρήση των κάνιστρων ή των σάκων δεν αποτελεί την καλύτερη επιλογή.

Η δεύτερη μέθοδος δειγματοληψίας είναι αυτή της προσυγκέντρωσης του δείγματος. Βασίζεται στην διέλευση αέρα μέσω σωλήνα προσρόφησης γεμάτου με κατάλληλο προσροφητικό.

Οι τρόποι προσυγκέντρωσης είναι δύο: **η ενεργός δειγματοληψία** (άντληση μέσω του σωλήνα καθορισμένου όγκου αέρα με την βοήθεια αντλίας) και **η παθητική δειγματοληψία** (το προσροφητικό μέσο εκτίθεται στην ατμόσφαιρα και η πορεία προσρόφησης καθορίζεται από τα χαρακτηριστικά του προσροφητή και από τις πορείες διάχυσης του δείγματος) (Tolnai et al., 2000).

Υπάρχουν διάφορα προσροφητικά που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για το σκοπό αυτό, όπως Tenax TA, Tenax-GR, Carbotrap, Carbosieve, Chromosorb, ενεργός άνθρακας κ.ά. Ανάλογα με την δειγματοληψία διαφόρων υδρογονανθράκων τα εκάστοτε προσροφητικά διασφαλίζουν τόσο την αντιπροσωπευτική συλλογή των ενώσεων υπό μελέτη όσο και την ακόλουθη πλήρη εκρόφησή τους προς ανάλυση (Cao and Hewitt, 1995). Από συγκριτική μελέτη έχει προκύψει ότι καταλληλότερα προσροφητικά για την δειγματοληψία μονοτερπενίων είναι τα Tenax-GR και Tenax TA καθώς προσροφούν ικανοποιητικότερα τις συγκεκριμένες ενώσεις (Hollender et al., 2002). Για το λόγο αυτό οι δειγματοληψίες γίνονται συνήθως σε ατσάλινους ή γυάλινους σωλήνες γεμάτους με Tenax αλλά και συνδυασμό Tenax με κάποιο άλλο προσροφητικό (Cooke et al., 2001, Harrison et al., 2001, He et al., 2000) .

2.10. Αναλυτικές Μέθοδοι Προσδιορισμού των Βιογενών Πτητικών Οργανικών Ενώσεων στην Ατμόσφαιρα

Εξαιτίας της πολυπλοκότητας του μείγματος των υδρογονανθράκων που βρίσκονται στην ατμόσφαιρα, απαιτείται μια αναλυτική μέθοδος που να μπορεί να διαχωρίσει τις επιμέρους ενώσεις. Ο προσδιορισμός των μονοτερπενίων ($C_{10}H_{16}$) έχει απασχολήσει πολύ τον ερευνητικό κόσμο και έχουν προταθεί διάφορες μέθοδοι και τεχνικές οι οποίες προσδοκούν στον ακριβέστερο προσδιορισμό τους.

Ιστορικά η μέθοδος της αεριοχρωματογραφίας είναι η πρώτη αναλυτική μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε. Αργότερα για την ανάλυση των BVOC's εφαρμόστηκε η μέθοδος της θερμικής εκρόφησης των ουσιών σε συνδυασμό με την αέρια χρωματογραφία.

Η αέρια χρωματογραφία, ιδιαίτερα σε συνδυασμό με την χρήση τριχοειδούς κολώνας μεγάλης διαχωριστικής ικανότητας, προσφέρει άριστες δυνατότητες ανάλυσης του συγκεκριμένου είδους ενώσεων. Με την αέρια χρωματογραφία το συλλεχθέν δείγμα εισάγεται απευθείας στην κορυφή της αναλυτικής στήλης στο αεριοχρωματογραφικό σύστημα και διαχωρίζεται στις επιμέρους ενώσεις. Με την μέθοδο της θερμικής εκρόφησης των ουσιών σε συνδυασμό με την αέρια χρωματογραφία το δείγμα υφίσταται αρχικά πρωτοβάθμια εκρόφηση, έπειτα δευτεροβάθμια εκρόφηση και έπειτα εισάγεται στην αναλυτική στήλη όπου και διαχωρίζεται στις επιμέρους ενώσεις.

Μετά τον διαχωρισμό των ενώσεων και την έκλουση τους ακολουθεί η ανίχνευση τους από ανιχνευτή. Για τον προσδιορισμό των BVOC's έχουν χρησιμοποιηθεί αρκετές διατάξεις ανίχνευσης. Ο ανιχνευτής ιονισμού φλόγας (FID) θεωρείται παραδοσιακά ως ένας σημαντικός μη-εκλεκτικός ανιχνευτής που μπορεί να ανταποκριθεί σχεδόν σε όλες της οργανικές πτητικές ενώσεις και προσφέρει καλή ευαισθησία. Παρόλα τα προβλήματα που τυχόν μπορεί να εμφανίζει, ο ανιχνευτής ιονισμού φλόγας παραμένει μακράν ο περισσότερο χρησιμοποιούμενος ανιχνευτής για την μέτρηση περιβαλλοντικών συγκεντρώσεων πτητικών οργανικών ενώσεων.

Εκτός από τον ανιχνευτή ιονισμού φλόγας, ο φασματογράφος μάζας έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς ως ανιχνευτής στην αέρια χρωματογραφία για την ταυτοποίηση οργανικών ενώσεων και σε μερικές περιπτώσεις για ποσοτική ανάλυση.

Χρησιμοποιείται κυρίως για αναλύσεις όπου εκτός από ισοπρένιο και μονοτερπένια, στα δείγματα υπάρχουν και οξυγονωμένες ενώσεις όπως αλκοόλες, εστέρες, αλδεΐδες και κετόνες (Kesselmeier et al., 2000, Cooke et al., 2001, Ormeno et al., 2006). Ο ανιχνευτής FID έχει μεγαλύτερη ευαισθησία σε σχέση με τον ανιχνευτή MS, και όπως θα δούμε στην παράγραφο 5.1, για τον FID θα είναι της τάξης των νανογραμμαρίων (ng).

Τα όρια ανίχνευσης για ένα σύστημα GC-MS εξαρτώνται από την λειτουργία του, δηλαδή εάν χρησιμοποιείται πλήρης σάρωση των ιόντων (full-scan mode) ή παρακολούθηση επιλεγμένου ιόντος (selected ion monitoring mode). Χρησιμοποιώντας την δεύτερη μέθοδο και με την επιλογή ορισμένων μόνο ιόντων επιτυγχάνονται όρια ανίχνευσης λίγο μικρότερα από το σύστημα GC-FID. Τέλος, σε μερικές περιπτώσεις έχουν χρησιμοποιηθεί και ανιχνευτές φωτιοϊονισμού, ανιχνευτές σύλληψης ηλεκτρονίων (ECD), ανιχνευτές αναγωγής αερίου (RGD) και ανιχνευτές χημειοφωταύγειας όζοντος (Cao and Hewitt, 1995).

Όπως είδαμε λοιπόν, η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος για τον προσδιορισμό των εν λόγω ουσιών βασίζεται στην θερμική εκρόφιση τους ακολουθούμενη από τον διαχωρισμό τους με αέρια χρωματογραφία (GC) και την ανίχνευση τους με ανιχνευτή FID. Διάφορες παραλλαγές αυτής της μεθόδου έχουν προταθεί τα τελευταία χρόνια, όπως για παράδειγμα η εναλλαγή του ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID) με ανιχνευτή φασματομετρίας μάζας (MS) (Isidorov et al., 1985, Peters et al., 1994, Hewitt et al., 1995, Roberts et al., 1983, Simon et al., 1994).

Στον ακόλουθο πίνακα 7, εμφανίζονται συγκεντρωτικά οι διάφορες μέθοδοι δειγματοληψίας και ανάλυσης των ενώσεων (BVOC's) που μας ενδιαφέρουν, που έχουν προταθεί κατά καιρούς από διάφορους ερευνητές.

Αναφορές	Μέθοδος Δειγματοληψίας	Μέθοδος Ανάλυσης	Ενώσεις	Περιοχή Δειγματοληψίας
Greenberg and Zimmerman, 1984	Ατσάλινα κάνιστρα	GC-FID	ισοπρένιο, μονοτερπένια	Τροπική ατμόσφαιρα Βραζιλίας
Greenberg and Zimmerman, 1984	Ατσάλινα κάνιστρα	GC-FID	ισοπρένιο, μονοτερπένια	Niwot Ridge δάσος ΗΠΑ
Roberts et al. 1983	Προσρόφηση σε Tenax GC	TD-GC-FID TD-GC-MS	α-πινένιο, β-πινένιο, καμφένιο, 3-καρένιο, λεμονένιο	Niwot Ridge δάσος των ΗΠΑ
Isidorov et al. 1985	Προσρόφηση σε Tenax GC ή Carbochrome	TD-GC-FID TD-GC-MS	Μονοτερπένια	Κωνοφόρα δάση USSR
Yokouchi and Ambe, 1988	Προσρόφηση σε Tenax GC	TD-GC-FID TD-GC-MS	ισοπρένιο, α-πινένιο, β-πινένιο, καμφένιο	Αγροτική περιοχή Ιαπωνίας
Zimmerman et al. 1988	Teflon σακούλες	GC-FID	Μονοτερπένια, αλκάνια, αλκένια, αρωματικές, ισοπρένιο	Δάση
Rasmussen and Kalil, 1988	Ατσάλινα κάνιστρα	GC-FID GC-PID	Ισοπρένιο	Δάση της λεκάνης του Αμαζονίου
Simon et al. 1994	Προσρόφηση σε Tenax TA	TD-GC-FID TD-GC-MS	α-πινένιο, β-πινένιο, 3-καρένιο, λεμονένιο, 1,8-σινεόλη	Δάσος Landes Γαλλία
Hakola et al., 2003	Teflon σακούλες & προσρόφηση σε Tenax TA	ATD-GC-MS	Ισοπρένιο, μονοτερπένια	Πευκόδασος Hyytiala Φιλανδίας
He et al., 2000	Chambers (εγκλεισμό αέρα σε θάλαμο) & προσρόφηση σε Tenax GR	TCT-GC-FID	Ισοπρένιο, μονοτερπένια	15 είδη ευκαλύπτων στην Αυστραλία
Hewitt et al. 1995	Προσρόφηση σε Tenax TA και Carbotrap	TD-GC-FID TD-GC-MS	Ισοπρένιο, α-πινένιο, β-πινένιο, λιμονένιο, μυρκένιο, σαμπινένιο	Δάσος με έλατα (Sitka) στη Βόρειο Δυτική Σκωτία
Holdren et al. 1979	Προσρόφηση σε Tenax GC	TD-GC-MS	α-πινένιο, β-πινένιο, 3-καρένιο	Δάσος των ΗΠΑ
Yokouchi et al. 1981	Προσρόφηση σε Tenax GC	TD-GC-MS	α-πινένιο, β-πινένιο, 3-καρένιο, μυρκένιο, λεμονένιο	Δάση της Ιαπωνίας
Janson, 1993	Προσρόφηση σε Tenax TA	TD-GC-MS	α-πινένιο, καμφένιο, β-πινένιο, 3-καρένιο, λεμονένιο	Πευκόδασος στην Σουηδία
Peters et al. 1994	Προσρόφηση σε Tenax TA	TD-GC-MS	α-πινένιο, β-πινένιο, 3-καρένιο, λεμονένιο	Πευκόδασος στην Αγγλία

Πίνακας 7. Δειγματοληψία και αναλυτικές μέθοδοι για την ανάλυση των φυσικών NMHCs στην ατμόσφαιρα (Cao and Hewitt, 1995)

2.11. Σκοπός της Παρούσας Μελέτης

Όπως είδαμε στις παραπάνω καμπάνιες αλλά και σύμφωνα με την βιβλιογραφία για τον προσδιορισμό των πτητικών οργανικών ενώσεων οι μελετητές είτε χρησιμοποιούν τους χρωματογράφους στο πεδίο για να κάνουν on line ανάλυση είτε χρησιμοποιούν τους ατσάλινους κυλίνδρους κατά την δειγματοληψία, τους μεταφέρουν στο εργαστήριο και κάνουν την ανάλυση των ενώσεων. Οι μέθοδοι όμως αυτοί, όπως αναφέρεται στις παραπάνω ενότητες είναι αρκετά χρονοβόροι και απαιτούν πολύπλοκο και βαρύ εξοπλισμό.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η εφαρμογή μιας εύκολης, γρήγορης και αξιόπιστης μεθόδου δειγματοληψίας αλλά και προσδιορισμού των μονοτερπενίων στην ατμόσφαιρα και η διεξαγωγή συμπερασμάτων για τις τεχνικές δυσκολίες της.

Η δειγματοληψία με την διέλευση αέρα μέσω σωλήνα προσρόφησης γεμάτου με κατάλληλο προσροφητικό (Tenax TA), ακολουθούμενη από θερμική εκρόφηση, είναι η περισσότερο διαδεδομένη μέθοδος για την δειγματοληψία των πτητικών ενώσεων (C5 και πάνω) και την οποία χρησιμοποιούμε στην παρούσα μελέτη. Έπειτα από την δειγματοληψία, ο διαχωρισμός και η ποσοτική ανάλυση των ενώσεων που ακολουθείται στην παρούσα μελέτη, πραγματοποιείται με την μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας GC και η ανίχνευση τους πραγματοποιείται με τον ανιχνευτή ιοντισμού φλόγας FID.

Αρχικά, η συλλογή των πτητικών οργανικών ενώσεων από την ατμόσφαιρα υπό την διέλευση του ατμοσφαιρικού αέρα από στερεά προσροφητικά (μέθοδος δειγματοληψίας της παρούσας μελέτης) έχει πολλά πλεονεκτήματα σε σχέση με την συλλογή σε σακούλες Teflon ή ατσάλινα κάνιστρα. Αυτά περιλαμβάνουν τα εξής:

- *Το μικρό μέγεθος και το χαμηλό βάρος του προσροφητικού υλικού και του υπολοίπου εξοπλισμού δειγματοληψίας που δίνει την δυνατότητα να γίνονται ευκολότερα και γρηγορότερα οι μετρήσεις πεδίου.*
- *Η τοποθέτηση του προσροφητικού σωλήνα ως το πρώτο στοιχείο (με την πιθανή εξαίρεση ενός φίλτρου απομάκρυνσης του όζοντος) στην διάταξη δειγματοληψίας, έτσι ώστε να μειωθεί η πιθανότητα μόλυνσης από ανάντη στοιχεία.*

- *Η ύπαρξη μεγάλης ποικιλίας προσροφητικών, που να μπορεί κάποιος να επιλέξει αναλόγως των απαιτήσεων του, για την επίτευξη του στόχου του.*
- *Η εμπορική διαθεσιμότητα των συστημάτων θερμικής εκρόφησης και του αναλυτικού συστήματος.*
- *Η δυνατότητα της διαχείρισης της υγρασίας είτε με τη χρήση υδρόφοβων προσροφητικών (απομάκρυνση της υγρασίας κατά την δειγματοληψία), είτε με ξηρή αέρια εκκαθάριση της υγρασίας από το προσροφητικό κατά την ανάλυση.*

Έπειτα, η αέρια χρωματογραφία, ιδιαίτερα σε συνδυασμό με την χρήση τριχοειδούς χρωματογραφικής στήλης μεγάλης διαχωριστικής ικανότητας, προσφέρει άριστες δυνατότητες ανάλυσης του συγκεκριμένου είδους ενώσεων, ενώ ο ευρέως χρησιμοποιούμενος ανιχνευτής ιονισμού φλόγας (FID) προσφέρει καλή ευαισθησία.

Συγκεντρωτικά, η συγκεκριμένη μέθοδος δειγματοληψίας και η μέθοδος ανάλυσης που χρησιμοποιούνται στην συγκεκριμένη μελέτη για τον προσδιορισμό των μονοτερπενίων, προσφέρουν πλεονεκτήματα, όπως α) η απλότητα, β) η ευκολία στην χρήση, γ) η ικανότητα επαναχρησιμοποίησης των σωλήνων δειγματοληψίας, δ) το χαμηλότερο κόστος και βάρος των συσκευών, ε) τον περιορισμό σε μεγάλο βαθμό της υγρασίας, στ) η ευκολία στις μετρήσεις πεδίου, ζ) η άριστη διαχωριστικότητα και θερμική σταθερότητα της χρωματογραφικής στήλης και τέλος, η) η μεγάλη αξιοπιστία και ακρίβεια στον προσδιορισμό των ενώσεων.

Επίσης, η προσυγκέντρωση του δείγματος έχει ως αποτέλεσμα όχι μόνο να βελτιώνει το όριο ανίχνευσης της αναλυτικής μεθόδου αλλά και να μειώνει τις επιδράσεις υποβάθρου και έτσι να αυξάνεται η αξιοπιστία της μεθόδου.

Συνεπώς στην παρούσα εργασία, θα ασχοληθούμε με την μέθοδο προσδιορισμού των εν λόγω ενώσεων. Ξεκινώντας από την οργανολογία που χρησιμοποιείται για την ανάλυση τους, θα περιγραφεί η λειτουργία τους, τα εξαρτήματα από τα οποία αποτελούνται και οι παράμετροι που χρησιμοποιούνται για τον καλύτερο προσδιορισμό των ενώσεων αυτών. Ακόμη, θα περιγραφεί η μέθοδος και το σύστημα δειγματοληψίας των ενώσεων.

Τέλος θα αναφερθούν όλες οι αναλυτικές παράμετροι που μελετήθηκαν για να ελέγξουν την αξιοπιστία της συγκεκριμένης μεθόδου προσδιορισμού.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ & ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ

3.1. Εισαγωγή

Στην παρούσα εργασία, για τον προσδιορισμό των μονοτερπενίων, επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθεί η μέθοδος EPA TO-1 (Προσδιορισμός των οργανικών πτητικών ενώσεων χρησιμοποιώντας προσρόφηση σε Tenax TA/αέρια χρωματογραφία/φασματομετρία μάζας) σε συνδυασμό με την μέθοδο EPA TO-17 (Προσδιορισμός των οργανικών πτητικών ενώσεων χρησιμοποιώντας ενεργό δειγματοληψία σε προσροφητικούς σωλήνες). Ενώσεις που μπορούν να προσδιοριστούν με τις παραπάνω μεθόδους, είναι μη πολικές οργανικές ενώσεις με σημείο βρασμού από 80°C έως 200 °C.

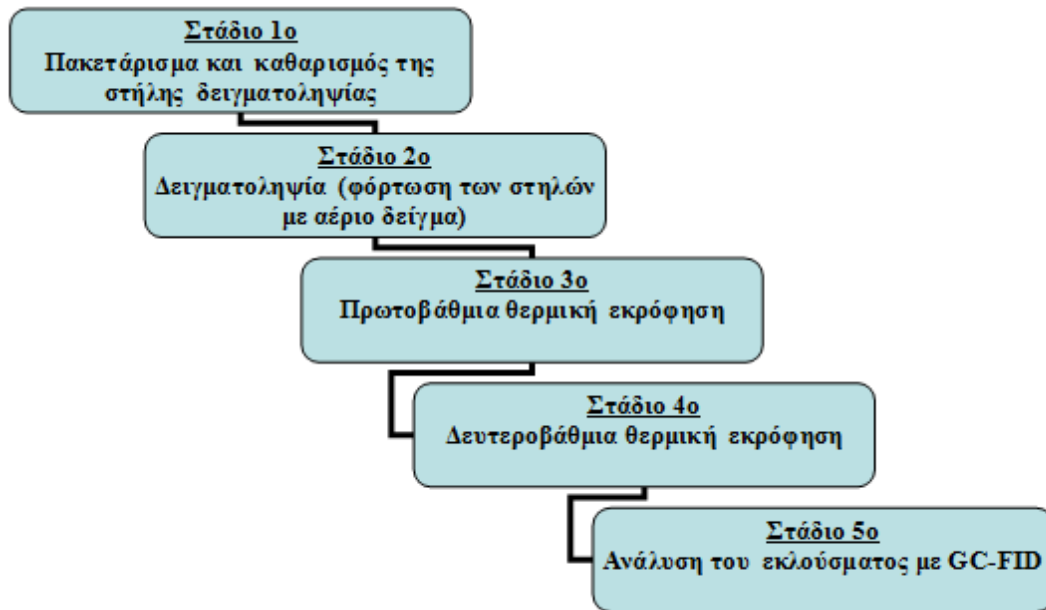
Στην μέθοδο EPA TO-1 ατμοσφαιρικός αέρας διέρχεται μέσα από μία στήλη δειγματοληψίας (cartridge) πακεταρισμένη με προσροφητικό υλικό Tenax TA. Ορισμένες πτητικές οργανικές ενώσεις παγιδεύονται και κατακρατούνται στο προσροφητικό υλικό της στήλης, ενώ τα ανόργανα συστατικά της ατμόσφαιρας περνούν και εξέρχονται από αυτήν.

Έπειτα, για την ανάλυση της στήλης, αυτή τοποθετείται σε έναν θερμαινόμενο θάλαμο και καθαρίζεται με ένα αδρανές αέριο (αέρας). Στην συνέχεια, το φέρον αέριο (στην παρούσα μελέτη είναι ήλιο (He)) μεταφέρει τις ουσίες από την στήλη στην κρυοπαγίδα και στην συνέχεια στην αεριοχρωματογραφική στήλη στην οποία διαχωρίζονται οι ουσίες.

Τα συστατικά εκλούσεως από την χρωματογραφική στήλη θα ανιχνευτούν και θα ποσοτικοποιηθούν με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID), αντί για φασματογράφο μάζας (MS) που προτείνεται στην μέθοδο.

Όλα τα στάδια της μεθόδου, από το πακετάρισμα της στήλης δειγματοληψίας έως και την ανάλυση του δείγματος πραγματοποιήθηκαν από τον αναλυτή και για αυτό το λόγο ο έλεγχος της εγγύτητας και της επαναληψιμότητας του κάθε σταδίου κρίνεται απαραίτητος. Στα υποκεφάλαια που ακολουθούν γίνεται αναλυτική περιγραφή του κάθε σταδίου καθώς και των ελέγχων που πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο.

Στην παρούσα μελέτη η όλη διαδικασία για τον προσδιορισμό των μονοτερπενίων, περιγράφεται περιληπτικά με τα ακόλουθα στάδια (εικόνα 8):



Εικόνα 8. Συνολική διαδικασία ανάλυσης των μονοτερπενίων με την μέθοδο TO-1.

3.2. Προετοιμασία των Στηλών Δειγματοληψίας (cartridges)

Στην παρούσα μελέτη, το δείγμα εισέρχεται και παγιδεύεται σε ειδικές στήλες (cartridges) δειγματοληψίας που έχουν την ικανότητα να τις δεσμεύουν στο προσροφητικό τους. Οι στήλες αυτές, πακετάρονται από τον αναλυτή χρησιμοποιώντας κάποιο προσροφητικό. Η προσυγκέντρωση αυτή του δείγματος έχει ως αποτέλεσμα όχι μόνο να βελτιώνει το όριο ανίχνευσης της αναλυτικής μεθόδου αλλά και να μειώνει τις επιδράσεις υποβάθρου και έτσι να αυξάνεται η αξιοπιστία της μεθόδου.

Στον πίνακα του παραρτήματος I, που χρησιμεύει ως οδηγός για την επιλογή του προσροφητικού υλικού που χρησιμοποιήθηκε, εμφανίζονται όλα τα προσροφητικά υλικά που υπάρχουν καθώς και οι θερμοκρασίες αντοχής τους, οι ουσίες που συγκρατούν και το εύρος μεταβλητότητας τους. Επειδή σύμφωνα με την βιβλιογραφία, τα καταλληλότερα προσροφητικά για την δειγματοληψία μονοτερπενίων είναι τα Tenax-GR και Tenax TA (Hollender et al., 2002) στην παρούσα μελέτη, το προσροφητικό που χρησιμοποιείται για την πλήρωση τόσο των στηλών δειγματοληψίας όσο και της κρουοπαγίδας είναι το Tenax TA.

Το συγκεκριμένο προσροφητικό, είναι ένα πορώδες πολυμερές ρητίνης βασισμένο στο οξείδιο 2,6-διφαινυλένιο. Έχει σχεδιαστεί συγκεκριμένα για την παγίδευση των πτητικών ουσιών και των ήμι-πτητικών ουσιών από την ατμόσφαιρα ή που έχουν εξατμιστεί από υγρές ή στερεές μήτρες δειγμάτων. Το Tenax TA μπορεί να εφαρμοστεί και ως υλικό συσκευασίας στηλών δειγματοληψίας και ως υλικό πακεταρίσματος παγίδων για τις οργανικές πτητικές και ήμι-πτητικές ενώσεις. Λόγω της χαμηλής συγγένειάς του με το νερό (υδρόφοβο) (ικανότητα μη κατακράτησης υγρασίας), είναι ιδιαίτερα χρήσιμο για την εξάτμιση και την παγίδευση πτητικών ουσιών, από δείγματα με υψηλή περιεκτικότητα υγρασίας, συμπεριλαμβανομένης και της ανάλυσης των πτητικών οργανικών ενώσεων στο νερό. Έχει χαμηλό επίπεδο ακαθαρσιών και αντέχει σε θερμοκρασία έως 350 °C. Η πυκνότητα του είναι 0,25 g/cc, το μέσο μέγεθος των πόρων του 200 nm και ο όγκος τους 2,4 cc/g. Το μέγεθος του πλέγματος του είναι 60/80 mesh το οποίο συνίσταται, για να αποφευχθεί η πτώση πίεσης στο εσωτερικό του σωλήνα, η οποία μπορεί να προκαλέσει βλάβη της αντλίας. Η προσροφητική του ικανότητα οφείλεται στην ρητίνη η οποία κατακρατεί τις ενώσεις (μονοτερπένια) που μας ενδιαφέρουν.

Η διαφορά του με το Tenax GR είναι η προσθήκη 25% ανθρακικού γραφίτη στο Tenax GR, έτσι ώστε να αυξηθεί η χωρητικότητά του.

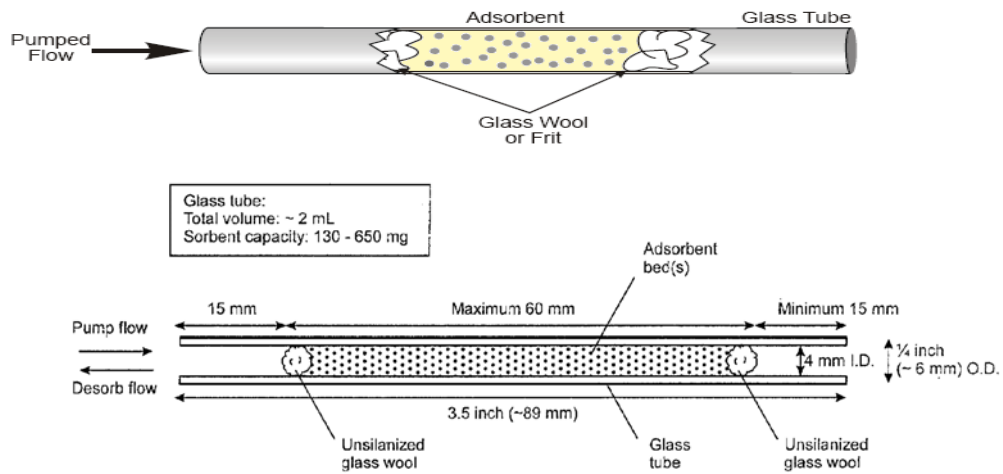
Οι στήλες δειγματοληψίας (cartridges) είναι κατασκευασμένοι είτε από ύαλο (γυάλινοι σωλήνες) είτε από χάλυβα (ατσάλινοι σωλήνες). Οι διαστάσεις των στηλών φαίνονται στις εικόνες 9 και 10 όπου παρουσιάζονται οι χρησιμοποιούμενες στήλες (cartridges). Το πακετάρισμα των γυάλινων στηλών γίνεται από τον αναλυτή με τα εξής βήματα:

1. Στην αρχή, ο αναλυτής αφήνει περίπου 15mm από τα δύο άκρα της στήλης, εξαιτίας του ότι τα δύο άκρα της στήλης δεν θερμαίνονται κατά την πρωτοβάθμια εκρόφηση αλλά και για να ελαχιστοποιηθούν τα δειγματοληπτικά σφάλματα που οφείλονται σε αυτά.
2. Τοποθετεί ένα κομμάτι υαλοβάμβακα στο ένα άκρο της στήλης.
3. Γεμίζει τη στήλη, με βοήθεια μικρής χοάνης, με 250 mg Tenax TA.
4. Τέλος, κλείνει το άλλο άκρο της στήλης με υαλοβάμβακα.

