

# Razvoj i validacija kromatografske metode za određivanje ostatnih otapala u proizvodnom mulju

---

**Bošnjak, Jelena**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:671781>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-09-03**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ PRIMIJENJENA KEMIJA; MODUL  
PRIMIJEJENA ORGANSKA KEMIJA

Jelena Bošnjak

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2022.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
POVJERENSTVO ZA DIPLOMSKE ISPITE

Kandidatkinja **Jelena Bošnjak**

Predala je izrađen diplomski rad dana: 7. rujna 2022.

Povjerenstvo u sastavu:

Prof. dr. sc. Sandra Babić, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu  
Prof. dr. sc. Dragana Mutavdžić Pavlović, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu  
Prof. dr. sc. Irena Škorić, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu  
Doc. dr. sc. Dragana Vuk, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu (zamjena)

povoljno je ocijenilo diplomski rad i odobrilo obranu diplomskog rada pred povjerenstvom u istom sastavu.

Diplomski ispit održat će se dana: 12. rujna 2022.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ PRIMIJENJENA KEMIJA; MODUL  
PRIMIJEJENA ORGANSKA KEMIJA

Jelena Bošnjak

RAZVOJ I VALIDACIJA KROMATOGRFSKE METODE ZA  
ODREĐIVANJE OSTATNIH OTAPALA U PROIZVODNOM MULJU

Mentor: prof. dr. sc. Sandra Babić

Članovi ispitnog povjerenstva: prof. dr. sc. Sandra Babić

prof. dr. sc. Dragana Mutavdžić Pavlović

prof. dr. sc. Irena Škorić

Zagreb, rujan 2022.

*Ovaj rad izrađen je u tvrtki Premifab d.o.o. akademske godine 2021./2022. godine u sklopu IRI2 projekta „Razvoj nove tehnologije za učinkovitiju uporabu otapala i drugih vrsta opasnog otpada”, šifra KK.01.2.1.02.0010. Projekt je sufinancirala Europska unija iz Europskog fonda za regionalan razvoj.*

*Zahvaljujem se prof. dr. sc. Babić na stručnom vodstvu. Zahvaljujem se cijelom timu Premifaba koji su mi provođenje ovog istraživanja učinili lijepim i ugodnim. Najveće hvala upućujem Silviji Petković, mag. appl. chem., voditeljici kontrole kvalitete i laboratorija u Premifabu, koja mi je iskazala povjerenje i neizmjereno strpljenje. Svakako želim zahvaliti svojoj obitelji i najbližima koji su mi bili podrška tijekom cijelog obrazovanja.*

## SAŽETAK

Oporaba je termin koji se često veže uz model kružnog gospodarstva pa tako tvrtka Premifab d.o.o. oporabljuje otpadna organska otapala različitih industrija s ciljem produljenja vrijednosti proizvoda. Oporaba se vrši šaržnom destilacijom nakon čega u destilatoru zaostaje mulj raznovrsnog kemijskog sastava koji ostaje neiskorišten i zbrinjava se o vlastitom trošku. S ciljem davanja vrijednosti proizvodnom mulju, potrebno je odrediti njegov kemijski sastav.

Cilj ovog rada bio je razviti i validirati kromatografsku metodu za određivanje ostatnih organskih otapala u proizvodnom mulju koji nastaje šaržnom destilacijom otpadnih organskih otapala. Metoda je razvijana na plinskom kromatografu s FID detektorom i *headspace* uzorkovanjem. Nakon razvoja metode provedena je validacija kako bi se potvrdila prikladnost metode za njezinu namjenu. Rezultati validacije pokazali su da je metoda prikladna za određivanje metanola, etanola, acetona, izopropanola, metil-etil-ketona, etil-acetata, cikloheksana, izooktana i toluena u proizvodnom mulju. Za određivanje ostalih organskih otapala - metoksi-2-propanola, butanola, metil-izobutil-ketona, etoksi-2-propanola, butil-acetata, etilbenzena i izomera ksilena - potrebna je daljnja optimizacija metode. Nakon validacije, analiziran je realni uzorak proizvodnog mulja koji je dobiven destilacijom smjese otpadnih otapala metil-etil-ketona i etil-acetata porijeklom iz industrije proizvodnje fleksibilne ambalaže. Primjenom metode unutarnjeg standarda i relativnog faktora odgovora, kvantifikacija ispitivanog uzorka proizvodnog mulja uspješno je provedena.

**Ključne riječi:** ostatna organska otapala, proizvodni mulj, plinska kromatografija, *headspace*, razvoj metode, validacija.

## SUMMARY

Recovery is a term that is often associated with the circular economy model. It is implemented in the company Premifab Ltd. that recovers waste organic solvents from various industries with the aim of prolonging product value. Recovery is carried out by batch distillation, after which distillation sludge of various chemical composition remains unused what leads to its disposal at company's own expense. To give value to distillation sludge, it is necessary to determine its chemical composition.

The aim of this work was to develop and validate a chromatographic method for the determination of residual organic solvents in distillation sludge obtained by batch distillation of waste organic solvents. The method was developed on a gas chromatograph with an FID detector and *headspace* sampling. After the method was developed, validation was performed to confirm the suitability of the method for its purpose. The validation results showed that the method is suitable for the determination of methanol, ethanol, acetone, isopropanol, methyl-ethyl-ketone, ethyl-acetate, cyclohexane, isooctane, and toluene in distillation sludge. For the determination of other organic solvents, methoxy-2-propanol, butanol, methyl-isobutyl-ketone, ethoxy-2-propanol, butyl-acetate, ethylbenzene and xylene isomers, further optimization of the method is required. After validation, a real sample of distillation sludge obtained by distilling a mixture of waste solvents methyl-ethyl-ketone and ethyl-acetate originating from the flexible packaging industry was analyzed. By applying the method of internal standard and relative response factor, quantification of the examined sample of production sludge was successfully performed.

**Keywords:** residual organic solvents, production sludge, gas chromatography, *headspace*, development, validation.



## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	2
<b>2.1. Plinska kromatografija</b> .....	2
<b>2.1.1. Nepokretna faza</b> .....	3
<b>2.1.2. Pokretna faza</b> .....	3
<b>2.1.3. Osnovni dijelovi plinskog kromatografa</b> .....	3
<b>2.2. Detektori</b> .....	4
<b>2.2.1. Spektrometar masa</b> .....	4
<b>2.2.2. Detektor termalne provodljivosti</b> .....	5
<b>2.2.3. Plameno-ionizacijski detektor</b> .....	5
<b>2.3. Headspace tehnika uzorkovanja</b> .....	6
<b>2.3.1. Temelj headspace tehnike</b> .....	7
<b>2.3.2. Headspace tehnike uzorkovanja</b> .....	9
<b>2.3.2.1. Statičko headspace uzorkovanje</b> .....	9
<b>2.3.2.2. Dinamičko headspace uzorkovanje</b> .....	10
<b>2.3.2.3. Mikroekstrakcija čvrstom fazom</b> .....	11
<b>2.4. Validacija</b> .....	12
<b>2.4.1. Selektivnost / Specifičnost</b> .....	13
<b>2.4.2. Linearost</b> .....	13
<b>2.4.3. Osjetljivost</b> .....	13
<b>2.4.4. Granica detekcije i granica kvantifikacije</b> .....	14
<b>2.4.5. Točnost</b> .....	15
<b>2.4.6. Istinitost</b> .....	15
<b>2.4.7. Preciznost</b> .....	16
<b>2.4.8. Radno područje</b> .....	17
<b>2.4.9. Robusnost</b> .....	17

2.5. Metode kvantifikacije analita.....	17
2.5.1. Metoda vanjskog standarda .....	18
2.5.2. Metoda standardnog dodatka .....	19
2.5.3. Metoda unutarnjeg standarda .....	19
2.5.4.. Metoda normalizacije površine.....	20
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	22
3.1. Materijali.....	22
3.1.1. Kemikalije .....	22
3.1.2. Realni uzorak.....	23
3.2. Instrumenti .....	23
3.3. Metoda rada.....	23
3.3.1. Razvoj metode .....	23
3.3.2. Validacija .....	24
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	25
4.1. Razvoj metode za kromatografsko određivanje ostatnih otapala u proizvodnom mulju.....	25
4.1.1. Izbor temperaturnog programa.....	27
4.1.2. Izbor protoka dušika.....	29
4.1.3. Izbor volumena injektiranja .....	32
4.1.4. Izbor <i>split</i> omjera .....	34
4.1.5. Izbor volumena uzorka.....	35
4.1.6. Određivanje uvjeta ravnoteže <i>headspace</i> uzorkovanja .....	35
4.2. Validacija metode za određivanje ostatnih otapala u proizvodnom mulju .....	37
4.2.1. Selektivnost metode.....	38
4.2.2. Linearnost .....	39
4.2.3. Granica detekcije i granica kvantifikacije.....	40
4.2.4. Preciznost .....	41
4.2.4.1. Ponovljivost.....	41

4.2.4.2. Međupreciznost .....	42
4.2.5. Istinitost.....	43
4.3. Analiza realnog uzorka .....	45
4.3.1. Metoda normalizacije površine .....	45
4.3.2. Metoda unutarnjeg standarda .....	47
4.3.3. Metoda normalizacije korigirane površine.....	53
5. ZAKLJUČAK.....	55
PRILOG .....	58

## 1. UVOD

Primarna djelatnost tvrtke Premifab d.o.o. je regeneracija otpadnih otapala koja dolaze iz automobilske industrije, industrije boje i lakova te industrije proizvodnje fleksibilne ambalaže. Premifab se vodi modelom kružnog gospodarstva pri čemu regenerat plasira na tržište u obliku različitih proizvoda te na taj način produljuje njegov životni vijek, a istovremeno smanjuje količinu otpada. Procesom šaržne destilacije oporabljuje se većinski dio otapala ovisno o šarži iz koje nastaje novi proizvod. Završetkom destilacije, u šaržnom destilatoru zaostaje nedeštilirani dio u obliku proizvodnog mulja. Takav proizvodni mulj sadrži one tvari koje su primjenjivane u industriji iz koje je otpadno otapalo preuzeto. Prema gore nabrojanim industrijama radi se o tvarima poput anorganskih i organskih bojila, ljepila, veziva, tiskarske tinte, ostalih adheziva, polimera itd. Obzirom na visoki udio polimera, radi se o polimernoj frakciji dobrih mehaničkih i reoloških svojstava, što omogućuje primjenu kao antikoroziivni premaz te upotrebu u cestogradnji i građevinskoj industriji.

S obzirom da je proizvodni mulj dobiven destilacijom pripadajućeg otpadnog otapala, svakako se može očekivati i određeni udio otapala koji nije predestilirao. Cilj ovog rada bio je razviti metodu koja će kvalificirati i kvantificirati ostatna organska otapala u proizvodnom mulju nakon destilacije. U tu svrhu, razvijena je metoda za analizu proizvodnog mulja *headspace* tehnikom uzorkovanja na plinskom kromatografu spregnutim s FID detektorom. *Headspace* tehnika uzorkovanja omogućuje minimalnu pripremu uzorka te analizu uzorka s kompleksnom matricom poput proizvodnog mulja. Plinska kromatografija s FID detektorom omogućuje identifikaciju i kvantifikaciju svih ostalih organskih otapala koji se mogu očekivati u proizvodnom mulju; metanol, etanol, aceton, izopropanol, metil-etil-keton, etil-acetat, cikloheksan, izooktan, metoksi-2-propanol, butanol, metil-izobutil-keton, etoksi-2-propanol, toluen, butil-acetat, etilbenzen i izomeri ksilena. Nakon razvijanja metode, uslijedila je validacija kako bi se potvrdila valjanost metode za određenu namjenu i osigurala pouzdanost rezultata ispitivanja.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. Plinska kromatografija

Plinska kromatografija (engl. *gas chromatography*, GC) je analitička instrumentalna tehnika razdvajanja spojeva na temelju njihove interakcije s čvrstom nepokretnom fazom dok su nošeni plinskom pokretnom fazom. Spojevi se razdjeljuju između pokretne i nepokretne faze, a razdjeljivanje između dviju faza uvjetovano je temperaturom, fizikalno-kemijskim svojstvima spojeva te afinitetom prema nepokretnoj odnosno pokretnoj fazi [1].

Afinitet nekog spoja prema nepokretnoj fazi uzrokovan je intermolekularnim interakcijama, primjerice polarnosti, stoga će se polarne komponente duže zadržavati na nepokretnoj fazi ako je ona polarna i obrnuto. Spojevi s visokim afinitetom prema nepokretnoj fazi eluiraju kasnije i imaju duže vrijeme zadržavanja.

Još jedan faktor koji utječe na razdvajanje spojeva je njihovo vrelište. Što je vrelište spoja niže, to je tlak para veći zbog čega spoj, tijekom interakcije s nepokretnom fazom, većinu vremena provodi u plinovitom stanju. Spojevi nižeg vrelište eluiraju prije i imaju kraće vrijeme zadržavanja.

Protok plinske pokretne faze utječe na vrijeme zadržavanja spojeva. Što je protok pokretne faze veći, to je vrijeme zadržavanja spojeva kraće s obzirom da oni putuju kroz kromatografsku kolonu nošeni pokretnom fazom. Međutim, kada je taj protok previsok, spojevi nemaju dovoljno vremena za uspostavljanje interakcija s nepokretnom fazom i ne dolazi do razdvajanja sastojaka ispitivanog uzorka.

Faktor koji zasigurno utječe na razdvajanje spojeva i njihovo zadržavanje je temperatura na koju se sustav nepokretna faza – uzorak – pokretna faza zagrijava. Pri vrlo visokim temperaturama, spojevi nemaju mogućnost interakcije s nepokretnom fazom jer se nalaze u plinovitom stanju što za posljedicu ima kraće vrijeme zadržavanja. Važno je da spojevi stupaju u interakciju s nepokretnom fazom što se omogućava temperaturnim programom.

### **2.1.1. Nepokretna faza**

Kromatografska kolona, unutar koje se nalazi nepokretna faza na kojoj dolazi do razdvajanja spojeva, srce je svakog kromatografskog sustava. Općenito, u plinskoj kromatografiji koriste se dvije vrste kolona; kapilarne kolone i kolone s punilima. Nepokretna faza kapilarne kolone može biti sloj tekućine, adsorbirani materijal ili kemijski vezan sloj koji se nalazi na nosaču, najčešće kvarcno staklo, na unutarnjim stijenkama cijevi. Kapilarne kolone imaju unutarnji promjer u rasponu od 0,1 do 0,53 mm i duljinu od 10 do 100 m. Kapilarne kolone manjeg promjera i veće duljine prikladne su za analize u kojima je potrebno bolje razlučivanje sastojaka ispitivane smjese. U kolonama s punilima, nepokretna faza je materijal u obliku granula smješten unutar cijevi od nehrđajućeg čelika ili stakla, a pokretna faza putuje s uzorkom kroz intersticijalni prostor. Trenutno, učestalija je primjena kapilarnih kolona jer je njihova učinkovitost odvajanja bolja u odnosu na kolone s punilima [1-3].

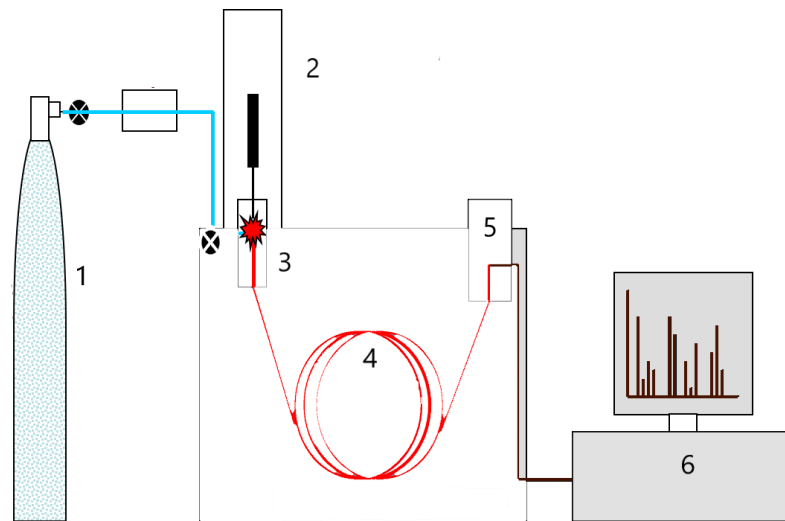
### **2.1.2. Pokretna faza**

Pokretna faza u plinskoj kromatografiji naziva se plin nositelj. Plin nositelj mora biti inertan prema komponentama u uzorku i nositi uzorak kroz kolonu. Plinovi u ulozi plina nositelja su helij, vodik, dušik i argon od kojih se najčešće primjenjuju helij i dušik. Helij i dušik sigurni su za primjenu, ali helij ima prednost u pogledu relativno širokog optimalnog raspona linearne brzine. U slučaju dušika, koji ima prednost niže cijene, optimalni raspon linearne brzine je uzak i vrijeme analize je dugo. Kod plina nositelja bitna je njegova čistoća jer zajedno s uzorkom putuje do detektora zbog čega je važno koristiti plin čistoće 99,995% ili više [1].

### **2.1.3. Osnovni dijelovi plinskog kromatografa**

Osnovni dijelovi plinskog kromatografa prikazani su na slici 1. Plinski kromatograf sastoji se od injektorskog dijela u kojem se uzorak uvodi u injektor (engl. *inlet*) plinskog kromatografa gdje na visokoj temperaturi prelazi u plinovito stanje. U injektorskom dijelu se također uvodi plin nositelj koji nosi plinoviti uzorak u kolonu gdje se odvija razdvajanje spojeva. U koloni, komponente plinovitog uzorka kondenziraju i ponovno isparavaju te zbog interakcija s nepokretnom fazom izlaze iz kolone pri različitim vremenima zadržavanja. Kolona je smještena u peći GC-a čime je omogućena temperaturom programirana GC analiza. Izlaz iz kolone spojen je s detektorom koji mjeri signale što ga daju komponente uzorka. Detektor pojačava taj signal i šalje ga računalu u obliku kromatografskih pikova. Analizom vremena

zadržavanja i odziva detektora analiti u uzorku se identificiraju, a površinom ili visinom pikova, oni se kvantificiraju.



**Slika 1.** Osnovni dijelovi plinskog kromatografa; 1 – boca s plinom nositeljem, 2 – autosampler, 3 – injektor, 4 – kolona, 5 – detektor i 6 – računalo [4]

## 2.2. Detektori

Kako komponente uzorka eluiraju iz kolone, dolaze na detektor koji mjeri signal što ga daju komponente. Selektivni detektori mjere signal specifičnih analita obzirom na strukturu, funkcionalnu skupinu ili atome, za razliku od univerzalnih detektora koji mjere signal svih sastojaka ispitivanog uzorka koji izlaze iz kolone. U ovom radu spomenut će se neki od najčešćih detektora u plinskoj kromatografiji.

### 2.2.1. Spektrometar masa

Uzorak se ionizira i fragmentira pod vakuumom, u električnom polju se ioni usmjeravaju i ubrzavaju, a magnetsko polje otklanja njihove putanje ovisno o omjeru njihove mase i naboja ( $m/z$ ). Veličina otklona obrnuto je proporcionalna masi fragmenta. Na kraju spektrometra masa nalazi se detektor, sakupljač iona koji ih karakterizira. Signali se obrađuje i dobiva se spektar masa, ovisnost zastupljenosti pojedinog fragmenta (iona) o omjeru  $m/z$  što omogućuje kvalitativnu i kvantitativnu analizu. Spektrometar masa je detektor koji se često primjenjuje za analizu složenih smjesa u plinskoj kromatografiji [2, 5].

### 2.2.2. Detektor termalne provodljivosti

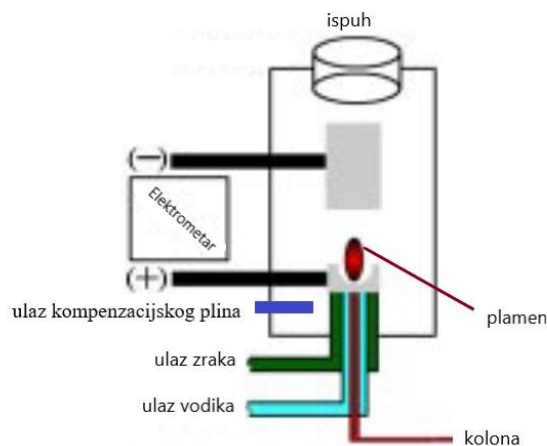
Detektor termalne provodljivosti (engl. *thermal conductivity detector*, TCD) sadrži dvije detektorske ćelije u kojima se nalazi po jedna zagrijana nit. Jedna ćelija je referentna i u njoj se nalazi plin nositelj, a uzorak prolazi kroz drugu detektorsku ćeliju. Ovakav detektor mjeri promjenu u termalnoj provodljivosti i uspoređuje ju s referentom. Termalna provodljivost mnogih spojeva manja je od plinova nositelja kao što su vodik i helij stoga kada komponente uzorka napuštaju kolonu i ulaze u detektor, termalna provodljivost se smanji i mjeri se signal. TCD može detektirati razne spojeve, organske i anorganske, s obzirom na to da imaju različitu termalnu provodljivost od plina nositelja [1, 6].

### 2.2.3. Plameno-ionizacijski detektor

Jedan od često primjenjivanih detektora u plinskoj kromatografiji je plameno-ionizacijski detektor (engl. *flame ionization detector*, FID) (slika 2). Plameno-ionizacijski detektor ionizira uzorak u struji vodika i zraka. Izlaskom iz kolone, eluenti ulaze u detektor zajedno s plinom nositeljem, miješaju se s posebno dovođenim vodikom i zrakom te sagorijevaju. Električki nabijene čestice stvaraju struju između elektroda koja je proporcionalna količini iona [7, 8].

Kako bi se poboljšala osjetljivost, u FID detektor dovodi se kompenzacijski plin (engl. *make up*), plin koji osigurava dodatan protok kroz detektor, jer je protok plina kroz kolonu nedovoljan. S obzirom da kompenzacijski plin mora biti inertan kako ne bi poremetio protok goriva (vodik i zrak) i da se dodaje u velikim količinama, dušik je najčešći izbor. FID detektor prikladan je za analite koji u svojoj strukturi sadrže ugljik i vodik (ugljikovodici) dok heteroatomi, karbonilne i karboksilne skupine u strukturi smanjuju odziv detektora [8].



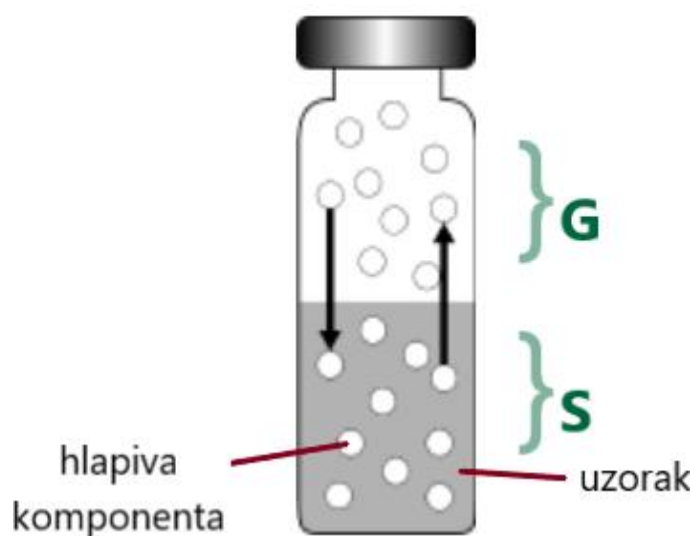


**Slika 2.** Slikovni prikaz FID detektora [8]

### **2.3. *Headspace* tehnika uzorkovanja**

Mnogi laboratoriji suočavaju se s analizom uzoraka s matriksom neprikladnim za analizu plinskom kromatografijom. Riječ je o matriksu koji može sadržavati nehlapive komponente i/ili komponente s velikom molekularnom masom koje mogu zaostati u GC koloni čime smanjuju učinkovitost separacije, uzrokuju dobivanje loših i nepreciznih rezultata, mogu uzrokovati onečišćenja različitih dijelova kromatografa itd. Kako bi izbjegli te probleme, analitičari pribjegavaju vremenski zahtjevnim pripremama uzoraka prije analize kako bi izdvojili i koncentrirali analite koje žele analizirati iz kompleksnog matriksa [9, 10].

*Headspace* je tehnika razdvajanja hlapivih organskih spojeva iz nehlapivih komponenata uzorka uz minimalnu pripremu uzorka. Uzorak se stavlja u vijalu i zatvara se čepom. Hlapivi spojevi napuštaju uzorak i prelaze u prostor iznad uzorka koji se naziva *headspace* (slika 3). Alikvot pare iz *headspace*-a uvodi se u plinski kromatograf gdje se analiti razdvajaju. Analiza takvih uzoraka plinskom kromatografijom je lakša, čišća i brža [9].



**Slika 3.** Kretanje molekula hlapive komponente unutar zatvorene vijale; G – plinska faza, ujedno i *headspace*, S – faza uzorka [10]

### 2.3.1. Temelj *headspace* tehnike

Migracija komponenti u *headspace* ne ovisi samo o njihovoj hlapivosti već i o afinitetu prema originalnom uzorku. Ako je uzorak dovoljno dugo zatvoren u vijali, uspostavit će se ravnoteža u kojoj je omjer koncentracije komponente u *headspace*-u i u originalnom uzorku konstantan. Kako bi se iskazala ovakva raspodjela analita između dviju faza, koristi se koeficijent razdiobe  $K$ . Koeficijent razdiobe proporcionalan je omjeru koncentracije analita u uzorku ( $C_S$ ) i *headspace*-u ( $C_G$ ) kao što je prikazano jednačinom (1) [9].

$$K = \frac{C_S}{C_G} \quad (1)$$

Analiti s velikim koeficijentom razdiobe favorizirat će uzorak, dok oni s malim koeficijentom će favorizirati *headspace*. S obzirom na to da se *headspace* tehnikom analiziraju analiti u *headspace* prostoru, nastoji se smanjiti vrijednost koeficijenta razdiobe za analite u odnosu na ostale komponente uzorka. Zagrijavanjem uzorka koeficijent razdiobe se smanjuje jer veća količina analita napušta uzorak čime je koncentracija u *headspace*-u veća [9, 10].

Još jedan faktor koji utječe na koncentraciju analita u *headspace*-u je omjer volumena *headspace*-a ( $V_G$ ) i uzorka ( $V_S$ ) koji se naziva omjer faza i prikazan jednadžbom (2). Male vrijednosti  $\beta$  postižu se povećanjem uzorka u vijali čime se volumen *headspace*-a smanjuje što za posljedicu ima povećanje koncentracije analita u *headspace*-u [9].

$$\beta = \frac{V_G}{V_S} \quad (2)$$

Masa analita u originalnom uzorku, u uzorku nakon uspostavljanja ravnoteže i *headspace*-u dana je sljedećim izrazima (3), (4) i (5):

$$m_0 = C_0 \cdot V_S \quad (3)$$

$m_0$  – ukupna masa analita u originalnom uzorku

$C_0$  – ukupna koncentracija analita u originalnom uzorku

$V_S$  – volumen uzorka

$$m_S = C_S \cdot V_S \quad (4)$$

$m_S$  – masa analita u uzorku nakon uspostavljanja ravnoteže

$C_S$  – koncentracija analita u uzorku nakon uspostavljanja ravnoteže

$$m_G = C_G \cdot V_G \quad (5)$$

$m_G$  – masa analita u *headspace*-u

$C_G$  – koncentracija analita u *headspace*-u

$V_G$  – volumen *headspace*-a

Kako je masa analita u originalnom uzorku jednaka sumi masa analita u dvije faze, jednostavnim rješavanjem bilance (jednadžbe (6), (7) i (8)) dobiva se jednadžba (9) koja sadrži utjecaj koeficijenta razdiobe i omjera faza na koncentraciju analita u *headspace*-u.

$$C_0 \cdot V_S = C_S \cdot V_S + C_G \cdot V_G \quad (6)$$

$$C_0 \cdot V_S = K \cdot C_G \cdot V_S + C_G \cdot V_G \quad (7)$$

$$C_0 = C_G \cdot \left[ K \cdot \frac{V_S}{V_S} + \frac{V_G}{V_S} \right] \quad (8)$$

$$C_G = \frac{C_0}{K + \beta} \quad (9)$$

Jednadžba (9) temeljna je jednadžba *headspace* analize. Govori sljedeće:

- a) povećanjem  $V_S$ ,  $\beta$  se smanjuje što za posljedicu ima povećanje koncentracije analita u *headspace*-u,
- b) smanjenjem  $K$ , primjerice povećanjem temperature na kojoj se uzorak zagrijava, koncentracija analita u *headspace*-u se povećava,
- c) ako se  $K$  i  $\beta$  između uzoraka i kalibracijskih smjesa drže konstantnima, koncentracija analita u *headspace*-u direktno je proporcionalna koncentraciji u originalnom uzorku [9].

### 2.3.2. *Headspace* tehnike uzorkovanja

Postoje različite tehnike uzorkovanja koje se temelje na *headspace* tehnici. Temelj svake tehnike uzorkovanja je uzimanje alikvota *headspace*-a iz vijale s uzorkom kompleksnog matriksa. U ovom radu opisani su statičko i dinamičko *headspace* uzorkovanje te mikroekstrakcija čvrstom fazom.

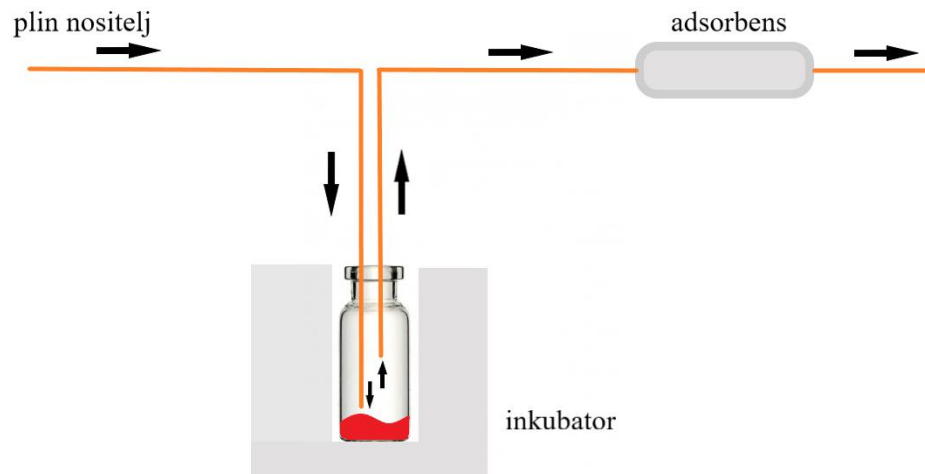
#### 2.3.2.1. Statičko *headspace* uzorkovanje

Nakon što se uzorak stavi u čistu vijalu i vijala se zatvori, hlapivi spojevi iz uzorka će prelaziti u *headspace* prostor dok se ne postigne stanje ravnoteže. Brzina kojom se hlapivi

spojevi odvajaju iz matrice uzorka u *headspace*, kao i ravnotežna koncentracija hlapivih spojeva u *headspace* ovisi o vremenu i temperaturi inkubacije te miješanju uzorka u inkubatoru. Pri višoj temperaturi inkubacije uzorka, hlapivi analiti lakše napuštaju matriks uzorka što ide u korist *headspace*-a. Dva najduža procesa prilikom prelaska analita u *headspace* su molekularna difuzija unutar tekuće faze uzorka i prijenos mase kroz granicu faza [9]. Kako je matematički kompleksno prikazati ovakvo kinetičko ponašanje sustava, vrijeme inkubacije potrebno za postizanje ravnoteže određuje se eksperimentalno. Miješanje uzorka u inkubatoru tijekom zagrijavanja smanjuje vrijeme inkubacije jer povećava efektivnu površinu granice faza što promiče prijenos mase kroz granicu [9, 10]. Nakon uspostavljanja ravnoteže, uzima se alikvot *headspace*-a i uvodi u plinski kromatograf kako bi se analizirao. Statični *headspace* ima primjenu u analizi alkohola u krvi, ostatnih otapala u farmaceutskim proizvodima, analizi kozmetike, monomera u polimerima i plastici itd [10].

### **2.3.2.2. Dinamičko *headspace* uzorkovanje**

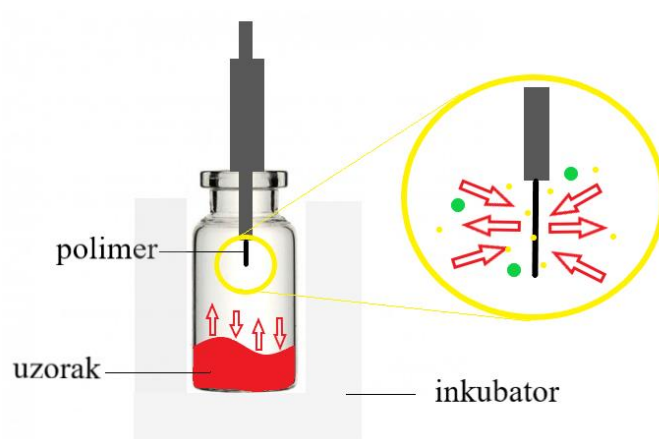
U dinamičkom *headspace* uzorkovanju uzorak se priprema kao i kod statičkog *headspace* uzorkovanja. Razlika je što u statičkom *headspace* uzorkovanju samo dio analita migrira u *headspace* i mali dio plina se uvodi u kolonu. Kod dinamičkog *headspace* uzorkovanja, namjera je (gotovo) sav *headspace* volumen uvesti u kolonu [9]. Dinamičko uzorkovanje primjenjuje dvije igle, jednu za dovod plina nositelja i jednu za izlaz hlapivih komponenti (slika 4). Plin koji se dovodi uzorku u vijali tjera hlapive spojeve iz uzorka prema adsorbensu gdje se adsorbiraju i koncentriraju. Nakon adsorpcije, provodi se zagrijavanje pri čemu dolazi do desorpcije hlapivih spojeva koji zajedno s plinom nositeljem putuju prema koloni gdje se separiraju. Dinamičko *headspace* uzorkovanje primjenjuje se kod niskih koncentracija hlapivih organskih spojeva zbog čega pronalazi široku primjenu u analizi okoliša, hrane, ostatnih otapala u pakiranjima hrane, analizi hlapivih organskih otapala u farmaceutskim proizvodima, itd [1, 9, 11].



**Slika 4.** Dinamičko *headspace* uzorkovanje [9]

### 2.3.2.3. Mikroekstrakcija čvrstom fazom

Još jedna tehnika koja koncentrira i uvodi gotovo sav *headspace* volumen je mikroekstrakcija čvrstom fazom (engl. *solid phase microextraction*, SPME). Igla prolazi kroz septu vijale u kojoj se nalazi uzorak (slika 5). Kroz iglu se uvodi adsorbensom obloženo vlakno od kvarcnog stakla na kojem dolazi do adsorpcije spojeva iz *headspace*-a. Sustav se određeno vrijeme zagrijava nakon čega se igla zajedno s vlaknom uvodi u injektor plinskog kromatografa gdje se odvija desorpcija analita pri visokoj temperaturi te plin nositelj nosi analite u kolonu [9]. SPME ima primjenu u analizi tla, vode, zraka i uzoraka sedimenata te hrane [12].



**Slika 5.** SPME [9]

## 2.4. Validacija

Kako bi se potvrdila valjanost metode za određenu namjenu i osigurala pouzdanost rezultata ispitivanja provodi se validacija metode. Validacija se provodi za nenormirane metode, metode razvijene u vlastitom laboratoriju, prilikom modifikacije postojeće metode i ukoliko se normirana metode želi primijeniti izvan normiranog područja. Validacijom metode određuju se izvedbene karakteristike metode, kvantitativne veličine koje naznačuju doseg kvalitete mjernog sustava i ukazuju na primjenjivost metode. Izvedbene karakteristike metode se onda uspoređuju s postavljenim zahtjevima [13].

Izvedbene karakteristike su:

- a) Selektivnost / specifičnost
- b) Linearnost
- c) Osjetljivost
- d) Granica detekcije i granica kvantifikacije
- e) Točnost
- f) Istinitost
- g) Preciznost
- h) Radno područje
- i) Robusnost

### **2.4.1. Selektivnost / Specifičnost**

Selektivnost i specifičnost izvedbene su karakteristike metode koje ukazuju da je izmjerena vrijednost veličine neovisna o drugim veličinama u mjernom sustavu. Specifičnost je mogućnost nedvosmislenog kvalificiranja i kvantificiranja analita u prisutnosti drugih komponenti uzorka. Selektivnost je svojstvo mjernog sustava da određuje analit, ali se pri tome moraju ukloniti interferencije s mogućnošću utjecaja na rezultat. Selektivnost se može povećati uklanjanjem interferencija ili izolacijom analita [13].

### **2.4.2. Linearnost**

Linearnost je izvedbena karakteristika metode kojom se opisuje linearna ovisnost odziva instrumenta o koncentraciji analita u uzorku. Nakon što se mjereni signal pripiše određenoj vrijednosti veličine analita, potrebno je odrediti odnos između signala i vrijednosti te veličine (koncentraciji). Taj odnos određuje se postupkom kalibracije. Kalibracija se provodi analizom standardnih otopina različitih koncentracija analita nakon čega se grafički i matematički prikaže ovisnost odziva instrumenta o koncentraciji analita (regresijska analiza).

Postoji nekoliko načina potvrde linearnosti:

- a) Vizualna
- b) Koeficijent korelacije
- c) Koeficijent determinacije
- d) Analiza odstupanja
- e) Graf konstantnog odziva

Ukoliko je odnos između signala i koncentracije analita nelinearan, tada se pribjegava ograničenju analize na uže koncentracijsko područje ili podijeli kalibracijskog pravca kako bi se dobila linearnost u užim koncentracijskim područjima. Također, moguće je ovisnost signala o koncentraciji opisati polinomnom funkcijom ili transformirati varijable da bi se dobio linearan odnos [14].

### **2.4.3. Osjetljivost**

Osjetljivost je izvedbena karakteristike metode ili instrumenta da uz definiranu razinu pouzdanosti razlikuje uzorke bliskih koncentracija analita. U instrumentalnoj kemijskoj analizi, osjetljivost je nagib kalibracijskog pravca i nije jednaka granici detekcije [14].



#### 2.4.4. Granica detekcije i granica kvantifikacije

Granica detekcije (GD) je najmanja količina analita u uzorku čiji je signal drugačiji od signala pozadinskog šuma instrumenta, dok je granica kvantifikacije (GK) najmanja količina analita u uzorku koja se može odrediti uz definiranu razinu pouzdanosti [14].

GD i GK mogu se odrediti sljedećim metodama:

1. Na temelju omjera signala i šuma (engl. *signal to noise*,  $S/N$ )
2. Računanje na temelju analize slijepog uzorka
3. Računanje na temelju parametara kalibracijskog pravca

1. Na temelju omjera signala i šuma ( $S/N$ ) – jednadžbe (10) i (11)

$$\text{GD}; S:N = 3:1 \quad (10)$$

$$\text{GK}; S:N = 10:1 \quad (11)$$

2. Računanje na temelju analize slijepog uzorka – jednadžbe (12) i (13)

Kako bi se odredile granica detekcije i kvantifikacije potrebno je provesti mjerenja 10 nezavisnih slijepih uzoraka iz kojih se računa srednja vrijednost ( $\bar{x}$ ) i standardno odstupanje ( $s$ ) [14].

$$\text{GD} = \bar{x} + 3 \cdot s \quad (12)$$

$$\text{GK} = \bar{x} + 10 \cdot s \quad (13)$$

3. Računanje na temelju parametara kalibracijskog pravca – jednadžbe (14) i (15)

Standardno odstupanje ( $s$ ) može se izračunati iz niza mjerenja slijepog uzorka, kao standardno odstupanje kalibracijskog pravca ili kao standardno odstupanje odsječka kalibracijskog pravca. Parametar  $b$  je nagib kalibracijskog pravca [14].

$$GD = \frac{3,3 \cdot s}{b} \quad (14)$$

$$GK = \frac{10 \cdot s}{b} \quad (15)$$

#### 2.4.5. Točnost

Točnost je mjera bliskosti jednog rezultata analize ( $x_i$ ) i prave vrijednosti veličine ( $T$ ). Točnost rezultata sastoji se od dvije komponente i određuju se procjenom sustavne (istinitost) i slučajne (preciznost) pogreške [14]. Kvantitativna mjera točnosti je mjerna nesigurnost rezultata ispitivanja.

#### 2.4.6. Istinitost

Sustavna pogreška je dio ukupne pogreške koji se može mjeriti i izračunati. Njezini izvori mogu biti analitičar, metoda i instrument. Pogreška metode se može otkriti i ukloniti analizom referencijskog ili sintetičkog uzorka, usporednom nezavisnom analizom standardnom metodom, određivanjem slijepe vrijednosti. Pogreška analitičara može biti uzrokovana mehaničkim gubitkom materijala, upotrebom nečistih reagensa, nepažljivim očitavanjem s instrumenta. Kako bi se uklonila pogreška analitičara važan je pažljiv rad. Pogreška instrumenta može biti posljedica neredovitog umjeravanja instrumenta zbog čega je potrebno redovito kalibrirati instrument [15].