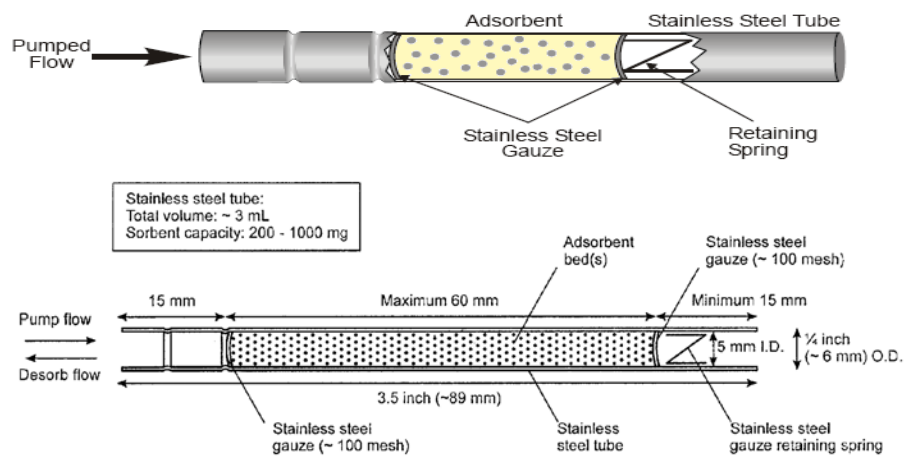
Στις στήλες από χάλυβα ακολουθείται η ίδια διαδικασία αλλά αντί για υαλοβάμβακα, χρησιμοποιείται ένα ανοξειδωτο δισκάκι από γάζα στο ένα άκρο και ένα δισκάκι από γάζα στο άλλο για να εγκλωβιστεί το προσροφητικό υλικό ενδιάμεσα. Το δισκάκι συγκρατιέται μέσα στη στήλη με ένα ελατήριο που τοποθετείται στο άκρο της.

Έπειτα από το πακετάρισμα των στηλών δειγματοληψίας (cartridges), ακολουθεί ο καθαρισμός αυτών (conditioning), ο οποίος επιτυγχάνεται με θέρμανση των στηλών για 3-4 ώρες στους 320°C υπό συνεχή ροή ηλίου ως φέρον αέριο, 100-120 ml/min σύμφωνα με τον πίνακα του παραρτήματος IV.

Μετά τον καθαρισμό τους οι στήλες δειγματοληψίας κλείνονται και από τα δύο άκρα με καπάκια, τύπου Swagelok ¼ ιντσών και PTFE ferrules και φυλάσσονται στο ψυγείο στους 4°C περίπου, μέχρι την δειγματοληψία. Οι στήλες πρέπει να χρησιμοποιηθούν για την δειγματοληψία μέσα σε 2 εβδομάδες μετά την προετοιμασία τους και να αναλυθούν το πολύ μέσα σε 2 εβδομάδες μετά την δειγματοληψία (Environmental Protection Agency, EPA TO-1). Αφού χρησιμοποιηθούν και αναλυθούν, θα πρέπει να καθαριστούν ξανά (reconditioning) με σκοπό να απομακρυνθούν κάποια ίχνη ακαθαρσιών που τυχόν υπάρχουν μετά την χρήση.



Εικόνα 9. Γυάλινη δειγματοληπτική στήλη



Εικόνα 10. Ατσάλινη δειγματοληπτική στήλη



Εικόνα 11. Δειγματοληπτικές στήλες (cartridges)

3.3. Οργανολογία της Μεθόδου Προσδιορισμού των Μονοτερπενίων

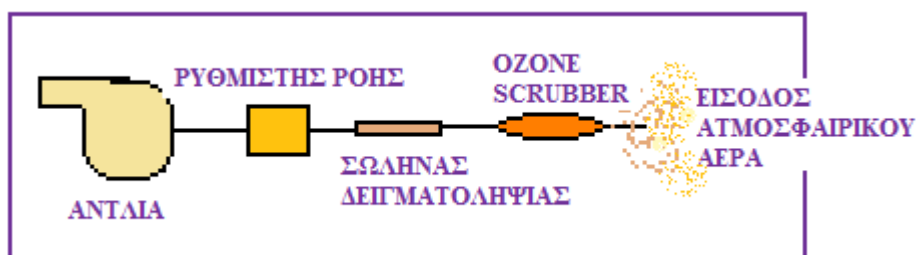
Στην παρούσα μέθοδο προσδιορισμού, υπάρχουν δύο συστήματα, το σύστημα της δειγματοληψίας και το σύστημα της ανάλυσης των ενώσεων τα οποία θα περιγραφούν αναλυτικά στις ακόλουθες ενότητες. Πρώτα θα περιγραφεί το σύστημα δειγματοληψίας και οι συνθήκες δειγματοληψίας και έπειτα το σύστημα ανάλυσης και τα όργανα από τα οποία αποτελείται αυτό.

3.3.1. Δειγματοληψία και Δειγματοληπτικός Εξοπλισμός

Όπως ήδη έχει προαναφερθεί, η δειγματοληψία για τις βιογενείς πτητικές οργανικές ενώσεις στην παρούσα μελέτη, γίνεται σε στήλες προσρόφησης (cartridges) γεμάτες με κατάλληλο προσροφητικό (Tenax TA). Καθώς η παρουσία υγρασίας και όζοντος μπορεί να επηρεάσει τις ενώσεις καταστρέφοντας μέρος τους στο στάδιο της δειγματοληψίας, κρίνεται απαραίτητη η χρήση κατάλληλης παγίδας πριν από την στήλη προσρόφησης (Helmig, 1997).

Η διάταξη δειγματοληψίας για την συλλογή του δείγματος απεικονίζεται σχηματικά στην παρακάτω εικόνα και αποτελείται από τα ακόλουθα σε σειρά μέρη:

1. Μία συσκευή κατακράτησης του όζοντος (ozone scrubber)
2. Την στήλη δειγματοληψίας για την προσρόφηση του δείγματος
3. Ένα ρυθμιστή ροής
4. Μία αντλία



Εικόνα 12. Απεικόνιση δειγματοληπτικού εξοπλισμού

Ο ατμοσφαιρικός αέρας εισέρχεται από την αντλία και κινείται προς την στήλη δειγματοληψίας. Σύμφωνα με την μέθοδο TO-1 της EPA, κάθε ένωση έχει ένα χαρακτηριστικό όγκο συγκράτησης μέσα στο προσροφητικό (λίτρα αέρα ανά γραμμάριο προσροφητικού), τον οποίο δεν πρέπει να υπερβούμε διότι θα προκύψει breakthrough των ενώσεων.

Για να υπολογίσουμε τον μέγιστο συνολικό όγκο αέρα που μπορούμε να συλλέξουμε κατά την δειγματοληψία χρησιμοποιούμε τον ακόλουθο τύπο:

$$V_{\max} = \frac{V_b \times W}{1,5} \quad (1)$$

Όπου, το V_{\max} είναι ο συνολικός όγκος αέρα που μπορεί να συλλεχθεί στο προσροφητικό σε λίτρα, το V_b είναι ο όγκος breakthrough των ενώσεων που μας ενδιαφέρουν, το W είναι το βάρος του προσροφητικού στο δειγματοληπτικό σωλήνα σε γραμμάρια και το 1,5 είναι ένας αδιάστατος παράγοντας της διακύμανσης των ατμοσφαιρικών συνθηκών.

Για να υπολογίσουμε έπειτα την μέγιστη ροή δειγματοληψίας χρησιμοποιούμε τον τύπο:

$$Q_{\max} = \frac{V_{\max}}{t} \times 1000 \quad (2)$$

Όπου, Q_{\max} είναι η υπολογιζόμενη ροή δειγματοληψίας σε ml/min και t είναι ο επιθυμητός χρόνος δειγματοληψίας σε min.

Σύμφωνα με μελέτη που έχει γίνει από τους Simon et al., το 1995 αποδείχθηκε ότι οι τιμές των όγκων breakthrough των ενώσεων αυξάνονται κατά σειρά ως εξής: α -πινένιο < μυρκένιο < σαμπινένιο < β -πινένιο < 3-καρένιο- δ -λεμονένιο. Σύμφωνα με την μελέτη τους, στον πίνακα που ακολουθεί αναγράφονται οι όγκοι breakthrough των εν λόγω ενώσεων σε Tenax TA όταν η συγκέντρωσή τους είναι 3 ppb (v/v) και η θερμοκρασία είναι 24°C.

Monoterpene	BTV at 24 ± 1°C (l g ⁻¹)
α -pinene	16.3
β -pinene	21.4
Myrcene	17.9
Sabinene	20.9
Δ^3 -carene	>21.4
Limonene	>21.4

Πίνακας 8. Όγκοι Breakthrough των υπό μελέτη ενώσεων συγκέντρωσης 3 ppb (v/v)
(Simon et al., 1995)

Σύμφωνα με τον πίνακα, όταν η συγκέντρωση των ενώσεων είναι 3 ppbv στους 24° C, ο όγκος breakthrough του πινενίου, για παράδειγμα, είναι 16,3 λίτρα ένωσης ανά γραμμάριο προσροφητικού. Επειδή το α-πινένιο παρουσιάζει τον μικρότερο όγκο breakthrough θα το λάβουμε ως ένωση αναφοράς για τους υπολογισμούς μας.

Άρα από τον τύπο $V_{\max} = \frac{V_b \times W}{1,5}$, εάν στην ατμόσφαιρα η συγκέντρωση του

πινενίου είναι 3 ppbv και το βάρος του προσροφητικού στον δειγματοληπτικό σωλήνα είναι 0,25 γραμμάρια, ο μέγιστος όγκος δειγματοληψίας θα πρέπει να είναι 2,7 l ατμοσφαιρικού αέρα. Εάν υποθέσουμε ότι η μέγιστη ροή δειγματοληψίας είναι 75 ml/min (σύμφωνα με την βιβλιογραφία η ροή κυμαίνεται από 50 έως 100 ml/min),

τότε σύμφωνα με τον τύπο $Q_{\max} = \frac{V_{\max}}{t} \times 1000$, ο χρόνος δειγματοληψίας θα είναι

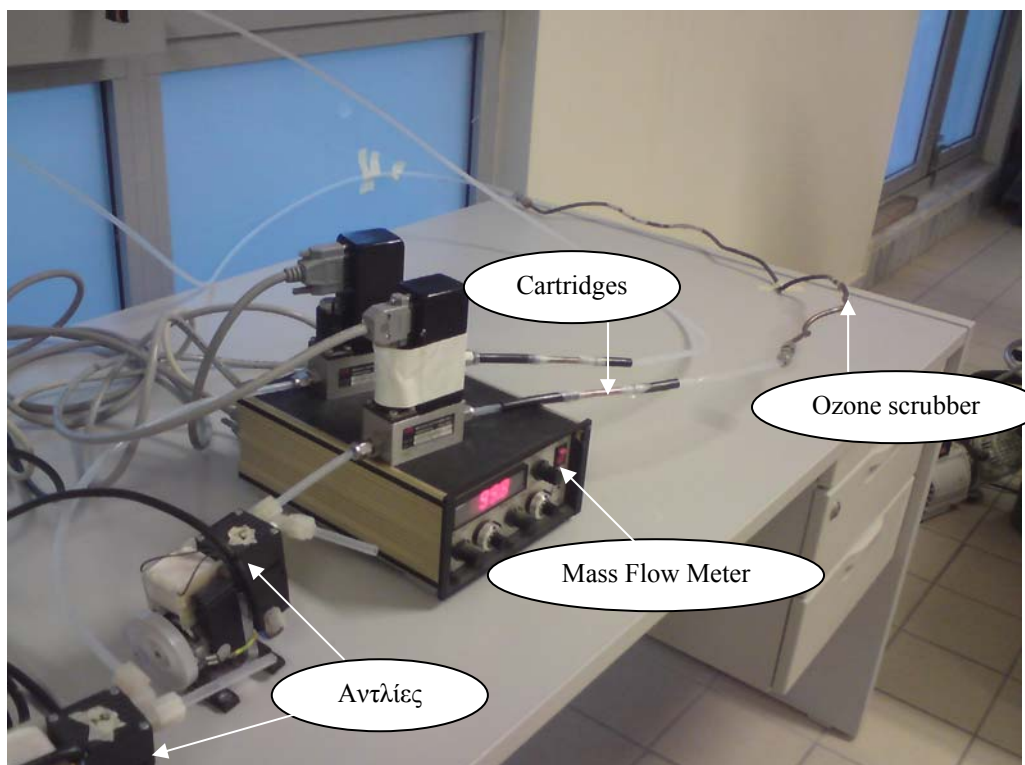
36 λεπτά.

Στα πλαίσια της καμπάνιας AEROBIC (Aerosol formation from Biogenic organic Carbon) που έλαβε μέρος στα Άγραφα όρη στο Πεττούλι, τα κυρίαρχα μετρούμενα μονοτερπένια που ανιχνεύτηκαν ήταν τα α- και β-πινένιο, λιμονένιο και καμφένιο και εμφάνιζαν όλα παρόμοια ημερήσια διακύμανση με μέγιστες νυχτερινές συγκεντρώσεις της τάξης των 0.5-2 ppbv (Kabouras et al. 1999).

Εξαιτίας του ότι η ατμόσφαιρα που πραγματοποιούνται τα πειράματα μας δεν είναι δασική και ούτε επικρατούν καλοκαιρινές συνθήκες και δεδομένου ότι οι ανωτέρω συγκεντρώσεις (0,5-2 ppbv) έχουν ανιχνευτεί σε δασική περιοχή και την περίοδο του καλοκαιριού, υποθέτουμε ότι οι συγκεντρώσεις των ενώσεων στην ατμόσφαιρα μας θα είναι χαμηλότερες από αυτές. Συνεπώς, μπορούμε να συλλέξουμε περισσότερα λίτρα αέρα ανά γραμμάριο Tenax TA αυξάνοντας το χρόνο δειγματοληψίας, με σκοπό να βρούμε κάποια από τις ουσίες, χωρίς να περνάμε τον όγκο breakthrough αυτών.

Οι συνθήκες λοιπόν που χρησιμοποιούνται στην παρούσα διατριβή για την δειγματοληψία είναι:

Συνθήκες Δειγματοληψίας	
Ροή ατμοσφαιρικού αέρα	75 ml/min
Όγκος ατμοσφαιρικού αέρα	4,5 L
Χρόνος δειγματοληψίας	60 min



Εικόνα 13. Το Σύστημα δειγματοληψίας

Σύμφωνα με τις περισσότερες αναφορές, έχει αποδειχθεί ότι το όζον του ατμοσφαιρικού αέρα μπορεί να αντιδράσει με τις ενώσεις που μας ενδιαφέρουν (μονοτερπένια) προκαλώντας διάφορες επιμολύνσεις στα δείγματα που λαμβάνονται ή κατακρατώντας ποσότητα της ένωσης (Calogirou et al. (1996), Peters et al. (1994), Janson R. W. (1993), Hoffman T. (1995), Roberts et al. (1983), Helmig D. (2006)).

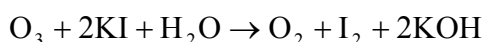
Συγκεκριμένα, τερπένια που περιέχουν ένα διπλό δεσμό (π.χ. β-πινένιο) παρουσιάζουν μερική αποσύνθεση, ενώ τερπένια που περιέχουν δύο ή τρεις διπλούς δεσμούς άνθρακα (π.χ. λεμονένιο και μυρκένιο) υφίστανται σημαντική αποσύνθεση παρουσιάζοντας σημαντικές απώλειες σε υδρογονάνθρακα και επιπλέον αντιδρούν δέκα φορές περισσότερο με το όζον (Hoffman T., 1995, Larsen B. et al. 1997). Για την απομάκρυνση του όζοντος πριν την συλλογή, πριν από την στήλη δειγματοληψίας τοποθετείται συσκευή κατακράτησης του όζοντος (ozone scrubber). Τα κριτήρια για την επιλογή μιας συσκευής απομάκρυνσης του όζοντος είναι:

- να είναι οικονομική και εύκολη στην χρήση,
- να έχει μεγάλη διάρκεια ζωής,
- να επιτρέπει την ανάλυση μεγάλου εύρους ενώσεων και
- να έχει υψηλή ικανότητα απομάκρυνσης.

Επιγραμματικά αναφέρονται κάποιες τεχνικές απομάκρυνσης του όζοντος: Al_2O_3 , CuO , FeSO_4 , MgSO_4 , MnO_2 , KI , K_2CO_3 , KOH , NaOH , Na_2CO_3 , μεταλλικές επιφάνειες, πολυαιθυλένιο κ.λπ. (Helmig, 1997). Η επιλογή εξαρτάται από το είδος της ανάλυσης και από την ανθρακική αλυσίδα των υδρογονανθράκων (Helmig, 1997). Η τεχνική απομάκρυνσης του όζοντος που χρησιμοποιείται στην παρούσα μελέτη είναι η αντίδραση του με το ιωδιούχο κάλιο (KI) το οποίο βρίσκεται ενσωματωμένο στην συσκευή (ozone scrubber).

Σύμφωνα με αναφορές έχει διαπιστωθεί ότι η απόδοση των συσκευών απομάκρυνσης του όζοντος, εξαρτάται από τα επίπεδα σχετικής υγρασίας που περιέχει ο αέρας του δείγματος (Kleindienst et al. (1995), Parmer and Grosjean (1990)). Ισχυρά μειωμένη απόδοση παρατηρείται για ξηρό αέρα, ενώ για επίπεδα υγρασίας περιβάλλοντος η απόδοση είναι αρκετά ικανοποιητική.

Η διαπίστωση αυτή στηρίζεται πιθανώς στην καταστροφή του όζοντος από το KI που πιστεύεται ότι ακολουθεί μία επιφανειακή αντίδραση περιλαμβάνοντας το νερό από την ατμοσφαιρική υγρασία:



Η μέθοδος δειγματοληψίας λαμβάνει υπόψη τις παρεμποδίσεις λόγω παρουσίας όζοντος χρησιμοποιώντας την συσκευή απομάκρυνσης του καθώς και τις παρεμποδίσεις λόγω υγρασίας χρησιμοποιώντας υδροφοβικό προσροφητικό.

3.3.1.1. Συνθήκες Δειγματοληψίας

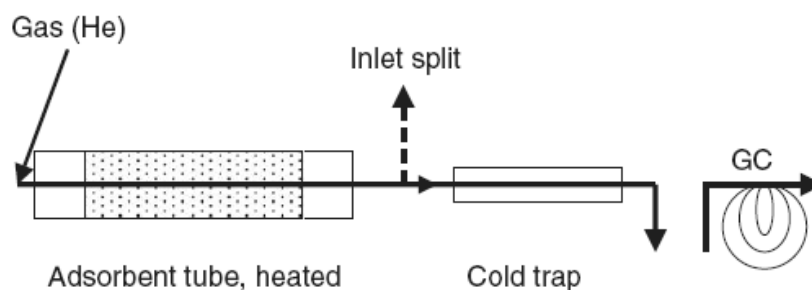
Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης συλλέχθηκαν δείγματα από τον περιβάλλοντα χώρο του Πανεπιστημίου στο Ηράκλειο Κρήτης. Το Ηράκλειο είναι μία μεγάλη αστική πόλη, με περίπου 135000 κατοίκους σύμφωνα με την Ελληνική απογραφή του 2001. Το πανεπιστήμιο βρίσκεται σε μία προαστιακή περιοχή του Δήμου Ηρακλείου τις Βούτες, ένα χωριό με 600 περίπου κατοίκους. Παρ' ότι, βρίσκεται στην ύπαιθρο σε ύψωμα, είναι πολύ κοντά στο κεντρικό νοσοκομείο της πόλης και περιβάλλεται από καλλιεργούμενες εκτάσεις όπως ελιές και αμπέλια. Κατά την περίοδο δειγματοληψίας (χειμερινή περίοδος) για την συγκεκριμένη μελέτη, επικρατούσε αρκετή ηλιοφάνεια, βόρειοι και νότιοι άνεμοι και η θερμοκρασία της ατμόσφαιρας ήταν 18 με 20°C.

3.3.2. Αναλυτική Μέθοδος

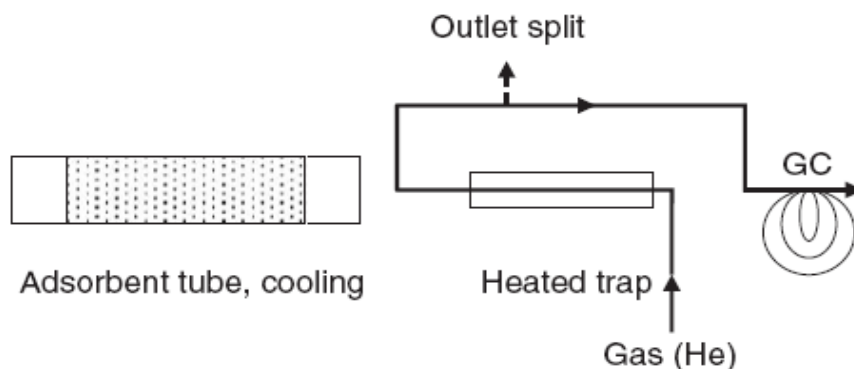
Μετά το πέρας της δειγματοληψίας, η κάθε δειγματοληπτική στήλη αναλύεται με την μέθοδο της θερμικής εκρόφησης. Η μέθοδος αυτή περιλαμβάνει την παγίδευση των αερίων ενώσεων σε στερεά προσροφητικά υλικά και στη συνέχεια τη θερμική εκρόφηση τους. Η αρχή λειτουργίας του θερμικού εκροφητή (Thermal Desorber) παρουσιάζεται στις παρακάτω εικόνες 14 & 15. Ουσιαστικά γίνεται εκρόφηση των ενώσεων σε δύο στάδια, με το πρώτο στάδιο να περιλαμβάνει την εκρόφηση των ενώσεων από τις στήλες δειγματοληψίας (cartridges). **Η διαδικασία αυτή ονομάζεται πρωτοβάθμια εκρόφηση.**

Οι ενώσεις στην συνέχεια παγιδεύονται σε μια δεύτερη παγίδα γεμάτη με κατάλληλο προσροφητικό (Tenax TA). Η παγίδα αυτή κρυώνει ηλεκτρικά (Peltier, -30 °C) και γίνεται προσυγκέντρωση των πτητικών οργανικών ενώσεων. Σημαντικό πλεονέκτημα του συστήματος είναι ότι δεν χρησιμοποιείται εξωτερικά κάποιο μέσο ψύξης (υγρό άζωτο, ξηρός πάγος). Μετά την ψύξη, η παγίδα θερμαίνεται ταχύτατα και οι ενώσεις μεταφέρονται στον αέριο χρωματογράφο όπου και διαχωρίζονται. **Η διαδικασία αυτή ονομάζεται δευτεροβάθμια εκρόφηση.** Τόσο κατά το πρώτο στάδιο εκρόφησης, όσο και κατά το δεύτερο, η μέγιστη θερμοκρασία μπορεί να φτάσει τους 400 °C, θερμοκρασία που εξασφαλίζει την ποσοτική εκρόφηση των ενώσεων.

Ο διαχωρισμός και η ποσοτική ανάλυση των ενώσεων πραγματοποιείται με την μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας GC και η ανίχνευση τους πραγματοποιείται με τον ανιχνευτή ιοντισμού φλόγας FID.



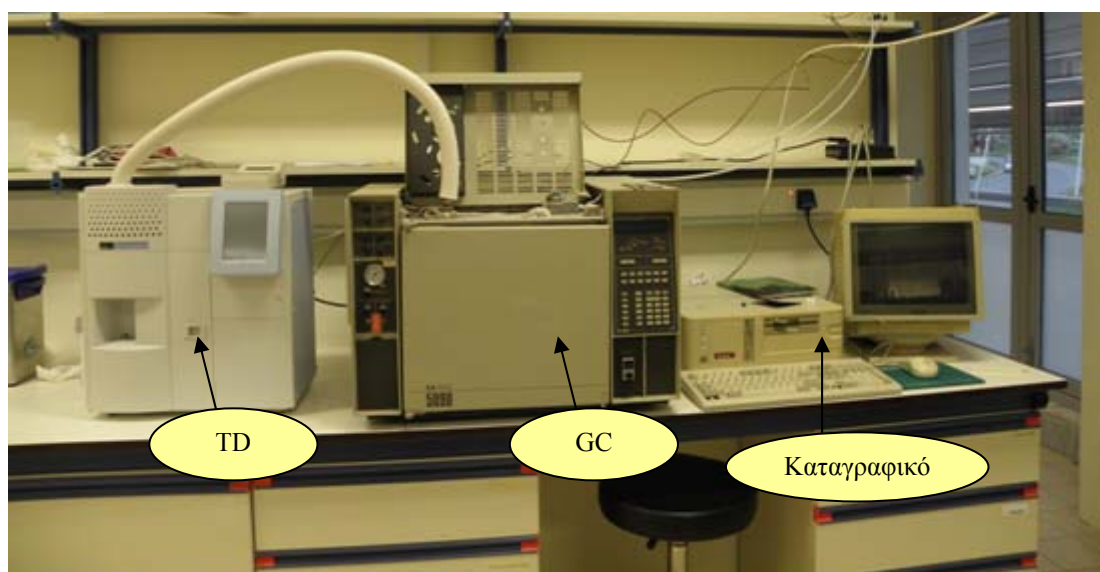
Εικόνα 14. Αρχή Λειτουργίας του Θερμικού Εκροφητή (TD). **Πρωτοβάθμια Εκρόφηση.** Ο προσροφητικός σωλήνας θερμαίνεται υπό συνεχές ροή αερίου και οι αναλύτες εκροφώνται και μεταφέρονται στην κρυοπαγίδα, όπου εκ νέου συλλέγονται. Είναι δυνατόν να χωριστεί τμήμα του εκροφημένου δείγματος (Inlet split) (Sunesson Anna-Lena, 2007).



Εικόνα 15. Αρχή Λειτουργίας του Θερμικού Εκροφητή (TD). **Δευτεροβάθμια Εκρόφηση.** Η κρυοπαγίδα θερμαίνεται γρήγορα υπό το ρεύμα του φέροντος αερίου και οι παγιδευμένοι αναλύτες μεταφέρονται στην χρωματογραφική στήλη. Η κατεύθυνση της ροής του φέροντος αερίου κατά την πρωτοβάθμια εκρόφηση είναι αντίστροφη από ότι η ροή του αερίου στην παγίδα. Τμήμα του δείγματος χωρίζεται συνήθως (outlet split) πριν από τη στήλη (Sunesson Anna-Lena, 2007).

Το σύστημα που χρησιμοποιείται για την ανάλυση των στηλών δειγματοληψίας, απεικονίζεται στην ακόλουθη εικόνα 16 και περιλαμβάνει τα μηχανήματα τα οποία αναλύονται παρακάτω και είναι:

1. Ένα σύστημα θερμικής εκρόφησης (Turbo Matrix 100 TD Single Tube Thermal Desorber, Perkin-Elmer).
2. Έναν αέριο χρωματογράφο Hewlett-Packard 5890 με τριχοειδή χρωματογραφική κολώνα και ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID).
3. Ένα καταγραφικό.