Istinitost izražava bliskost srednje vrijednosti beskonačnog broja ponovljenih mjerenja ( $\bar{x}$ ) i prave vrijednosti ( $T$ ) i posljedica je sustavne pogreške. U praksi, istinitost se procjenjuje i izražava kao odmak (engl. *bias*) od referentne vrijednosti. Može se odrediti analizom referentnog uzorka (certificirani referentni materijal i referentni materijal), usporedbom s drugom metodom koja se trenutno koristi u laboratoriju ili analizom sintetičkog uzorka poznate koncentracije analita (metoda standardnog dodatka) kada se računa iskorištenje [14]. Kvantitativne mjere istinitosti prikazane su jednadžbama (16), (17) i (18):

- apsolutna mjera istinitosti:

$$\bar{x} - x_{ref} \quad (16)$$

- relativna mjera istinitosti (%):

$$\frac{\bar{x} - x_{ref}}{x_{ref}} \cdot 100 \quad (17)$$

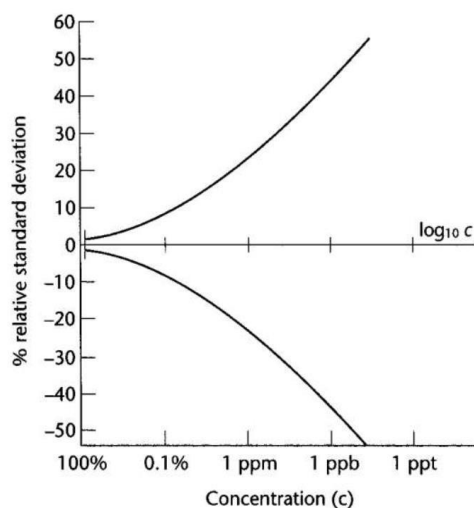
- iskorištenje:

$$R(\%) = \frac{\bar{x}}{x_{ref}} \cdot 100 \quad (18)$$

#### 2.4.7. Preciznost

Preciznost izražava bliskost slaganja između izmjerenih vrijednosti veličina tj. podudaranje više mjerenja veličine iz istog homogenog uzorka pri definiranim eksperimentalnim uvjetima. Ono uključuje ponavljanje cijelog analitičkog postupka ujedno i pripremu uzorka. Preciznost se može iskazati kao ponovljivost, međupreciznost i obnovljivost. Ponovljivost je mjera rasipanja rezultata kao kratkoročno standardno odstupanje pri čemu je metoda ponovljiva ako se osigurava bliskost rezultata ponovljenih mjerenja. Kod ponovljivosti, svi uzorci prolaze kroz isti analitički postupak. Međupreciznost je mjera rasipanja rezultata kao dugoročno standardno odstupanje pri čemu se mogu mijenjati analitičar, reagensi, dan analize. Obnovljivost je međulaboratorijska usporedba gdje se uspoređuju preciznosti više laboratorija. Kod određivanja obnovljivosti dolazi do promjene mjernih okolnosti. Preciznost se iskazuje parametrima koje opisuju rasipanje mjerenih veličina; standardno odstupanje ( $s$ ), relativno standardno odstupanje (engl. *relative standard deviation*, RSD) i varijancija ( $s^2$ ). Ovisnost preciznosti iskazana kao RSD o koncentraciji analita prikazana je na slici 6. Ta ovisnost opisana je Horwitzovom jednadžbom (jednadžba (19)) koja govori kako standardno odstupanje raste sa smanjenjem koncentracije analita. Horwitzova jednadžba je empirijska jednadžba koja ne uzima u obzir prirodu analita, matriksa i primijenjene metode [14, 16].

$$\text{Očekivani RSD (\%)} = \pm 2^{(1-0,5 \log c)} \quad (19)$$



**Slika 6.** Grafički prikaz Horwitzove jednadžbe [14]

#### 2.4.8. Radno područje

Radno područje je raspon unutar kojega metoda ima zadovoljavajuću točnost i linearnost. Raspon je omeđen donjom granicom, granicom kvantifikacije, i gornjom granicom, koncentracija kod koje nema značajne promjene u osjetljivosti [14].

#### 2.4.9. Robusnost

Robusnost je otpornost na male promjene parametara metode npr. brzina miješanja, temperatura zagrijavanja, koncentracija reagensa i sl.

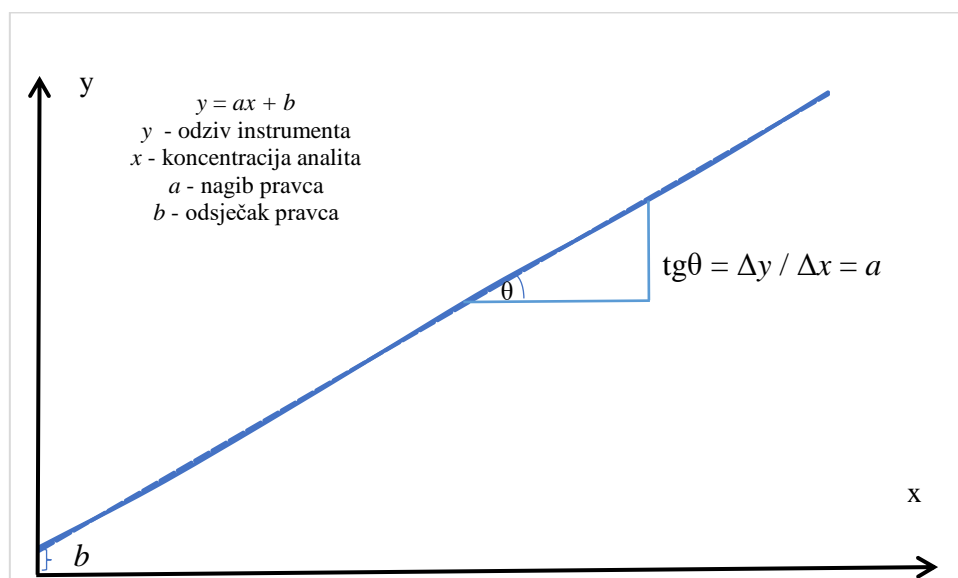
### 2.5. Metode kvantifikacije analita

U kromatografiji, površina ispod pika proporcionalna je količini analita. Kako bi se odredila količina analita, površina ispod pika se integrira i određuje se matematički odnos između integrirane površine pika i koncentracije analita. Matematički odnos određuje se postupkom kalibracije. Kalibracija ili umjeravanje je postupak usporedbe mjernog sustava sa standardiziranim sustavom u svrhu uklanjanja ili minimiziranja pogreške u mjernom procesu. Postupak kalibracije vanjskim standardom uključuje mjerenje signala što ih daju standardni

uzorci poznate koncentracije, grafičko i/ili matematičko opisivanje ovisnosti odziva instrumenta o koncentraciji standardnih uzoraka te određivanje koncentracije analita u nepoznatom uzorku [14]. Osim metode kalibracije vanjskim standardom, koja se najčešće primjenjuje, postoje i druge metode kalibracije: metoda standardnog dodatka i metoda unutarnjeg standarda. Uz navedene metode, kvantifikacija analita u kromatografiji često se provodi metodom (korigirane) normalizacije površine. Sve gore spomenute metode detaljnije su opisane u nastavku.

### 2.5.1. Metoda vanjskog standarda

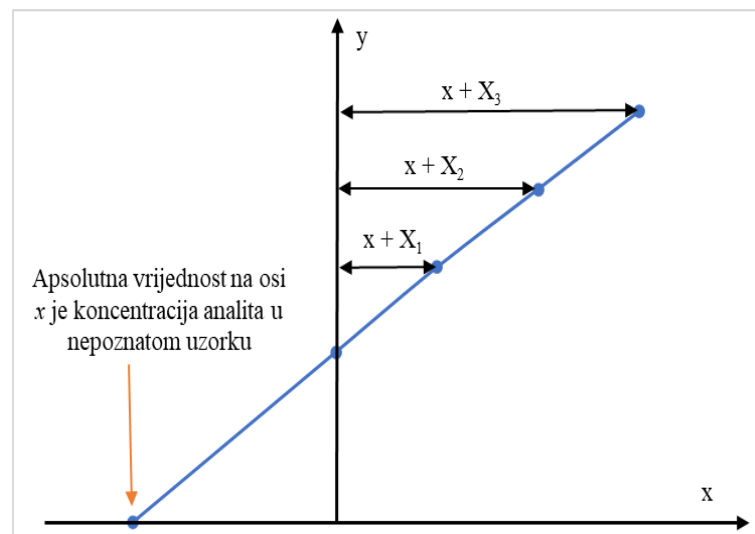
Metoda vanjskog standarda česta je metoda kalibracije koja se primjenjuje kada je utjecaj matrice zanemariv. Prvo se provedu mjerenja standardnih otopina s poznatom koncentracijom analita u koncentracijskom području u kojem se može očekivati analit, očitava se odziv instrumenta i određuje se odnos odziva i koncentracije. Nakon što se ustanovi odnos, koji može biti linearan kao što je to prikazano slikom 7, zasebno se mjeri nepoznati uzorak. Putem jednadžbe kalibracijskog pravca odredi se koncentracija analita u nepoznatom uzorku. Ukoliko postoji utjecaj matrice uzorka na određivanje analita, metoda vanjskog standarda nije prikladna za kvantifikaciju. [14, 17].



Slika 7. Kalibracijski pravac koji ne prolazi kroz ishodište [17]

### 2.5.2. Metoda standardnog dodatka

Kako bi se uzeo u obzir utjecaj matrice uzorka na određivanje analita, provodi se metoda standardnog dodatka. Ta metoda se provodi na način da se nizu uzoraka dodaje mali prirast količine analita i mjeri se odziv instrumenta. Utjecaj matrice uzorka na dodani analit je isti kao i na postojeći analit u uzorku jer se kalibracija i mjerenja provode unutar iste matrice. Pripravi se grafički prikaz ovisnosti odziva o dodanoj količini analita te ekstrapolacija do  $x$ -osi predstavlja koncentraciju analita u početnom uzorku (slika 8) [14, 17].



**Slika 8.** Grafički prikaz odnosa odziva i dodane količine analita za metodu standardnog dodatka [17]

### 2.5.3. Metoda unutarnjeg standarda

Istovremeno mjerenje kalibracijskih otopina i nepoznatog uzorka pri čemu je standard dodan uzorku naziva se umjeravanje *in situ*. Primjer takve metode umjeravanja je metoda unutarnjeg standarda. Primjenom metode unutarnjeg standarda, umjeravanje i mjerenje nepoznatog uzorka provodi se unutar što sličnije matrice kako bi se minimizirala sustavna pogreška uzorkovana matricom [14, 17]. U uzorak i standardne otopine dodaje se ista količina unutarnjeg standarda, stabilan spoj koji eluira u blizini analita, ali nije prisutan u nepoznatom uzorku. Signali analita i standarda moraju se razlikovati i nedvosmisleno kvalificirati i kvantificirati. U omjer se postave površine ispod pika analita ( $A_A$ ) i unutarnjeg standarda ( $A_{US}$ )

i koncentracija analita ( $c_A$ ) i unutarnjeg standarda ( $c_{US}$ ) i odredi se omjer odziva ( $R$ ). Nakon toga u nepoznati uzorak dodaje se ista količina unutarnjeg standarda i analizira se na instrumentu [18, 19]. Poznavajući omjer odziva, lako se izračuna koncentracija analita u nepoznatom uzorku prema jednadžbi (20):

$$\frac{A_A}{c_A} = R \cdot \frac{A_{US}}{c_{US}} \quad (20)$$

#### 2.5.4.. Metoda normalizacije površine

Metoda normalizacije površine ili metoda ukupne površine je kvantitativna metoda koja određuje postotak analita iz omjera površine ispod pika analita i ukupne površine svih detektiranih pikova prisutnih u uzorku. Računa se prema jednadžbi (21), gdje je  $x_A$  udio analita izražen u postotku,  $A$  površina ispod pika analita i  $N$  broj identificiranih komponenata.

$$x_A(\%) = \frac{A_A}{\sum_{i=1}^N A_i} \cdot 100 \quad (21)$$

Za primjenu metode normalizacije površine, koja uzima u obzir površine svih detektiranih komponenti, moraju biti zadovoljeni sljedeći uvjeti:

- sve komponente moraju eluirati kako bi dobivena koncentracija bila što točnija koncentraciji u realnom uzorku
- svi analiti moraju se detektirati
- osjetljivost mora biti ista za sve komponente uzorka.

Ako osjetljivost nije jednaka za sve analite, u gornju jednadžbu (21) potrebno je uvrstiti faktor odgovora (engl. *response factor*, RF) da se dobije jednadžba (22):

$$x_A(\%) = \frac{A_A/RF_A}{\sum_{i=1}^N A_i/RF_i} \cdot 100 \quad (22)$$

RF je izraz koji se obično koristi u metodi normalizacije korigirane površine jer uzima u obzir omjer površine pika i koncentracije analita [20]. Faktor odgovora je korekcijski faktor koji omogućuje izračun prave vrijednosti koncentracije analita. Izračunate RF-vrijednosti zatim

se koriste za izračun relativnog faktora odgovora (engl. *relative response factor*, RRF) između dva analita (jednadžba (23)):

$$\text{RRF} = \frac{\text{RF}_A}{\text{RF}_B} \quad (23)$$

RRF-vrijednost može se koristiti za izračun koncentracije jednog analita kada je koncentracija drugog analita poznata. Kada se kao drugi analit poznate koncentracije koristi unutarnji standard, koncentraciju analita računamo prema izrazu (20), pri čemu je RRF jednak omjeru odziva ( $R$ ).



### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. Materijali

##### 3.1.1. Kemikalije

Kemikalije korištene tijekom izvođenja diplomskog rada prikazane su u tablici 1.

Tablica 1. Kemikalije korištene u radu

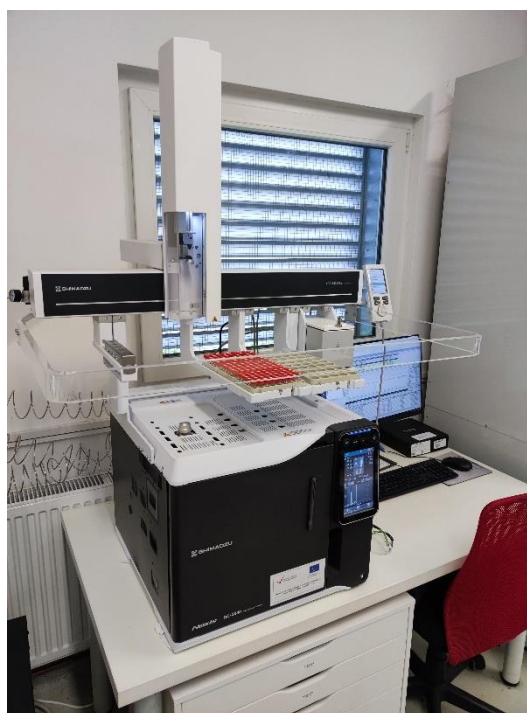
Naziv	Molekulska formula	Čistoća (%)	Proizvođač
Aceton	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	99,9	Gram-mol, Hrvatska
Acetonitril	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> N	99,9	Lach-Ner, Hrvatska
Butanol	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O	99,9	Radin-Grafika, Hrvatska
Cikloheksan	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub>	99,5	Kemika, Hrvatska
Diklormetan	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	99,9	Gram-mol, Hrvatska
Etanol	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	99,8	Honeywell, SAD
Etil-acetat	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	99,5	VWR International, SAD
Etilbenzen	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	99,0	Tokyo Chemical Industry, Japan
Etoksi-2-propanol	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	95,0	Tokyo Chemical Industry, Japan
Izooktan	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub>	99,0	PanReac AppliChem, Njemačka
Izopropanol	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O	99,9	Gram-mol, Hrvatska
Kloroform	CHCl <sub>3</sub>	99,0	Kemika, Hrvatska
Ksilen smjesa izomera	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	98,5	Gram-mol, Hrvatska
Metanol	CH <sub>4</sub> O	99,5	Gram-mol, Hrvatska
Metil-etil-ke-ton	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O	99,9	Radin-Grafika, Hrvatska
Metil-izobutil-ke-ton	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	99,0	Kemika, Hrvatska
Metoksi-2-propanol	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	98,0	VWR International, SAD
n-Butil-acetat	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	98,0	Gram-mol, Hrvatska
Toluen	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub>	99,9	Gram-mol, Hrvatska

### 3.1.2. Realni uzorak

Tijekom validacije za određivanje ostatnih organskih otapala, uz standarde korišten je uzorak proizvodnog mulja interne oznake 20211119.

### 3.2. Instrumenti

Plinski kromatograf GC NEXIS GC-2030 spregnut FID detektorom korišten je za određivanje šesnaest ostatnih organskih otapala u proizvodnom mulju (slika 9). Multifunkcionalni *autosampler* AOC 6000 Plus omogućuje *headspace* uzorkovanje. AOC 6000 Plus i GC-FID kontrolirani su softver-om *LabSolutions*. Kromatografska separacija provedena je na kapilarnoj koloni SH-I-624Sil MS 60 m, 0,25 mmID, 1,40  $\mu\text{m}$  df.



**Slika 9.** GC NEXIS GC-2030 s FID detektorom i *headspace autosampler*-om AOC 6000 Plus

### 3.3. Metoda rada

#### 3.3.1. Razvoj metode

Radi određivanja optimalnih uvjeta za razdvajanje 16 organskih otapala tj. 17 analita (iako su svi izomeri ksilena, *m*- i *p*-ksilen čine jedan analit, a *o*-ksilen čini drugi analit jer imaju

različito vrijeme zadržavanja) kreirane su metode u kojima su mijenjani sljedeći parametri: temperaturni program kolone, protok dušika kroz kolonu, volumen injektiranja uzorka, *split* omjer, volumen uzorka, vrijeme i temperatura inkubacije uzorka.

### **3.3.2. Validacija**

Validacija je provedena nakon razvoja metode. Prvi korak u validaciji metode je postavljanje kriterija prihvatljivosti za izabrane izvedbene karakteristike. Kriteriji validacije za HS-GC-FID metodu određivanja ostatnih organskih otapala u proizvodnom mulju prikazani su s ukupnim rezultatima u tablici 15.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. Razvoj metode za kromatografsko određivanje ostatnih otapala u proizvodnom mulju

Prvi korak u razvoju metode je pronalazak optimalnih vrijednosti parametara koji će omogućiti dobro razdvajanje svih analita i njihovu nedvosmislenu identifikaciju. Prvotni parametri odabrani za početak razvoja metode odabrani su prema literaturi [21] i nalaze se u tablici 2.

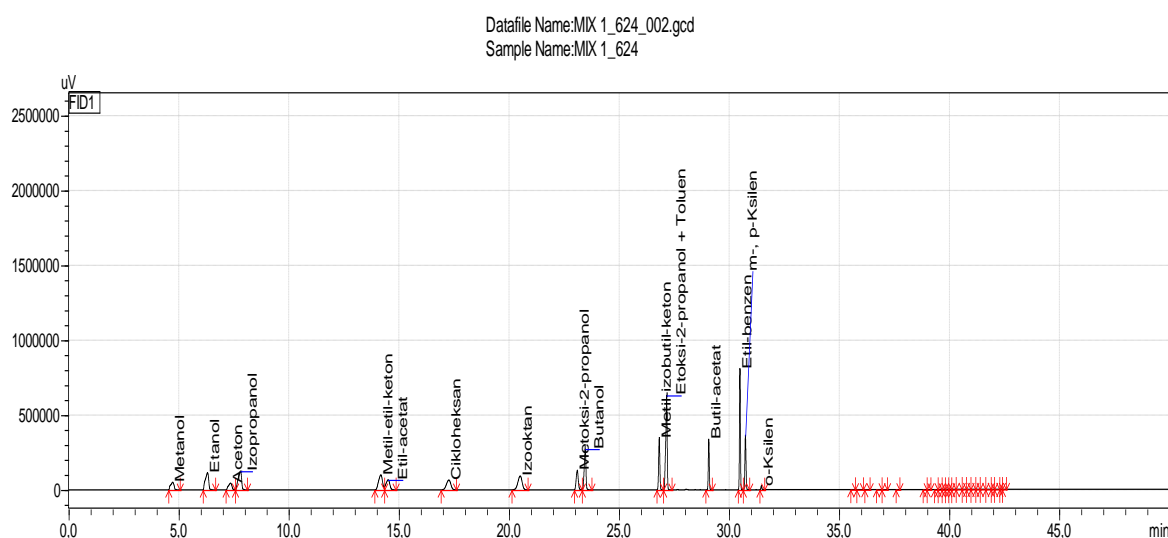
**Tablica 2.** Početni eksperimentalni uvjeti razvoja HS-GC-FID metode za određivanje ostatnih organskih otapala

AOC-6000 Plus		Nexis GC-2030			
		Injektor		Kolona	
Dubina penetracije u vijalu (mm)	15	Temperatura (°C)	140	Temperatura (°C)	40
Dubina penetracije u injektor (mm)	40	Način injektiranja	<i>Split</i>	Vrijeme ravnoteže (min)	0,5
Temperatura inkubacije (°C)	80	Plin nositelj	N <sub>2</sub>	Temperaturni program pećnice	40 °C (20 min) 10 °C/min -240 °C 240 °C (10 min)
Vrijeme inkubacije (min)	45	Tlak (kPa)	125,4	Ukupno vrijeme temperaturnog programa (min)	50
Temperatura igle (°C)	100	Ukupan protok (mL/min)	25,00	Brzina hlađenja pećnice	Brzo (200 °C/min)
Brzina miješanja u inkubatoru (okretaj/min)	250	Protok dušika (mL/min)	2,00	<u>FID</u>	
Čišćenje prije uzimanja uzorka (s)	0	Linearna brzina (cm/s)	42,2	Temperatura (°C)	240
Protok injektiranja u injektor (mL/min)	25	Protok pročišćavanja (mL/min)	3,00	Vrijeme zaustavljanja (min)	50
Čišćenje nakon injektiranja (s)	30	<i>Split</i> omjer	10	Kompenzacijski plin	N <sub>2</sub>
Vrijeme analize (min)	30			Protok kompenzacijskog plina (mL/min)	30,0
				Protok H <sub>2</sub> (mL/min)	35,0
				Protok zraka (mL/min)	350,0

Svih 16 organskih otapala po 100  $\mu\text{L}$  stavljeno je u vijalicu od 20 mL. Analiza je započela inkubiranjem vijale MIX 1\_624 na temperaturi 80  $^{\circ}\text{C}$  i vremenu 45 min. Nakon inkubacije, uzorak volumena 1  $\mu\text{L}$  injektiran je u injektor plinskog kromatografa brzinom od 25 mL/min. Tu je uzorak *split*-an na omjer 10:1. Nakon *split*-anja, uzorak je doveden na kolonu gdje se odvijala separacija analita. Kapilarna kolona spojena je na FID detektor na kojem se plinoviti eluenti miješaju sa zrakom i vodikom te detektiraju.