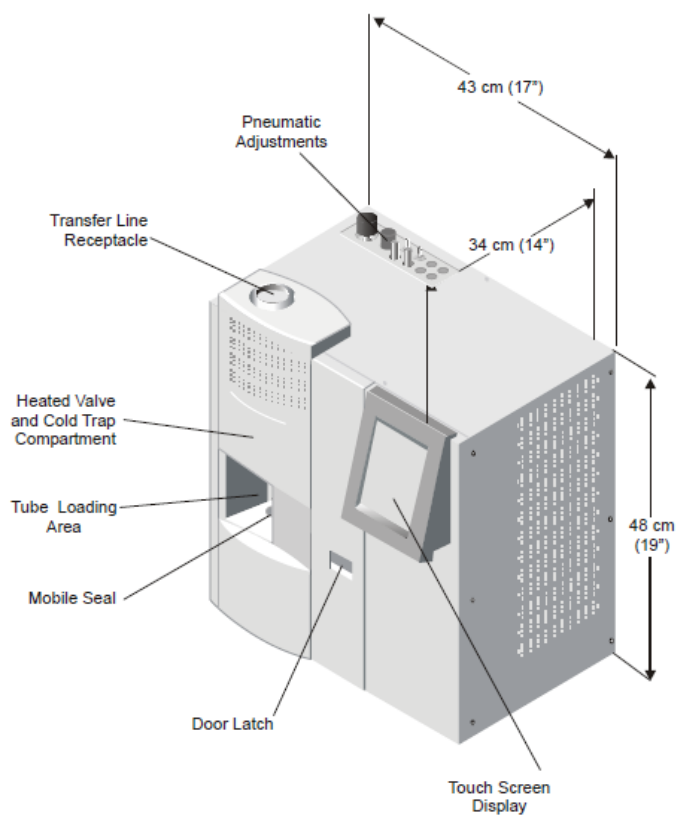


Εικόνα 16. Σύστημα για την ανάλυση των δειγμάτων

3.3.3. Σύστημα Θερμικής Εκρόφησης (Thermal Desorber)

Το σύστημα θερμικής εκρόφησης (Turbo Matrix 100 TD) που χρησιμοποιείται παρουσιάζεται στην παρακάτω εικόνα και αποτελείται από έξι βασικά τμήματα τα οποία είναι:

- a. Σύστημα παροχής αερίων
- b. Σύστημα εισαγωγής του δείγματος
- c. Κρυοπαγίδα
- d. Γραμμή μεταφοράς του δείγματος
- e. Ρυθμιστές ροής
- f. Οθόνη αφής

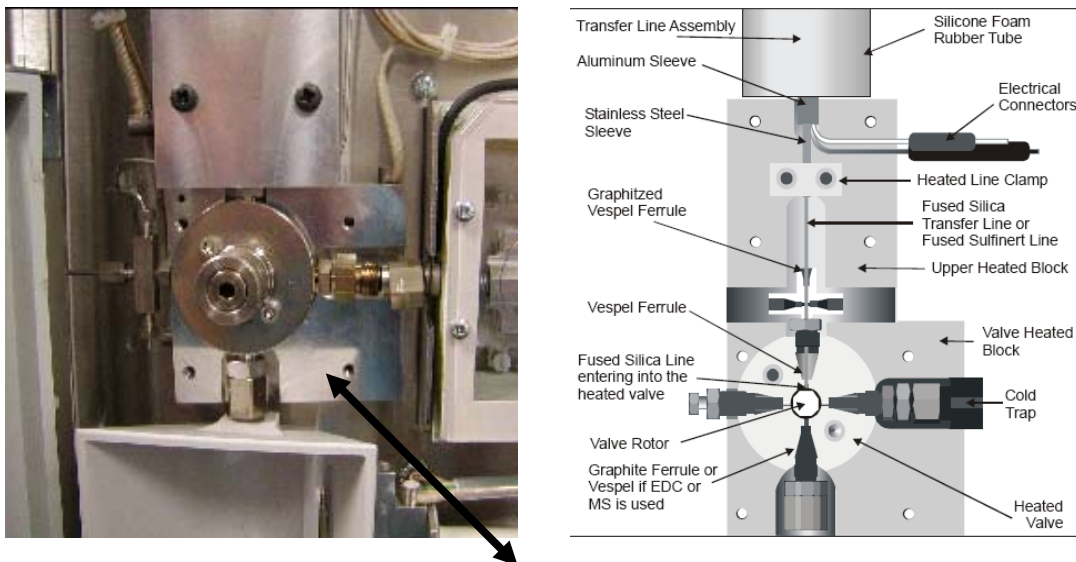


Εικόνα 17. Θερμικός Εκροφητής – Turbo Matrix TD 100

3.3.3.1. Σύστημα Παροχής Αερίων - Θερμαινόμενη Βαλβίδα (Heated Valve)

Το σύστημα παροχής αερίων αποτελεί μία θερμαινόμενη βαλβίδα, η οποία είναι μια περιστροφική βαλβίδα τεσσάρων θέσεων όπως απεικονίζεται στην εικόνα 18 και χρησιμοποιείται:

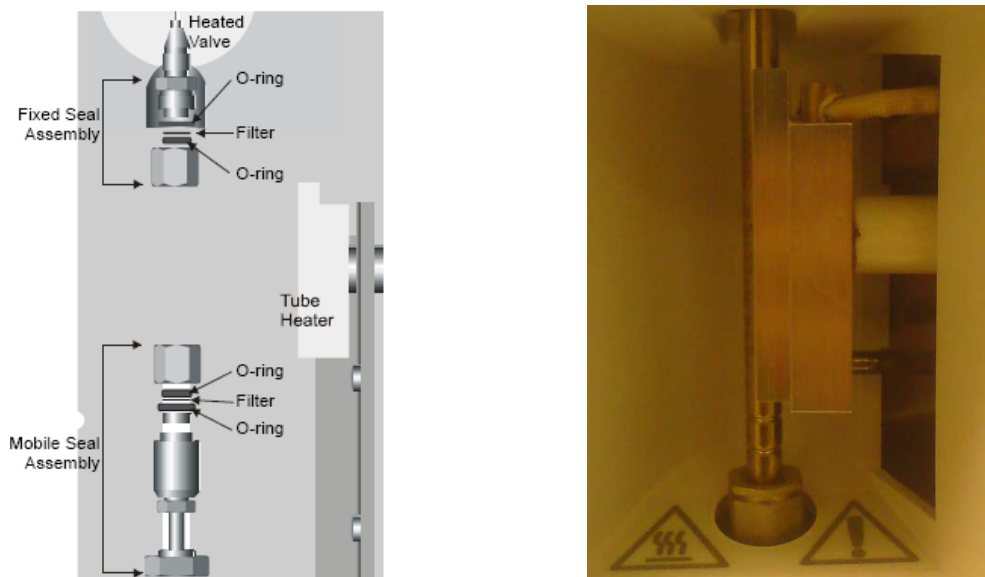
- για να κατευθύνει τη ροή του φέροντος αερίου και κατά συνέπεια και του δείγματος στην κρύα παγίδα κατά τη διάρκεια της διαδικασίας πρωτοβάθμιας εκρόφησης ή
- για να απομονώνει την κρύα παγίδα κατά τη διάρκεια της περιβαλλοντικής προσαρμογής των σωλήνων (conditioning tube) ή την στήλη κατά τον καθαρισμό της κρυοπαγίδας (trap clean).



Εικόνα 18. Θερμαινόμενη Βαλβίδα

3.3.3.2. Σύστημα Εισαγωγής του Δείγματος

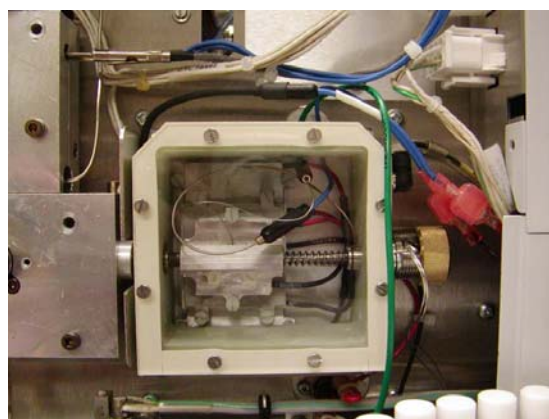
Το σύστημα εισαγωγής του δείγματος, αποτελεί, ένας ειδικός χώρος στον θερμικό εκροφητή όπου τοποθετείται η στήλη με το δείγμα με σκοπό την ανάλυση του. Ο χώρος αυτός απεικονίζεται στην ακόλουθη εικόνα 19 και περιλαμβάνει έναν φούρνο, που αποτελείται από ένα θερμοστατικό τμήμα μετάλλου, το οποίο έρχεται σε επαφή με τον δειγματοληπτικό σωλήνα κατά την διάρκεια της πρωτοβάθμιας εκρόφησης και τον θερμαίνει με σκοπό την εκρόφηση των προσροφημένων ουσιών προς την παγίδα.



Εικόνα 19. Σύστημα εισαγωγής δείγματος και Πρωτοβάθμια Εκρόφηση

3.3.3.3. Κρυοπαγίδα

Ο θερμικός εκροφητής έχει ενσωματωμένη μία παγίδα, πακεταρισμένη με προσροφητικό Tenax TA, η οποία προσυγκεντρώνει τις πτητικές ουσίες πριν την έγχυση τους στην χρωματογραφική στήλη, κατά την διαδικασία της δευτεροβάθμιας εκρόφησης. Η κρυοπαγίδα εμφανίζεται στην εικόνα 20.



Εικόνα 20. Κρυοπαγίδα

3.3.3.4. Γραμμή Μεταφοράς του Δείγματος

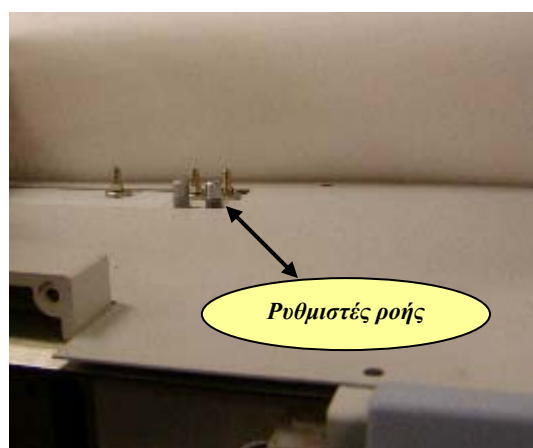
Η γραμμή μεταφοράς του δείγματος όπως εμφανίζεται στην εικόνα 21 συνδέει τον θερμικό εκροφητή TD με τον αέριο χρωματογράφο GC και αποτελείται από ένα θερμαινόμενο σωλήνα ανοξείδωτου χάλυβα μήκους περίπου 130cm που περιέχει ένα μέρος από την χρωματογραφική στήλη.



Εικόνα 21. Γραμμή Μεταφοράς του Δείγματος

3.3.3.5. Ρυθμιστές Ροής και Πίεσης

Οι ρυθμιστές ροής και πίεσης είναι βαλβίδες που βρίσκονται στο επάνω μέρος του θερμικού εκροφητή και βοηθούν τον αναλυτή να ρυθμίσει χειροκίνητα την πίεση αλλά και την ροή του φέροντος αερίου (εικόνα 22).



Εικόνα 22. Ρυθμιστές Ροής και Πίεσης

3.3.3.6. Οθόνη Αφής

Με την οθόνη αφής μπορούμε να ρυθμίσουμε και να ελέγξουμε την λειτουργία του θερμικού εκροφητή εισάγοντας διάφορες εντολές. Η οθόνη αφής παρουσιάζεται στην εικόνα 23 και επιτρέπει να επικοινωνήσει ο αναλυτής άμεσα με το όργανο έτσι ώστε να μπορεί:

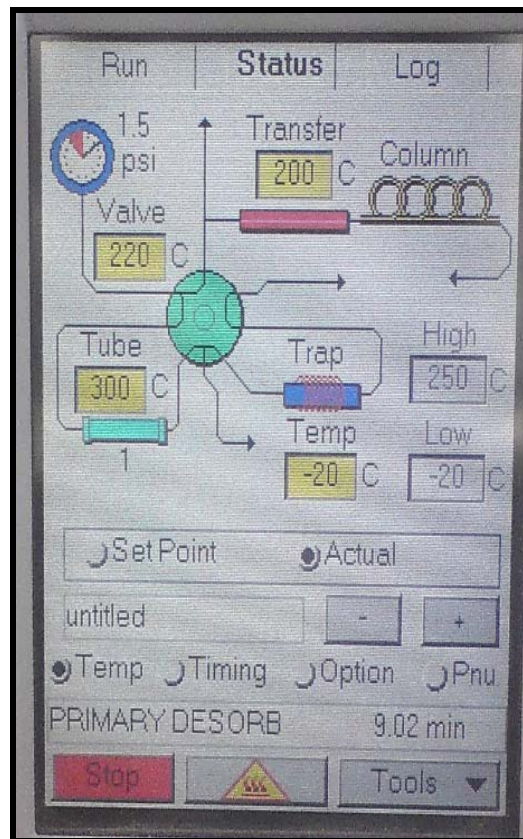
- να δει πληροφορίες για το όργανο (με την ετικέτα αρχείου λειτουργίας του οργάνου Log tab)
- να τρέξει αναλύσεις χρησιμοποιώντας ένα ή πολλαπλές μεθόδους (με την ετικέτα τρεξίματος Run tab)
- να θέσει και να παρακολουθήσει τις τρέχουσες παραμέτρους που απαρτίζουν το όργανο (με την ετικέτα θέσης Status tab)

Η **ετικέτα αρχείου λειτουργίας του οργάνου (Log tab)** επιτρέπει στον αναλυτή να γνωρίζει την ιστορία ανάλυσης του οργάνου. Παρέχει πληροφορίες όσο αφορά τον χρόνο έναρξης της τρέχουσας ανάλυσης ή της ακολουθίας, τον κατ' εκτίμηση χρόνο ολοκλήρωσης της, τον αριθμό των σωλήνων ανάλυσης και τη μέθοδο με την οποία γίνεται η ανάλυση. Εάν η ακολουθία έχει ολοκληρωθεί επιδεικνύεται επίσης ο χρόνος στον οποίο ολοκληρώθηκε.

Η **ετικέτα τρεξίματος (Run tab)** επιτρέπει στον αναλυτή να δημιουργήσει μια ακολουθία μεθόδων που χρησιμοποιούνται σε μια σειρά δειγμάτων. Μόλις δημιουργήσουμε μία μέθοδο ανάλυσης φορτώνουμε στο όργανο τον σωλήνα για να τρέξει το δείγμα. Μπορούμε να τρέξουμε δείγματα χρησιμοποιώντας μια ήδη σωζόμενη μέθοδο ή μια ακολουθία σωζόμενων μεθόδων.

Η **ετικέτα θέσης (Status tab)** παρέχει πληροφορίες για τις τρέχουσες ρυθμίσεις του οργάνου. Μέσα από αυτήν την ετικέτα ο αναλυτής μπορεί να εισάγει τις απαιτούμενες ρυθμίσεις για την λειτουργία του οργάνου. Η ετικέτα θέσης αποτελείται από τέσσερα σημαντικά πεδία, για τα οποία γίνεται λεπτομερής αναφορά στο παράρτημα II, και τα οποία είναι:

- Το πεδίο της θερμοκρασίας,
- Το πεδίο του χρόνου,
- Το πεδίο των επιλογών και
- Το πεδίο ρύθμισης των πιέσεων και ροών.



Εικόνα 23. Οθόνη Αφής



Εικόνα 24. Σύστημα TD-GC-FID

3.3.4. Αέριος Χρωματογράφος – Στήλη Διαχωρισμού

Ο αέριος χρωματογράφος που χρησιμοποιείται για τον ποσοτικό διαχωρισμό των μονοτερπενίων είναι ο Hewlett-Packard 5890 (εικόνα 27) με τριχοειδή χρωματογραφική στήλη. Η χρωματογραφική στήλη είναι η Rtx-1, 100% crossbond dimethyl polysiloxane, (60 m x 0.53mm ID x 3.0 μm df) (εικόνα 25). Η μη πολική στατική φάση (dimethyl polysiloxane) της στήλης που παρουσιάζεται στην εικόνα 26, χωρίζει τις ενώσεις σύμφωνα με το σημείο βρασμού τους και είναι ο πιο συχνά χρησιμοποιημένος τύπος στατικής φάσης στην αέριο χρωματογραφία. Επιπλέον, αυτή η μη πολική στατική φάση είναι λιγότερο ευαίσθητη στην οξείδωση και την υδρόλυση από εκείνες τις φάσεις που ενσωματώνουν περισσότερες πολικές λειτουργικές ομάδες. Η συγκεκριμένη χρωματογραφική στήλη προσφέρει άριστη αποδοτικότητα και θερμική σταθερότητα.

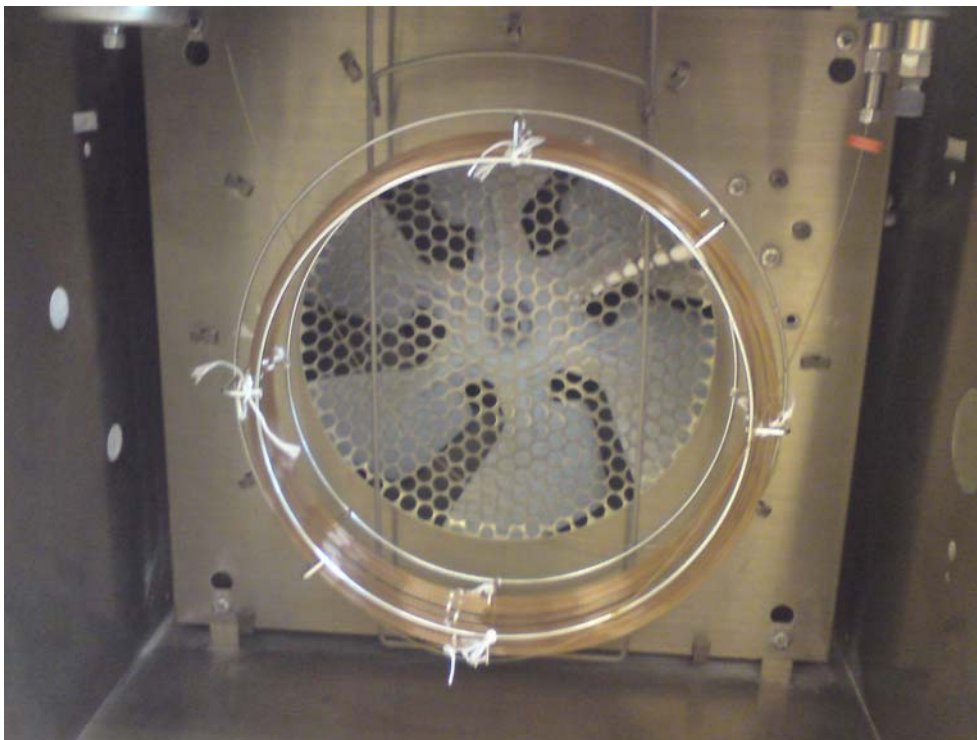
Ο διαχωρισμός των ενώσεων πραγματοποιείται μέσω των διαφορετικών χρόνων κατακράτησης τους μέσα στην στήλη αέριας χρωματογραφίας. Κάθε ένωση παρουσιάζει και διαφορετικό χρόνο κατακράτησης. Το φαινόμενο αυτό οφείλεται στην πολικότητα κάθε στήλης. Έτσι, ενώσεις που δεν κατακρατούνται ισχυρά από τη στήλη έχουν και μικρότερο χρόνο έκλουσης (*tr*), ενώ, ενώσεις που κατακρατούνται ισχυρότερα, εμφανίζουν μεγαλύτερους χρόνους.

3.3.5. Σύστημα Ανίχνευσης

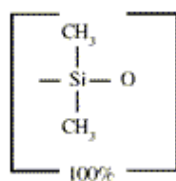
Το σύστημα ανίχνευσης στην αέριο χρωματογραφία είναι ένα κρίσιμο σημείο του συστήματος γιατί με αυτό γίνεται η ανίχνευση των ουσιών που διαχωρίστηκαν στην χρωματογραφική στήλη. Ο ανιχνευτής ιονισμού φλόγας (FID) θεωρείται παραδοσιακά ως ένας σημαντικός μη-εκλεκτικός ανιχνευτής που μπορεί να ανταποκριθεί σχεδόν σε όλες της οργανικές πτητικές ενώσεις (VOC's). Παρόλα τα προβλήματα που τυχόν μπορεί να εμφανίζει, ο ανιχνευτής ιονισμού φλόγας παραμένει μακράν ο περισσότερο χρησιμοποιούμενος ανιχνευτής για την μέτρηση περιβαλλοντικών συγκεντρώσεων πτητικών οργανικών ενώσεων και χρησιμοποιείται στην παρούσα μελέτη.

3.3.6. Καταγραφικό

Το καταγραφικό, αποτελεί ένας ηλεκτρονικός υπολογιστής, με κατάλληλο λογισμικό πρόγραμμα όπου για κάθε ένωση καταγράφεται ο χρόνος έκλουσης της ουσίας (*tr*), το ύψος και το εμβαδόν της κορυφής.



Εικόνα 25. Χρωματογραφική στήλη Rtx-1



Εικόνα 26. Στατική φάση της στήλης Rtx-1



Εικόνα 27. Αέριος χρωματογράφος Hewlett-Packard 5890

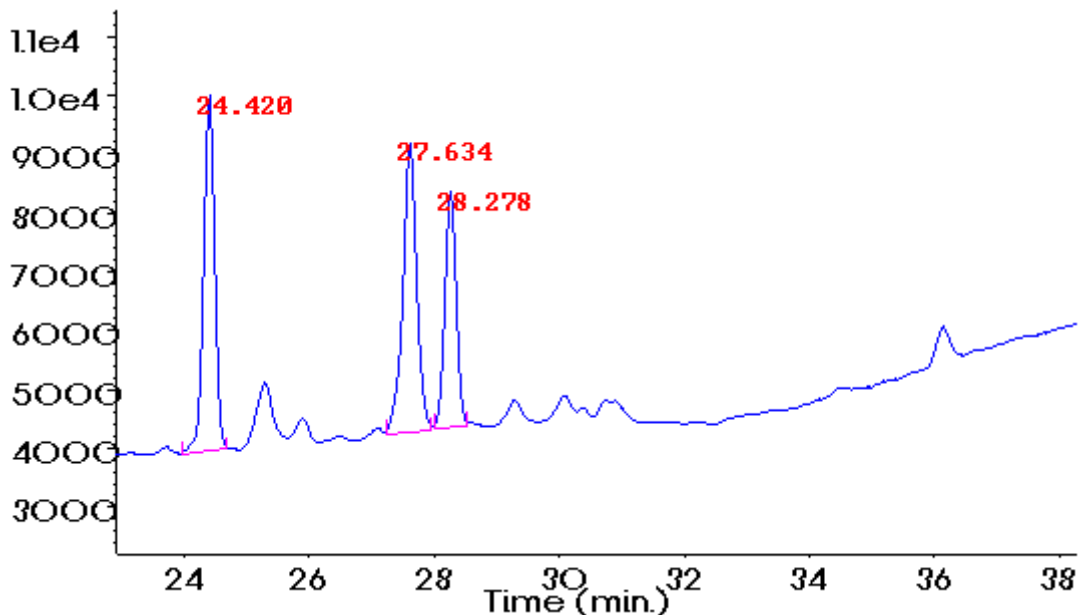
3.4. Επιλογή των Κατάλληλων Συνθηκών για την Ανάλυση

Για την επιλογή των κατάλληλων συνθηκών για την ανάλυση, αλλά και για την ποιοτική και ποσοτική ανάλυση των ενώσεων χρησιμοποιήθηκαν διάφορα standard μονοτερπενίων. Ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε για την προετοιμασία των standard έπρεπε να έχει χαμηλό σημείο βρασμού, για να εξατμιστεί πριν την θερμική εκρόφηση και για να αποφευχθεί η ανάμειξη του στα χρωματογραφήματα. Όμως αυτό το χαμηλό σημείο βρασμού ίσως προκαλέσει εξάτμιση του διαλύτη κατά την αποθήκευση με αποτέλεσμα να αυξηθεί η συγκέντρωση των τερπενίων στα standard. Αντίστοιχα, εάν το σημείο βρασμού του διαλύτη είναι υψηλότερο, ίσως τα τερπένια εξατμιστούν περισσότερο από τον διαλύτη και κατά την αποθήκευση να υπάρξει διάλυση του standard (Larsen B. et al. 1997).

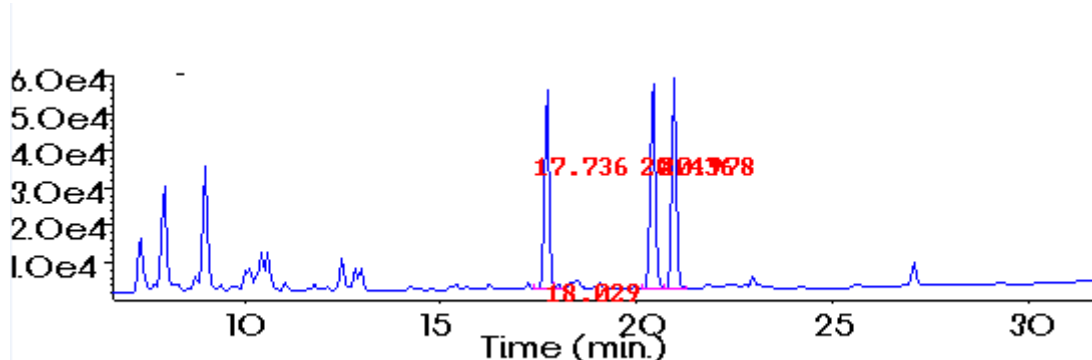
Τα standards που χρησιμοποιούνται για τις συγκεκριμένες αναλύσεις είναι **υγρά πρότυπα διαλύματα** διαφόρων συγκεντρώσεων που παρασκευάστηκαν από διαδοχικές αραιώσεις του μητρικού πρότυπου διαλύματος, το οποίο είναι υγρό διάλυμα αποτελούμενο από τα μονοτερπένια *a*-pinene, 3-carene, d-limonene (*a*-πινένιο, 3-καρένιο και δ-λεμονένιο) σε μεθανόλη (CH₃OH), συγκέντρωσης 500 ppm και για τις τρεις ενώσεις. Εκτός όμως από τα υγρά πρότυπα, για τις αναλύσεις χρησιμοποιήθηκε και **ένα αέριο standard (Fino-20)**, το οποίο βρίσκεται μέσα σε κύλινδρο CC206766 (2000 psi) και μας στάλθηκε από το Ινστιτούτο Χημείας Max-Planck μέσω του δρ. Nuredinee Yassa. Το standard αυτό περιέχει οχτώ ενώσεις γνωστών συγκεντρώσεων (περίπου 500ppb) και γνωστής σειράς έκλουσης. Οι ουσίες και η σειρά έκλουσης τους είναι: *a*-pinene, camphene, myrcene, 2-carene, 3-carene, d-limonene, 1,8-cineole, γ -terpinene (*a*-πινένιο, καμφένιο, μυρκένιο, 2-καρένιο, 3-καρένιο, δ-λεμονένιο, 1,8-σινεόλη, γ -τερπινένιο). Ο τρόπος εισαγωγής των προτύπων (αέριου και υγρών standard) στους δειγματοληπτικούς σωλήνες (cartridges) παρουσιάζεται στο παράρτημα III.

Αρχικά, για να γίνει επιλογή του σωστού θερμοκρασιακού προγράμματος του υπολογιστή, χρησιμοποιήσαμε διάφορα προγράμματα για να πετύχουμε την βέλτιστη έκλουση και τον βέλτιστο διαχωρισμό των ενώσεων σε σύντομο χρονικό διάστημα. Για να το επιτύχουμε αυτό, έπρεπε να μεταβάλλουμε την ροή του φέροντος αερίου. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία η ροή του φέροντος αερίου πρέπει να κυμαίνεται από 1 ml/min έως 3 ml/min για να υπάρχει καλός διαχωρισμός των ενώσεων.

Στην αρχή η ανάλυση έγινε με ροή 1 ml/min. Οι ουσίες εκλούονταν καλά διαχωρισμένες αλλά οι χρόνοι έκλουσης ήταν στα 40-50 min με αποτέλεσμα να μην γίνονται αρκετές αναλύσεις την ημέρα. Έπειτα, χρησιμοποιήσαμε ροή φέροντος αερίου 3 ml/min αλλά οι ενώσεις ενώ εκλούονταν σε σύντομο χρονικό διάστημα, ο διαχωρισμός τους δεν ήταν καλός. Μεταβάλλαμε την ροή του φέροντος αερίου στα 1,8 ml/min και τελικά καταλήξαμε στα 2,0 ml/min. Με ροή 1,8 ml/min η έκλουση των ενώσεων γίνεται σύντομα στα 24-28 min και ο διαχωρισμός τους είναι αρκετά καλός (εικόνα 28). Με ροή όμως 2,0 ml/min επιτύχαμε καλό διαχωρισμό με ακόμα πιο σύντομη έκλουση των ενώσεων 17-22 min. Έτσι ρυθμίσαμε το θερμοκρασιακό πρόγραμμα του υπολογιστή ώστε ο συνολικός χρόνος της ανάλυσης να είναι 35 min. Παρακάτω εμφανίζονται δύο παραδείγματα χρωματογραφημάτων με διαφορετικούς χρόνους ανάλυσης και διαφορετικές ροές φέροντος αερίου.