Na slici 10 prikazan je kromatogram smjese analita snimljen s gore navedenim vrijednostima parametara s pripadajućom tablicom vremena zadržavanja analita ( $t_R$ ) u pojedinačnim otopinama i u smjesi (tablica 3). Razlučivanje ( $R_S$ ) je kvantitativna mjera razdvajanja dva kromatografska pika (analita). Za razdvajanje dvaju pikova A i B razlučivanje se računa prema formuli (24) gdje su ( $t_R$ )<sub>B</sub> i ( $t_R$ )<sub>A</sub> vremena zadržavanja pikova A i B te  $w_A$  i  $w_B$  širine pikova na baznoj liniji između tangenti povučene pri 50% visine pika. Vrijednosti  $R_S$  su dobivene software-om *LabSolutions* i ukazuju da promjena određenog parametra metode za posljedicu može imati bolje razdvajanje pikova analita.

$$R_S = \frac{2 \cdot [(t_R)_B - (t_R)_A]}{w_A + w_B} \quad (24)$$



**Slika 10.** Kromatogram smjese analita snimljen s početnim vrijednostima parametrima metode

**Tablica 3.**  $t_R$  analita u pojedinačnim otopinama i u smjesi te  $R_S$ -vrijednosti pri početnim vrijednostima parametara

<b>Analit</b>	<b><math>t_R</math> (min) – pojedinačne otopine</b>	<b><math>t_R</math> (min) – smjesa</b>	<b><math>R_S</math></b>
Metanol	4,718	4,724	--
Etanol	6,275	6,305	5,201
Aceton	7,399	7,350	3,047
Izopropanol	7,864	7,804	1,357
Metil-etil-keton	14,235	14,184	19,075
Etil-acetat	14,514	14,511	0,954
Cikloheksan	17,288	17,272	7,786
Izooktan	20,535	20,513	8,968
Metoksi-2-propanol	23,141	23,104	9,835
Butanol	23,527	23,463	2,254
Metil-izobutil-keton	26,862	26,826	27,263
Etoksi-2-propanol	27,125	27,162	3,05
Toluen	27,185		
Butil-acetat	29,093	29,077	19,071
Etilbenzen	30,502	30,491	17,919
<i>m-/p</i> -Ksilen	30,749	30,739	2,905
<i>o</i> -Ksilen	31,468	31,465	8,596

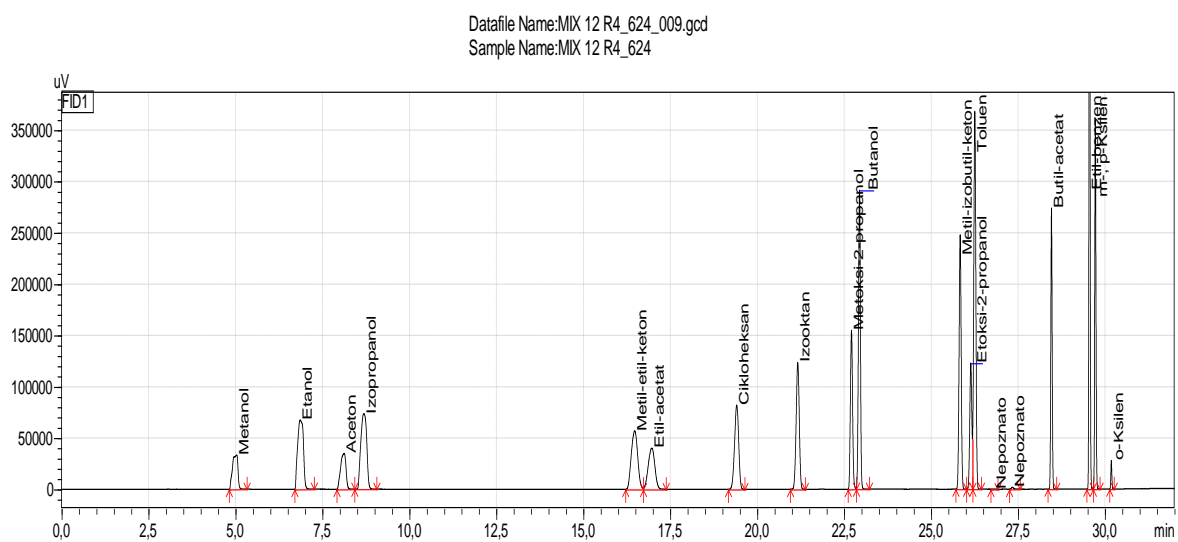
$R_S$  za metil-etil-keton i etil-acetat iznosi 0,954 i potrebno je bolje razdvojiti pikove kako bi se nedvosmisleno identificirali i što točnije kvantificirali. Prema kromatogramu na slici 10, vidljiv je samo jedan pik koji odgovara etoksi-2-propanolu i toluenu. Analizom pojedinačnih analita, utvrđeno je kako su vremena zadržavanja navedenih analita vrlo bliska, etoksi-2-propanol; 27,125 min i toluen; 27,185 min zbog čega je potrebna daljnja optimizacija koja će omogućiti razdvajanje etoksi-2-propanola i toluena.

#### **4.1.1. Izbor temperaturnog programa**

S obzirom da je pokretačka sila razdvajanja analita u koloni temperaturni program pećnice unutar koje se nalazi kolona, kreirane su metode sa osam različitih temperaturnih programa. Svih 16 organskih otapala po 100  $\mu$ L stavljeno je u svaku od osam vijala od 20 mL. Temperaturni program koji je pokazao najbolje rezultate prikazan je u tablici 4 s pripadajućim kromatogramom na slici 11. U tablici 5 nalaze se vrijednosti  $t_R$  i  $R_S$  pri odabranom temperaturnom programu.

**Tablica 4.** Optimalni temperaturni program

$T / t$ ( $^{\circ}\text{C} / \text{min}$ )	$T$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$t$ (min)
-	35	17,5
10	100	3,5
40	240	1



**Slika 11.** Kromatogram smjese analita snimljen pri optimalnom temperaturnom programu kolone

**Tablica 5.**  $t_R$  i  $R_S$  analita pri optimalnom temperaturnom programu kolone

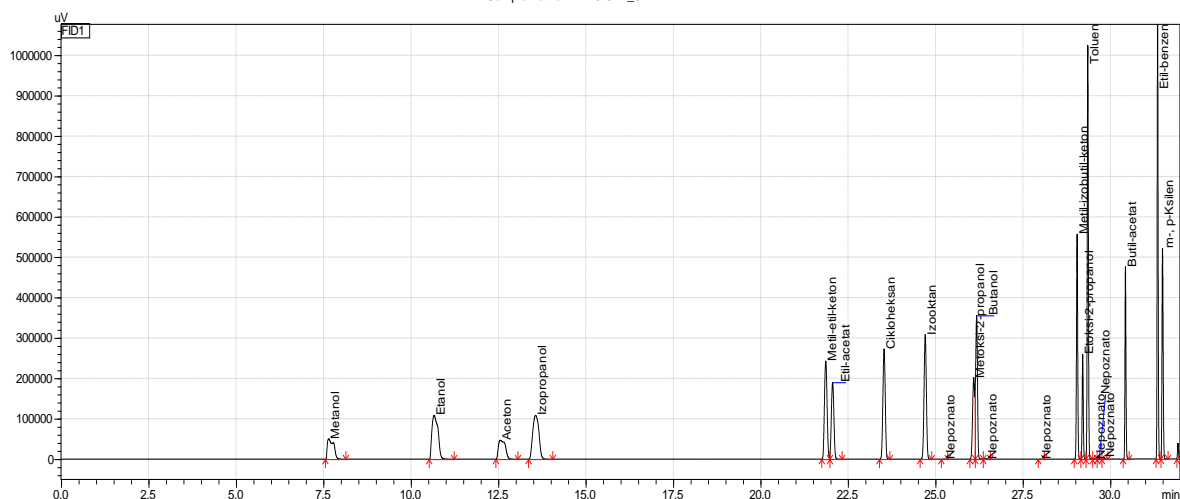
Analit	$t_R$ (min)	$R_S$
Metanol	5,035	--
Etanol	6,858	6,868
Aceton	8,122	4,533
Izopropanol	8,694	2,007
Metil-etil-keton	16,478	23,688
Etil-acetat	16,973	1,411
Cikloheksan	19,411	8,556
Izooktan	21,165	8,998
Metoksi-2-propanol	22,711	10,766
Butanol	22,942	2,068
Metil-izobutil-keton	25,835	26,629
Etoksi-2-propanol	26,142	2,703
Toluen	26,257	1,017
Nepoznato	26,814	4,686
Nepoznato	27,337	4,219
Butil-acetat	28,462	11,508
Etilbenzen	29,555	17,003
<i>m-/p</i> -Ksilen	29,722	2,681
<i>o</i> -Ksilen	30,182	7,712

Izabranim temperaturnim programom postignute su veće vrijednosti  $R_S$  za gotovo svaki analit. Također, razdvojeni su pikova etoksi-2-propanola i toluena te je uočen porast  $R_S$  metil-etil-ketona i etil-acetata sa 0,954 na 1,411.

#### 4.1.2. Izbor protoka dušika

Brzina protoka plina nositelja u koloni utječe na vrijeme zadržavanja svakog analita čime i na njihovo razdvajanje. Visoka brzina protoka dušika može uzrokovati loše razdvajanje jer analiti nemaju dovoljno vremena za interakciju s kolonom stoga prolaze kroz nju bez zadržavanja. Iz tog razloga, pri prethodno definiranom temperaturnom programu, mijenjan je protok dušika kroz kolonu na 3,00; 1,50; 1,37 i 1,00 mL/min te je određen njegov utjecaj na razdvajanje analita. Svih 16 organskih otapala po 100  $\mu$ L stavljeno je u svaku od četiri vijale od 20 mL. Najbolji rezultati dobiveni su pri protoku dušika kroz kolonu od 1,50 mL/min i 1,00 mL/min. Kromatogrami snimljen pri brzini protoka od 1,00 mL/min i 1,50 mL/min nalaze se na slikama 12 i 13 s pripadajućim  $t_R$  i  $R_S$  analita u tablicama 6 i 7.

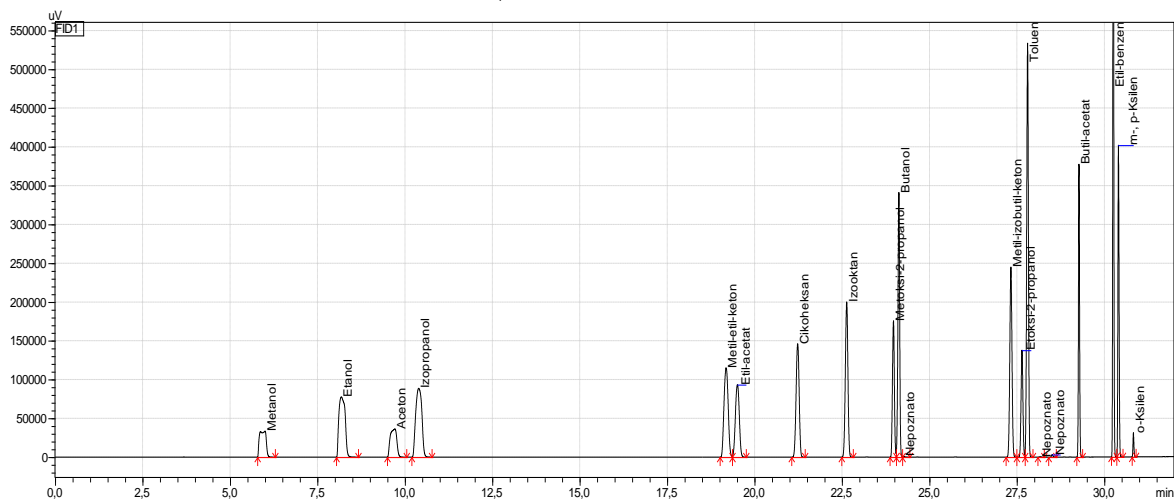




**Slika 12.** Kromatogram smjese analita snimljen pri protoku dušika 1,00 mL/min

**Tablica 6.**  $t_R$  i  $R_s$  analita pri protoku dušika 1,00 mL/min

Analit	$t_R$ (min)	$R_s$
Metanol	7,647	--
Etanol	10,664	10,376
Aceton	12,556	6,224
Izopropanol	13,564	3,217
Metil-etil-ke-ton	21,863	36,897
Etil-acetat	22,059	1,457
Cikloheksan	23,531	11,404
Izooktan	24,708	9,513
Nepoznato	25,243	4,615
Metoksi-2-propanol	26,094	6,454
Butanol	26,177	0,629
Nepoznato	26,443	2,262
Nepoznato	27,992	13,507
Metil-izobutil-ke-ton	29,05	12,538
Etoksi-2-propanol	29,211	2,576
Toluen	29,356	2,431
Nepoznato	29,544	3,012
Nepoznato	29,671	0,896
Nepoznato	29,81	1,008
Butil-acetat	30,433	11,214
Etilbenzen	31,353	17,99
<i>m-/p</i> -Ksilen	31,493	2,511
<i>o</i> -Ksilen	31,935	7,913



**Slika 13.** Kromatogram smjese analita pri protoku dušika 1,50 mL/min

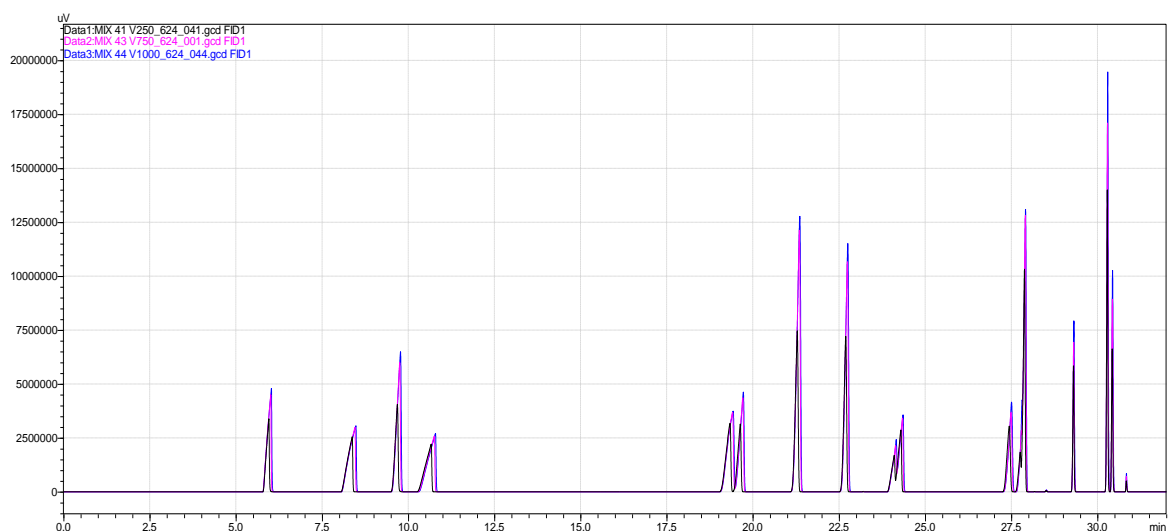
**Tablica 7.**  $t_R$  i  $R_s$  analita pri protoku dušika 1,50 mL/min

Analit	$t_R$ (min)	$R_s$
Metanol	6,002	--
Etanol	8,183	7,841
Aceton	9,712	5,291
Izopropanol	10,394	2,287
Metil-etil-ke-ton	19,182	33,834
Etil-acetat	19,51	1,564
Cikoheksan	21,232	9,445
Izooktan	22,633	9,376
Metoksi-2-propanol	23,97	11,262
Butanol	24,127	1,604
Nepoznato	24,258	1,016
Metil-izobutil-ke-ton	27,33	21,847
Etoksi-2-propanol	27,646	2,961
Tolu-en	27,806	1,696
Nepoznato	28,169	4,097
Nepoznato	28,508	4,302
Butil-acetat	29,276	11,877
Etilbenzen	30,257	17,882
<i>m-/p</i> -Ksilen	30,404	2,584
<i>o</i> -Ksilen	30,832	7,677

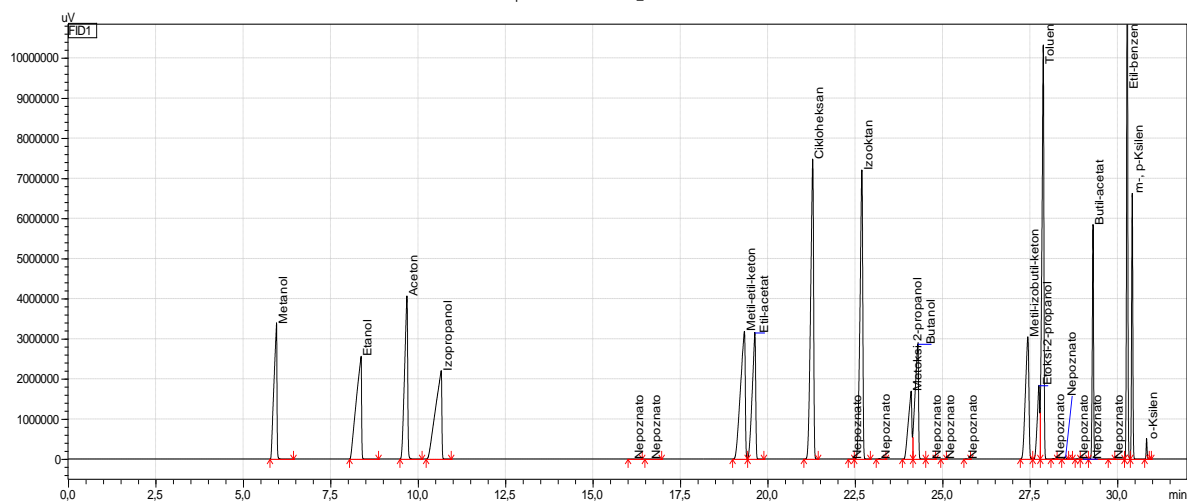
Vizualnom procjenom kromatograma na slici 12 i 13 uočeno je da su pikovi etoksi-2-propanola i toluena razdvojeni.  $R_s$  za metil-etil-keton i etil-acetat pri 1,50 mL/min dušika porastao je s 1,411 na 1,564 i za etoksi-2-propanol i toluen s 1,017 na 1,696. Smanjenje protoka dušika na 1,00 mL/min dovelo je do dodatnog razdvajanja pikova etoksi-2-propanola i toluena ( $R_s = 2,431$ ), ali su se pikovi metoksi-2-propanola i butanola preklopili. Pri protoku od 1,00 mL/min rezolucija pikova metoksi-2-propanola i butanola se smanjila sa 2,068 na 0,629 (tablica 6) stoga je odlučeno da se razvoj metode nastavi pri 1,50 mL/min.

#### 4.1.3. Izbor volumena injektiranja

Tijekom razvoja metode volumen injektiranja iznosio je 1  $\mu$ L. Obzirom da se primjenjuje igla od 2,5 mL koja može uzeti najmanji volumen uzorka od 250  $\mu$ L, daljnje analize provedene su s različitim volumenima injektiranja. Kako bi se odredio optimalan volumen injektiranja kod kojeg pikovi svih analita moraju biti prisutni radi identifikacije i kvantifikacije, provedene su analize s tri različita volumena injektiranja: 250, 750 i 1000  $\mu$ L (slika 14). Svih 16 analita po 100  $\mu$ L stavljeno je u svaku od tri vijale od 20 mL. *Split* omjer povećan je s 10 na 20 kako se kolona ne bi opteretila velikom količinom analita. Povećanjem volumena injektiranja, *fronting* pikova je sve izraženiji stoga su daljnje analize provedene pri 250  $\mu$ L injektiranog uzorka (slika 15).