Εικόνα 28. Χρωματογράφημα υγρού πρότυπου διαλύματος με ροή φέροντος αερίου 1,8 ml/min

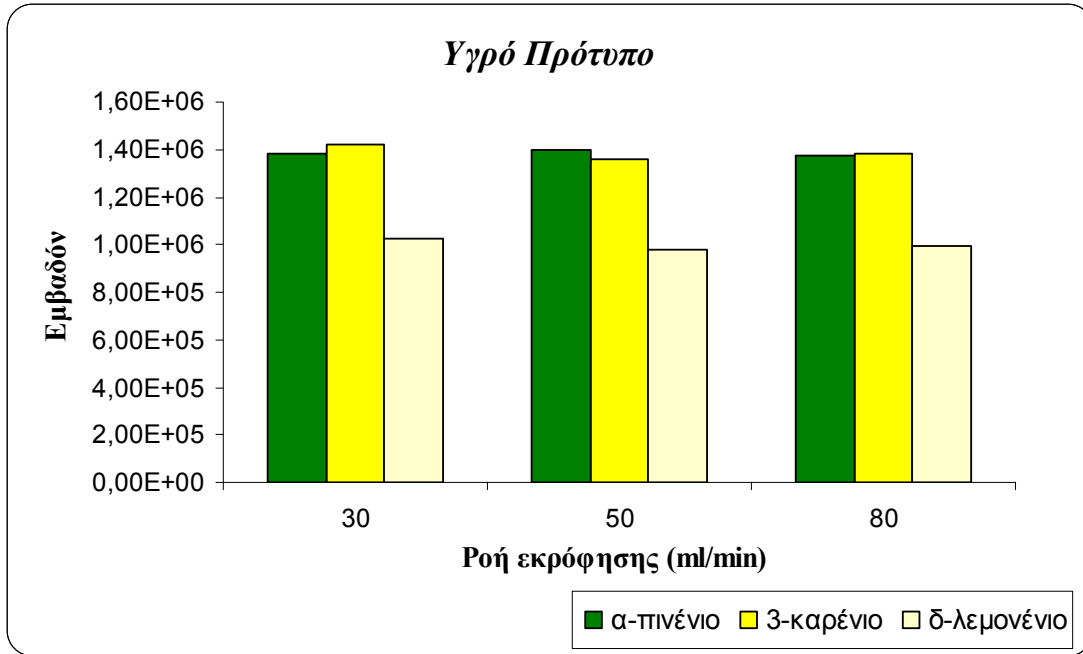


Εικόνα 29. Χρωματογράφημα υγρού πρότυπου διαλύματος με ροή φέροντος αερίου 2,0 ml/min

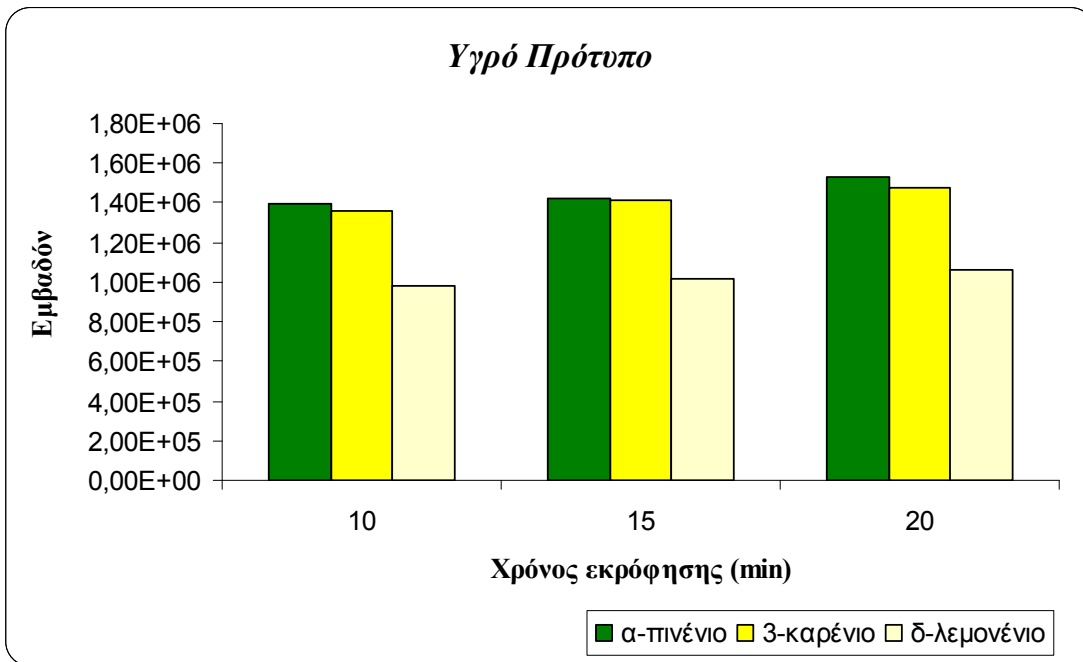
Όσον αφορά τις παραμέτρους του θερμικού εκροφητή, οι κυριότερες αναλυτικές παράμετροι που ελέγχθησαν κατά την διάρκεια των πειραμάτων είναι η ροή πρωτοβάθμιας εκρόφησης, ο χρόνος πρωτοβάθμιας και δευτεροβάθμιας εκρόφησης και η ροή του αζώτου που χρησιμοποιείται κατά την εισαγωγή του προτύπου στον δειγματοληπτικό σωλήνα. Όλες οι παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν είναι μέσα στα επιτρεπτά όρια που αναγράφονται στο εγχειρίδιο του θερμικού εκροφητή.

Σύμφωνα με αναφορές αλλά και με το εγχειρίδιο του θερμικού εκροφητή, η ροή εκρόφησης πρέπει να κυμαίνεται από 30 έως 100 ml/min εφόσον ως φέρον αέριο χρησιμοποιείται το ήλιο (He). Για την επιλογή της κατάλληλης ροής πρωτοβάθμιας εκρόφησης αναλύσαμε το υγρό πρότυπο (5 ppm) τρεις φορές, χρησιμοποιώντας ως ροή εκρόφησης 30 ml/min, 50 ml/min και 80 ml/min αντίστοιχα. Στο γράφημα 1 που ακολουθεί, παρουσιάζεται η ανάλυση του υγρού προτύπου σύμφωνα με τις διάφορες ροές πρωτοβάθμιας εκρόφησης. Σύμφωνα με αυτό, ακόμη και αν μεταβάλλουμε την ροή εκρόφησης δεν υπάρχει ουσιαστική μεταβολή στην ένταση της κορυφής και κατά συνέπεια στην ποσότητα της ένωσης.

Έπειτα κρατήσαμε σταθερή την παράμετρο της ροής πρωτοβάθμιας εκρόφησης στα 50ml/min και μεταβάλαμε τον χρόνο εκρόφησης. Έτσι, αναλύσαμε το υγρό πρότυπο, κάνοντας εκρόφηση για 10, 15 και 20 min αντίστοιχα. Στο γράφημα 2 που ακολουθεί εμφανίζεται η ανάλυση του υγρού προτύπου στους διάφορους χρόνους εκρόφησης. Σύμφωνα με αυτό το γράφημα, υπάρχει μια μικρή αλλαγή στην ένταση της κορυφής και στην ποσότητα της ένωσης αν μεταβάλλουμε τον χρόνο εκρόφησης, αλλά είναι πολύ μικρή που θεωρείται αμελητέα.



Γράφημα 1. Υγρό πρότυπο διάλυμα (5 ppm) μετά από ανάλυση με ροή εκρόφησης 30ml/min, 50ml/min και 80ml/min αντίστοιχα



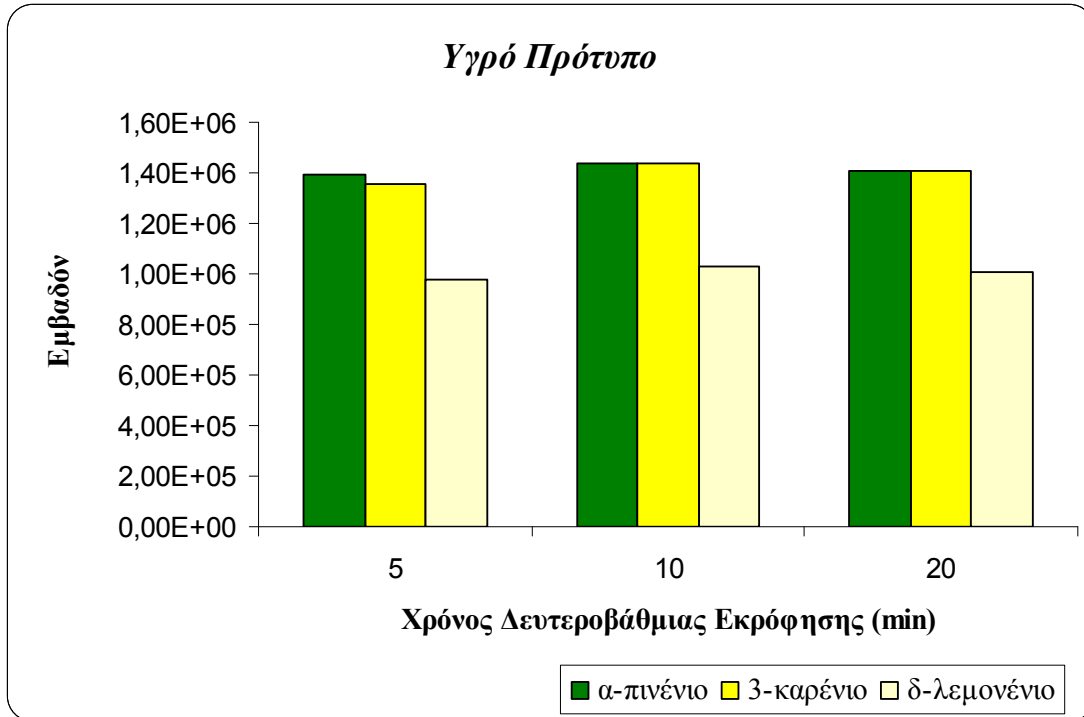
Γράφημα 2. Υγρό πρότυπο διάλυμα (5 ppm) μετά από ανάλυση με ροή εκρόφησης 50 ml/min και χρόνους εκρόφησης 10, 15 και 20 min αντίστοιχα

Άλλη μία σημαντική παράμετρος που έπρεπε να ελεγχθεί είναι ο χρόνος δευτεροβάθμιας εκρόφησης, δηλαδή ο χρόνος όπου η κρυσπαγίδα κρατιέται στην υψηλότερη θερμοκρασία, κατά την διάρκεια της εκρόφησης. Έτσι ελέγξαμε την ένταση της κορυφής σε σχέση με τον χρόνο δευτεροβάθμιας εκρόφησης. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο γράφημα 3, όπου αναλύεται το υγρό πρότυπο τρεις φορές με διαφορετικούς χρόνους δευτεροβάθμιας εκρόφησης (5, 10 και 20 min αντίστοιχα). Σύμφωνα με το συγκεκριμένο γράφημα, ακόμη και αν μεταβάλουμε τον χρόνο δευτεροβάθμιας εκρόφησης υπάρχει αμελητέα αλλαγή στην ένταση των κορυφών των ενώσεων.

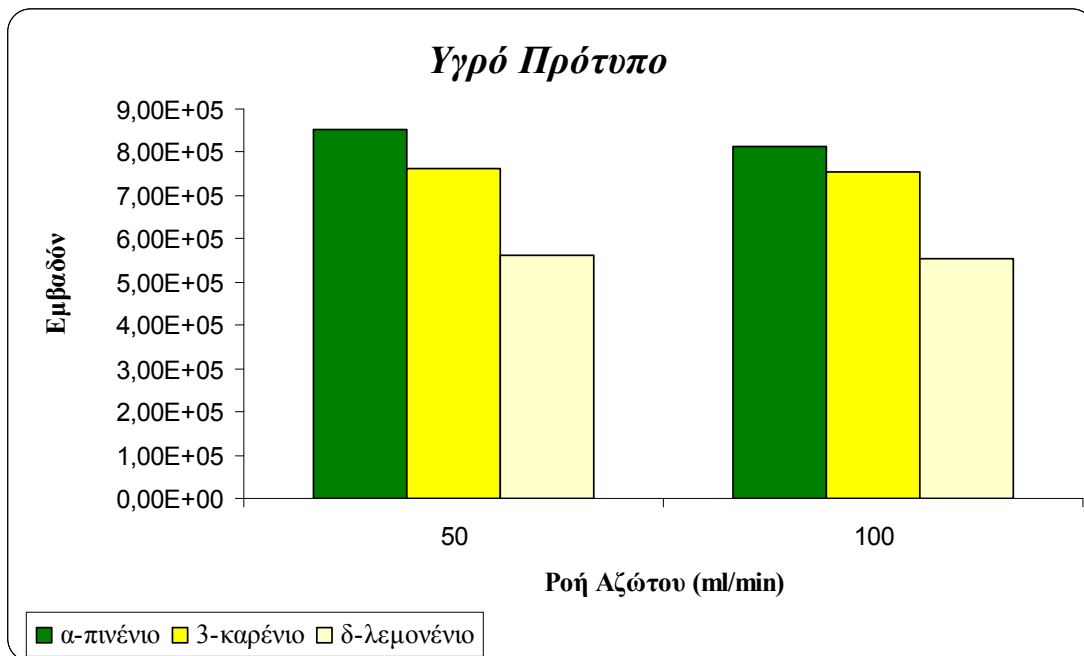
Στην συνέχεια, ελέγχθηκε η ροή του αερίου (άζωτο-N₂) που χρησιμοποιείται για την είσοδο του προτύπου στις στήλες δειγματοληψίας (παράρτημα III), με σκοπό να δούμε αν επηρεάζεται η έκλυση των ενώσεων ή αν εισέρχεται περισσότερη ουσία με την αύξηση της συγκεκριμένης ροής. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στο γράφημα 4. Σύμφωνα, με αυτό, δεν μεταβάλλεται ουσιαστικά η ένταση της κορυφής ακόμη και αν υπάρχει μεταβολή στην ροή του αζώτου.

Οι ίδιες αναλυτικές παράμετροι που αναφέρονται παραπάνω, ελέγχθηκαν και για το αέριο standard και τα συμπεράσματα ήταν τα ίδια όπως και για το υγρό πρότυπο.

Τέλος, υπάρχει μία επιλογή στον θερμικό εκροφητή, που το δείγμα μπορεί να μοιραστεί και να μην εισέλθει όλη η ποσότητα στην αναλυτική στήλη. Το μοίρασμα του δείγματος γίνεται είτε κατά την διάρκεια της πρωτοβάθμιας εκρόφησης όπου μέρος του δείγματος εξέρχεται πριν την είσοδο του στην κρυσπαγίδα (Inlet split), είτε κατά την δευτεροβάθμια εκρόφηση όπου μέρος του δείγματος εξέρχεται πριν την είσοδο του στην αναλυτική στήλη (Outlet split). Σύμφωνα με το εγχειρίδιο του θερμικού εκροφητή, εφόσον θέλουμε όλη η ποσότητα του δείγματος να εισέρχεται στην αναλυτική στήλη δεν κάνουμε καθόλου split. Το μοίρασμα του δείγματος πρέπει να γίνεται όταν η συγκέντρωση του δείγματος είναι μεγάλη, για να αποφευχθεί ο κορεσμός της αναλυτικής στήλης. Έτσι εφόσον οι ενώσεις που ψάχνουμε στην ατμόσφαιρα έχουν μικρές συγκεντρώσεις στην παρούσα μελέτη δεν χρησιμοποιούμε καθόλου split.



Γράφημα 3. Υγρό πρότυπο διάλυμα (5 ppm) μετά από ανάλυση με ροή εκρόφησης 50 ml/min και χρόνους δευτεροβάθμιας εκρόφησης 5, 10 και 20 min αντίστοιχα



Γράφημα 4. Υγρό πρότυπο διάλυμα (5 ppm) μετά από ανάλυση με ροή αζώτου 50 ml/min και 100 ml/min αντίστοιχα

3.5. Συνθήκες Ανάλυσης

Οι συνθήκες ανάλυσης του Θερμικού Εκροφητή που χρησιμοποιούνται στην παρούσα διατριβή εμφανίζονται συγκεντρωτικά στον ακόλουθο πίνακα 9:

<i>Θερμική Εκρόφηση</i>	
Παράμετροι	Τιμές
1. Φέρον αέριο	Ήλιο (He)
2. Ροή φέροντος αερίου	2.0 ml/min
3. Πίεση στήλης	3.7 psi
4. Ροή πρωτοβάθμιας εκρόφησης	50 ml/min
5. Θερμοκρασία βαλβίδας	200 °C
6. Θερμοκρασία γραμμής μεταφοράς	210 °C
7. Θερμοκρασία πρωτοβάθμιας εκρόφησης	300 °C
8. Θερμοκρασία κρυοπαγίδας	-30 °C
9. Θερμοκρασία δευτεροβάθμιας εκρόφησης	320 °C
10. Ρυθμός αύξησης της θερμοκρασίας της κρυοπαγίδας	40 °C/sec
11. Χρόνος εκκαθάρισης	1 min
12. Χρόνος πρωτοβάθμιας εκρόφησης	15 min
13. Χρόνος δευτεροβάθμιας εκρόφησης	5 min
14. Χρόνος κύκλου ανάλυσης	5 min
15. Inlet και Outlet split	0 ml/min

Πίνακας 9. Συνθήκες ανάλυσης Θερμικού Εκροφητή

Οι συνθήκες ανάλυσης του αέριου χρωματογράφου και του ανιχνευτή FID που χρησιμοποιούνται, εμφανίζονται συγκεντρωτικά στον πίνακα 10:

Αέριο Χρωματογραφία – Ανιχνευτής Ιονισμού Φλόγας	
Παράμετροι	Τιμές
1. Αέρια	Υδρογόνο (H) & Αέρας
2. Ροή Υδρογόνου	35 ml/min
3. Ροή Αέρα	300 ml/min
4. Χρωματογραφική στήλη	Rtx-1, 100% polymethyl-siloxane, (60 m x 0.53mm ID x 3.0 μ m df)
5. Θερμοκρασιακό πρόγραμμα ανάλυσης	Ισόθερμο στους 100 °C για 0,5 min. Αύξηση από τους 100 °C στους 180 °C με ρυθμό 5 °C/min και από 180 °C στους 230 °C με ρυθμό 4 °C/min.
6. Χρόνος ανάλυσης	35 min
7. Ανιχνευτής	Ιονισμού Φλόγας (FID)
8. Θερμοκρασία φούρνου	250 °C
9. Θερμοκρασία ανιχνευτή	260 °C

Πίνακας 10. Συνθήκες ανάλυσης αέριου χρωματογράφου

Η θερμοκρασία εκρόφησης επιτρέπει την εκρόφηση των ενώσεων χωρίς να καταστρέφεται το υλικό προσρόφησης ή να διασπώνται οι ενώσεις, ενώ η σχετική μεγάλη ταχύτητα αύξησης της θερμοκρασίας γίνεται για να πετύχουμε ομογενής εισαγωγή του δείγματος στην αεριοχρωματογραφική στήλη για να έχουμε καλύτερη ανάλυση (Παραρτήματα I και II). Οι ροή του φέροντος αερίου μετράται τόσο κατά την έναρξη της ανάλυσης όσο και κατά την διάρκεια αυτής. Η μέτρηση γίνεται με ειδικό ροόμετρο (ADM 100) το οποίο παρουσιάζεται στην ακόλουθη εικόνα 30.



Εικόνα 30. Ροόμετρο



Εικόνα 31. Κύλινδρος με Αέριο Standard

3.6. Ποιοτική και Ποσοτική Ανάλυση των Δειγμάτων

Η ποιοτική και ποσοτική ανάλυση των μονοτερπενίων βασίστηκε στους χρόνους κατακράτησης και στο εμβαδόν επιφανείας που εμφάνιζαν οι ενώσεις που μας ενδιαφέρουν στα χρωματογραφήματα προτύπων διαλυμάτων. Ως πρότυπα όπως ήδη έχουμε αναφέρει, χρησιμοποιήθηκαν τα υγρά πρότυπα διαλύματα και το αέριο standard.

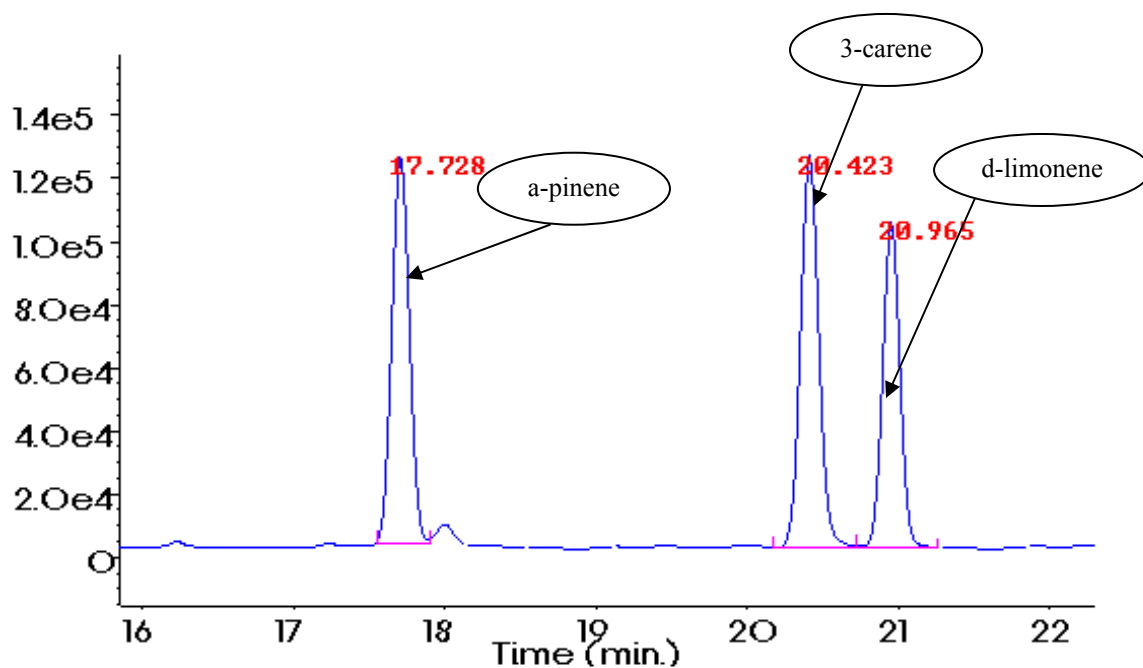
Από την ανάλυση του υγρού πρότυπου διαλύματος λαμβάνεται το χρωματογράφημα της εικόνας 32 όπου εμφανίζονται τρεις οξείες κορυφές, που είναι οι ενώσεις που μας ενδιαφέρουν. Και οι τρεις ουσίες είναι ευδιάκριτες και μπορούν να ποσοτικοποιηθούν. Οι ενώσεις που περιέχονται στο υγρό πρότυπο και οι χρόνοι έκλουσης τους είναι:

<i>Ένωσεις</i>	<i>Χρόνοι Έκλουσης (tr)</i>
a-pinene	17,7 min
3-carene	20,4 min
d-limonene	20,9 min

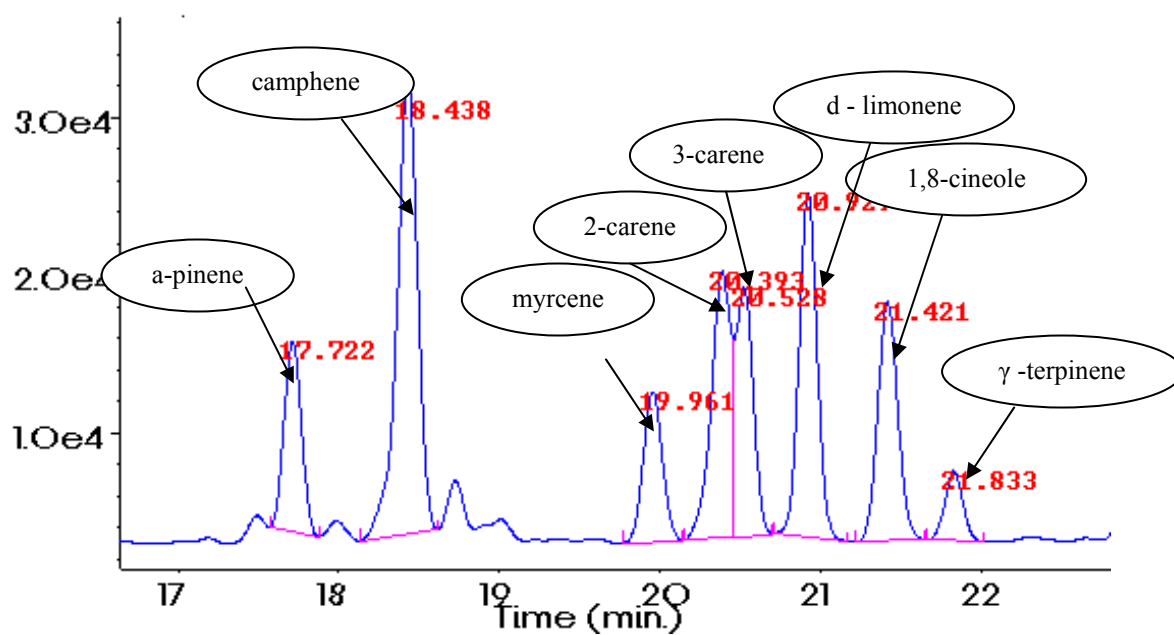
Από την ανάλυση του αέριου standard λαμβάνεται το χρωματογράφημα της εικόνας 33 όπου εμφανίζονται οι ενώσεις και οι χρόνοι έκλουσης τους:

<i>Ενώσεις</i>	<i>Χρόνοι Έκλουσης (tr)</i>
a-pinene	17,7 min
camphene	18,4 min
myrcene	19,9 min
2-carene	20,4 min
3-carene	20,5 min
d-limonene	20,9 min
1,8-cineole	21,4 min
γ-terpinene	21,8 min

Στο συγκεκριμένο χρωματογράφημα, εμφανίζονται οχτώ κορυφές, όπου είναι οι ενώσεις που μας ενδιαφέρουν, οι οποίες φαίνεται να είναι καλά διαχωρισμένες μεταξύ τους. Οι κορυφές 4 και 5 μοναχά φαίνεται να είναι λιγότερο ευδιάκριτες και δείχνουν σαν να είναι μία κορυφή. Αυτές, είναι το 2- και 3-καρένιο οι οποίες αποτελούν δύο διαφορετικά υποκατεστημένες μορφές της ίδιας ένωσης και εμφανίζονται σε πολύ κοντινούς χρόνους. Οι χρόνοι έκλουσης των ενώσεων εξαρτώνται από την ροή του φέροντος αερίου και ίσως αλλάξουν ελάχιστα στις διάφορες αναλυτικές ημέρες.



Εικόνα 32. Χρωματογράφημα υγρού πρότυπου διαλύματος

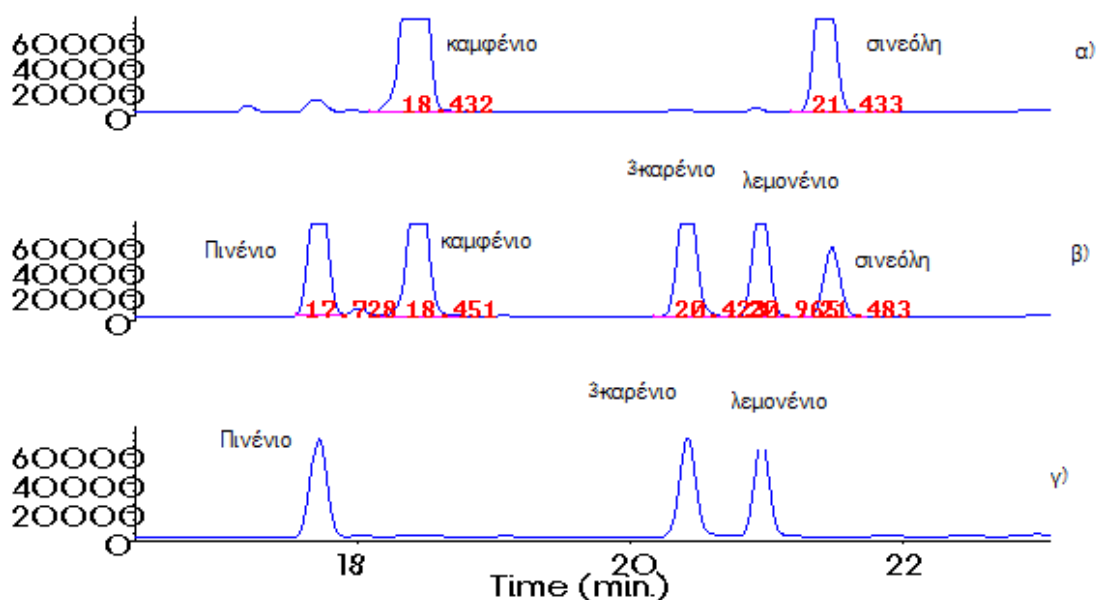


Εικόνα 33. Χρωματογράφημα αέριου Standard (500 ppb)

Για την επαλήθευση της ποιοτικής ανάλυσης (ταυτοποίηση) των ουσιών, πραγματοποιήθηκε μια σειρά πειραμάτων. Αρχικά, πήραμε διαφορετικούς σωλήνες δειγματοληψίας, σε κάθε ένα από τους οποίους εισάγαμε μικρή ποσότητα ατμών από κάθε ουσία ξεχωριστά (μία ουσία σε κάθε σωλήνα).