**Slika 14.** Preklopljeni kromatogrami smjese analita; volumen injektiranja 250  $\mu$ L, **volumen injektiranja 750  $\mu$ L** , **volumen injektiranja 1000  $\mu$ L**



**Slika 15.** Kromatogram smjese analita snimljen pri volumenu injektiranja 250  $\mu\text{L}$

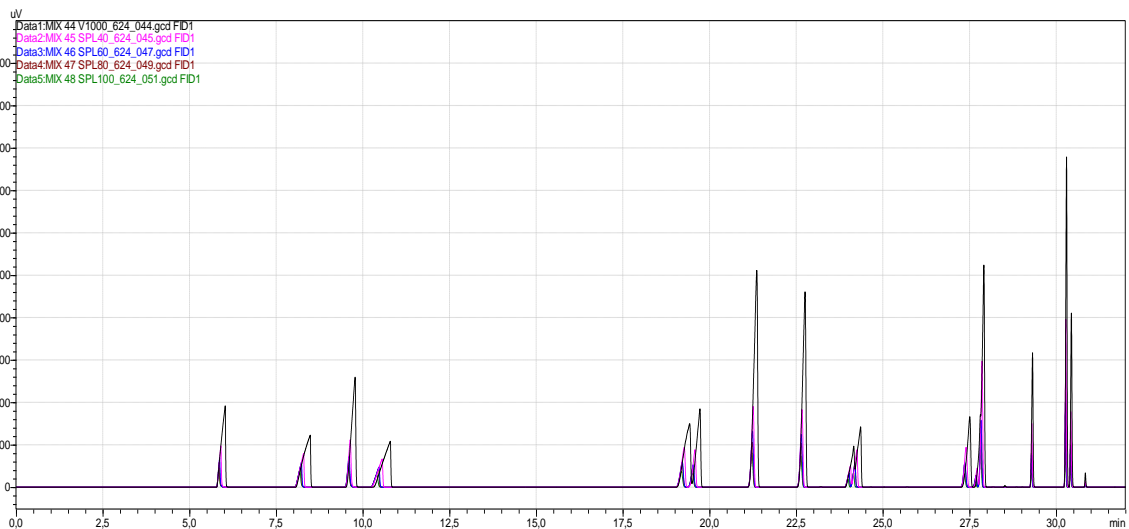
U tablici 8 nalaze se vremena zadržavanja analita dobivena pri volumenu injektiranja od 250  $\mu\text{L}$  i 1  $\mu\text{L}$ . Ne postoji značajna razlika u vremenima zadržavanja pri različitim volumenima injektiranja stoga se nastavlja s daljnjom optimizacijom.

**Tablica 8.**  $t_R$  analita pri volumenu injektiranja od 250  $\mu\text{L}$  i 1  $\mu\text{L}$  te apsolutna razlika u njihovim vrijednostima

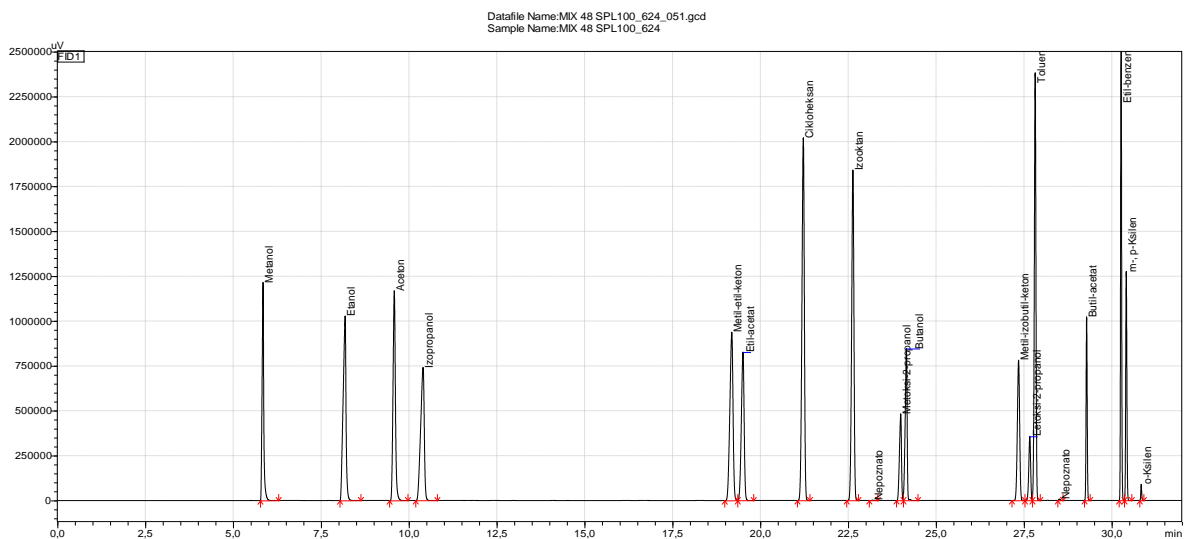
Analit	$t_R$ (min) <sub>250<math>\mu\text{L}</math></sub>	$t_R$ (min) <sub>1<math>\mu\text{L}</math></sub>	$ \Delta $ (min)
Metanol	5,956	6,002	0,046
Etanol	8,375	8,183	0,192
Aceton	9,686	9,712	0,026
Izopropanol	10,666	10,394	0,272
Metil-etil-keton	19,336	19,182	0,154
Etil-acetat	19,636	19,51	0,126
Cikloheksan	21,29	21,232	0,058
Izooktan	22,696	22,633	0,063
Metoksi-2-propanol	24,103	23,97	0,133
Butanol	24,296	24,127	0,169
Metil-izobutil-keton	27,44	27,33	0,11
Etoksi-2-propanol	27,758	27,646	0,112
Toluen	27,882	27,806	0,076
Butil-acetat	29,305	29,276	0,029
Etilbenzen	30,285	30,257	0,028
<i>m</i> -, <i>p</i> -Ksilen	30,427	30,404	0,023
<i>o</i> -Ksilen	30,837	30,832	0,005

#### 4.1.4. Izbor *split* omjera

S povećanjem *split* omjera smanjuje se količina uzorka koja ulazi u kolonu na razdvajanje. Kako bi se umanjio utjecaj *fronting*-a na pikove analita, provedene su analize uzorka pri sljedećim *split* omjerima: 40, 60, 80 i 100. Svih 16 organskih otapala po 100  $\mu$ L stavljeno je u svaku od četiri vijale od 20 mL. Na slici 16 nalaze se preklapljeni kromatogrami snimljeni pri *split* omjerima 20, 40, 60, 80 i 100. Najmanji utjecaj *fronting*-a na pikove dobiven je pri *split* omjeru 100 (slika 17).



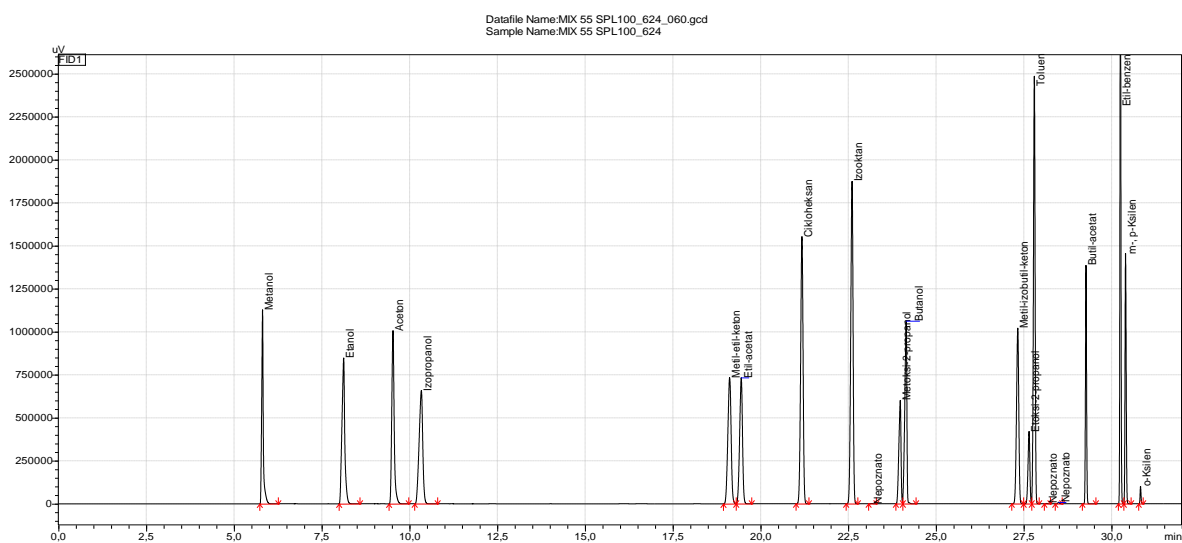
Slika 16. Preklapljeni kromatogrami smjese analita; *split* omjer 20, *split* omjer 40, *split* omjer 60, *split* omjer 80, *split* omjer 100



Slika 17. Kromatogram snimljen pri *split* omjeru 100

#### 4.1.5. Izbor volumena uzorka

Kako bi se dodatno smanjio utjecaj *fronting*-a pikova, promijenjen je volumen uzorka sa 100  $\mu\text{L}$  na 50  $\mu\text{L}$  svakog analita. Svih 16 organskih otapala po 50  $\mu\text{L}$  stavljeno je u svaku od pet vijala od 20 mL. U slučaju nedovoljne količine uzorka, provedena je analiza pri pet različitim *split* omjera: 10, 40, 60, 80 i 100. Vizualnom procjenom, najmanji utjecaj *fronting*-a na pikove pokazala je analiza pri *split* omjeru jednakom 100 čiji se kromatogram nalazi na slici 18. Daljnje analize provedene su na ukupnom volumenu uzorka od 800  $\mu\text{L}$  i *split* omjeru od 100.

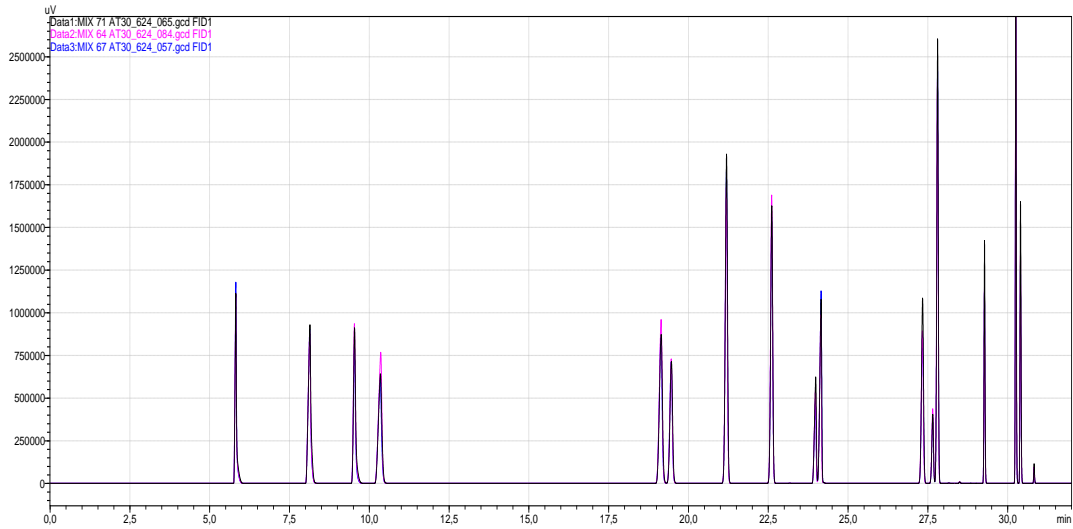


**Slika 18.** Kromatogram smjese analita snimljen pri ukupnom volumenu uzorka 50  $\mu\text{L}$  i *split* omjeru 100

#### 4.1.6. Određivanje uvjeta ravnoteže *headspace* uzorkovanja

Kako bi ustanovili vrijeme i temperaturu inkubacije potrebno za postizanje ravnoteže unutar vijale s uzorkom, provedene su analize s jednakom količinom uzorka pri različitim vremenima i temperaturama inkubacije. Svih 16 organskih otapala po 50  $\mu\text{L}$  stavljeno je u svaku od dvanaest vijala od 20 mL. Mjerenja su provedena pri tri različite temperature inkubacije: 70, 80 i 90  $^{\circ}\text{C}$  pri čemu je svaka temperatura inkubacije provedena pri četiri različita perioda u trajanju od: 15, 30, 45 i 60 min. Mjerenja su pokazala kako ne postoji značajna razlika u odzivima pri različitim vremenima inkubacije stoga je, radi osiguranja stanja ravnoteže, odabrano vrijeme trajanja od 30 minuta inkubacije te pri

70, 80 i 90 °C nalaze se na slici 19. Ne postoji značajna razlika u površinama ispod pikova na tri različite temperature stoga je odabrana srednja temperatura od 80 °C kao temperatura inkubacije.



**Slika 19.** Preklapljeni kromatogrami smjese analita nakon 30 minuta inkubacije pri 70 °C, 80 °C i 90 °C

#### 4.2. Validacija metode za određivanje ostatnih otapala u proizvodnom mulju

Nakon što su određeni optimalni uvjeti razdvajanja svih 17 ispitivanih analita, provedena je validacija razvijene HS-GC-FID metode. Prilikom provedbe validacije, analiti visokog vrelišta nisu pokazali dobru ponovljivost. S pretpostavkom da analiti kondenziraju u injektoru, temperatura injektora povišena je sa 140 °C na 200 °C. Prema preporuci proizvođača, temperatura igle smanjena je s maksimalnih 140 °C na 130 °C. S ciljem postizanja ravnoteže za analite širokog raspona vrelišta, temperatura inkubacije povećana je s 80 °C na 90 °C i vrijeme inkubacije produženo je s 30 na 45 minuta. U tablici 9 prikazani su optimalni uvjeti za razdvajanje svih 17 analita pri kojima je provedena validacija.

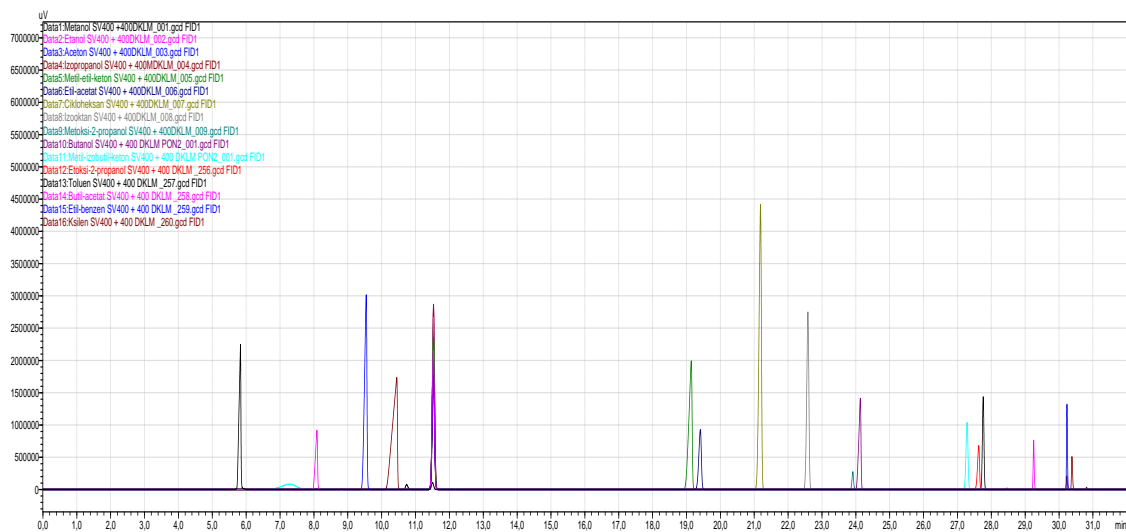
**Tablica 9.** Optimalne vrijednosti parametara za određivanje ostatnih otapala u proizvodnom mulju HS-GC-FID metodom

AOC-6000 Plus		Nexis GC-2030			
		Injektor		Kolona	
Dubina penetracije u vijalu (mm)	15	Temperatura (°C)	200	Temperatura (°C)	35
Dubina penetracije u injektor (mm)	40	Način injektiranja	Split	Vrijeme ravnoteže (min)	0,5
Temperatura inkubacije (°C)	90	Plin nositelj	N <sub>2</sub>	Temperaturni program pećnice	35 °C (17,5 min) 10 °C/min -100 °C (3,5 min) 40 °C/min – 240 °C (1 min)
Vrijeme inkubacije (min)	45	Tlak (kPa)	168,0	Ukupno vrijeme temperaturnog programa (min)	32
Temperatura igle (°C)	130	Ukupan protok (mL/min)	154,5	Brzina hlađenja pećnice	Brzo (200°C/min)
Brzina miješanja u inkubatoru (okretaj/min)	250	Protok dušika (mL/min)	1,50	<u>FID</u>	
Čišćenje prije uzimanja uzorka (s)	0	Linearna brzina (cm/s)	27,6	Temperatura (°C)	240
Protok injektiranja u injektor (mL/min)	25	Protok pročišćavanja (mL/min)	3,00	Vrijeme zaustavljanja (min)	32
Čišćenje nakon injektiranja (s)	30	Split omjer	100	Kompenzacijski plin	N <sub>2</sub>
Vrijeme analize (min)	41			Protok kompenzacijskog plina (mL/min)	30,0
				H <sub>2</sub> Flow [mL/min]	35,0
				Protok zraka	350,0

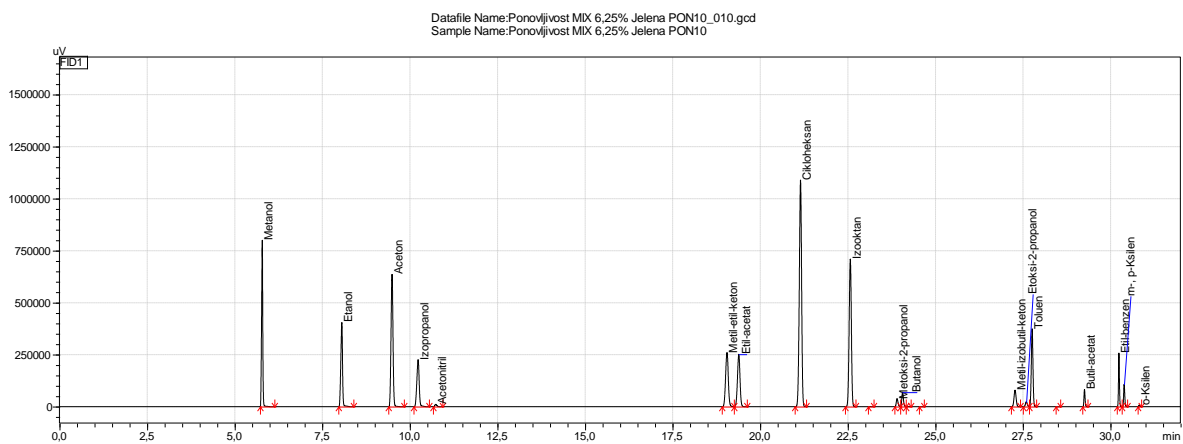


## 4.2.1. Selektivnost metode

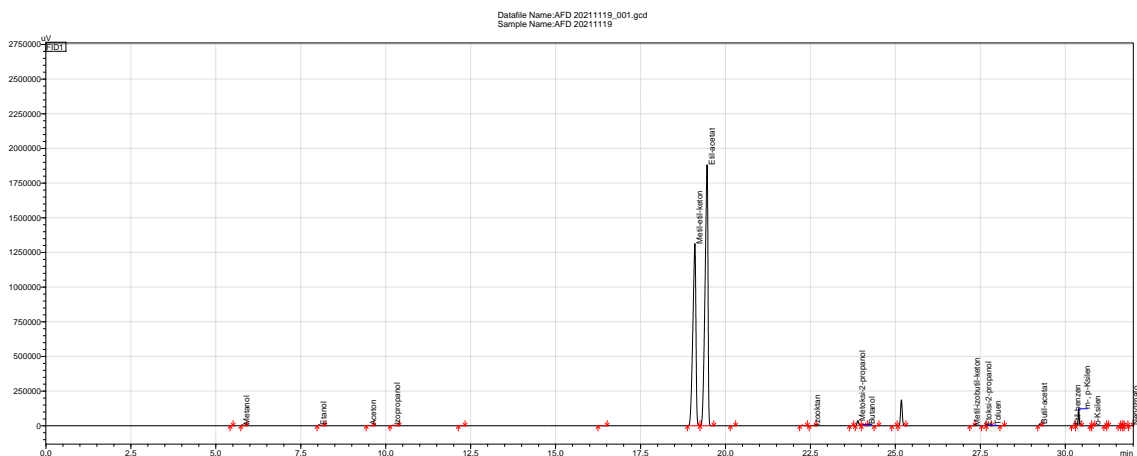
Razvijena metoda jest selektivna metoda jer može razlučiti svih 17 analita što je potvrđeno kromatogramima koji su dobiveni analizom pojedinačnih otopina analita (slika 20) i njihove smjese (slika 21).  $t_R$  analita u realnom uzorku poklapaju se s  $t_R$  pojedinačnih analita u standardnim otopinama (slika 22).



**Slika 20.** Preklapljeni kromatogrami 17 ispitivanih analita; metanol, etanol, aceton, izopropanol, metil-etil-keton, etil-acetat, cikloheksan, izooktan, metoksi-2-propanol, butanol, metil-izobutil-keton, etoksi-2-propanol, toluen, butil-acetat, etilbenzen, ksilen



**Slika 21.** Kromatogram smjese ispitivanih analita



**Slika 22.** Kromatogram proizvodnog mulja 20211119

#### 4.2.2. Linearnost

Kalibracija je provedena metodom vanjskog standarda u svrhu određivanja granice detekcije i kvantifikacije. Standardne otopine analita pripremljene su u volumnim udjelima prema tablicama P1 do P17 u Prilogu pri čemu se za određivanje točnog volumnog udjela analita uzimala u obzir čistoća kemikalija. Kao otapalo korišten je diklormetan. U tablici 10 predstavljene su jednadžbe kalibracijskih pravaca i koeficijenti determinacije ( $R^2$ ) za svaki analit.  $A$  predstavlja srednju vrijednost površina ispod pika, a  $\varphi$  volumni udio analita.

**Tablica 10.** Jednadžbe kalibracijskih pravaca i  $R^2$  analita

Analit	Jednadžba kalibracijskog pravca	$R^2$
Metanol	$A = 306598,0265\varphi - 22998,8707$	0,9974
Etanol	$A = 237857,4054\varphi - 10079,7239$	0,9994
Aceton	$A = 376548,2198\varphi - 12111,2377$	0,9821
Izopropanol	$A = 167491,6475\varphi + 22911,6269$	0,9941
Metil-etil-keton	$A = 172259,8612\varphi + 210817,5703$	1,0000
Etil-acetat	$A = 152322,0561\varphi + 183094,6753$	0,9997
Cikloheksan	$A = 818141,2788\varphi + 57974,6805$	0,9943
Izooktan	$A = 495103,4754\varphi + 163244,3134$	0,9981
Metoksi-2-propanol	$A = 34680,7949\varphi - 8146,2614$	0,9731
Butanol	$A = 56933,5268\varphi - 15796,7943$	0,9670
Metil-izobutil-keton	$A = 69427,0752\varphi - 8278,2903$	0,9895
Etoksi-2-propanol	$A = 26525,8284\varphi - 6753,9824$	0,9579
Toluen	$A = 219253,7118\varphi - 9518,3649$	0,9982
Butil-acetat	$A = 44698,6765\varphi - 11116,5543$	0,9711
Etilbenzen	$A = 92277,8187\varphi + 25562,6508$	0,9721
<i>m-/p</i> -Ksilen	$A = 89592,1128\varphi - 12934,0728$	0,9786
<i>o</i> -Ksilen	$A = 79384,8658\varphi - 956,3059$	0,9698

#### 4.2.3. Granica detekcije i granica kvantifikacije

Granica detekcije i kvantifikacije određena je na temelju parametara kalibracijskog pravca. Vrijednosti GD i GK nalaze se u tablici 11. Eksperimentalni podatci za izračun GD i GK nalaze su tablicama u Prilogu u tablicama P18 do P34.

**Tablica 11. GD i GK**

<b>Analit</b>	<b>GD (vol. %)</b>	<b>GK (vol. %)</b>
Metanol	0,009	0,03
Etanol	0,008	0,02
Aceton	0,01	0,03
Izopropanol	0,01	0,03
Metil-etil-keton	0,21	0,65
Etil-acetat	0,16	0,50
Cikloheksan	0,005	0,02
Izooktan	0,12	0,36
Metoksi-2-propanol	0,11	0,32
Butanol	0,11	0,34
Metil-izobutil-keton	0,11	0,34
Etoksi-2-propanol	0,19	0,58
Toluen	0,06	0,17
Butil-acetat	0,14	0,42
Etilbenzen	0,15	0,45
<i>m-/p</i> -Ksilen	0,09	0,27
<i>o</i> -Ksilen	0,01	0,03

#### **4.2.4. Preciznost**

##### **4.2.4.1. Ponovljivost**

Za određivanje ponovljivosti, pripravljena je smjesa svih 16 organskih otapala. Ponovljivost je određena analizom te iste standardne otopine analita u 10 vijala. Rezultati ponovljivosti, iskazani kao RSD (%) volumnih udjela dobiveni metodom normalizacije površine, prikazani su u tablici 12. Za određivanje točnog volumnog udjela analita u pripremljenoj standardnoj otopini, u obzir je uzeta čistoća kemikalije. Detaljni podaci određivanja ponovljivosti nalaze se u Prilogu u tablicama P35 do P51.

**Tablica 12.** Ponovljivost

Analit	$\varphi$ (%)	RSD (%)
Metanol	6,21	7,94
Etanol	6,23	1,64
Aceton	6,23	7,67
Izopropanol	6,23	3,74
Metil-etil-keton	6,23	0,88
Etil-acetat	6,21	1,99
Cikloheksan	6,21	8,48
Izooktan	6,18	5,12
Metoksi-2-propanol	6,12	39,29
Butanol	6,23	37,52
Metil-izobutil-keton	6,18	25,36
Etoksi-2-propanol	5,93	44,85
Toluen	6,23	7,62
Butil-acetat	6,12	36,01
Etilbenzen	6,18	29,67
<i>m/p</i> -Ksilen	4,40	31,57
<i>o</i> -Ksilen	0,28	35,05

Analiti visokog vrelišta, čije je vrijeme zadržavanja veliko, imaju veliku vrijednost RSD-a. Riječ je o metoksi-2-propanolu, butanolu, metil-izobutil-ketonu, etoksi-2-propanolu, butil-acetatu, etilbenzenu, *m/p*-ksilenu i *o*-ksilenu (izuzev toluena). Ostalih devet analita – metanol, etanol, aceton, izopropanol, metil-etil-keton, etil-acetat, cikloheksan, izooktan i toluen – imaju zadovoljavajuće vrijednosti RSD-a ( $RSD < 15\%$ ).

#### 4.2.4.2. Međupreciznost

Međupreciznost je ispitana kao i ponovljivost, ponovljenim (10 puta) analizama smjese svih 16 organskih otapala, međutim pripremljene od strane drugog analitičara. Rezultati međupreciznosti iskazani su kao RSD (%) volumnih udjela dobiveni metodom normalizacije površine. Za određivanje točnog volumnog udjela analita u pripremljenoj standardnoj otopini, u obzir je uzeta čistoća kemikalije. Rezultati dobiveni od strane drugog analitičara te rezultati *F*-testa i *t*-testa prikazani su u tablici 13. Detaljni podaci korišteni za određivanje međupreciznosti nalaze se u Prilogu u tablicama P52 do P68, a *F*-testa i *t*-testa u tablicama P69 do P85.

**Tablica 13.** Međupreciznost (drugi analitičar),  $F$ -test i  $t$ -test

Analit	$\varphi$ (%)	RSD (%)	$F$ -test	$F_{\text{krit.}}$	$F_{\text{eksp.}}$	$t$ -test	$t_{\text{krit.}}$	$t_{\text{eksp.}}$
Metanol	6,21	9,80		3,18	1,04		2,26	0,16
Etanol	6,23	4,00		3,18	1,07		2,26	0,28
Aceton	6,23	11,33		3,18	1,71		2,26	0,68
Izopropanol	6,23	5,39		3,18	1,24		2,26	0,20
Metil-etil-keton	6,23	3,91		3,18	1,34		2,26	0,15
Etil-acetat	6,21	5,59		3,18	1,43		2,26	0,11
Cikloheksan	6,21	12,18		3,18	2,14		2,26	1,46
Izooktan	6,18	9,34		3,18	2,00		2,26	0,41
Metoksi-2-propanol	6,12	60,53		3,18	2,55		2,26	0,43
Butanol	6,23	61,82		3,18	2,99		2,26	0,52
Metil-izobutil-keton	6,18	37,09		3,18	2,02		2,26	0,35
Etoksi-2-propanol	5,93	68,90		3,18	2,38		2,26	0,32
Toluen	6,23	9,62		3,18	1,35		2,26	0,28
Butil-acetat	6,12	52,90		3,18	2,23		2,26	0,38
Etilbenzen	6,18	43,87		3,18	2,05		2,26	0,30
<i>m</i> -/ <i>p</i> -Ksilen	4,40	47,08	3,18	2,20	2,26	0,37		
<i>o</i> -Ksilen	0,28	53,12	3,18	2,31	2,26	0,36		

RSD-vrijednosti dobivene od strane drugog analitičara odgovaraju RSD-vrijednostima dobivene ispitivanjem ponovljivosti što je potvrđeno  $F$ -testom.  $F$ -test usporedbe standardnih odstupanja dvaju nizova pokazao je kako ne postoji značajna razlika između standardnih odstupanja dva niza mjerenja, odnosno u preciznosti dva analitičara.  $t$ -test usporedbe eksperimentalnih aritmetičkih sredina dvaju nizova pokazao je kako ne postoji značajna razlika između aritmetičkih sredina dva uzorka i smatra se da su dio iste cjeline.

#### 4.2.5. Istinitost

Istinitost je određena kao iskorištenje; omjer srednje vrijednosti triju volumnih udjela analita i referentnog volumnog udjela. Referentni volumni udio je volumni udio analita koji je pripremljen dok je srednja vrijednost volumnog udjela dobivena metodom normalizacije površine. Rezultati istinitosti (iskorištenja) nalaze se u tablici 14.

**Tablica 14.** Istinitost

Analit	Referentni volumni udio (%)	$\varphi$ (%)	Istinitost (%)
Metanol	10,0	9,10	91,2
Etanol	7,5	8,40	112,2
Aceton	10,0	14,97	149,8
Izopropanol	5,0	5,29	105,9
Metil-etil-keton	5,0	5,42	108,5
Etil-acetat	7,5	6,35	85,1
Cikloheksan	7,5	27,51	368,6
Izooktan	5,0	11,11	224,4
Metoksi-2-propanol	9,8	2,54	25,9
Butanol	10,0	4,23	42,4
Metil-izobutil-keton	9,9	4,91	49,6
Etoksi-2-propanol	9,5	1,64	17,3
Toluen	10,0	9,77	97,8
Butil-acetat	7,4	2,24	30,5
Etilbenzen	7,4	5,81	78,2
<i>m-p</i> -Ksilen	5,28	3,02	57,2
<i>o</i> -Ksilen	0,34	0,17	50,6

Analiti metanol, etanol, izopropanol, metil-etil-keton, etil-acetat i toluen zadovoljavaju kriterij istinitosti (iskorištenje unutar  $\pm 20\%$ ) na volumnim udjelima pri kojima je istinitost provedena.

#### 4.2.6. Sažetak rezultata validacije

U tablici 15 nalaze se vrijednosti izvedbenih karakteristika određeni tijekom validacije HS-GC-FID metode te zadovoljavaju li postavljene kriterije prihvatljivosti.

**Tablica 15.** Sažetak rezultata validacije HS-GC-FID metode

Kriterij prihvatljivosti		Specifičnost / selektivnost	Granica detekcije ( $\varphi$ , %)	Granica kvantifikacije ( $\varphi$ , %)	Preciznost (RSD, %)	Međupreciznost (RSD, %)	Istinitost (iskorištenje, %)	Zadovoljava kriterij
		informacija	informacija	informacija	RSD $\leq$ 15	RSD $\leq$ 15	80 – 120	DA ili NE
Analiti	Metanol	Slike 20 i 21	0,009	0,03	7,94	9,80	91,2	DA/DA/DA
	Etanol		0,008	0,02	1,64	4,00	112,2	DA/DA/DA
	Aceton		0,01	0,03	7,67	11,33	149,8	DA/DA/NE
	Izopropanol		0,01	0,03	3,74	5,39	105,9	DA/DA/DA
	Metil-etil-keton		0,21	0,65	0,88	3,91	108,5	DA/DA/DA
	Etil-acetat		0,16	0,50	1,99	5,59	85,1	DA/DA/DA
	Cikloheksan		0,005	0,02	8,48	12,18	368,6	DA/DA/NE
	Izooktan		0,12	0,36	5,12	9,34	224,4	DA/DA/NE
	Metoksi-2-propanol		0,11	0,32	39,29	60,53	25,9	NE/NE/NE
	Butanol		0,11	0,34	37,52	61,82	42,4	NE/NE/NE
	Metil-izobutil-keton		0,11	0,34	25,36	37,09	49,6	NE/NE/NE
	Etoksi-2-propanol		0,19	0,58	44,85	68,90	17,3	NE/NE/NE
	Toluen		0,06	0,17	7,62	9,62	97,8	DA/DA/DA
	Butil-acetat		0,14	0,42	36,01	52,90	30,5	NE/NE/NE
	Etilbenzen		0,15	0,45	29,67	43,87	78,2	NE/NE/NE
	<i>m-p</i> -Ksilen		0,09	0,27	31,57	47,08	45,4	NE/NE/NE
o-Ksilen	0,01	0,03	35,05	53,12	23,0	NE/NE/NE		

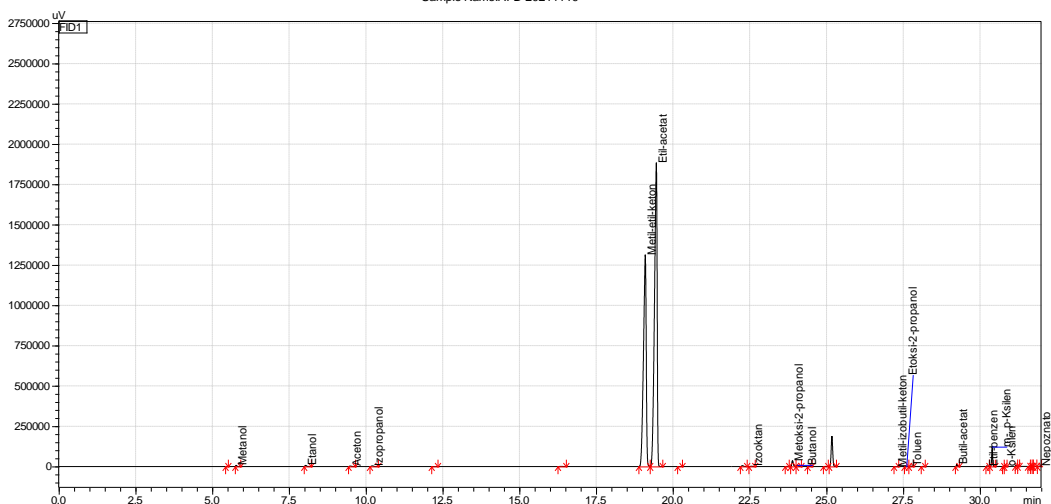
### 4.3. Analiza realnog uzorka

Uzorak proizvodnog mulja interne oznake 20211119 nastao je destilacijom otpadnog otapala industrije proizvodnje fleksibilne ambalaže koja primjenjuje metil-etil-keton i etil-acetat kao nosače tinte, odnosno u tim hlapivim organskim otapalima suspendirane su čestice tinte za digitalno tiskanje na fleksibilnim ambalažama.

#### 4.3.1. Metoda normalizacije površine

Uzorak 20211119 od 800  $\mu$ L je uzet i stavljen u vijalicu od 20 mL bez ikakve prethodne pripreme. Analizom uzorka 20211119 dobiven je kromatogram na slici 23, a u tablici 16 nalaze se vrijednosti volumnih udjela analita dobivenih metodom normalizacijom površine.





**Slika 23.** Kromatogram realnog uzorka interne oznake 20211119

**Tablica 16.** Rezultati analize uzorka 20211119

Analit	$t_R$ (min)	A	$\varphi$ (%)
Metanol	5,773	17721	0,09
Etanol	8,035	24322	0,12
Aceton	9,492	12292	0,06
Izopropanol	10,209	18636	0,09
Metil-etil-keton	19,1	8222405	39,52
Etil-acetat	19,459	11308851	54,35
Izooktan	22,56	7264	0,03
Metoksi-2-propanol	23,894	125642	0,6
Butanol	24,053	32184	0,15
Metil-izobutil-keton	27,268	853	0,00
Etoksi-2-propanol	27,604	1710	0,01
Toluen	27,746	8582	0,04
Butil-acetat	29,247	30492	0,15
Etilbenzen	30,231	9487	0,05
<i>m-/p</i> -Ksilen	30,397	254346	1,22
<i>o</i> -Ksilen	30,811	10659	0,05
Nepoznato	31,941	5331	0,03

Najveće volumne udjele u uzorku 2021119 imaju analiti metil-etil-keton; 39,52% i etil-acetat; 54,35%. S obzirom da metoda normalizacije površine ne uračunava faktor odgovora,

potrebno je provesti metodu unutarnjeg standarda i odrediti relativne faktore odgovora kako bi se odredila što točniji volumni udio metil-etil-ketona i etil-acetata u uzorku.

#### 4.3.2. Metoda unutarnjeg standarda

Unutarnji standard bi trebao biti kemijski sličan analitu i ne bi trebao biti prisutan u uzorcima. U idealnom slučaju, za svaki analit u metodi postoji unutarnji standard no s obzirom na to da je riječ o metodi sa 16 organskih otapala, odnosno 17 analita, takav izbor unutarnjeg standarda nije praktičan. U tom slučaju odabire se nekoliko unutarnjih standarda koji će odgovarati analitima ranog, srednjeg i kasnijeg eluiranja u kromatogramu.

Pregledom strukture, točke vrelišta i vremena zadržavanja analita kao unutarnji standard izabran je kloroform. Kloroform je halogenirano otapalo vrelišta 66,2 °C s vremenom zadržavanja 20,551 min prema čemu izlazi iz kolone slično kao i etil-acetat i metil-etil-eton.

S obzirom da je volumni udio metil-etil-ketona određen metodom normalizacije površine 39,52%, a etil-acetata 54,35% pripremljene su kalibracijske otopine s volumnim udjelima 30%, 40% i 50% metil-etil-ketona i etil-acetata 60%, 50% i 40% s 10% kloroforma u svakoj otopini. U tablici 17 predstavljene su pripremljene kalibracijske otopine različitih volumnih udjela metil-etil-ketona i etil-acetata zajedno s poznatim i konstantnim volumnim udjelom unutarnjeg standarda.

**Tablica 17.** Pripremljene standardne otopine za provedbu metode unutarnjeg standarda

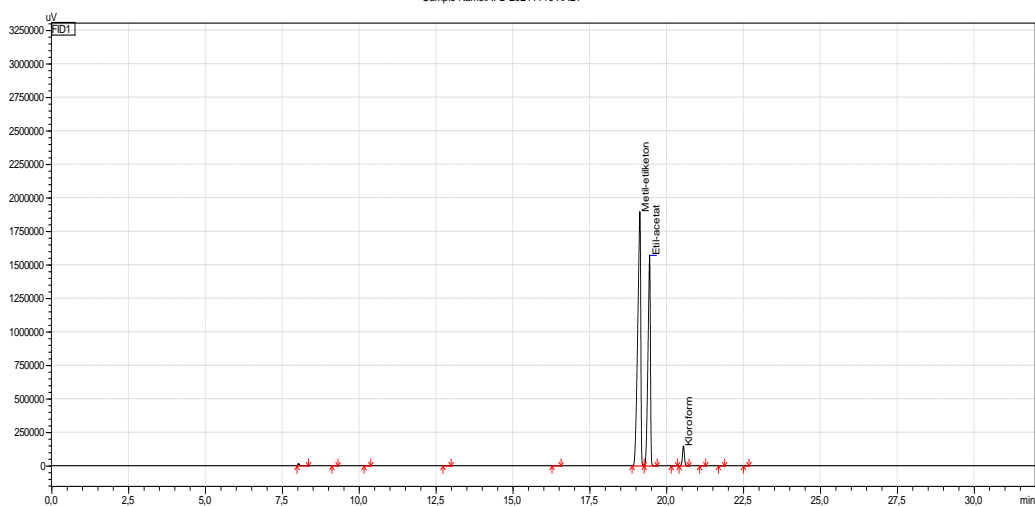
# kalibracijske otopine	1	2	3
Analit	$\varphi / \%$		
Metil-etil-eton	50	40	30
Etil-acetat	40	50	60
Unutarnji standard	10	10	10
$\Sigma$	100	100	100

Rezultati analize kalibracijskih otopina i uzorka 20211119 prikazani su u tablici 18 s pripadajućim kromatogramima na slikama 24 do 27.