Έτσι, με την μετέπειτα ανάλυση των σωλήνων επιβεβαιώνονται οι χρόνοι έκλυσης των ουσιών και κατά συνέπεια είναι εφικτή η ταυτοποίηση τους. Κάθε φορά στο χρωματογράφημα παρατηρούταν και διαφορετική κορυφή με αυξημένο ύψος ανάλογα με την ουσία που αναλύαμε και συγκρίνοντας τα χρωματογραφήματα με αυτά των standard πιστοποιήσαμε ποια κορυφή αντιστοιχεί σε κάθε ένωση. Παράδειγμα για την ταυτοποίηση των πέντε από τις οχτώ ενώσεις εμφανίζεται στα χρωματογραφήματα της παρακάτω εικόνας.

Έπειτα, συγκρίναμε το χρωματογράφημα του υγρού πρότυπου διαλύματος που παρασκευάσαμε εμείς (με τις τρεις ουσίες), με το χρωματογράφημα του αέριου standard τερπενίων (Fino-20) με τις οχτώ ουσίες γνωστών συγκεντρώσεων και γνωστής σειράς έκλυσης.



Εικόνα 34. Χρωματογραφήματα για την ταυτοποίηση των α-πινένιο, καμφένιο, 3-καρένιο, λεμονένιο και 1,8-σινεόλη.

Τα παραπάνω πειράματα επιβεβαίωσαν την σειρά έκλυσης των ουσιών μας. Έτσι, καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι οι ενώσεις και η σειρά έκλυσης τους είναι: α-pinene, camphene, myrcene, 2-carene, 3-carene, limonene, 1,8-cineole, γ-terpinene.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΔΙΑΣΦΑΛΙΣΗ – ΕΛΕΓΧΟΣ της ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ της ΜΕΘΟΔΟΥ

4.1. Εισαγωγή

Ένας σημαντικός τομέας που μελετήθηκε για την διασφάλιση της ποιότητας της αναλυτικής μεθόδου είναι η σχετική ακρίβεια των αναλύσεων. Στο κεφάλαιο αυτό, αποδεικνύεται, μέσω εργαστηριακών μελετών, η εγκυρότητα της μεθόδου, η οποία βασίζεται στον προσδιορισμό συγκεκριμένων χαρακτηριστικών λειτουργίας και στην ταύτιση αυτών με τις απαιτήσεις για την προσδοκώμενη αναλυτική εφαρμογή. Έτσι, κατά την επεξεργασία των αποτελεσμάτων της ανάλυσης ελέγχθηκαν οι παρακάτω αναλυτικές παράμετροι:

- Αποδοτικότητα της στήλης (Efficiency)
- Πιστότητα (Precision)
- Ευαισθησία (Σταθερότητα σήματος του ανιχνευτή & Γραμμικότητα (Linearity))
- Διαχωριστική ικανότητα (Resolution)
- Όριο ανίχνευσης (Limit of Detection) και Όριο ποσοτικοποίησης (Limit of Quantification)

Οι αναλύσεις γίνονταν παράλληλα και για τα δύο standard (υγρό και αέριο).

4.1.1. Αποδοτικότητα της στήλης (Efficiency)

Η αποδοτικότητα μπορεί να υπολογιστεί υπολογίζοντας τον αριθμό των θεωρητικών πλακών της αεριοχρωματογραφικής στήλης. Όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των θεωρητικών πλακών N , τόσο στενότερες είναι οι κορυφές και τόσο αποτελεσματικότερη είναι η στήλη κατά τον διαχωρισμό των ουσιών αυτών. Ο αριθμός των θεωρητικών πλακών, υπολογίζεται σύμφωνα με τον παρακάτω τύπο 3:

$$N = 16 * \left(\frac{t_r}{w} \right)^2 \quad (3)$$

Όπου, N ο αριθμός των θεωρητικών πλακών και κατά συνέπεια η αποτελεσματικότητα της στήλης, t_r ο χρόνος έκλουσης των ουσιών και w το εύρος της κορυφής.

Για ένα τυχαίο χρωματογράφημα του υγρού πρότυπου διαλύματος συγκέντρωσης 500 ppb, υπολογίζεται ο αριθμός θεωρητικών πλακών και τα αποτελέσματα αναγράφονται στον πίνακα 11:

<i>Ενώσεις</i>	<i>Χρόνος έκλυσης (tr)</i>	<i>Εύρος (w)</i>	<i>Αριθμός Θεωρητικών Πλακών (N)</i>
α- πινένιο	18,284	0,147	247.530
3-καρένιο	21,010	0,148	322.440
δ-λεμονένιο	21,545	0,140	378.928
Μέσος Όρος			316.299

Πίνακας 11. Υπολογισμός αριθμού θεωρητικών πλακών (N) από χρωματογράφημα υγρού πρότυπου διαλύματος

Το ίδιο πραγματοποιήθηκε και για το αέριο standard συγκέντρωσης 500 ppb και τα αποτελέσματα αναγράφονται στον ακόλουθο πίνακα 12:

<i>Ενώσεις</i>	<i>Χρόνος έκλυσης (tr)</i>	<i>Εύρος (w)</i>	<i>Αριθμός Θεωρητικών Πλακών (N)</i>
α- πινένιο	17,80	0,14	266.196
καμφένιο	18,50	0,15	243.378
μυρκένιο	20,10	0,14	344.406
2-καρένιο	20,50	0,15	315.444
3-καρένιο	20,60	0,12	456.178
δ-λεμονένιο	21,08	0,13	414.146
1,8-σινεόλη	21,50	0,15	351.772
γ-τερπινένιο	21,90	0,13	433.815
Μέσος Όρος			353.167

Πίνακας 12. Υπολογισμός αριθμού θεωρητικών πλακών (N) από χρωματογράφημα αέριου standard

Η επιθυμητή απόδοση της χρωματογραφικής στήλης πρέπει να είναι > 5000 θεωρητικές πλάκες (EPA TO-11). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των πινάκων (μέσος όρος 316299 και 353167 για το υγρό και αέριο standard αντίστοιχα), αποδεικνύεται ότι η απόδοση του διαχωρισμού των ενώσεων με την Rtx-1 αεριοχρωματογραφική στήλη είναι πολύ καλή.

4.1.2. Πιστότητα (Precision)

Η πιστότητα της απόκρισης της μεθόδου στηρίζεται στην παράμετρο της επαναληψιμότητας. Η **επαναληψιμότητα** (repeatability) είναι το μέτρο της διασποράς των αποτελεσμάτων διαδοχικών ελέγχων στο ίδιο δείγμα κάτω από τις ίδιες συνθήκες (ίδιο όργανο, ίδιος αναλυτής, ίδιες παράμετροι, σε σύντομο χρονικό διάστημα) και αποτελεί μέτρο του τυχαίου ή του απροσδιόριστου σφάλματος της ανάλυσης.

Περιγράφεται από τις παρακάτω παραμέτρους με τους ανάλογους τύπους:

$$1. \text{ Απόλυτη τυπική απόκλιση (standard deviation): } s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N-1}} \quad (4)$$

$$2. \text{ Σχετική τυπική απόκλιση (relative standard deviation, RSD): } RSD = \frac{s}{\bar{x}} \quad (5)$$

$$3. \text{ Διακύμανση (variance): } s^2 \quad (6)$$

$$4. \text{ Συντελεστής διακύμανσης (coefficient of variation): } CV = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100\% \quad (7)$$

Όπου, x_i είναι η αριθμητική τιμή της μέτρησης και \bar{x} η μέση τιμή N μετρήσεων.

1. Επαναληψιμότητα για την ίδια αναλυτική ημέρα

Για την επιβεβαίωση της επαναληψιμότητας για την ίδια αναλυτική ημέρα χρησιμοποιήθηκαν και τα δύο standard (υγρό και αέριο). Αρχικά, παρασκευάστηκαν 2 υγρά πρότυπα διαλύματα των 100 και των 500 ppb αντίστοιχα, τα οποία αναλύθηκαν πέντε φορές ($n=5$) το κάθε ένα μέσα στην ίδια ημέρα, από τον ίδιο τον αναλυτή και με το ίδιο όργανο. Τα αποτελέσματα αποδίδονται ως % RSD και παρουσιάζονται στον πίνακα 13.

Ένωση	RSD % σε πρότυπο διάλυμα 100ppb	RSD % σε πρότυπο διάλυμα 500ppb	RSD % των tr σε πρότυπο διάλυμα 100ppb	RSD % των tr σε πρότυπο διάλυμα 500ppb
a-pinene	9,80	5,60	0,40	0,25
3-carene	3,60	0,80	0,40	0,21
d-limonene	3,00	0,50	0,40	0,20

Πίνακας 13. Πιστότητα της μεθόδου ανάλυσης για επαναλαμβανόμενες αναλύσεις του ίδιου πρότυπου διαλύματος (συγκεντρώσεων 100 και 500 ppb) την ίδια ημέρα & Πιστότητα στους χρόνους έκλουσης των ενώσεων στις αντίστοιχες συγκεντρώσεις.

Έπειτα αναλύσαμε το αέριο standard (500 ppb) πέντε φορές (n=5) μέσα στην ίδια ημέρα. Τα αποτελέσματα αποδίδονται ως % RSD και παρουσιάζονται στον πίνακα 14.

<i>Ένωση</i>	<i>RSD % σε αέριο standard 500ppb</i>	<i>RSD % των tr σε αέριο standard 500ppb</i>
a-pinene	7,30	0,18
camphene	5,80	0,19
myrcene	4,80	0,22
2-carene	7,00	0,22
3-carene	4,10	0,22
d-limonene	6,20	0,22
1,8-cineole	4,20	0,22
γ-terpinene	4,70	0,22

Πίνακας 14. Πιστότητα της μεθόδου ανάλυσης για επαναλαμβανόμενες αναλύσεις του αέριου standard συγκέντρωσης 500 ppb την ίδια ημέρα & Πιστότητα στους χρόνους έκλυσης των ενώσεων.

2. Επαναληψιμότητα για διαφορετικές αναλυτικές ημέρες

Για την επιβεβαίωση της επαναληψιμότητας για διαφορετικές αναλυτικές ημέρες χρησιμοποιήθηκαν και τα δύο standard (υγρό και αέριο). Πρώτα αναλύθηκαν τα δύο πρότυπα διαλύματα των 100 και των 500 ppb, σε διαφορετικές ημέρες (n=3). Τα αποτελέσματα αποδίδονται ως % RSD και παρουσιάζονται στον πίνακα 15.

<i>Ένωση</i>	<i>RSD % σε πρότυπο διάλυμα 100ppb</i>	<i>RSD % σε πρότυπο διάλυμα 500ppb</i>	<i>RSD % των tr σε πρότυπο διάλυμα 100ppb</i>	<i>RSD % των tr σε πρότυπο διάλυμα 500ppb</i>
a-pinene	7,70	6,50	3,20	0,20
3-carene	4,50	1,50	3,10	1,90
d-limonene	1,20	0,70	3,00	0,30

Πίνακας 15. Πιστότητα της μεθόδου ανάλυσης για επαναλαμβανόμενες αναλύσεις του ίδιου πρότυπου διαλύματος (συγκεντρώσεων 100 και 500 ppb) για διαφορετικές ημέρες & Πιστότητα στους χρόνους έκλυσης των ενώσεων στις αντίστοιχες συγκεντρώσεις.

Έπειτα αναλύθηκε το αέριο standard των 500 ppb, σε πέντε διαφορετικές ημέρες (n=5). Τα αποτελέσματα αποδίδονται ως % RSD και παρουσιάζονται στον πίνακα 16.

Ένωση	RSD % σε αέριο standard 500ppb	RSD % των tr σε αέριο standard 500ppb
a-pinene	10,40	0,65
camphene	8,80	0,65
myrcene	8,58	0,68
2-carene	5,82	0,67
3-carene	9,44	0,66
d-limonene	6,46	0,68
1,8-cineole	8,26	0,67
γ-terpinene	6,23	0,69

Πίνακας 16. Πιστότητα της μεθόδου ανάλυσης για επαναλαμβανόμενες αναλύσεις του αερίου standard συγκέντρωσης 500 ppb για διαφορετικές ημέρες & Πιστότητα στους χρόνους έκλυσης των ενώσεων.

Σύμφωνα με τα κριτήρια της Αμερικάνικης Υπηρεσίας Περιβάλλοντος (USEPA), η πιστότητα για επαναλαμβανόμενες αναλύσεις του ίδιου δείγματος πρέπει να είναι $\pm 10\%$ ή μικρότερη, από μέρα σε μέρα. Η πιστότητα στους χρόνους έκλυσης θα πρέπει να είναι $\pm 7\%$ για μία συγκεκριμένη μέρα. Σύμφωνα με τους παραπάνω πίνακες (13 έως και 16) τα όρια που βρέθηκαν είναι μέσα στα όρια που έχουν θεωρηθεί ως αποδεκτά. Το γεγονός αυτό μας εξασφάλισε ότι η μέθοδος έχει πολύ καλή πιστότητα και κατά συνέπεια καλή επαναληψιμότητα είτε κατά την ίδια είτε σε διαφορετικές αναλυτικές ημέρες.

4.1.3. Ευαισθησία της Αναλυτικής Μεθόδου

Η *ευαισθησία* προσδιορίζει το μέτρο της ικανότητας της μεθόδου να διακρίνει μικρές διαφορές στην συγκέντρωση του αναλύτη. Για τον προσδιορισμό της ευαισθησίας ελέγχθηκε η σταθερότητα του σήματος του ανιχνευτή και η γραμμικότητα στις καμπύλες βαθμονόμησης.

4.1.3.1. Σταθερότητα του Σήματος του Ανιχνευτή

Για να διαπιστωθεί η σταθερότητα του σήματος του ανιχνευτή του συστήματος και κατ'επέκταση για να ελέγξουμε την αξιοπιστία του σήματος του σε κάθε αναλυτική ημέρα, πραγματοποιήθηκε σύγκριση του σήματός του για συγκεκριμένο πρότυπο συγκέντρωσης 500 ppb.

Συγκεκριμένα, για 6 διαφορετικές αναλυτικές ημέρες συγκρίθηκαν τα αντίστοιχα σήματα που λήφθηκαν από τον ανιχνευτή για συγκεκριμένη ποσότητα του υγρού πρότυπου διαλύματος 500 ppb. Τα αποτελέσματα αποδίδονται ως % RSD και παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα.

Ένωση	Μέσος Όρος Σήματος Ανιχνευτή	Τυπική Απόκλιση (S)	RSD %
a-pinene	875,17	80,85	9,24
3-carene	228,33	21,79	9,54
d-limonene	205,17	19,30	9,41

Πίνακας 17. Επαναληψιμότητα του σήματος του ανιχνευτή

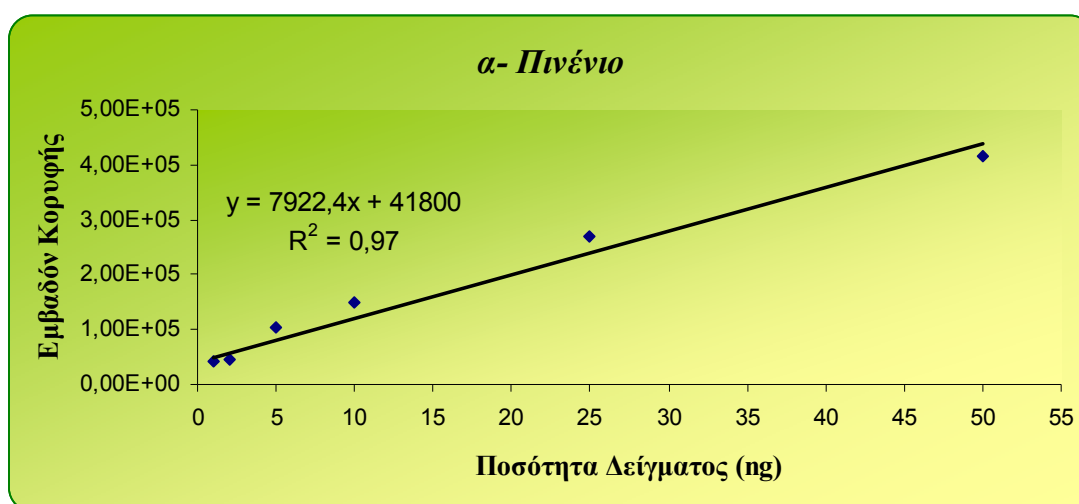
Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πίνακα, το RSD % του σήματος του ανιχνευτή είναι < 10% άρα το σήμα το ανιχνευτή παραμένει σταθερό στις διάφορες αναλυτικές ημέρες.

4.1.3.2. Γραμμικότητα στις Καμπύλες Αναφοράς

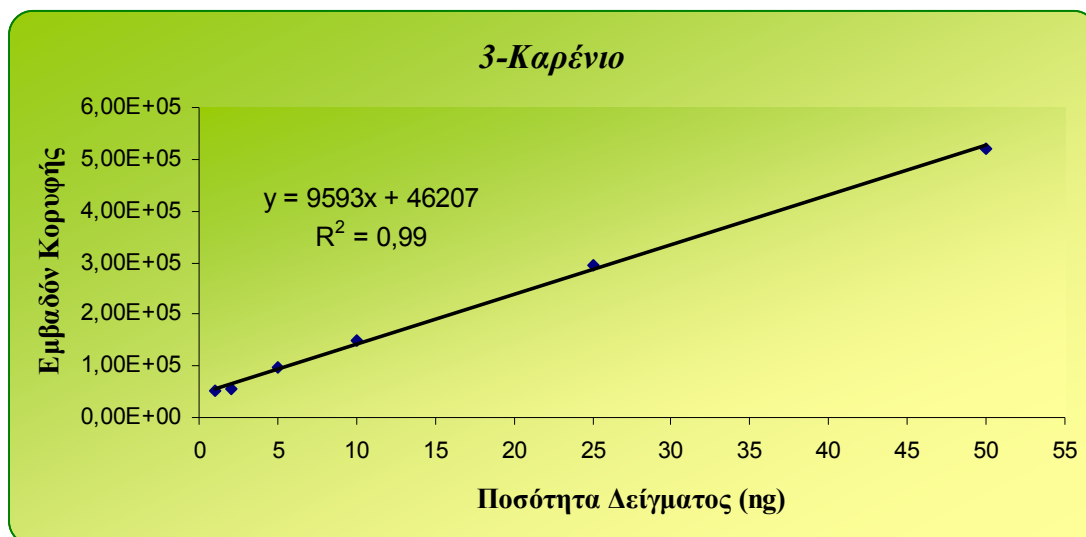
Ο έλεγχος της γραμμικότητας πραγματοποιήθηκε και με τα δύο standard (υγρό και αέριο). Αρχικά παρασκευάστηκαν και αναλύθηκαν τα υγρά πρότυπα διαλύματα διαφόρων συγκεντρώσεων, με τις τρεις ουσίες (α -πινένιο, 3-καρένιο και δ -λεμονένιο). Έπειτα, αναλύθηκε και το αέριο standard (500 ppb) με τις οχτώ ενώσεις. Με βάση την ανάλυση των standard, κατασκευάστηκαν καμπύλες βαθμονόμησης βασιζόμενες στις ποσότητες ανάλυσης από κάθε ένωση (σε ng) και στις εντάσεις των κορυφών των ενώσεων (εμβαδόν κορυφής). Σε όλες τις καμπύλες αναφοράς, ο συντελεστής παλινδρόμησης κυμαίνονταν από 0,98 έως 0,99 για όλες τις ενώσεις, αποδεικνύοντας πολύ καλή γραμμικότητα των καμπύλων.

Λόγω της σταθερότητας του ανιχνευτή του συστήματος, δεν απαιτείται καθημερινή ανάλυση των προτύπων διαλυμάτων. Επιπλέον, επιτρέπεται η χρήση ίδιας καμπύλης αναφοράς για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των ενώσεων, για μεγάλο χρονικό διάστημα.

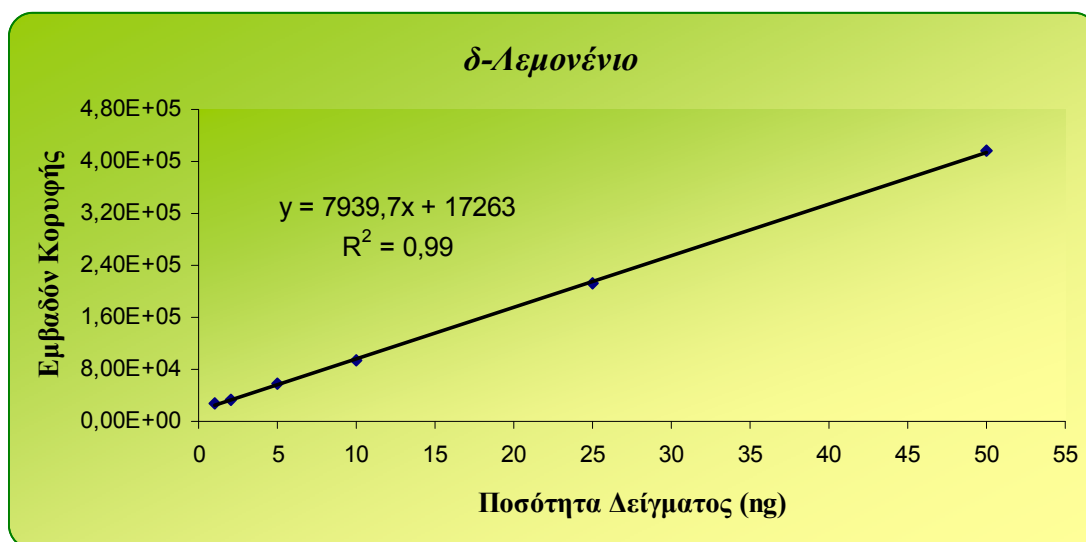
Εξαιτίας του ότι το αέριο standard χρησιμοποιήθηκε περισσότερο για τον ποιοτικό έλεγχο της μεθόδου και όχι για τον ποσοτικό έλεγχο αυτής, οι καμπύλες αναφοράς που παρουσιάζονται παρακάτω, είναι από τις αναλύσεις των υγρών προτύπων διαλυμάτων (500 ppb):



Εικόνα 35. Καμπύλη βαθμονόμησης για την ένωση α -πινένιο από αναλύσεις υγρού πρότυπου διαλύματος συγκέντρωσης 500 ppb



Εικόνα 36. Καμπύλη βαθμονόμησης για την ένωση 3-καρένιο από αναλύσεις υγρού πρότυπου διαλύματος συγκέντρωσης 500 ppb



Εικόνα 37. Καμπύλη βαθμονόμησης για την ένωση δ-λεμονένιο από αναλύσεις υγρού πρότυπου διαλύματος συγκέντρωσης 500 ppb

4.1.4. Διαχωριστική Ικανότητα (Resolution)

Η διαχωριστική ικανότητα, R_s , μιας χρωματογραφικής στήλης αποτελεί ποσοτικό μέτρο της ικανότητας της να διαχωρίσει δύο ενώσεις. Η διαχωριστική ικανότητα υπολογίζεται σύμφωνα με τον ακόλουθο τύπο:

$$R_s = 2[(T_R)_B - (T_R)_A] / W_A + W_B \quad (8)$$

Όπου, $(T_R)_A$ και $(T_R)_B$, οι χρόνοι κατακράτησης για τις ενώσεις A και B αντίστοιχα και, W_A και W_B , το εύρος των κορυφών A και B αντίστοιχα.

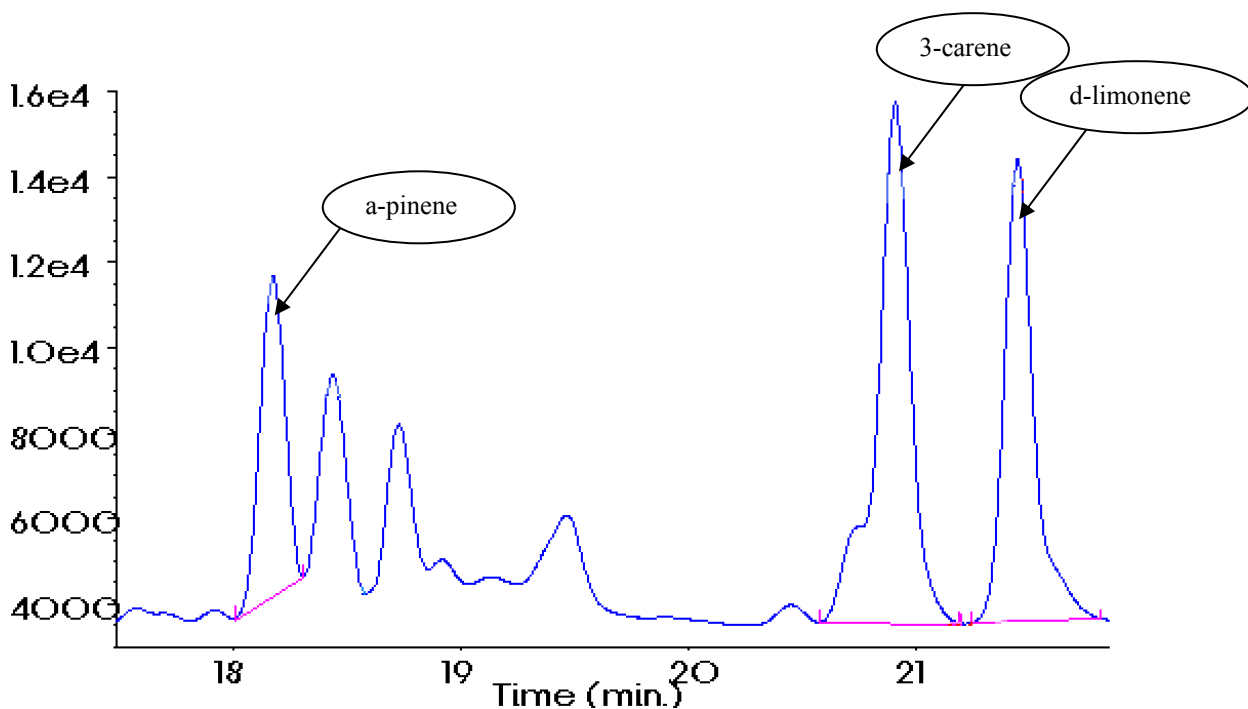
Σε τυχαίο χρωματογράφημα υγρού πρότυπου διαλύματος 100 ppb, υπολογίστηκε η διαχωριστική ικανότητα μεταξύ των κορυφών. Τα αποτελέσματα αναγράφονται στον παρακάτω πίνακα 18.

Ένωση	Χρόνος έκλουσης (tr)	Εύρος (w)	Διαχωριστική ικανότητα (R_s)
a-pinene	18,181	0,127	R_{s1-2} : 18,4
3-carene	20,913	0,171	R_{s2-3} : 3,35
d-limonene	21,450	0,150	

Πίνακας 18. Χρόνοι κατακράτησης, εύρος και διαχωριστική ικανότητα των κορυφών σε πρότυπο διάλυμα 100 ppb.

Διαχωριστική ικανότητα ίση με 1,5 αντιστοιχεί ουσιαστικά σε πλήρη διαχωρισμό των δύο ενώσεων. Εάν η διαχωριστική ικανότητα είναι ίση με 1, τότε η ζώνη της ένωσης A περιέχει περίπου 4% από την B και η ζώνη B το ίδιο ποσοστό της ουσία A. Εάν τέλος, η διαχωριστικότητα είναι μικρότερη από 1 τότε τα αντίστοιχα ποσοστά επικάλυψης είναι μεγαλύτερα.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πίνακα 18, βλέπουμε ότι η διαχωριστική ικανότητα είναι πολύ καλή όπως φαίνεται και στο αντίστοιχο χρωματογράφημα της ανάλυσης του συγκεκριμένου υγρού προτύπου (εικόνα 38).