**Tablica 18.** Rezultati analize kalibracijskih otopina i uzorka 20211119 metodom unutarnjeg standarda

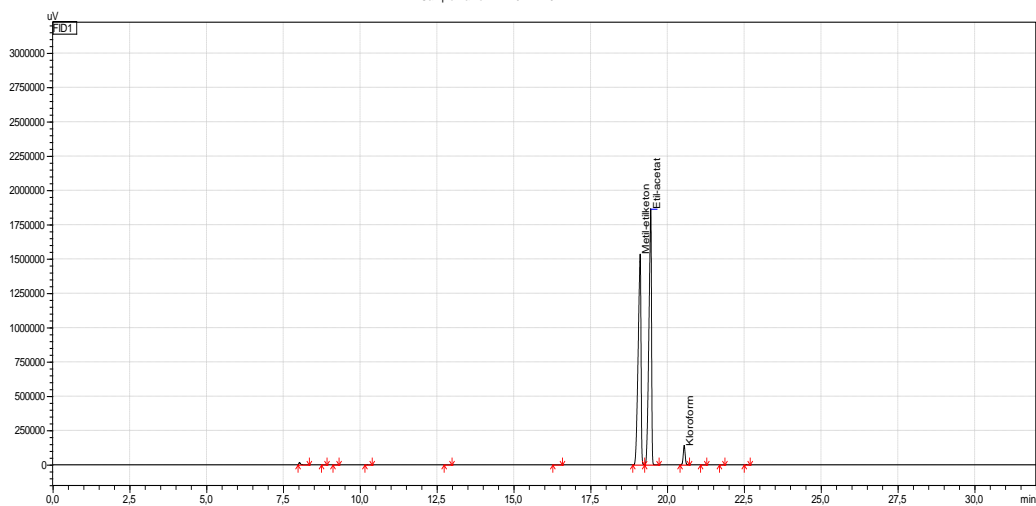
# kalibracijske otopine	1	2	3
<b>Analit</b>	<b>A</b>		
<b>Metil-etil-keton</b>	12928530	9897980	7687655
<b>Etil-acetat</b>	8669311	10923992	12972362
<b>Unutarnji standard</b>	638165	600970	606391
<b>20211119 + unutarnji standard</b>			
<b>Analit</b>	<b>A</b>		
<b>Metil-etil-keton</b>	6950025		
<b>Etil-acetat</b>	9708953		
<b>Unutarnji standard</b>	538623		

Datafile Name:AFD 20211119 KAL1\_269.gcd  
Sample Name:AFD 20211119 KAL1

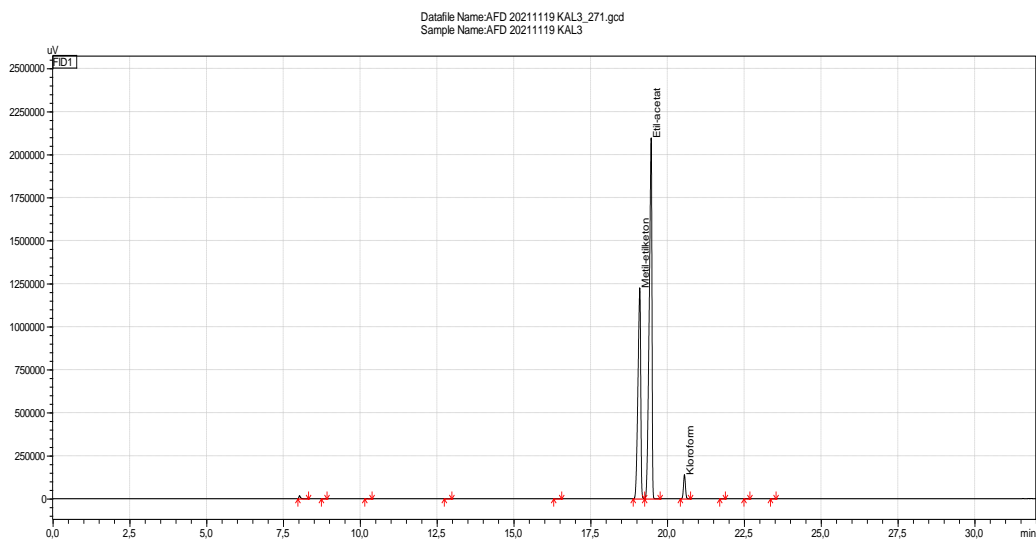


**Slika 24.** Kromatogram kalibracijske otopine 1

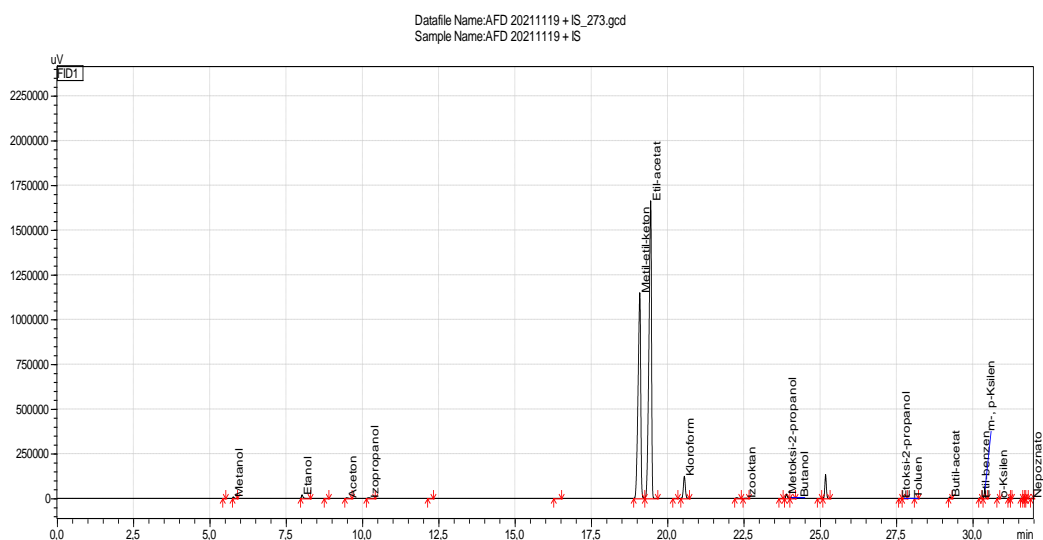
Datafile Name:AFD 20211119 KAL2\_270.gcd  
Sample Name:AFD 20211119 KAL2



**Slika 25.** Kromatogram kalibracijske otopine 2



**Slika 26.** Kromatogram kalibracijske otopine 3



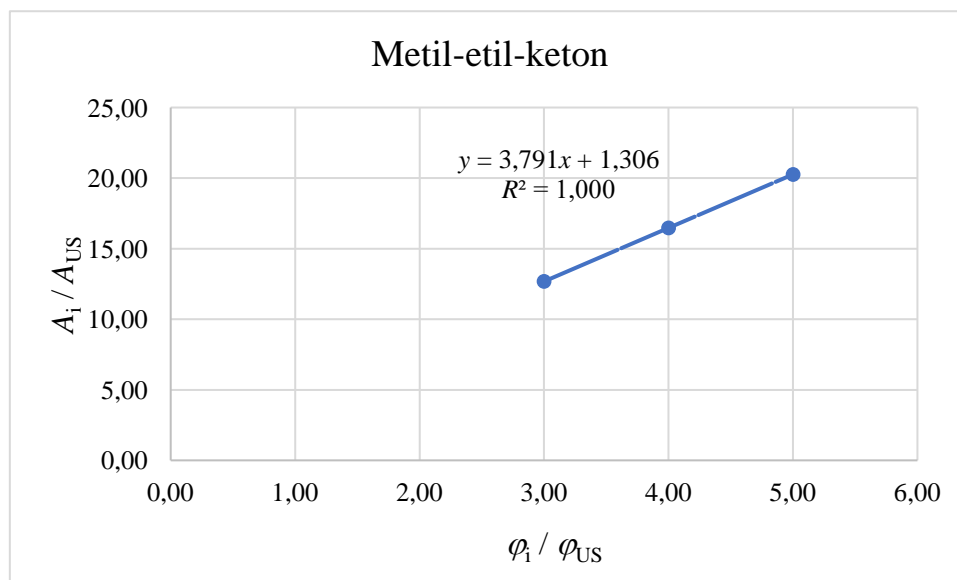
**Slika 27.** Kromatogram uzorka 20211119 s unutarnjim standardom

Kako bi se pripravo kalibracijski pravac, postavljeni su omjeri površina analita i unutarnjeg standarda kao i volumni udjeli analita i unutarnjeg standarda (tablica 19).

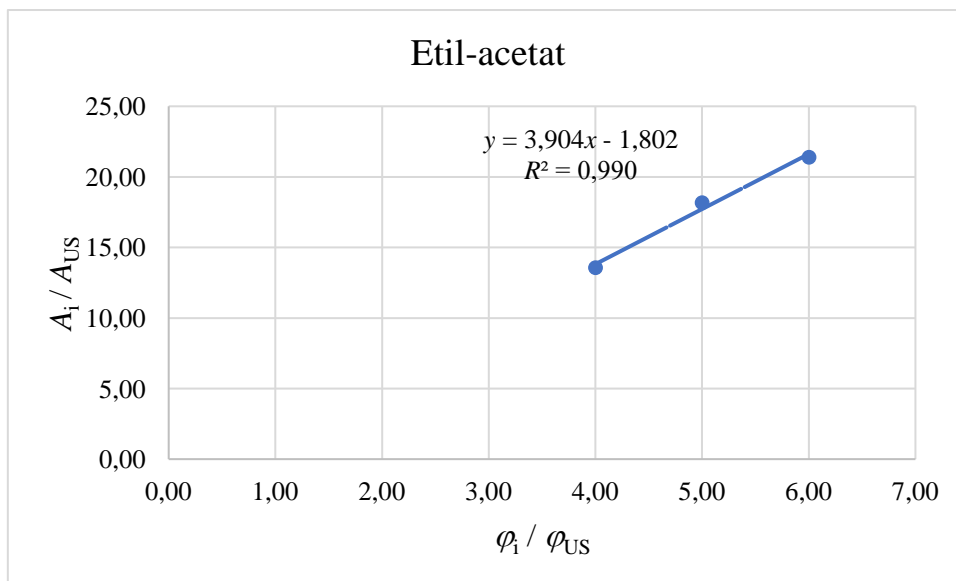
**Tablica 19.** Rezultati dobiveni obradom podataka iz tablica 17 i 18

Metil-etil-keton		Etil-acetat	
$A_i / A_{US}$	$\varphi_i / \varphi_{US}$	$A_i / A_{US}$	$\varphi_i / \varphi_{US}$
20,259	5,00	13,585	4,00
16,470	4,00	18,177	5,00
12,678	3,00	21,393	6,00
$A_{MEK} / A_{US}$		$A_{EtAc} / A_{US}$	
12,903		18,026	

Grafičke ovisnosti omjera površine pojedinačnog analita i unutarnjeg standarda o omjeru volumnih udjela analita i unutarnjeg standarda nalaze se na slikama 28 i 29.



**Slika 28.** Kalibracijska krivulja za metil-etil-keton



**Slika 29.** Kalibracijska krivulja za etil-acetat

Konačni volumni udjeli metil-etil-ketona i etil-acetata u uzorku 20211119 određeni su iz pripadajućih kalibracijskih jednadžbi i nalaze se u tablici 20.

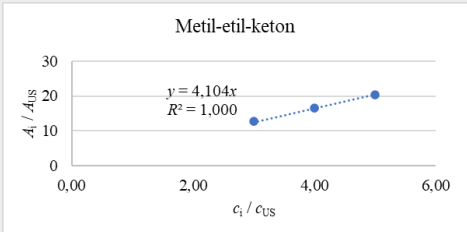
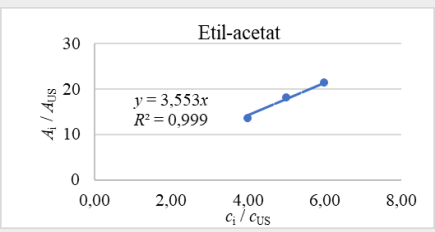
**Tablica 20.** Određivanje volumnih udjela metil-etil-ketona i etil-acetata u uzorku 20211119 iz odgovarajuće jednadžbe kalibracijske krivulje

<b>Metil-etil-keton</b>		<b>Etil-acetat</b>	
<b>Nagib</b>	3,791	<b>Nagib</b>	3,904
<b>Odsječak</b>	1,306	<b>Odsječak</b>	-1,802
<b>y, <math>A_i / A_{US}</math></b>	12,903	<b>y, <math>A_i / A_{US}</math></b>	18,026
<b>x, <math>\varphi_i / \varphi_{US}</math></b>	3,059	<b>x, <math>\varphi_i / \varphi_{US}</math></b>	5,079
<b><math>\varphi_{MEK} / \%</math></b>	30,59	<b><math>\varphi_{EtAc} / \%</math></b>	50,79

### 4.3.3. Metoda normalizacije korigirane površine

S obzirom da je provedena metoda unutarnjeg standarda, moguće je odrediti relativni faktor odgovora za metil-etil-keton i etil-acetat. Relativni faktor odgovora određen je na dva načina; kao nagib kalibracijske krivulje dobiven kalibracijskim otopinama metodom unutarnjeg standarda gdje krivulja prolazi kroz nulu i kao srednja vrijednost triju relativnih faktora odgovora prema jednadžbi (23) za svaku koncentracijsku razinu analita u pripremljenim kalibracijskim otopinama. Dobivene vrijednosti relativnog faktora odgovora kao i izračunati volumni udjeli analita u uzorku 20211119 nalaze se u tablici 21.

**Tablica 21.** Određivanje relativnog faktora odgovora za metil-etil-keton i etil-acetat

	Metil-etil-keton			Etil-acetat		
<b>Kalibracijski pravac koji prolazi kroz sjecište (0,0)</b>						
<b>RRF</b> (nagib kalibracijskog pravca)	4,10			3,55		
<b>φ (%)</b>	31,47			50,73		
<b><math>\frac{A_A}{c_A}</math> (1/%)</b>	Kalibracijska otopina #			Kalibracijska otopina #		
	1	2	3	1	2	3
	258570,60	247449,50	256255,17	216732,78	218479,84	216206,03
<b><math>\frac{A_{US}}{c_{US}}</math> (1/%)</b>	Kalibracijska otopina #					
	1		2		3	
	63816,50		60097,00		60639,10	
<b>RRF</b>	Kalibracijska otopina #			Kalibracijska otopina #		
	1	2	3	1	2	3
	4,05	4,12	4,23	3,40	3,64	3,57
<b>RRF</b>	4,13			3,53		
<b>φ (%)</b>	31,23			51,03		



Bliske vrijednosti RRF-a za metil-etil-eton i RRF-a za etil-acetat ukazuju kako su oba načina izračuna RRF-vrijednosti ispravna. Kako su vrijednosti RRF-a bliske, volumni udjeli metil-etil-ketona; 31,47% i 31,23% te etil-acetata 50,73% i 51,03% odgovaraju volumni udjeli dobivenih iz kalibracijske krivulje metodom unutarnjeg standarda.

## 5. ZAKLJUČAK

U ovom radu proveden je razvoj metode za određivanje ostatnih organskih otapala u proizvodnom mulju *headspace* uzorkovanjem s plinskom kromatografijom spregnutom FID detektorom. Nakon razvoja, uslijedila je validacija metode kojom se dokazuje njezina prikladnost za određivanje sljedećih analita u proizvodnom mulju: metanol, etanol, aceton, izopropanol, metil-etil-keton, etil-acetat, cikloheksan, izooktan, metoksi-2-propanol, butanol, metil-izobutil-keton, etoksi-2-propanol, toluen, butil-acetat, etilbenzen i izomeri ksilena (*o*-, *m*- i *p*-ksilen). Nakon obrade rezultata zaključci su sljedeći:

- Metoda je selektivna za određivanje ostatnih organskih otapala u proizvodnom mulju.
- Metoda je ponovljiva u ispitivanom području za devet analita: metanol, etanol, aceton, izopropanol, metil-etil-keton, etil-acetat, cikloheksan, izooktan i toluen. Ostali analiti, analiti visokog vrelišta, pokazuju visoke RSD-vrijednosti ( $RSD > 15\%$ ) zbog čega je potrebno daljnje razvijanje metode kako bi se omogućila precizna mjerenja.
- Statistički testovi *F*-test i *t*-test pokazali su kako ne postoji statistička značajna razlika u preciznosti dva analitičara, odnosno u srednjim vrijednostima dva niza mjerenja.
- Metoda je istinita u ispitivanom području za šest analita: metanol, etanol, izopropanol, metil-etil-keton, etil-acetat i toluen. Ostali analiti ne zadovoljavaju postavljen kriterij prihvatljivosti za iskorištenje ( $\pm 20\%$ ).

Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti kako je razvijena metoda prikladna za određivanje metanola, etanola, acetona, izopropanola, metil-etil-ketona, etil-acetata, cikloheksana, izooktana i toluena u proizvodnom mulju dok je daljnja optimizacija potrebna za određivanje preostalih šest analita; metoksi-2-propanol, butanol, metil-izobutil-keton, etoksi-2-propanol, butil-acetat, etilbenzen i izomeri ksilena. Metoda normalizacije površine prikladna je za kvantifikaciju metanola, etanola, izopropanola, metil-etil-ketona, etil-acetata i toluena. Analiti aceton, cikloheksan i izooktan zadovoljili su sve kriterije prihvatljivosti osim istinitosti (iskorištenja) prema metodi normalizacije površine. Za što točniju kvantifikaciju acetona, cikloheksana i izooktana potrebno je odrediti njihove pripadajuće relativne faktore odgovora.

## 6. LITERATURA

- [1] Shimadzu, Basics and Fundamentals Gas Chromatography. Shimadzu Corp., Kyoto (2020). URL: <https://www.shimadzu.eu.com/sites/shimadzu.seg/files/SEG/c10ge082-GC-Basics-and-Fundamentals.pdf> (preuzeto 23. svibnja 2022.)
- [2] A. Škunca, Fototransformacije spojeva u prisutnih u eteričnim uljima. Završni rad, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2018.
- [3] URL: <https://www.shimadzu.com/an/service-support/technical-support/analysis-basics/fundamentals/columns.html> (pristup 23. svibnja 2022.)
- [4] URL: <https://www.technologynetworks.com/analysis/articles/gas-chromatography-how-a-gas-chromatography-machine-works-how-to-read-a-chromatograph-and-gcxcg-335168> (pristup 9. lipnja 2022.)
- [5] URL: [Mass spectrometry \(MS\) | HiQ \(linde-gas.com\)](https://www.linde-gas.com/hiq/mass-spectrometry) (pristup 23. svibnja 2022.)
- [6] URL: [Thermal conductivity detector \(TCD\) | HiQ \(linde-gas.com\)](https://www.linde-gas.com/hiq/thermal-conductivity-detector) (pristup 23. svibnja 2022.)
- [7] URL: [Flame ionisation detector \(FID\) | HiQ \(linde-gas.com\)](https://www.linde-gas.com/hiq/flame-ionisation-detector) (pristup 23. svibnja 2022.)
- [8] T. G. Chasteen, The Flame Ionization Detector. Department of Chemistry, Sam Houston State University, Huntsville, 2000.
- [9] A. Tipler, An Introduction to Headspace Sampling in Gas Chromatography Fundamentals and Theory. PerkinElmer, Inc., Waltham, Massachusetts, 2014.
- [10] Restek, A Technical Guide for Static Headspace Analysis Using GC. Restek Corp., Bellefonte, Pennsylvania, 2000.
- [11] URL: <https://www.chromservis.eu/i/dynamic-headspace?lang=EN> (pristup 23. svibnja 2022.)
- [12] URL: <https://www.sigmaaldrich.com/HR/en/applications/analytical-chemistry/sample-preparation/solid-phase-microextraction> (pristup 23. svibnja 2022.)
- [13] S. Babić, Validacija, 1. dio, nastavni materijal. URL: [https://moodle.srce.hr/2021-2022/pluginfile.php/5661470/mod\\_resource/content/3/4\\_PREDAVANJE.pdf](https://moodle.srce.hr/2021-2022/pluginfile.php/5661470/mod_resource/content/3/4_PREDAVANJE.pdf) (preuzeto 23. svibnja 2022.)
- [14] S. Babić, Validacija, 2. dio, nastavni materijal. URL: [https://moodle.srce.hr/2021-2022/pluginfile.php/5661471/mod\\_resource/content/3/5\\_PREDAVANJE.pdf](https://moodle.srce.hr/2021-2022/pluginfile.php/5661471/mod_resource/content/3/5_PREDAVANJE.pdf) (preuzeto 23. svibnja 2022.)

- [15] S. Babić, Kvaliteta analitičkog rezultata, nastavni materijal. URL: [https://moodle.srce.hr/2021-2022/pluginfile.php/5661468/mod\\_resource/content/4/3\\_PREDA-VANJE.pdf](https://moodle.srce.hr/2021-2022/pluginfile.php/5661468/mod_resource/content/4/3_PREDA-VANJE.pdf) (preuzeto 23. svibnja 2022.)
- [16] I. Taverniers, M. De Loose, E. Van Bockstaele, Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. Trends Anal. Chem. 23 (2004) 535-552.
- [17] D. Ašperger, Karakterizacija materijala 1. dio, nastavni materijali. Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2022., URL: [https://www.fkit.unizg.hr/download/repository/1\\_predavanje\\_KIM-KM-2021-2022-Asperger\\_Danijela.pdf](https://www.fkit.unizg.hr/download/repository/1_predavanje_KIM-KM-2021-2022-Asperger_Danijela.pdf) (pristup 19. srpnja 2022.)
- [18] URL: <https://www.chromatographytoday.com/news/gc-mdgc/32/breaking-news/what-is-a-response-factor/31169> (pristup 1. lipnja 2022.)
- [19] URL: <https://www.biosyn.com/faq/What-is-the-response-factor.aspx> (pristup 1. lipnja 2022.)
- [20] I. Šušanj, Razvoj i validacija LC metode za vrednovanje procesa čišćenja opreme nakon proizvodnje Betazon kreme i Betazon masti. Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb, 2018.
- [21] A. Khan, L. Pereira, Analysis of Residual Solvents using GC/FID with Headspace and a Cyanopropylphenyl Polysiloxane Phase. Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, Massachusetts, 2010.