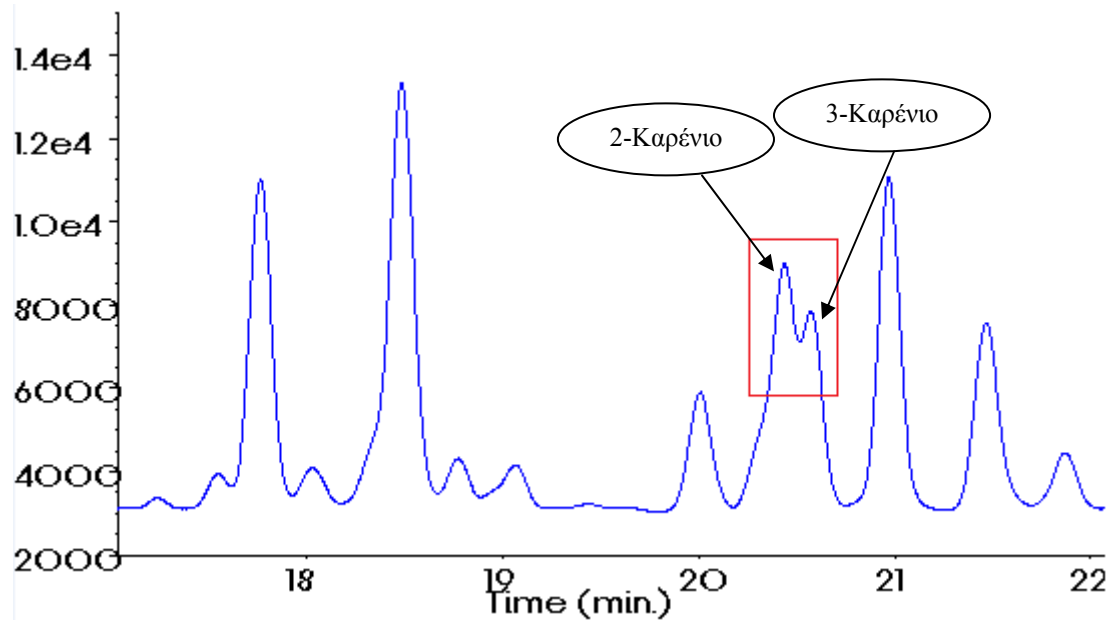
Εικόνα 38. Χρωματογράφημα πρότυπου διαλύματος (100 ppb)

Η διαχωριστική ικανότητα R_s , υπολογίστηκε και για το αέριο standard των 500 ppb και τα αποτελέσματα εμφανίζονται στον παρακάτω πίνακα 19:

Ένωση	Χρόνος έκλουσης (tr)	Εύρος (w)	Διαχωριστική ικανότητα (R_s)
a-pinene	17,722	0,126	$R_{S_{1-2}}$: 5,17
camphene	18,438	0,151	$R_{S_{2-3}}$: 10,50
myrcene	19,961	0,139	$R_{S_{3-4}}$: 3,05
2-carene	20,393	0,144	$R_{S_{4-5}}$: 1,01
3-carene	20,528	0,123	$R_{S_{5-6}}$: 3,16
d-limonene	20,929	0,131	$R_{S_{6-7}}$: 3,57
1,8-cineole	21,421	0,145	$R_{S_{7-8}}$: 2,99
γ -terpinene	21,833	0,131	

Πίνακας 19. Χρόνοι κατακράτησης, εύρος και διαχωριστική ικανότητα των κορυφών σε αέριο standard (500 ppb).

Σύμφωνα με τα παραπάνω αποτελέσματα του πίνακα, παρατηρείται μια μικρή αλληλοεπικάλυψη των 4 και 5 κορυφών. Συμπεραίνουμε λοιπόν, ότι η ένωση 2-καρένιο περιέχει περίπου 4% από την ένωση 3-καρένιο. Αυτό είναι ευδιάκριτο και στο χρωματογράφημα της ανάλυσης που απεικονίζεται στην εικόνα 39.



Εικόνα 39. Χρωματογράφημα αέριου standard 500 ppb.

4.1.5. Όριο Ανίχνευσης και Όριο Ποσοτικοποίησης

Μια ακόμη αναλυτική παράμετρος που μελετήθηκε, είναι το όριο ανίχνευσης (limit of detection, LOD), που ορίζεται η ελάχιστη ποσότητα του αναλύτη στο δείγμα που μπορεί να ανιχνευτεί αξιόπιστα. Το όριο ανίχνευσης στα δείγματα αέρα, εξαρτάται από το υπόβαθρο της στήλης δειγματοληψίας. Έτσι, για τον προσδιορισμό της διακύμανσης των τυφλών, αναλύθηκαν 5 σωλήνες με τον ίδιο τρόπο. Το όριο ανίχνευσης υπολογίζεται ως τρεις φορές η τυπική απόκλιση (σ) των τυφλών δειγμάτων.

Επίσης, εκτός από το όριο ανίχνευσης μελετήθηκε και το **όριο ποσοτικοποίησης** (limit of quantitation, LOQ) που θεωρείται η ελάχιστη συγκέντρωση δείγματος που μπορεί να προσδιοριστεί αξιόπιστα. Τα όρια αυτά εξαρτώνται από τον αναλύτη, το προσροφητικό και τον ανιχνευτή. Το όριο ποσοτικοποίησης υπολογίζεται σύμφωνα με την σχέση: $LOQ = 3 \bullet LOD$

Τα όρια ανίχνευσης που υπολογίστηκαν αφορούν μόνο τις ενώσεις α-πινένιο, 3-καρένιο και δ-λεμονένιο, διότι αυτές οι ενώσεις υπάρχουν συνήθως στα τυφλά δείγματα του περιβάλλοντος. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα 20:

Ένωση	Mean value* Background content, ng$\pm$$\sigma$	LOD (ng)	LOQ (ng)
α-πινένιο	0,22 \pm 0,82	2,46	7,38
3-καρένιο	0,28 \pm 0,16	0,48	1,43
δ-λεμονένιο	0,64 \pm 0,23	0,68	2,04

Πίνακας 20. Όριο ανίχνευσης και Όριο ποσοτικοποίησης των ενώσεων. *n=5 (αριθμός στηλών δειγματοληψίας)

4.2. Παρεμποδίσεις κατά την Ανάλυση

Όπως ήδη προαναφέρθηκε σε προηγούμενες παραγράφους, για τον προσδιορισμό των μονοτερπενίων με την συγκεκριμένη μέθοδο, βασικοί παρεμποδιστές είναι η παρουσία υγρασίας και όζοντος. Ο περιορισμός της υγρασίας γίνεται από το στάδιο της δειγματοληψίας, με την χρήση σωλήνων δειγματοληψίας πληρωμένων με υδρόφοβο προσροφητικό. Η απομάκρυνση του όζοντος γίνεται κατά το στάδιο της δειγματοληψίας με την χρήση του ozone scrubber.

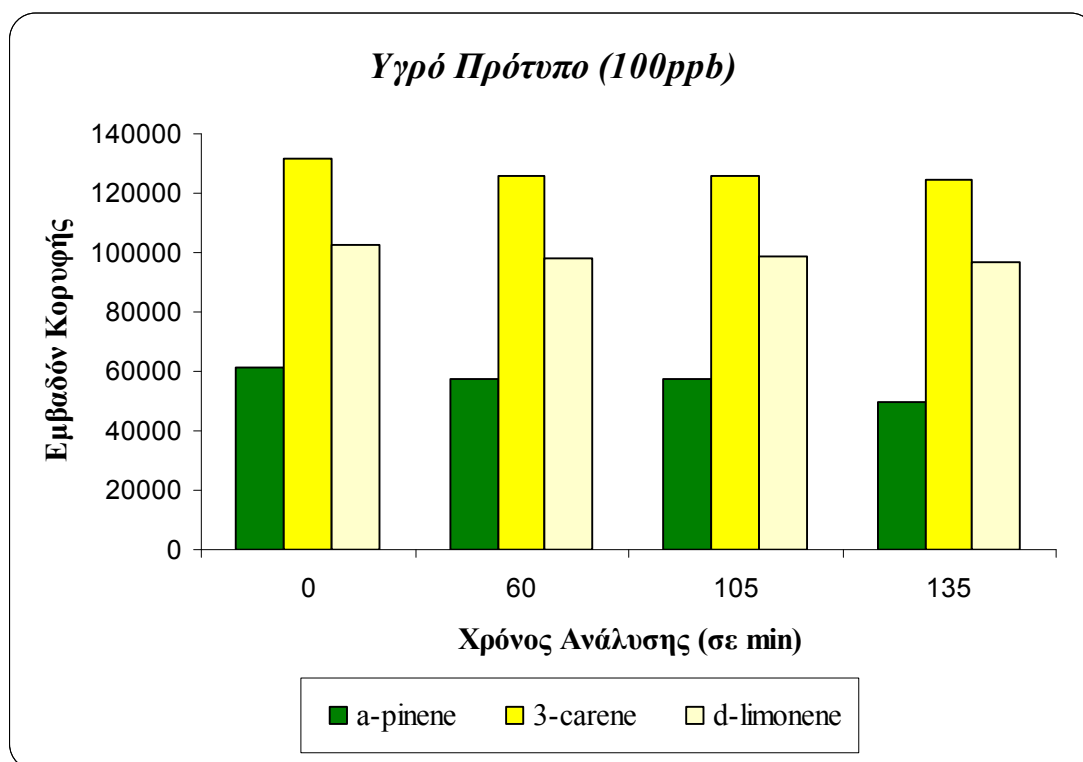
Σημαντική παρεμπόδιση ακόμη, μπορεί να αποτελέσει και το περιβάλλον του εργαστηρίου. Εξαιτίας του ότι, οι σωλήνες δειγματοληψίας παρασκευάζονται από τον αναλυτή στο χώρο του εργαστηρίου, όταν ο χώρος αυτός δεν είναι καθαρός μπορεί το προσροφητικό των σωλήνων να κατακρατήσει και άλλες ενώσεις που παρευρίσκονται στην ατμόσφαιρα του εργαστηρίου, που ίσως παρεμποδίζουν την έκλουση των ενώσεων που μας ενδιαφέρουν. Έτσι, πριν από κάθε εισαγωγή δείγματος ή προτύπου διαλύματος στον σωλήνα, αυτός θα πρέπει να καθαρίζεται (διαδικασία conditioning).

Τέλος, σύμφωνα με την μέθοδο της EPA τα δείγματα μπορούν να αλλοιωθούν υπό την επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας και της υψηλής θερμοκρασίας με αποτέλεσμα την εξάτμιση των ενώσεων (λόγω πτητικότητας). Βασικό τμήμα της ανάλυσης είναι η συντήρηση των δειγμάτων. Ανεπαρκής συντήρηση των δειγμάτων και των πρότυπων διαλυμάτων μπορεί να αποτελέσει πηγή σφαλμάτων στα αποτελέσματα των αναλύσεων. Για την σωστή συντήρηση αυτών, οι δειγματοληπτικοί σωλήνες πρέπει να καπακώνονται με ατσάλινα καπάκια τύπου Swagelok και με ferrules, να μεταφέρονται και να αποθηκεύονται σε θερμοκρασία 4°C, εφόσον η ανάλυση τους δεν γίνει σε σύντομο χρονικό διάστημα. Σωστή συντήρηση λοιπόν των δειγμάτων και των standard συνεισφέρει στην αξιοπιστία των αποτελεσμάτων της μεθόδου.

4.2.1. Εξέταση της Συντήρησης των Πρότυπων Διαλυμάτων

Κατά την διάρκεια της παρούσας μελέτης πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις πρότυπου διαλύματος, για να διαπιστωθεί αν συντηρείται κατά την διάρκεια του χρόνου. Για να εξετάσουμε κατά πόσο τα πρότυπα διαλύματα που παρασκευάσαμε συντηρούνται στο ψυγείο στους 4 °C με το πέρας του χρόνου, αναλύσαμε ένα υγρό πρότυπο διάλυμα συγκέντρωσης 100 ppb τόσο κατά την ημέρα που το παρασκευάσαμε, όσο και μετά από διάφορα χρονικά διαστήματα (διαφορετικές ώρες και ημέρες).

Αρχικά παρασκευάσαμε το υγρό πρότυπο διάλυμα των 100 ppb και το αναλύσαμε αμέσως μετά την παρασκευή του. Το αναλύσαμε επίσης, έπειτα από μία ώρα, έπειτα από μιάμιση ώρα και έπειτα από δύομιση ώρες. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στην ακόλουθη εικόνα 40 και στον ακόλουθο πίνακα 21. Η ανάλυση αμέσως μετά την παρασκευή του προτύπου έδειξε ότι η ένταση των κορυφών είναι λίγο μεγαλύτερη σε σχέση με την ανάλυση κατά τις επόμενες ώρες, όπου το εμβαδόν των κορυφών σταθεροποιείται και παρατηρείται πολύ καλή επαναληψιμότητα.



Εικόνα 40. Ανάλυση πρότυπου διαλύματος (100 ppb) σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα

	Ανάλυση μετά την παρασκευή του προτύπου συγκέντρωσης 100ppb	Ανάλυση του προτύπου μετά από 1 h	Ανάλυση του προτύπου μετά από 1 h και 30 min	Ανάλυση του προτύπου μετά από 2 h και 30 min
Ένωση	Ποσότητα ένωσης (ng)	Ποσότητα ένωσης (ng)	Ποσότητα ένωσης (ng)	Ποσότητα ένωσης (ng)
a-pinene	4,71	4,24	4,23	3,32
3-carene	11,98	11,43	11,43	11,32
d-limonene	11,97	11,38	11,50	11,29

Πίνακας 21. Ποσότητα των ενώσεων (σε ng), κατά την ανάλυση του υγρού προτύπου σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα της ίδιας ημέρας

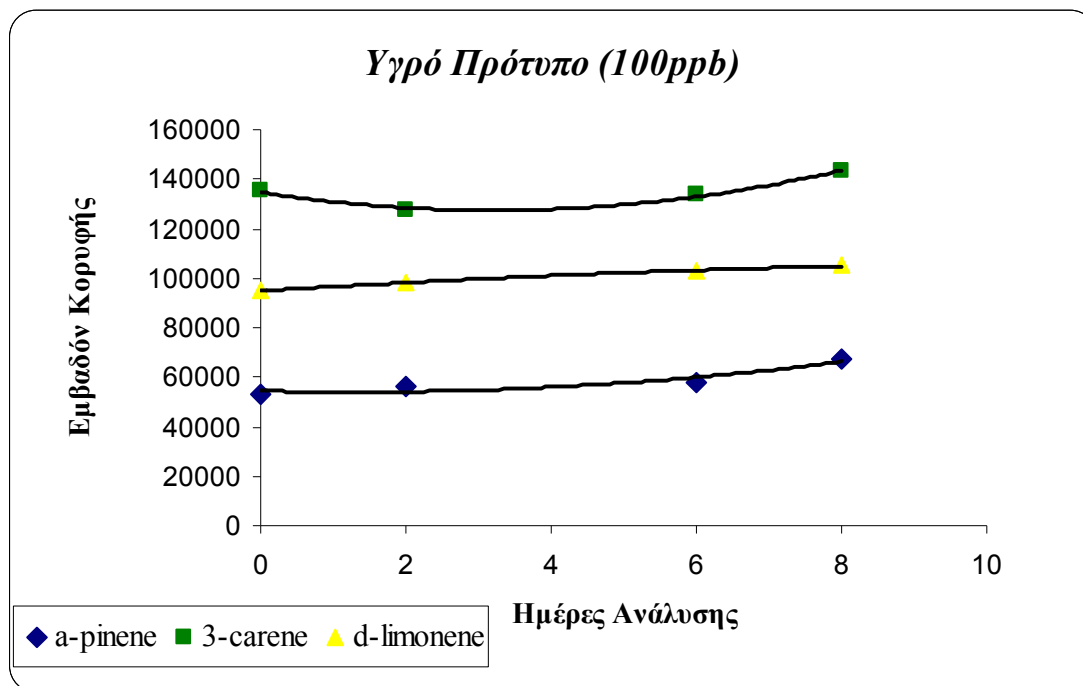
Στην συνέχεια αποθηκεύσαμε το υγρό πρότυπο διάλυμα στο ψυγείο στους 4° C περίπου και το αναλύσαμε ξανά έπειτα από 2 ημέρες, έπειτα από 6 ημέρες και έπειτα από 8 ημέρες. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων εμφανίζονται συγκεντρωτικά στον παρακάτω πίνακα 22 και την παρακάτω εικόνα 41.

	Ανάλυση αμέσως μετά την παρασκευή του υγρού προτύπου συγκέντρωσης 100ppb (0 ημέρες αποθήκευσης)	Ανάλυση του προτύπου μετά από 2 ημέρες αποθήκευσης	Ανάλυση του προτύπου μετά από 6 ημέρες αποθήκευσης	Ανάλυση του προτύπου μετά από 8 ημέρες αποθήκευσης
Ένωση	Ποσότητα ένωσης (ng)	Ποσότητα ένωσης (ng)	Ποσότητα ένωσης (ng)	Ποσότητα ένωσης (ng)
a-pinene	3,78	4,12	4,31	5,41
3-carene	12,30	11,61	12,17	13,04
d-limonene	11,01	11,47	11,99	12,25

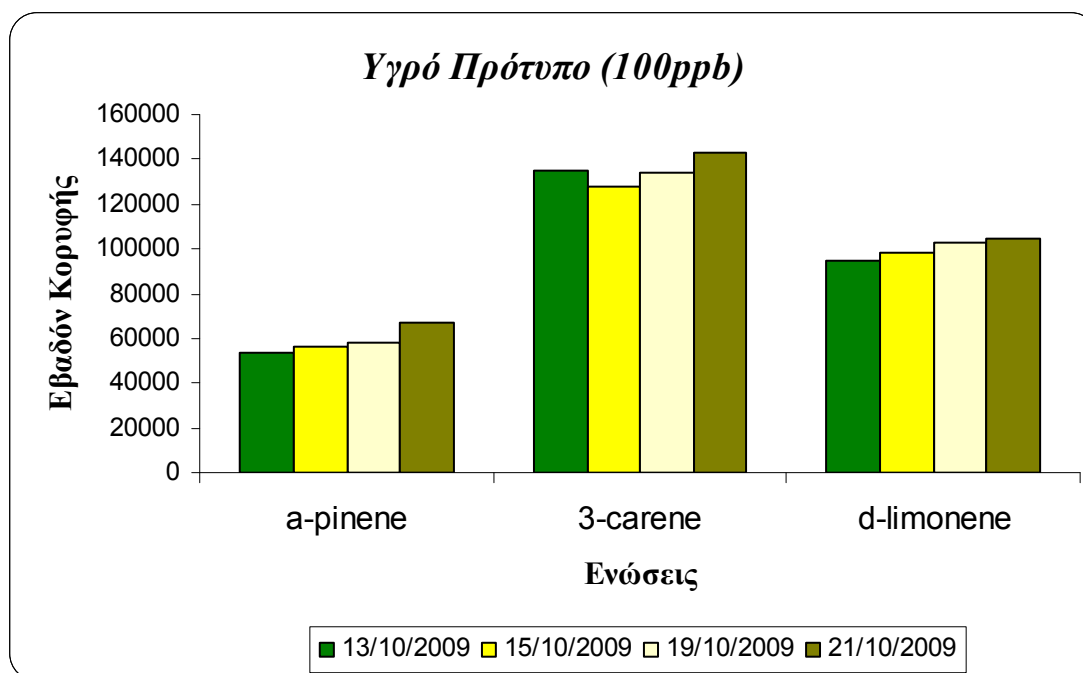
Πίνακας 22. Ποσότητα των ενώσεων (σε ng), κατά την ανάλυση του υγρού προτύπου έπειτα από αποθήκευσή του, σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του ανωτέρω πίνακα, με την ανάλυση του προτύπου έπειτα από 0, 2, 6 και 8 ημέρες αποθήκευσής του αντίστοιχα, παρατηρείται μία μικρή αύξηση του εμβαδού των κορυφών των ενώσεων και κατά συνέπεια και της μάζας τους. Η μικρή αλλοίωση του υγρού προτύπου είναι όπως φαίνεται μέσα στα όρια του σφάλματος της μεθόδου. Όπως ήδη έχει αναφερθεί το χαμηλό σημείο βρασμού του διαλύτη (μεθανόλη) ίσως προκαλέσει εξάτμιση του διαλύτη κατά την αποθήκευση με αποτέλεσμα να αυξηθεί η συγκέντρωση των τερπενίων στα standard.

Συνεπώς, η παρατηρηθείσα αύξηση της κορυφής του δ-λεμονένιου κατά την τελευταία ημέρα ανάλυσης για παράδειγμα, ίσως οφείλεται στην μερική εξάτμιση του διαλύτη. Σύμφωνα με τα παραπάνω, τα πρότυπα διαλύματα δεν αλλοιώνονται κατά την αποθήκευσή τους μία εβδομάδα στο ψυγείο.



Εικόνα 41. Ανάλυση του υγρού πρότυπου διαλύματος (100 ppb) σε διαφορετικές ημέρες, έπειτα από αποθήκευση του στους 4° C

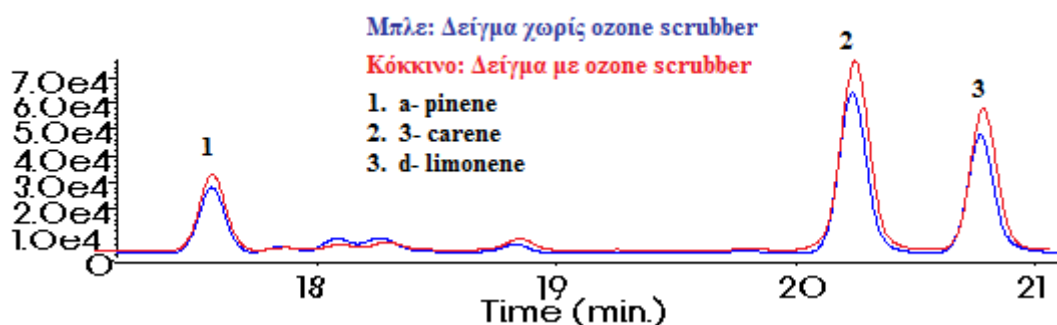


Εικόνα 42. Εμβαδά των κορυφών των α -pinene, 3-carene και d-limonene κατά την ανάλυση του υγρού προτύπου σε διαφορετικές ημέρες

4.2.2. Εξέταση της Παρεμπόδισης του Όζοντος στην Ανάλυση

Το όζον όπως αναφέραμε στο δεύτερο κεφάλαιο της παρούσας μελέτης, έχει την ικανότητα να αντιδρά με τα μονοτερπένια και να σχηματίζει ενδιάμεσα οζονίδια. Για το λόγο αυτό κατά την δειγματοληψία χρησιμοποιούμε ένα σύστημα απομάκρυνσης του όζοντος (ozone scrubber). Για να διαπιστωθεί η αποτελεσματικότητά του, πραγματοποιήθηκαν παράλληλες δειγματοληψίες παρουσία και απουσία αυτού.

Συγκεκριμένα, λήφθηκαν δείγματα αέρα ίδιου όγκου (4,5 λίτρα) με ή χωρίς την χρήση ozone scrubber. Στο κάθε ένα αυτά προστέθηκε και γνωστή ποσότητα υγρού πρότυπου διαλύματος συγκέντρωσης 500 ppb. Τα δείγματα αναλύθηκαν αμέσως και συγκρίθηκαν οι συγκεντρώσεις τους. Μετά από την σύγκριση των δύο δειγμάτων πήραμε το παρακάτω χρωματογράφημα. Η αλλοίωση των αποτελεσμάτων παρουσία του όζοντος είναι εμφανής και αναμενόμενη σε όλες τις ενώσεις.



Εικόνα 43. Χρωματογράφημα σύγκρισης ίδιων δειγμάτων ατμοσφαιρικού αέρα παρουσία και απουσία Ozone Scrubber

Τρόπος Δειγματοληψίας	α - πινένιο (ng)	3- καρένιο (ng)	δ - λεμονένιο (ng)
Παρουσία ozone scrubber	83,67	226,76	102,34
Απουσία ozone scrubber	75,27	197,55	90,92

Πίνακας 25. Ποσότητες των ενώσεων σε δείγματα παρουσία ή μη ozone scrubber

Μετά από τον υπολογισμό των συγκεντρώσεων των ενώσεων προσπαθήσαμε να υπολογίσουμε την απώλεια των ενώσεων στις συγκεκριμένες συνθήκες ανάλυσης. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

Ένωση	Απώλεια %
α- πινένιο	10 %
3- καρένιο	12,8 %
δ- λεμονένιο	11,1 %

Πίνακας 26. Ποσοστά απώλειας στις ποσότητες των ενώσεων λόγω απουσίας Ozone Scrubber

Στην συνέχεια επαναλάβαμε τη δειγματοληψία χωρίς όμως να προσθέσουμε γνωστή ποσότητα υγρού πρότυπου διαλύματος συγκέντρωσης 500 ppb. Τα δείγματα αναλύθηκαν αμέσως και συγκρίθηκαν οι συγκεντρώσεις τους. Τα αποτελέσματα αναφέρονται στον ακόλουθο πίνακα. Η αλλοίωση των αποτελεσμάτων παρουσία του όζοντος αυτή τη φορά είναι περισσότερο εμφανής μόνο για τις ενώσεις α-πινένιο και, 3-καρένιο ενώ η συγκέντρωση του δ-λεμονένιου παρέμεινε σταθερή τόσο παρουσία όσο και απουσία του ozone scrubber.

Τρόπος Δειγματοληψίας	α- πινένιο (ng)	3- καρένιο (ng)	δ- λεμονένιο (ng)
Παρουσία ozone scrubber	4,86	2,40	1,24
Απουσία ozone scrubber	0,18	1,58	1,24

Πίνακας 27. Ποσότητες των ενώσεων σε δείγματα παρουσία ή μη ozone scrubber

Τα αποτελέσματα της απώλειας ποσότητας των ενώσεων λόγω απουσίας ozone scrubber παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα. Απουσία ozone scrubber η απώλεια σε μάζα του α-πινένιου είναι πολύ μεγάλη και φτάνει τα 96,3% επειδή αντιδρά ισχυρότερα με το όζον της ατμόσφαιρας ενώ του 3-καρένιου τα 34,1%. Συνεπώς κατά τις δειγματοληψίες μας, θα χρησιμοποιηθεί ο ozone scrubber για να αποφύγουμε τυχόν απώλειες σε ποσότητα των ανιχνεύσιμων ενώσεων.

Ένωση	Απώλεια %
α- πινένιο	96,3 %
3- καρένιο	34,1 %
δ- λεμονένιο	0,02 %

Πίνακας 28. Ποσοστά απώλειας στις ποσότητες των ενώσεων λόγω απουσίας Ozone Scrubber

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΕΦΑΡΜΟΓΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

5.1. Εφαρμογή της Μεθόδου

Η παρούσα μελέτη, είχε σκοπό την ανάπτυξη μιας μεθόδου προσδιορισμού των βιογενών πτητικών υδρογονανθράκων και συγκεκριμένα των μονοτερπενίων στην ατμόσφαιρα. Η μέθοδος λαμβάνει υπόψη τις παρεμποδίσεις από την επίδραση του όζοντος και της υγρασίας στα μονοτερπένια.

Σύμφωνα με πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο και συγκεκριμένα, σύμφωνα με κάποιες δειγματοληψίες, οι ενώσεις που ανιχνεύτηκαν και οι συγκεντρώσεις αυτών, εμφανίζονται στον ακόλουθο πίνακα 29:

Ένωση	Συγκέντρωση Ενώσεων (pptv)
a-pinene	~ 14
camphene	87 έως 275
myrcene	8 έως 10
3-carene	19 έως 49
d-limonene	11 έως 175
1,8- cineole	87 έως 99

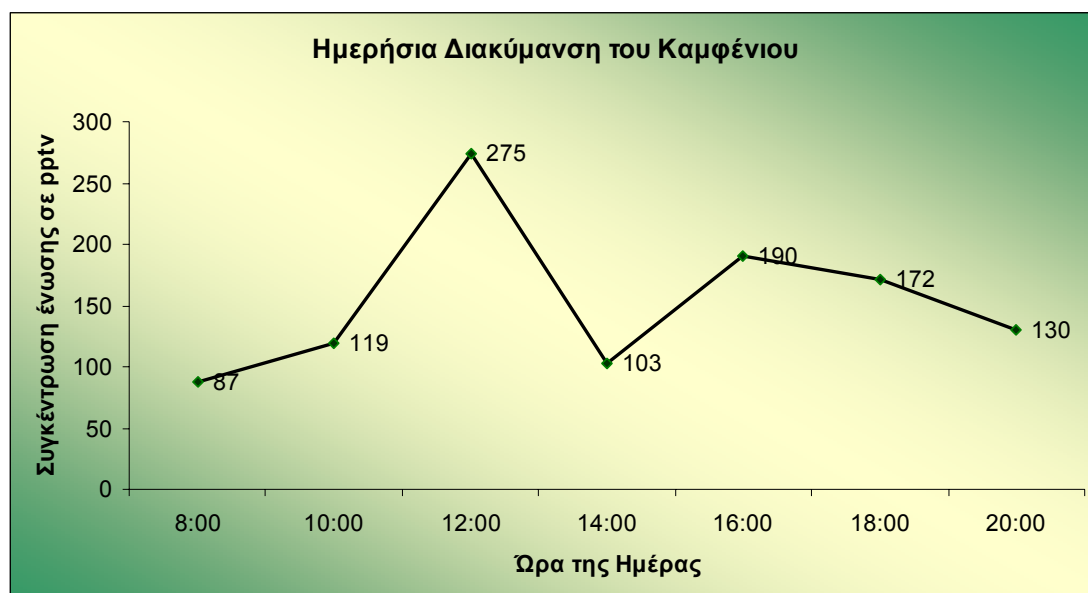
Πίνακας 29. Συγκεντρώσεις των ενώσεων σε pptv στην ατμόσφαιρα

Οι συγκεκριμένες δειγματοληψίες έγιναν στον περιβάλλοντα χώρο του Πανεπιστημίου. Ξεκίνησαν στις 8:00 το πρωί και τελείωσαν στις 20:00 το βράδυ. Η δειγματοληψία γινόταν κάθε δύο ώρες. Η διάρκεια δειγματοληψίας ήταν μία ώρα για κάθε δείγμα. Η θερμοκρασία της ατμόσφαιρας ήταν περίπου 18-20 °C, ενώ στην περιοχή επικρατούσαν και βόρειοι άνεμοι.

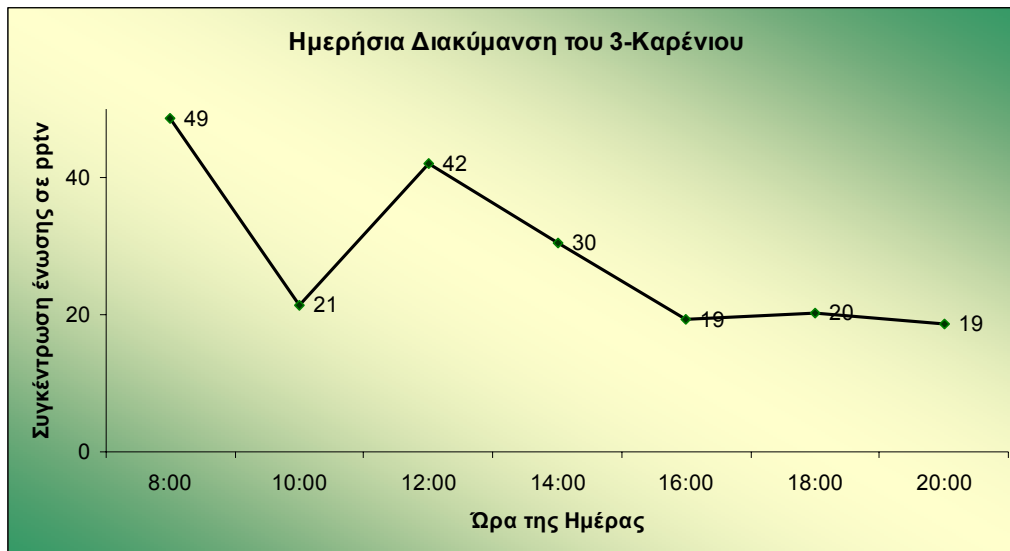
Στις εικόνες που ακολουθούν εμφανίζονται ενδεικτικά οι ημερήσιες διακυμάνσεις του καμφένιου, του 3-καρένιου, του δ-λεμονένιου και της 1,8-σινεόλης. Σύμφωνα με τα διαγράμματα, το καμφένιο παρουσιάζει τη μέγιστη συγκέντρωση 275 pptv στις δώδεκα το μεσημέρι, η συγκέντρωση του πέφτει πολύ χαμηλά στις δύο το μεσημέρι, ενώ το απόγευμα παρουσιάζει ξανά αρκετά υψηλή συγκέντρωση. Το 3-καρένιο παρουσιάζει δύο μέγιστες τιμές συγκέντρωσης. Μία στις οχτώ το πρωί 49 pptv και μία στις δώδεκα το μεσημέρι 42 pptv. Όσον αφορά το δ-λεμονένιο, αυτό παρουσιάζει μία φυσιολογική αναμενόμενη ημερήσια διακύμανση με μέγιστη συγκέντρωση 175 pptv στις τέσσερις με πέντε το απόγευμα.

Τέλος η 1,8-σινεόλη άρχισε να εμφανίζεται στα χρωματογραφήματα κατά τις αναλύσεις που έγιναν μετά τις 12 το μεσημέρι και παρουσιάζει μέγιστη συγκέντρωση 99 ppbv στις τέσσερις το απόγευμα.

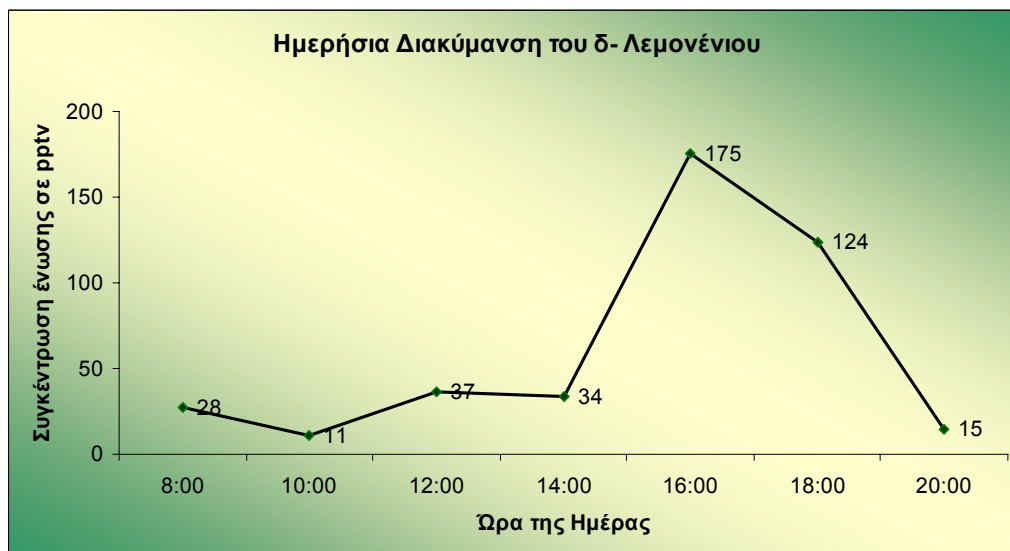
Σύμφωνα με την βιβλιογραφία οι μετρήσεις που έχουν γίνει για τον προσδιορισμό των ημερήσιων διακυμάνσεων των εν λόγω ενώσεων έχουν γίνει κυρίως καλοκαιρινούς μήνες, ενώ οι δειγματοληψίες έχουν πραγματοποιηθεί σε δάση με κωνοφόρα. Οι Harrison et al. κατά την διάρκεια της καμπάνιας AEROBIC μετά από δειγματοληψίες που πραγματοποίησαν σε δάσος με έλατα στο Περούλι, βρήκαν ότι οι συγκεντρώσεις των μονοτερπενίων κυμαίνονταν από 0,5 έως 3 ppbv. Οι Cooke et al. κάνοντας μετρήσεις σε ένα δάσος με ευκαλύπτους στην Πορτογαλία μία μέρα του Ιουλίου με 37 °C, βρήκαν μέγιστη συγκέντρωση του α-πινένιου 2,2 ppbv, του καμφένιου 0,39 ppbv, του μυρκένιου 0,39 ppbv, του d-λεμονένιου 0,3 ppbv και της 1,8-σινεόλης 1,2 ppbv. Τέλος οι Hakola et al. κάνοντας δειγματοληψίες σε ένα δάσος της Φιλανδίας, βρήκαν ότι οι συγκεντρώσεις των μονοτερπενίων κυμαίνονται από 80 έως 700 ppbv. Εξαιτίας του ότι οι δειγματοληψία που πραγματοποιήσαμε εμείς, αφενός δεν έγινε σε κάποιο δάσος αλλά στον περιβάλλοντα χώρο του Πανεπιστημίου και αφετέρου δεν έγινε κατά την περίοδο του καλοκαιριού, είναι λογικό και αναμενόμενο, οι συγκεντρώσεις των ενώσεων που βρήκαμε να είναι χαμηλές.



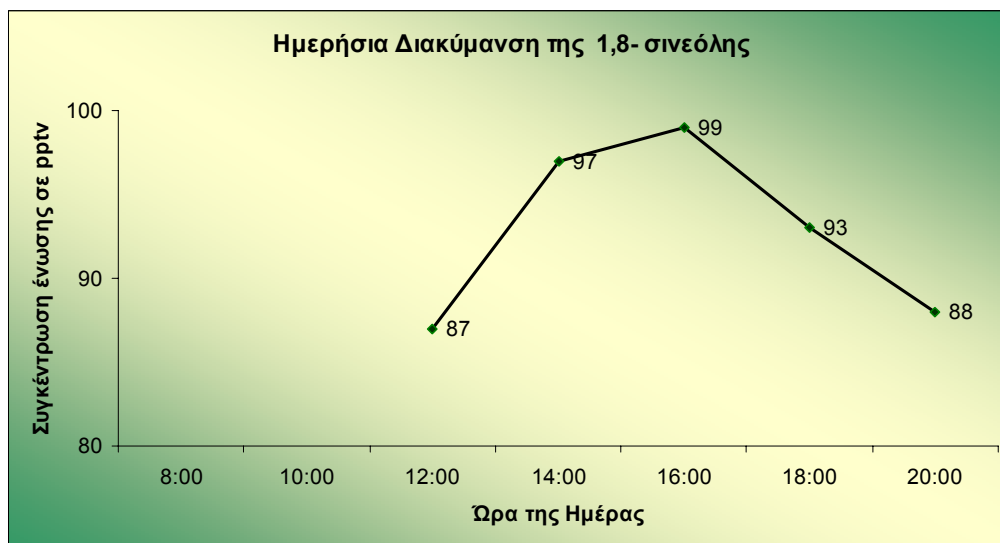
Εικόνα 44. Ημερήσια Διακύμανση Καμφένιου



Εικόνα 45. Ημερήσια Διακύμανση 3-Καρόνιου



Εικόνα 46. Ημερήσια Διακύμανση δ-Λεμονένιου



Εικόνα 47. Ημερήσια Διακύμανση 1,8-Σινεόλης

5.2. Μελλοντική Εργασία

Η εφαρμογή της συγκεκριμένης μεθόδου προσδιορισμού μπορεί να βοηθήσει στην διεξαγωγή σημαντικών συμπερασμάτων για την συμπεριφορά των μονοτερπενίων.

Ως μελλοντική εργασία, προτείνεται η μελέτη των συγκεκριμένων ενώσεων σε διαφορετικές συνθήκες και σε διαφορετικό περιβάλλον. Θα ήταν ενδιαφέρον να μελετηθούν σε διαφορετικές ώρες της ημέρας ώστε να εξακριβωθεί η ημερήσια διακύμανση τους. Επίσης, να μελετηθούν σε διαφορετικές καιρικές συνθήκες, ώστε να εξακριβωθεί η εποχιακή τους διακύμανση και κατά πόσο επηρεάζεται η συγκέντρωσή τους από την ηλιοφάνεια κατά τους καλοκαιρινούς μήνες και από τα υψηλά επίπεδα υγρασίας κατά τους χειμερινούς μήνες. Τα συμπεράσματα από την ημερήσια και εποχιακή τους διακύμανση, θα βοηθήσουν στην μελέτη και άλλων ενώσεων που ο κύκλος ζωής τους επηρεάζεται από τον κύκλο ζωής των μονοτερπενίων.

Ένας άλλος σημαντικός μελλοντικός τομέας μελέτης, θα ήταν οι διακυμάνσεις στις συγκεντρώσεις των ενώσεων αυτών μεταξύ τριών εντελώς διαφορετικών περιοχών. Για παράδειγμα σε μία αστική πόλη με ρυπασμένη ατμόσφαιρα, σε μία υπαίθρια περιοχή και σε ένα δάσος με κωνοφόρα.

Επίσης θα ήταν ενδιαφέρον, να μελετηθούν οι διακυμάνσεις στις συγκεντρώσεις από δείγματα που θα λαμβάνονται από διαφορετικά μέρη του φυτού (π.χ. από τις ρίζες, από πεσμένα στο έδαφος φύλλα ή από τις βελόνες κωνοφόρων δένδρων κ.ά.).

Επειδή οι συγκεντρώσεις ορισμένων VOC's είναι υψηλότερες σε εσωτερικούς χώρους από ότι στο περιβάλλον, η μέθοδος είναι κατάλληλη να εφαρμοστεί και σε δείγματα εσωτερικού χώρου. Μπορεί λοιπόν να εφαρμοστεί σε χώρους όπως βιομηχανίες (χαλυβουργεία, διυλιστήρια, σταθμοί παραγωγής ηλεκτρικής ενέργειας κ.α.), σε οχήματα (Ι.Χ., μέσα μαζικής μεταφοράς, πλοία και αεροπλάνα), σε κτίρια και εμπορικές επιχειρήσεις ώστε να διεξαχθούν συμπεράσματα σε τι συγκεντρώσεις εκπέμπονται τα μονοτερπένια στους χώρους αυτούς. Τέλος, θα μπορούσαν μελλοντικά, να μελετηθούν και να προσδιοριστούν περισσότερα είδη τερπενίων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

&

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Βιβλιογραφία

- Atkinson R. (1994), “Gas-phase tropospheric chemistry of organic compounds”, J. Phys. Chem. Ref. Data, Monograph 2, 1-216.
- Atkinson R. (1997), “Gas-phase tropospheric chemistry of volatile organic compounds:1. Alkanes and alkenes”, J. Phys. Chem. Ref. Data 26, 215-290.
- Atkinson R. (2000), “Atmospheric chemistry of VOC’s and NOx”, Atmospheric Environment, 34, 2063-2101.
- Atkinson R. and Arey J. (1998), “Atmospheric chemistry of biogenic organic compounds”, Acc. Chem. Res., 31, 574-583.
- Atkinson R. and Arey J. (2003), “Gas phase tropospheric chemistry of biogenic organic compounds: a review”, Atmos. Environ 37, 197-219.
- Atkinson R. and Aschmann S.M. (1993), “OH radical production in the gas-phase reactions of O₃ with a series of alkenes under atmospheric conditions”, Environ. Sci. Techn. 27, 1357-1363.
- Atkinson R., Aschmann S.M., Arey J. And Tuazon E.C. (1994), “Formation yields of epoxides and O(³P) atoms from the gas-phase reactions of O₃ with a series of alkenes”, Int. J. Chem. Kin. 26, 945-950.
- Atkinson R., Baulch D.L., Cox R.A., Hampson R.F. Jr., Kerr J.A., Rossi M.J. and Troe J. (1996), “Evaluated kinetic and photochemical data for atmospheric chemistry”, Atmos. Environ. 30, 3903-3904.
- Benjamin M.T., Sudol M., Bloch L. and Winer A.M. (1996), “Low-emitting urban forests: a taxonomic methodology for assigning isoprene and monoterpene emission rates”, Atmos. Environ. 30, 1437-1452.
- Bonsang B., Kanakidou M., Lambert G. and Monfray P. (1988), “The marine source of C₂-C₆ aliphatic hydrocarbons”, J. Atmos. Chem. 6, 3-20.

-
- Bruno P., Caselli M., G. de Gennaro *, M. Solito, M. Tutino (2007), “Monitoring of odor compounds produced by solid waste treatment plants with diffusive samplers”, *Waste Management* 27, 539-544.
 - Calogirou A., Larsen B.R., Brussol C., Duane M. and Kotzias D. (1996), “Decomposition of terpenes by ozone during sampling on Tenax”, *Analytical Chemistry* 68, 1499-1506.
 - Calogirou A., Larsen B.R., Kotzias D. (1999), “Gas-phase terpene oxidation products: a review”, *Atmospheric Environment*, 33, 1423-1439.
 - Cao X-L. and Hewitt N.C. (1995), “Detection methods for the analysis of biogenic non-methane hydrocarbons in air”, *J. Chrom. A*, 710, 39-59.
 - Cooke K.M., Hassoun, Saunders S.M., Pilling M.J., (2001), “Identification and quantification of volatile compounds found in a eucalyptus forest during FIELDVOC’94 in Portugal”, *Chemosphere-Global Change Science*, 3, 249-257.
 - Fall R., “Biogenic Emissions of Volatile Organic Compounds from Higher Plants”, Ch.2, pp. 41-96. In *Reactive Hydrocarbons in the Atmosphere*, (C.N. Hewitt, Ed.). Academic Press, San Diego, 1999.
 - Fick J., Pommer L., Andersson B. and Nilsson C. (2002), “A study of the gas-phase ozonolysis of terpenes: the impact of radicals formed during the reaction”, *Atmos. Environ.* 36, 3299-3308.
 - Guenther A., Hewitt C.N., Erickson D., Fall R., Geron C., Graedel T., Harley P., Klinger L., Lerdau M., McKay W.A., Pierce T., Scholes B., Steinbrecher R., Tallamraju R., Taylor J. and Zimmerman P. (1995), “A global model of natural volatile organic compounds emissions”, *J. Geophys. Res.* 100, 8873-8892.
 - Guenther A., Zimmerman P. and Wildermuth M., (1994), “Natural volatile organic compound emission rate estimates for U.S. woodland landscapes”, *Atmos. Environ.* 28, 1197-1210.
 - Hakola H., Laurila T., Rinne J., Puhto K. (2000), “The ambient concentrations of biogenic hydrocarbons at a northern European boreal site”, *Atmos. Environ.* 34, 4971-4982.

- Hakola H., Tarvainen V., Laurila T., Hiltunen V., Hellen H., Keronen P. (2003), “Seasonal variation of VOC concentrations above a boreal coniferous forest”, *Atmos. Environ.* 37, 1623-1634.
- Harrison D., Hunter M.C., Lewis A.C., Seakins P.W., Nunes T.V. and Pio C.A. (2001a), “Isoprene and monoterpene emission from the coniferous species *Abies Borisii-regis*- implications for regional air chemistry in Greece”, *Atmos. Environ.* 35, 4687-4698.
- Harrison D., Hunter M.C., Lewis A.C., Seakins P.W., Bonsang B., Gros V., Kanakidou M., Touaty M., Kavouras I., Mihalopoulos N., Stephanou E., Alves c., Nunes T. and Pio C. (2001b), “Ambient isoprene and monoterpene concentrations in a Greek fir (*Abies Borisii-regis*) forest. Reconciliation with emissions measurements and effects on measured OH concentrations”, *Atmos. Environ.* 35, 4699-4711.
- He C., Murray F. and Lyons T. (2000), “Monoterpene and isoprene emissions from 15 *Eucalyptus* species in Australia”, *Atmos. Environ.* 34, 645-655.
- Helmig D. (1997), “Ozone removal techniques in the sampling of atmospheric volatile organic trace gases”, *Atmos. Environ.* 31, 3635-3651.
- Hoffmann, T. (1995), “Adsorptive preconcentration technique including oxidant scavenging for the measurement of reactive natural hydrocarbons in ambient air”, *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 351, 41-47.
- Hoffmann T., Odum J.R., Bowman F., Collins D., Klockow D., Flagan R.C. and Seinfeld J.H. (1997), “Formation of organic aerosols from the oxidation of biogenic hydrocarbons”, *J. Atmos. Chem.* 26, 189-222.
- Hollender J., Sandner F., Moller M. and Dott W. (2002), “Sensitive indoor monitoring of monoterpenes using different adsorbents and thermal desorption gas chromatography with mass-selective detection”, *J. Chrom. A* 962, 175-181.
- Holzke C., Hoffman T., Jaeger L., Koppmann R., Zimmer W. (2006), “Diurnal and seasonal variation of monoterpene and sesquiterpene emissions from Scots pine (*Pinus sylvestris* L.)”, *Atm. Environ.* 40, 3174-3185.

- Janson, R. W. (1993), “Monoterpene emissions from Scots pine and Norwegian spruce”, *Journal of Geophysical Research* 98, 2839-2850.
- Janson, R. W. and de Serves C. (2001), “Acetone and monoterpene emissions from the boreal forest in Northern Europe”, *Atmos. Environ.* 35, 4629-4637.
- Jaoui M. and Kamens R.M. (2003), “Gaseous and particulate oxidation products analysis of a mixture of α -pinene + β -pinene/O₃/air in the absence of light and α -pinene + β -pinene/NO_x/air in the presence of natural sunlight”, *Journal of Atmos. Chemistry* 44, 259-297.
- Jenkin M.E. and Clemitshaw K.C. (2000), “Ozone and other secondary photochemical pollutants: chemical processes governing their formation in the planetary boundary layer”, *Atmos. Environ.* 34, 2499-2527.
- Kanakidou M., Bonsang B. and Lamber G. (1989), “Light hydrocarbons vertical profiles and fluxes in a french rural area”, *Atmos. Environ.* 23, 921-927.
- Kavouras I.G., Mihalopoulos N. and Stephanou E.G. (1999), “Formation and gas/particle partitioning of monoterpenes photo-oxidation products over forests”, *Geoph. Res. Let.* 26, 55-58.
- Kesselmeier J., Kuhn U., Wolf A., Andreae M.O., Ciccioli P., Brancaleoni E., Frattoni M., Guenther A., Greenberg J., P. de Castro Vasconcellos, Telles de Oliva, Tavares T., Artaxo P. (2000), “Atmospheric volatile organic compounds (VOC) at a remote tropical forest site in central Amazonia”, *Atmos. Environ.* 34, 4063-4072.
- Kesselmeier J., Schafer L., Ciccioli P., Brancaleoni E., Cecinato A., Frattoni M., Foster P., Jacob V., Denis J., Fugit J.L., Dutaur L. and Torres L. (1996), “Emission of monoterpenes and isoprene from a Mediterranean oak species *quercus ilex* l. measured within the BEMA (Biogenic Emissions in the Mediterranean Area) project”, *Atmos. Environ.* 30, 1841-1850.
- Kleindienst, T. E., Blanchard, F. T., Corse, E. W. and Lonneman, W. A. (1995), “Measurements of C₁-C₄ carbonyls on DNPH-coated silica gel and C18 cartridges in the presence of ozone. In Measurement of Toxic and Related Air Pollutants.

Proceedings of an International Symposium”, Research Triangle Park, NC, 16-18 May, Pittsburgh, PA, 295-305.

- Larsen B., Bomboi-Mingarro T., Brancaleoni E., Calogirou A., Cecinato A., Coeur C., Chatzianestis I., Duane M., Frattoni M., Jean-Luc Fugitii Ute Hansen, Mimikos N., Hoffman T., Owen S., Perez-Pastor R., Reichmann \$ Gunther, Staudt M., Steinbrecher R., Jacob V., (1997), “Sampling and analysis of terpenes in air. Interlaboratory Comparison”, *Atmospheric Environment*, 31, 35-49.
- Lerda M., Guenther A. and Monson R. (1997), “Plant Production and Emission of Volatile Organic Compounds”, *BioScience* 47, 373-383.
- Massold E., Bahr C., Salthammer T., Brown S. K., (2005), “Determination of VOC and TVOC in Air Using Thermal Desorption GC-MS—Practical Implications for Test Chamber Experiments”, *Chromatographia* 62, 75-85.
- Moschonas N. and Glavas S. (1996), “C₃-C₁₀ Hydrocarbons in the atmosphere of Athens, Greece”, *Atmospheric Environment* 30, 2769-2772.
- Moschonas N. and Glavas S. (2000), “Non –methane hydrocarbons at a high-altitude rural site in the Mediterranean (Greece)”, *Atmospheric Environment* 34, 973-984.
- Ormeno E., Mevy J.P., Vila B., Bousquet-Melou A., Greff S., Bonin G. and Fernandez C. (2006), “Water deficit stress induces different monoterpene and sesquiterpene emission changes in Mediterranean species. Relationship between terpene emissions and plant water potential”, *Chemosphere* 67, 276-284.
- Owen S.M., Boissard C. and Hewitt N.C. (2001), “Volatile organic compounds (VOCs) emitted from 40 Mediterranean plant species: VOC speciation and extrapolation to habitat scale”, *Atmos. Environ.* 35, 5393-5409.
- Pandis S.N., Paulson S.E., Seinfeld J.H. and Flagan R.C. (1991), “Aerosol formation in the photooxidation of isoprene and β-pinene”, *Atmos. Environ.* 25A, 997-1008.
- Parmer, S. S. and Grosjean, D. (1990), “Laboratory tests of KI and alkaline annular denuders”, *Atmospheric Environment* 24A, 2695-2698.

- Paulson S.E. and Seinfeld J.H. (1992), “Atmospheric photochemical oxidation of 1-octene: OH, O₃ and O(³P) reactions”, Environ. Sci. Techn. 26, 1165-1173.
- Paulson S.E. and Orlando J.J. (1996), “The reactions of ozone with alkenes: an important source of HO_x in the boundary layer”, Geoph. Res. Letters 23, 3727-3730.
- Peters, R. J. B., Duivenbode, J. A. D. V. R. V., Duyzer, J. H. and Verhagen, H. L. M. (1994), “The determination of terpenes in forest air”, Atmospheric Environment 28, 2413-2419.
- Pio C.A., Nunes T.V., Castro L.M. and Lopes D.A. (2001), “Volatile and particulate organic compounds in the ambient air of a eucalyptus forest in Portugal during the FIELDVOC’94 campaign”, Chemosphere-Global Change Science 3, 283-293.
- Rappengluck B., Fabian P., Kalabokas P., Viras L.G. and Ziomias I.C. (1997), “Quasi-continuous measurements of non-methane hydrocarbons (NMHC) in the greater Athens area during MEDCAPHOT-TRACE”, Atmos. Environ. 32, 2103-2121.
- Riba M.L., Randrianalimanana E., Mathieu J., Torres L., and Namiesnic J. (1985), “Preconcentration of Atmospheric Terpenes on Solid Sorbents”, Intern. J. Environ. Anal. Chem. 19, 133-143.
- Riba M.L., Tathy J.P., Tsiropoulos N., Monsarrat B. and Torres L. (1987), “Diurnal variation in the concentration of α- and β-pinene in the landes forest (France)”, Atmos. Environ. 21, 191-193.
- Riba M.L., Tsiropoulos N., Clement Br. Golfier A. and Torres L. (1988), “Preconcentration and analysis of atmospheric isoprene and monoterpenes”, Journal of Chromatography 456, 165-173.
- Roberts, J. M., Fehsenfeld, F. C., Albritton, D. L. and Sievers R. E. (1983), “Measurement of monoterpene hydrocarbons at Niwot Ridge, Colorado”, Journal of Geophysical Research 88, 10667-10678.

- Rudolph J. and Johnen F.J. (1990), “Measurements of light atmospheric hydrocarbons over the Atlantic in regions of low biological activity”, *J. Geophys. Res.* 95, 20583-20591.
- Ruuskanen T.M. (2009), “Measurements of volatile organic compounds from biogenic emissions to ambient concentrations”, Academic dissertation, Helsinki 2009.
- Simon V., Riba M.L., Waldhart A. and Torres L., (1995), “Breakthrough volume of monoterpenes on Tenax TA: influence of temperature and concentration for α -pinene”, *J. Chromat.*, 704, 465-471.
- So K.L., Wang T. (2004), “C₃–C₁₂ non-methane hydrocarbons in subtropical Hong Kong: spatial–temporal variations, source–receptor relationships and photochemical reactivity”, *Science of the Total Environment* 328, 161–174.
- Steinbrecher R., Klauer M., Hauff K., Stockwell W.R., Jaeschke W., Dietrich T. and Herbert F. (2000), “Biogenic and anthropogenic fluxes of non-methane hydrocarbons over an urban-impacted forest, Frankfurter Stadtwald, Germany”, *Atmos. Environ.* 34, 3779-3788.
- Sunesson Anna-Lena (2007), “Passive sampling in combination with thermal desorption and gas chromatography as a tool for assessment of chemical exposure”, *Comprehensive Analytical Chemistry* 48, 57-83.
- Tolnai B., Hlavay J., Moller D., Prumke H.-J., Becker H., Dostler M. (2000), “Combination of canister and solid adsorbent sampling techniques for determination of volatile organic hydrocarbons”, *Microchemical Journal* 67, 163-169.
- Tsigaridis K., Kanakidou M. (2002), “Importance of volatile organic compounds photochemistry over a forested area in central Greece”, *Atmospheric Environment* 36, 3137-3146.
- US Environmental Protection Agency: TO-1, Method for the Determination of Volatile Organic Compounds in Ambient Air Using Tenax Adsorption and Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS). EPA, Washington DC, 1984.

- US Environmental Protection Agency: TO-17, Determination of Volatile Organic Compounds in Ambient Air Using Active Sampling onto Sorbent tubes. EPA, Washington DC, 1997.
- Βασιλάκος Χρ., Γεωργίου Μ., Μάγγος Θ., Πατεράκη Στ., Σαραγά Δ., (2005), “Ταυτόχρονη καταγραφή των συγκεντρώσεων αιωρούμενων σωματιδίων (PM_{2,5}) και οργανικών πτητικών ενώσεων (VOC’s) σε εργασιακούς χώρους”, Heleco’05, TEE, Αθήνα, 3-6 Φεβρουαρίου 2005.
- Κάβουρας Η., (1998), “In situ μελέτη του μηχανισμού σχηματισμού δευτερογενών οργανικών αερολυμάτων μέσω της φωτοοξείδωσης των μονοτερπενίων”, Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Χημείας, Ιούνιος 1998.
- Κανέλλης Α., (2005-2006), “Ρύθμιση βιοσύνθεσης δευτερογενών μεταβολιτών - Εφαρμογές της μεταβολικής μηχανικής και λειτουργικής γονιδιωματικής στην φαρμακογνωσία”, Εφαρμοσμένη Φαρμακογνωσία II.
- Μπακέας Ε., (1997), “Προσδιορισμός των πτητικών οργανικών ενώσεων (ΠΟΕ) στην ατμόσφαιρα του λεκανοπεδίου Αττικής - Βελτιστοποίηση αεριοχρωματογραφικής μεθόδου και αξιολόγηση της ρύπανσης ως προς τις ΠΟΕ”, Διδακτορική Διατριβή, Αθήνα 1997.
- Μπουγιατιώτη Αικ. (2007), “Οργανικές πτητικές ενώσεις στην ατμόσφαιρα της ανατολικής Μεσογείου: Μελέτη των παραγόντων που επηρεάζουν τα επίπεδα τους, τον ρόλο τους στην παραγωγή αερολυμάτων και την επίδραση τους στο κλίμα”, Ερευνητική πρόταση, Ηράκλειο 2007.
- Σκουληκάρη Εμμ. (2009), “ Μέθοδος προσδιορισμού αλδευδών και ακετόνης στην ατμόσφαιρα”, Μεταπτυχιακή Μελέτη, Ηράκλειο 2009.
- Τσουλάκου Γ.Χρ. (2004), “Φυσιολογικές και Ανατομικές Μεταβολές στα Χαρακτηριστικά του Τριχώματος των Φύλλων της Αριάς (*Quercus ilex* L.) που Προκαλούνται από Φυτοφάγους Εχθρούς”, Πτυχιακή Μελέτη, Αθήνα 2004.
- www.aua.gr

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι. Προσροφητικά Υλικά

Sample Tube Sorbent	Approximate Analyte Volatility Range	Maximum Temp (°C)	Specific Surface Area (m ² /g)	Example Analytes
Glass fiber filters	n-C ₂₀ to n-C ₄₀	400		Particulate emissions
Carbotrap C™ Carbopack C™ Carbopack Y™	n-C ₈ to n-C ₃₀	400	12	Alkyl benzenes, PATD, PCBs
Tenax TA™	bp 100°C to 400°C n-C ₇ to n-C ₂₆	350	35	Aromatics except benzene, Non-polar components (bp>100°C) such as aliphatic hydrocarbons from n-C ₇ and less volatile polar components (bp>150°C)
Tenax GR	bp 100°C to 450°C n-C ₇ to n-C ₃₀	350	35	Alkyl benzenes, PATD, PCBs and as above for Tenax TA
Carbotrap™ Carbopack B™	(n-C ₄) n-C ₅ to n-C ₁₄	400	100	Wide range of VOCs including ketones, alcohols and aldehydes (bp>75°C), and all polar compounds within the volatility range specified. Plus perfluorocarbon tracer gases.
Chromosorb™ 102	bp 50 °C to 200 °C	250	350	Suits a wide range of VOCs including oxygenated compounds and haloforms less volatile than methylene chloride
Chromosorb™ 106	bp 50°C to 200°C	250	750	Suits a wide range of VOCs including hydrocarbons from n-C ₅ to n-C ₁₂ . Also good for volatile oxygenated compounds.

Porapak Q	bp 50°C to 200°C n-C ₅ to n-C ₁₂	250	550	Suits a wide range of VOCs including oxygenated compounds.
Porapak N	bp 50 °C to 150 °C n-C ₅ to n-C ₈	180	300	Specifically selected for volatile nitriles: acrylonitrile, acetonitrile, and propionitrile. Also good for pyridine, volatile alcohols from ethanol, MEK, etc.
Spherocarb*	-60°C to + 80°C	400	1200	Good for very volatile compounds such as VCM, ethylene oxide, CS ₂ , CH ₂ Cl ₂ and CH ₃ Cl. Also good for volatile polar compounds, e.g., methanol, ethanol and acetone.
Carbosieve SIII* Carboxen (various)*	-30°C to 150°C	400	800	Good for ultra-volatile compounds such as (C ₂), C ₃ and C ₄ Hydrocarbons.
Molecular Sieve**	-60°C to + 80°C	350		Used specifically for 1, 3-butadiene and nitrous oxide.
Charcoal*	-80°C to + 50°C	400	>1000	Rarely used for thermal desorption because metal content may catalyze to analyte degradation. Use, with care, for ultra-volatile C ₂ , C ₃ , C ₄ hydrocarbons.
<p>* These sorbents exhibit some water retention. Safe sampling volumes should be reduced by a factor of 10 if sampling at high (> 90%) relative humidity.</p> <p>** Significantly hydrophilic. Do not use in high humidity unless silicone membrane caps can be fitted for diffusive monitoring purposes.</p>				

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II. Πεδία Θερμικού Εκρόφητή

A) Πεδίο Θερμοκρασίας

Στο πεδίο αυτό υπάρχουν πέντε θερμοκρασίες που πρέπει να τεθούν στο όργανο για την ανάλυση των δειγμάτων όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα. Αυτές είναι η θερμοκρασία πρωτοβάθμιας εκρόφησης του σωλήνα, η θερμοκρασία της θερμαινόμενης βαλβίδας, η θερμοκρασία της γραμμής μεταφοράς του δείγματος και οι θερμοκρασίες (χαμηλή και υψηλή) της κρύας παγίδας για την δευτεροβάθμια εκρόφηση. Επίσης θα πρέπει να τεθεί και ο ρυθμός θέρμανσης της παγίδας κατά την δευτεροβάθμια εκρόφηση.

- *Η Θερμοκρασία πρωτοβάθμιας εκρόφησης:* Στην πρωτοβάθμια εκρόφηση υπάρχει θέρμανση και μεταφορά των ουσιών στην κρύα παγίδα. Όταν θέτουμε αυτήν την θερμοκρασία εκρόφησης πρέπει να λαμβάνουμε υπόψη μας τη θερμική σταθερότητα του δείγματος και του υλικού προσρόφησης του σωλήνα (π.χ. σωλήνες πακεταρισμένοι με Tenax δεν μπορούν να θερμανθούν πάνω από τους 350 °C). Γενικά ο φούρνος αυτός μπορεί να πάρει τιμές **από 50 °C έως 400 °C**.
- *Η Θερμοκρασία της γραμμής μεταφοράς.* Η θερμοκρασία της γραμμής μεταφοράς του δείγματος πρέπει να είναι αρκετά υψηλή για να αποτρέψει τη συμπύκνωση. Για καλύτερη αποτελεσματικότητα πρέπει να τεθεί στους 255°C ή να έχει μία τιμή 5-10°C υψηλότερη από τη θερμοκρασία της θερμαινόμενης βαλβίδας. Η γραμμή μεταφοράς μπορεί να θερμανθεί **από 50 °C έως 300 °C**.
- *Η Θερμοκρασία της κρύας παγίδας:* Μόλις οι πτητικές ενώσεις μεταφερθούν από τον δειγματοληπτικό σωλήνα στην παγίδα εκείνη αρχίζει να θερμαίνεται. Η θερμοκρασία της κρύας παγίδας μπορεί να πάρει τιμές **από -30 °C**, θερμοκρασία συνήθως ικανοποιητική για την ποσοτική διατήρηση των συστατικών κατά την διάρκεια της πρωτοβάθμιας εκρόφησης, **έως και +150 °C**. Η θέρμανση από την χαμηλότερη στην υψηλότερη θερμοκρασία γίνεται με ένα συγκεκριμένο ρυθμό. Οι τιμές που μπορούμε να θέσουμε είναι 5, 20, 40 και 99 °C/ sec. Γρηγορότεροι ρυθμοί θέρμανσης εξασφαλίζουν ότι οι πτητικές ενώσεις μεταφέρονται στην στήλη ενώ χαμηλότεροι ρυθμοί παρέχουν μία πιο αργή θέρμανση της παγίδας κατάλληλη για την ανάλυση κατάλοιπων που είναι θερμικά ασταθή. **Μια ρύθμιση 40 °C/ sec.** εξασφαλίζει ότι οι πτητικές ενώσεις μεταφέρονται στη στήλη σε διάρκεια περίπου 1.5 δευτερολέπτου.

Κατά την διάρκεια της δευτεροβάθμιας εκρόφησης η παγίδα θερμαίνεται στην υψηλότερη επιλεγμένη θερμοκρασία έτσι ώστε ακόμη και οι βαρύτερες ενώσεις να κινηθούν από την παγίδα επάνω στη στήλη. Η θερμοκρασία της παγίδας δεν πρέπει να υπερβεί τη μέγιστη θερμοκρασία του προσροφητικού.

- *Η Θερμοκρασία της θερμαινόμενης βαλβίδας:* Μπορεί να πάρει τιμές **από 150 °C έως 300 °C**.

B) Πεδίο Χρόνου

Υπάρχουν τέσσερις χρονικοί παράμετροι που απαιτούνται για να ολοκληρώσουν μια μέθοδο ανάλυσης και οι οποίοι επηρεάζονται από την μέθοδο αέριας χρωματογραφίας που ακολουθείται. Αυτοί, είναι αναλυτικά:

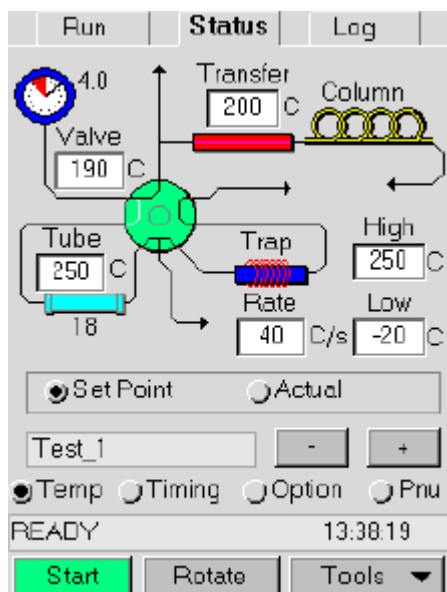
- *Ο Χρόνος εκκαθάρισης (purge time):* Μόλις ολοκληρωθεί ο έλεγχος των σωλήνων για τυχόν διαρροές, οι σωλήνες εξαερώνονται πριν την θέρμανση τους για την πρωτοβάθμια εκρόφηση. Αυτό συμβαίνει για να μειωθεί ο κίνδυνος της οξειδωσης του προσροφητικού ή των αναλυτών κατά την διάρκεια της διαδικασίας. Ο σωλήνας εξαερώνεται με το φέρον αέριο κατά την διάρκεια του χρόνου εκκαθάρισης. **Ο ελάχιστος χρόνος εκκαθάρισης είναι 1 min** με αυξήσεις από 0,1 έως 999,9.
- *Ο Χρόνος πρωτοβάθμιας εκρόφησης (desorb time):* Κατά την διάρκεια της εκρόφησης ο σωλήνας θερμαίνεται υπό συνεχή ροή φέροντος αερίου και το δείγμα μεταφέρεται στην παγίδα. **Η ελάχιστη διάρκεια εκρόφησης είναι 1 min.**
- *Ο Χρόνος συγκράτησης της παγίδας (Trap timing and temperature hold time):* Ο χρόνος συγκράτησης της παγίδας κατά την οποία γίνεται η δευτεροβάθμια εκρόφηση, διευκρινίζει το χρονικό διάστημα, κατά την διάρκεια του οποίου η παγίδα κρατιέται σε υψηλή θερμοκρασία για την δευτεροβάθμια εκρόφηση των ουσιών. Παίρνει τιμές από 0.0 έως 999.0 min. Τυπικά **είναι επαρκής μία τιμή 1 min** για να επιτρέψει την πλήρη εκρόφηση των ουσιών από την παγίδα στην στήλη.
- *Ο χρόνος κύκλου της ανάλυσης (cycle time):* Εδώ αναφερόμαστε στο χρόνο που απαιτείται από την μία έγχυση του δείγματος από την παγίδα στην στήλη, έως την επόμενη έγχυση.

Γ) Πεδίο Επιλογών

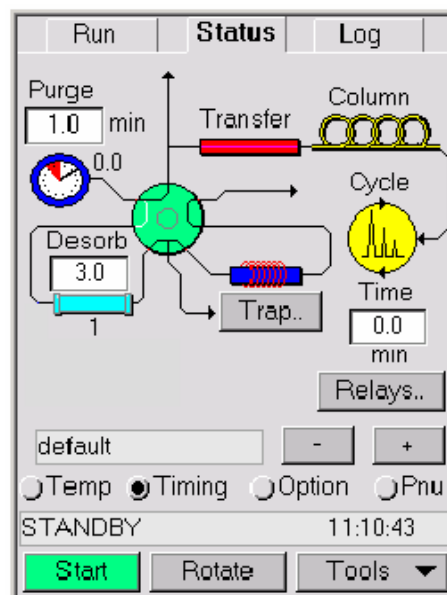
Σε αυτό το πεδίο που φαίνεται παρακάτω, μπορούμε να επιλέξουμε τις διάφορες μεθόδους λειτουργίας του οργάνου οι οποίες είναι:

- *Η εκρόφηση δύο επιπέδων (Two stage desorption):* Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται στις αναλύσεις. Αφότου ο δειγματοληπτικός σωλήνας έχει ελεγχθεί από διαρροές και έχει εξαερωθεί, γίνεται πρωτοβάθμια εκρόφηση. Θερμαίνεται για μια καθορισμένη περίοδο ενώ ρεύμα του αδρανούς φέροντος αερίου μεταφέρει τις πτητικές ουσίες, που υπάρχουν στο σωλήνα, επάνω στην κρυοπαγίδα όπου προσυγκεντρώνονται. Η κρύα παγίδα περιέχει ένα προσροφητικό για να παγιδέψει τις πτητικές ουσίες. Έπειτα από την πρωτοβάθμια εκρόφηση πραγματοποιείται η δευτεροβάθμια όπου η κρυοπαγίδα θερμαίνεται γρήγορα για να απελευθερώσει τις πτητικές ουσίες επάνω στη στήλη αέριας χρωματογραφίας.
- *Ο καθαρισμός της παγίδας (Trap clean):* Με αυτήν την λειτουργία επιτρέπεται η θέρμανση της παγίδας υπό ελεγχόμενες συνθήκες με σκοπό την αφαίρεση των προσροφημένων πτητικών ουσιών και ακαθαρσιών χαμηλότερου μοριακού βάρους. Εδώ, μόνο η κρύα παγίδα θερμαίνεται και το περιεχόμενο της εκροφάται και εξέρχεται για να αποτρέψει τους μολυσματικούς παράγοντες να εισέλθουν στην στήλη.
- *Η δοκιμή της παγίδας (Trap test):* Με αυτήν την λειτουργία, μόνο η κρύα παγίδα θερμαίνεται, το περιεχόμενο της εκροφάται επάνω στη στήλη και αρχίζει μία ανάλυση για να ελεγχθεί εάν η παγίδα είναι καθαρή πριν αρχίσει μία ακολουθία αναλύσεων.
- *Η προσαρμογή του σωλήνα σε συνθήκες περιβάλλοντος (Tube conditioning):* Αυτή η λειτουργία, επιτρέπει σε έναν σωλήνα δειγμάτων να θερμανθεί υπό ελεγχόμενες συνθήκες για να αφαιρέσει τις προσροφημένες πτητικές ουσίες και ακαθαρσίες χαμηλότερου μοριακού βάρους προτού να χρησιμοποιηθεί για τη συλλογή και ανάλυση δειγμάτων. Καθ' όλη την διάρκεια αυτής της λειτουργίας η κρύα παγίδα είναι απομονωμένη από το σωλήνα δειγμάτων.

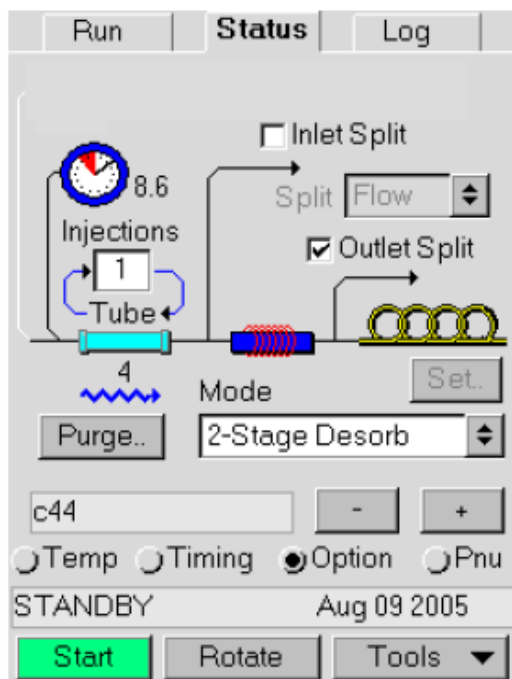
Επίσης στο ίδιο πεδίο μπορεί ο αναλυτής να επιτρέψει ή όχι το μοίρασμα του δείγματος κατά την είσοδο και κατά την έξοδο του από την παγίδα (inlet split, outlet split).



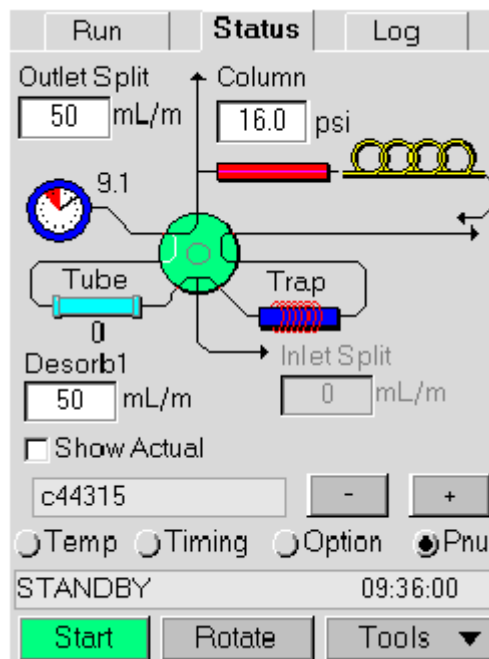
Εικόνα 48. Πεδίο θερμοκρασιών



Εικόνα 49. Πεδίο χρόνου



Εικόνα 50. Πεδίο επιλογών



Εικόνα 51. Πεδίο μηχανικής αερίων

Δ) Πεδίο μηχανικής αερίων (Pneumatics-PNU)

Στο πεδίο αυτό παρέχονται πληροφορίες για τις πνευματικές ρυθμίσεις του συστήματος. Επειδή η πίεση του εκροφητή και οι διάφορες ροές του φέροντος αερίου ρυθμίζονται χειροκίνητα με έναν ρυθμιστή πίεσης και τις αντίστοιχες βαλβίδες που βρίσκονται στο επάνω μέρος του οργάνου, οι πληροφορίες που επιδεικνύονται σε αυτό το πεδίο, είναι για λόγους πληροφόρησης μόνο. Έτσι σύμφωνα με την παρακάτω εικόνα παίρνουμε πληροφορίες για τα εξής:

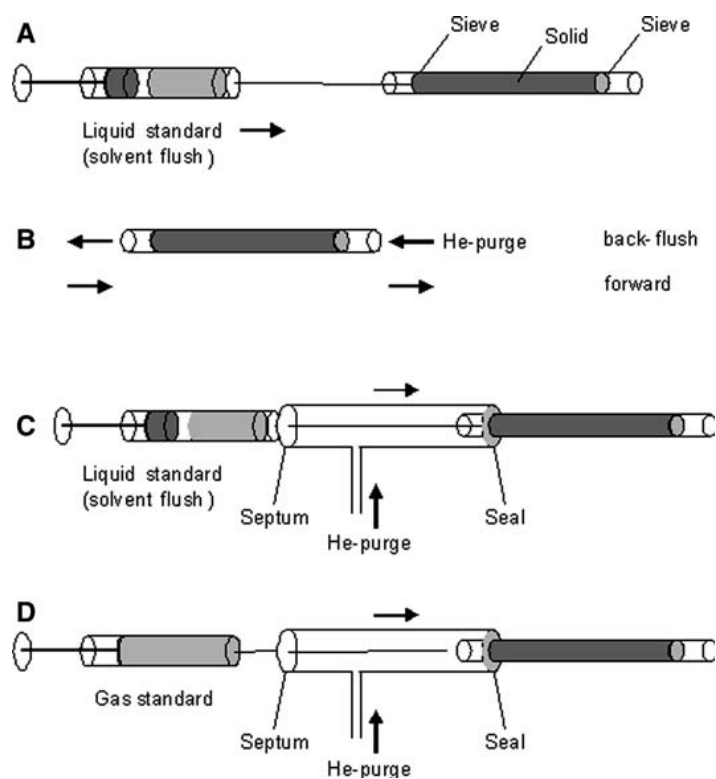
- *Την ροή εκρόφησης (desorb flow rate):* Η ροή εκρόφησης είναι η ροή με την οποία το δείγμα μεταφέρεται στην κρυοπαγίδα από το ρεύμα φέροντος αερίου.
- *Την πίεση της στήλης (column pressure):* Στο όργανο, ο έλεγχος της πίεσης γίνεται χειρωνακτικά με ρυθμιστή πίεσης. Ο καθορισμός μιας τιμής στην ετικέτα είναι μόνο για να ελέγξουμε την πραγματική πίεση της στήλης.
- *Τη διασπώμενη ροή εισόδου και εξόδου (Outlet split και Inlet split):* Στο όργανο η διασπώμενη ροή εξόδου και εισόδου γίνεται χειρωνακτικά με την χρήση δύο βαλβίδων στην κορυφή του TD και μετά τοποθετούμε την τιμή στο πεδίο, απλά για λόγους αναφοράς. Η μέτρηση της πραγματικής ροής γίνεται με ροόμετρο που τοποθετείται στην έξοδο των βαλβίδων.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ. Διαδικασία Εισαγωγής των Προτύπων στους Σωλήνες Δειγματοληψίας.

Τα standards (υγρά και αέρια) που χρησιμοποιούνται στην παρούσα μέθοδο μπορούν να εισαχθούν στους σωλήνες δειγματοληψίας (cartridges) με τους τέσσερις τρόπους που παρουσιάζονται στην παρακάτω εικόνα 56 και είναι οι εξής:

- A. Το υγρό πρότυπο εισάγεται στο σωλήνα με την βοήθεια σύριγγας και αναλύεται αμέσως.
- B. Το υγρό πρότυπο εισάγεται στον σωλήνα με την βοήθεια σύριγγας και έπειτα εκκαθαρίζεται με ροή ηλίου είτε με κατεύθυνση προς τα εμπρός είτε προς τα πίσω (back-flush).
- C. Το υγρό πρότυπο εισάγεται στον σωλήνα ενώ υπάρχει συνεχή ροή ηλίου (He) που όπως προτείνεται είναι 100ml/min για 5 λεπτά.
- D. Το αέριο πρότυπο εισάγεται στον σωλήνα ενώ υπάρχει συνεχή ροή ηλίου (He) που όπως προτείνεται είναι 60ml/min για 1 λεπτό.

Στην παρούσα μελέτη το αέριο πρότυπο εισάγεται στους σωλήνες υπό συνεχή παράλληλη ροή αζώτου 100ml/min για 5 λεπτά αντί για ήλιο. Τα υγρά πρότυπα εισάγονται και αυτά στους σωλήνες υπό συνεχή παράλληλη ροή αζώτου 100ml/min για 10 λεπτά, για να εξατμιστεί η μεθανόλη και να μην εμπλέκεται στα χρωματογραφήματα.



Εικόνα 56. Τρόποι εισαγωγής των προτύπων στους σωλήνες δειγματοληψίας και προετοιμασία των standards. A: Εμβολιασμός των σωλήνων με υγρό πρότυπο. B: Εκκαθάριση του διαλύτη (μεθανόλη) από το σωλήνα με ροή ηλίου (He) - εκκαθάριση είτε προς τα πίσω είτε εμπρός. Γ: Εμβολιασμός των σωλήνων με το υγρό πρότυπο υπό το ρεύμα ηλίου (He) με ταχύτητα ροής των 100 mL/min για 5 λεπτά. D: Εμβολιασμός των σωλήνων με το αέριο πρότυπο υπό το ρεύμα ηλίου (He) με ταχύτητα ροής των 100 mL/min για 5 λεπτά. (Massold et al, 2005).

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ IV. Οδηγός για την Χρήση των Προσροφητικών

Sample Tube Sorbent	Maximum Temp., (°C)	Hydrophobic (?)	Temp. and Gas Flow for Conditioning	Temp. and Min. Gas Flow for Desorption	Recommended Focusing Trap Packing
Carbotrap [®] Carbopack [®] C [®] Anasorb [®] GCB2	>400	Yes	350 °C and 100 mL/min	325 °C and 30 mL/min	Tenax [®] or Carbopack C [®]
Tenax [®] TA	350	Yes	330 °C and 100 mL/min	300 °C and 30 mL/min	Tenax [®]
Tenax GR	350	Yes	330 °C and 100 mL/min	300 °C and 30 mL/min	Tenax [®]
Carbotrap [®] Carbopack [®] B [®] Anasorb [®] GCB1	>400	Yes	350 °C and 100 mL/min	325 °C and 30 mL/min	Tenax or Carbopack B [®]
Chromosorb [®] 102	250	Yes	250 °C and 100 mL/min	225 °C and 30 mL/min	Dual-bed CB plus CMS trap or Chrom. 102
Chromosorb 106	250	Yes	250 °C and 100 mL/min	250 °C and 30 mL/min	Dual-bed CB plus CMS trap or Chrom. 106
Porapak Q	250	Yes	250 °C and 100 mL/min	225 °C and 30 mL/min	Dual-bed CB plus CMS trap or Porapak Q
Porapak N	180	Yes	180 °C and 100 mL/min	180 °C and 30 mL/min	Dual-bed CB plus CMS trap or Porapak N
Spherocarb*	>400	No	400 °C and 100 mL/min	390 °C and 30 mL/min	Dual-bed CB plus CMS trap or Spherocarb
CMS such as CSIII* [®] Carboxen 1000* [®] Anasorb [®] CMS*	400	No	350 °C and 100 mL/min	325 °C and 30 mL/min	Dual-bed CB plus CMS trap or CMS alone
Zeolite Molecular Sieve 13X**	350	No	330 °C and 100 mL/min	300 °C and 30 mL/min	Dual-bed CB plus CMS trap or CMS alone
Tenax / CB : comb. Tube Type 1 (see Sect. 9.1.3)	350	Yes	330 °C and 100 mL/min	300 °C and 30 mL/min	Tenax
Carb B / CMS* comb. Tube Type 2 (see Sect. 9.1.3)	400	No	350 °C and 100 mL/min	325 °C and 30 mL/min	Dual-bed CB plus CMS trap
Carb. 300 type*, comb. Tube Type 3 (see Sect. 9.1.3)	400	No	350 °C and 100 mL/min	325 °C and 30 mL/min	Dual-bed CB plus CMS trap

* These sorbents exhibit some water retention. Safe sampling volumes should be reduced by a factor of 10 if sampling a high (>90%) relative humidity.

** Significantly hydrophilic. Do not use in high humidity atmospheres unless silicone membrane caps can be fitted for diffusive monitoring purposes.

CB is short for Carbopack B and CMS is short for carbonized molecular sieve.

Carbotrap[™], Carbopack[™], CarbopackB[™], Carboxen[™] and Carbosieve SIII[™] are all trademarks of Supelco, Inc., USA; Tenax[®] is a trademark of Enka Research Institute; Chromosorb[®] is a trademark of Manville Corp.; Anasorb[®] is a trademark of SKC, Inc.; Porapak[®] is a trademark of Waters Corporation.