## PRILOG

**Tablica P1.** Podaci potrebni za određivanje jednadžbe kalibracijskog pravca metanola

	$\varphi$ (%)	$\bar{A}$
<b>Metanol</b>	7,46	2207528
	4,98	1575729
	6,21	1892782
	0,249	4099
	0,0124	1866
	<b>Jednadžba kalibracijskog pravca</b>	$A = 306598,0265\varphi - 22998,8707$
<b><math>R^2</math></b>	0,9974	

**Tablica P2.** Podaci potrebni za određivanje jednadžbe kalibracijskog pravca etanola

	$\varphi$ (%)	$\bar{A}$
<b>Etanol</b>	4,99	1198261
	6,23	1454560
	0,250	35035
	0,0125	2308
	<b>Jednadžba kalibracijskog pravca</b>	$A = 237857,4054\varphi - 10079,7239$
<b><math>R^2</math></b>	0,9994	

**Tablica P3.** Podaci potrebni za određivanje jednadžbe kalibracijskog pravca acetona

	$\varphi$ (%)	$\bar{A}$
<b>Aceton</b>	7,49	2855225
	6,23	2513131
	5,00	1574678
	0,250	140099
	0,0125	4513
	<b>Jednadžba kalibracijskog pravca</b>	$A = 376548,2198\varphi - 12111,2377$
<b><math>R^2</math></b>	0,9821	

**Tablica P4.** Podaci potrebni za određivanje jednadžbe kalibracijskog pravca izopropanola

	$\varphi$ (%)	$\bar{A}$
<b>Izopropanol</b>	7,49	1224138
	6,23	1131141
	0,250	76389
	0,0125	2935
	<b>Jednadžba kalibracijskog pravca</b>	$A = 167491,6475\varphi + 22911,6269$
<b><math>R^2</math></b>	0,9941	

**Tablica P5.** Podaci potrebni za određivanje jednadžbe kalibracijskog pravca metil-etil-ketona

	$\varphi$ (%)	$\bar{A}$
<b>Metil-etil-keton</b>	7,49	1502241
	2,50	638567
	0,250	255543
	<b>Jednadžba kalibracijskog pravca</b> $A = 172259,8612\varphi + 210817,5703$	
<b><math>R^2</math></b>	1,0000	

**Tablica P6.** Podaci potrebni za određivanje jednadžbe kalibracijskog pravca etil-acetata

	$\varphi$ (%)	$\bar{A}$
<b>Etil-acetat</b>	4,98	937235
	2,49	569338
	0,0124	181309
	<b>Jednadžba kalibracijskog pravca</b> $A = 152322,0561\varphi + 183094,6753$	
<b><math>R^2</math></b>	0,9997	

**Tablica P7.** Podaci potrebni za određivanje jednadžbe kalibracijskog pravca cikloheksana

	$\varphi$ (%)	$\bar{A}$
<b>Cikloheksan</b>	2,49	2357448
	6,21	5035910
	0,249	160538
	0,0124	6493
	<b>Jednadžba kalibracijskog pravca</b> $A = 818141,2788\varphi + 57974,6805$	
<b><math>R^2</math></b>	0,9943	

**Tablica P8.** Podaci potrebni za određivanje jednadžbe kalibracijskog pravca izooktana

	$\varphi$ (%)	$\bar{A}$
<b>Izooktan</b>	7,43	3851166
	2,48	1485428
	6,18	3171178
	0,248	227819
<b>Jednadžba kalibracijskog pravca</b>	$A = 495103,4754\varphi + 163244,3134$	
<b><math>R^2</math></b>	0,9981	

**Tablica P9.** Podaci potrebni za određivanje jednadžbe kalibracijskog pravca metoksi-2-propanola

	$\varphi$ (%)	$\bar{A}$
<b>Metoksi-2-propanol</b>	2,45	56520
	6,12	212043
	0,0123	4471
<b>Jednadžba kalibracijskog pravca</b>	$A = 34680,7949\varphi + 8146,2614$	
<b><math>R^2</math></b>	0,9731	

**Tablica P10.** Podaci potrebni za određivanje jednadžbe kalibracijskog pravca butanola

	$\varphi$ (%)	$\bar{A}$
<b>Butanol</b>	2,50	88632
	6,23	354197
	0,0125	7593
<b>Jednadžba kalibracijskog pravca</b>	$A = 56933,5268\varphi - 15796,7943$	
<b><math>R^2</math></b>	0,9670	



**Tablica P11.** Podaci potrebni za određivanje jednadžbe kalibracijskog pravca metil-izobutil-ketona

	$\varphi$ (%)	$\bar{A}$
<b>Metil-izobutil-keton</b>	2,48	138114
	6,18	430776
	0,0124	7859
<b>Jednadžba kalibracijskog pravca</b>	$A = 69427,0752\varphi - 8278,2903$	
<b><math>R^2</math></b>	0,9895	

**Tablica P12.** Podaci potrebni za određivanje jednadžbe kalibracijskog pravca etoksi-2-propanola

	$\varphi$ (%)	$\bar{A}$
<b>Etoksi-2-propanol</b>	2,38	37256
	5,93	158076
	0,0119	4965
<b>Jednadžba kalibracijskog pravca</b>	$A = 26525,8284\varphi - 6753,9824$	
<b><math>R^2</math></b>	0,9579	

**Tablica P13.** Podaci potrebni za određivanje jednadžbe kalibracijskog pravca toluena

	$\varphi$ (%)	$\bar{A}$
<b>Toluen</b>	2,50	504322
	6,23	1370736
	0,0125	13486
<b>Jednadžba kalibracijskog pravca</b>	$A = 219253,7118\varphi - 9518,3649$	
<b><math>R^2</math></b>	0,9982	

**Tablica P14.** Podaci potrebni za određivanje jednadžbe kalibracijskog pravca butil-acetata

	$\varphi$ (%)	$\bar{A}$
<b>Butil-acetat</b>	2,45	71219
	6,12	273080
	0,0123	5752
	<b>Jednadžba kalibracijskog pravca</b> $A = 44698,6765\varphi - 11116,5543$	
<b><math>R^2</math></b>	0,9711	

**Tablica P15.** Podaci potrebni za određivanje jednadžbe kalibracijskog pravca etilbenzena

	$\varphi$ (%)	$\bar{A}$
<b>Etilbenzen</b>	2,48	221723
	9,90	885790
	6,18	694009
	0,0124	13864
	<b>Jednadžba kalibracijskog pravca</b> $A = 92277,8187\varphi + 25562,6508$	
<b><math>R^2</math></b>	0,9721	

**Tablica P16.** Podaci potrebni za određivanje jednadžbe kalibracijskog pravca *m-/p*-ksilena

	$\varphi$ (%)	$\bar{A}$
<b><i>m-/p</i>-Ksilena</b>	4,40	394319
	1,76	111270
	0,0088	8024
<b>Jednadžba kalibracijskog pravca</b> $A = 89592,1128\varphi - 12934,0728$		
<b><math>R^2</math></b>	0,9786	

**Tablica P17.** Podaci potrebni za određivanje jednadžbe kalibracijskog pravca *o*-ksilena

	$\varphi$ (%)	$\bar{A}$
<b><i>o</i>-Ksilen</b>	0,280	22147
	0,112	5679
	0,00056	445
<b>Jednadžba kalibracijskog pravca</b>	$A = 79384,8658\varphi - 956,3059$	
<b><math>R^2</math></b>	0,9698	

**Tablica P18.** Podaci potrebni za određivanje GD i GK metanola

<b>0,0124% Metanol</b>	<b>A</b>
	1263
	969
	2579
	1199
	2699
	1501
	2851
<b><math>s</math></b>	808
<b><math>b</math> (1/%)</b>	306598,0265
<b>GD (vol. %)</b>	0,009
<b>GK (vol. %)</b>	0,03

**Tablica P19.** Podaci potrebni za određivanje GD i GK etanola

	<b>A</b>
	2499
	2343
	1665
	2871
<b>0,0125% Etanol</b>	1302
	2534
	1620
	2810
	2718
	2721
<b>s</b>	567
<b>b (1%)</b>	237382
<b>GD (vol. %)</b>	0,008
<b>GK (vol. %)</b>	0,02

**Tablica P20.** Podaci potrebni za određivanje GD i GK acetona

<b>0,0125% Aceton</b>	<b>A</b>
	4047
	4347
	4982
	5347
	3651
	6001
	3215
<b>s</b>	983
<b>b (1/%)</b>	376548,2198
<b>GD (vol. %)</b>	0,01
<b>GK (vol. %)</b>	0,03

**Tablica P21.** Podaci potrebni za određivanje GD i GK izopropanola

<b>0,0125% Izopropanol</b>	<b>A</b>	
	3325	
	3346	
	3102	
	2294	
	3034	
	3203	
	3321	
	2420	
	3103	
	2204	
	<b>s</b>	449
	<b>b (1/%)</b>	167491,6475
<b>GD (vol. %)</b>	0,01	
<b>GK (vol. %)</b>	0,03	

**Tablica P22.** Podaci potrebni za određivanje GD i GK metil-etil-ketona

<b>0,250% Metil-etil-keton</b>	<b>A</b>
	260921
	244125
	241069
	258553
	270892
	244077
	258078
	266626
	<i>s</i>
<b><i>b</i> (1%)</b>	172259,8612
<b>GD (vol. %)</b>	0,21
<b>GK (vol. %)</b>	0,65

**Tablica P23.** Podaci potrebni za određivanje GD i GK etil-acetata

<b>0,0124% Etil-acetat</b>	<b>A</b>
	183741
	173154
	171811
	184002
	191539
	173677
	182964
	189583
	<i>s</i>
<b><i>b</i> (1%)</b>	152322,0561
<b>GD (vol. %)</b>	0,16
<b>GK (vol. %)</b>	0,48



**Tablica P24.** Podaci potrebni za određivanje GD i GK cikloheksana

<b>0,0124% Cikloheksan</b>	<b>A</b>
	7083
	7407
	7179
	4352
	7187
	6878
	7889
	4159
	6307
	<i>s</i>
<i>b</i> (1/%)	818141,2788
<b>GD (vol. %)</b>	0,005
<b>GK (vol. %)</b>	0,02

**Tablica P25.** Podaci potrebni za određivanje GD i GK izooktana

	<b>A</b>
	219803
	223517
	233222
	233587
<b>0,248% Izooktan</b>	239494
	229128
	248006
	251215
	205451
	194772
<b>s</b>	17734
<b>b (1%)</b>	495103,4754
<b>GD (vol. %)</b>	0,12
<b>GK (vol. %)</b>	0,36

**Tablica P26.** Podaci potrebni za određivanje GD i GK metoksi-2-propanola

<b>0,0123% Metoksi-2-propanol</b>	<b>A</b>
	3733
	4743
	5069
	3542
	3429
	6311
<b>s</b>	1123
<b>b (1/%)</b>	34680,7949
<b>GD (vol. %)</b>	0,11
<b>GK (vol. %)</b>	0,32

**Tablica P27.** Podaci potrebni za određivanje GD i GK butanola

<b>0,0125% Butanol</b>	<b>A</b>
	6537
	7678
	8740
	8447
	6090
	10767
	4893
<b>s</b>	1949
<b>b (1%)</b>	56933,5268
<b>GD (vol. %)</b>	0,11
<b>GK (vol. %)</b>	0,34

**Tablica P28.** Podaci potrebni za određivanje GD i GK metil-izobutil-ketona

<b>0,0124% Metil-izobutil-keton</b>	<b>A</b>
	7432
	9592
	9451
	6012
	6705
	11369
	4453
<i>s</i>	2394
<b><i>b</i> (1%)</b>	69427,0752
<b>GD (vol. %)</b>	0,11
<b>GK (vol. %)</b>	0,35

**Tablica P29.** Podaci potrebni za određivanje GD i GK etoksi-2-propanola

<b>0,0119% Etoksi-2-propanol</b>	<b>A</b>
	4764
	6179
	5993
	3632
	4283
	7092
	2809
<i>s</i>	1527
<b><i>b</i> (1/%)</b>	26525,8284
<b>GD (vol. %)</b>	0,19
<b>GK (vol. %)</b>	0,58

**Tablica P30.** Podaci potrebni za određivanje GD i GK toluena

<b>0,0125% Toluen</b>	<b>A</b>
	11632
	14437
	15881
	14153
	10869
	19381
	8050
<b>s</b>	3689
<b>b (1/%)</b>	219253,7118
<b>GD (vol. %)</b>	0,06
<b>GK (vol. %)</b>	0,17

**Tablica P31.** Podaci potrebni za određivanje GD i GK butil-acetata

<b>0,0123% Butil-acetat</b>	<b>A</b>
	5834
	7498
	6863
	3477
	5153
	8108
	3334
<b>s</b>	1881
<b>b (1/%)</b>	44698,6765
<b>GD (vol. %)</b>	0,14
<b>GK (vol. %)</b>	0,42



**Tablica P32.** Podaci potrebni za određivanje GD i GK etilbenzena

<b>0,0123% Etilbenzen</b>	<b>A</b>
	13182
	17092
	16510
	10438
	12005
	19819
	8003
<b>s</b>	4141
<b>b (1/%)</b>	92277,8187
<b>GD (vol. %)</b>	0,15
<b>GK (vol. %)</b>	0,45

**Tablica P33.** Podaci potrebni za određivanje GD i GK *m-p*-ksilena

<b>0,0088% <i>m-p</i>-Ksilena</b>	<b>A</b>
	7729
	10018
	9518
	5757
	6988
	11458
	4699
<b>s</b>	2427
<b>b (1%)</b>	89592,1128
<b>GD (vol. %)</b>	0,11
<b>GK (vol. %)</b>	0,34

**Tablica P34.** Podaci potrebni za određivanje GD i GK *o*-ksilena

<b>0,00056% <i>o</i>-Ksilena</b>	<b>A</b>
	335
	702
	627
	220
	275
	756
	200
<b>s</b>	241
<b>b (1%)</b>	79384,8658
<b>GD (vol. %)</b>	0,02
<b>GK (vol. %)</b>	0,07

**Tablica P35.** Podaci mjerenja ponovljivosti za metanol

Ponavljanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	5,785	1863684,00	9,07	9,07
2	5,788	2127163,00	7,28	7,28
3	5,785	1875724,00	8,83	8,83
4	5,784	1846124,00	8,93	8,93
5	5,785	1895365,00	9,00	9,00
6	5,789	2256988,00	7,40	7,40
7	5,784	1830912,00	8,87	8,87
8	5,785	1907328,00	8,75	8,75
9	5,785	1848151,00	8,35	8,35
10	5,783	1840587,00	9,14	9,14
$\bar{x}$	5,785	1929203,00	8,56	8,56
<b>RSD (%)</b>	0,032	7,46	7,94	7,94
<b>Najveća vrijednost</b>	5,789	2256988,00	9,14	9,14
<b>Najmanja vrijednost</b>	5,783	1830912,00	7,28	7,28
<b>s</b>	0,002	143911,00	0,68	0,68

**Tablica P36.** Podaci mjerenja ponovljivosti za etanol

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	8,055	1386754,00	6,75	6,75
2	8,066	1860540,00	6,37	6,37
3	8,055	1417645,00	6,67	6,67
4	8,054	1364470,00	6,60	6,60
5	8,055	1410531,00	6,70	6,70
6	8,067	2003325,00	6,57	6,57
7	8,054	1390191,00	6,73	6,73
8	8,055	1443647,00	6,62	6,62
9	8,058	1480047,00	6,69	6,69
10	8,052	1337212,00	6,64	6,64
$\bar{x}$	8,057	1509436,00	6,63	6,63
<b>RSD (%)</b>	0,065	15,15	1,65	1,64
<b>Najveća vrijednost</b>	8,067	2003325,00	6,75	6,75
<b>Najmanja vrijednost</b>	8,052	1337212,00	6,37	6,37
s	0,005	228654,57	0,11	0,11

**Tablica P37.** Podaci mjerenja ponovljivosti za aceton

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	9,489	2485708,00	12,09	12,09
2	9,492	2834262,00	9,70	9,70
3	9,489	2476022,00	11,66	11,66
4	9,489	2469302,00	11,94	11,94
5	9,489	2522300,00	11,97	11,97
6	9,493	3053194,00	10,01	10,01
7	9,488	2413836,00	11,69	11,69
8	9,488	2521252,00	11,57	11,57
9	9,489	2439847,00	11,03	11,03
10	9,486	2455648,00	12,20	12,20
$\bar{x}$	9,489	2567137,00	11,39	11,39
<b>RSD (%)</b>	0,020	8,09	7,68	7,67
<b>Najveća vrijednost</b>	9,493	3053194,00	12,20	12,20
<b>Najmanja vrijednost</b>	9,486	2413836,00	9,70	9,70
s	0,002	207728,91	0,87	0,87

**Tablica P38.** Podaci mjerenja ponovljivosti za izopropanol

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\phi$ (%)
1	10,233	1050640,00	5,11	5,11
2	10,248	1566679,00	5,36	5,36
3	10,234	1091585,00	5,14	5,14
4	10,232	1030696,00	4,99	4,98
5	10,233	1070685,00	5,08	5,08
6	10,251	1701976,00	5,58	5,58
7	10,233	1071981,00	5,19	5,19
8	10,234	1110803,00	5,10	5,10
9	10,238	1188723,00	5,37	5,37
10	10,229	998476,00	4,96	4,96
$\bar{x}$	10,236	1188224,00	5,19	5,19
<b>RSD (%)</b>	0,071	20,41	3,74	3,74
<b>Najveća vrijednost</b>	10,251	1701976,00	5,58	5,58
<b>Najmanja vrijednost</b>	10,229	998476,00	4,96	4,96
s	0,007	242574,03	0,19	0,19

**Tablica P39.** Podaci mjerenja ponovljivosti za metil-etil-keton

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\phi$ (%)
1	19,049	1395998,00	6,79	6,79
2	19,057	1937429,00	6,63	6,63
3	19,050	1426895,00	6,72	6,72
4	19,047	1385523,00	6,70	6,70
5	19,049	1419232,00	6,74	6,74
6	19,058	2085912,00	6,84	6,84
7	19,049	1399789,00	6,78	6,78
8	19,047	1456115,00	6,68	6,68
9	19,051	1494544,00	6,75	6,75
10	19,045	1356364,00	6,74	6,74
$\bar{x}$	19,050	1535780,00	6,74	6,74
<b>RSD (%)</b>	0,022	16,68	0,89	0,88
<b>Najveća vrijednost</b>	19,058	2085912,00	6,84	6,84
<b>Najmanja vrijednost</b>	19,045	1356364,00	6,63	6,63
s	0,004	256093,28	0,06	0,06

**Tablica P40.** Podaci mjerenja ponovljivosti za etil-acetat

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	19,387	1278243,00	6,22	6,22
2	19,391	1698495,00	5,81	5,81
3	19,387	1296837,00	6,11	6,11
4	19,385	1271635,00	6,15	6,15
5	19,386	1298454,00	6,16	6,16
6	19,392	1831428,00	6,01	6,01
7	19,385	1269873,00	6,15	6,15
8	19,385	1325874,00	6,08	6,08
9	19,386	1333477,00	6,03	6,03
10	19,380	1249472,00	6,21	6,21
$\bar{x}$	19,387	1385379,00	6,09	6,09
<b>RSD (%)</b>	0,018	14,73	1,99	1,99
<b>Najveća vrijednost</b>	19,392	1831428,00	6,22	6,22
<b>Najmanja vrijednost</b>	19,380	1249472,00	5,81	5,81
s	0,003	204086,08	0,12	0,12

**Tablica P41.** Podaci mjerenja ponovljivosti za cikloheksan

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	21,148	5000276,00	24,32	24,32
2	21,150	5555410,00	19,01	19,01
3	21,148	4956120,00	23,33	23,33
4	21,149	4998277,00	24,17	24,17
5	21,148	5083769,00	24,13	24,13
6	21,150	6087499,00	19,96	19,96
7	21,147	4832188,00	23,41	23,41
8	21,146	5070187,00	23,26	23,26
9	21,147	4850399,00	21,92	21,92
10	21,144	4976567,00	24,72	24,72
$\bar{x}$	21,148	5141069,00	22,82	22,82
<b>RSD (%)</b>	0,008	7,55	8,48	8,48
<b>Najveća vrijednost</b>	21,150	6087499,00	24,72	24,72
<b>Najmanja vrijednost</b>	21,144	4832188,00	19,01	19,01
s	0,002	388314,44	1,94	1,94

**Tablica P42.** Podaci mjerenja ponovljivosti za izooktan

Ponavljanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	22,570	3104454,00	15,10	15,10
2	22,570	3786181,00	12,95	12,95
3	22,570	3098476,00	14,59	14,59
4	22,568	3091306,00	14,95	14,95
5	22,567	3137490,00	14,89	14,89
6	22,571	4099543,00	13,44	13,44
7	22,569	3013023,00	14,60	14,59
8	22,568	3165739,00	14,53	14,52
9	22,569	3091582,00	13,97	13,97
10	22,567	3052352,00	15,16	15,16
$\bar{x}$	22,569	3264015,00	14,42	14,42
<b>RSD (%)</b>	0,006	11,26	5,12	5,12
<b>Najveća vrijednost</b>	22,571	4099543,00	15,16	15,16
<b>Najmanja vrijednost</b>	22,567	3013023,00	12,95	12,95
s	0,001	367673,40	0,74	0,74

**Tablica P43.** Podaci mjerenja ponovljivosti za metoksi-2-propanol

Ponavljanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	23,904	133921,00	0,65	0,65
2	23,911	521597,00	1,79	1,78
3	23,905	187173,00	0,88	0,88
4	23,904	158757,00	0,77	0,77
5	23,904	155670,00	0,74	0,74
6	23,910	469582,00	1,54	1,54
7	23,904	169850,00	0,82	0,82
8	23,904	212080,00	0,97	0,97
9	23,906	245611,00	1,11	1,11
10	23,901	123729,00	0,62	0,61
$\bar{x}$	23,905	237797,00	0,99	0,99
<b>RSD (%)</b>	0,013	59,30	39,27	39,29
<b>Najveća vrijednost</b>	23,911	521597,00	1,79	1,78
<b>Najmanja vrijednost</b>	23,901	123729,00	0,62	0,61
s	0,003	141013,43	0,39	0,39

**Tablica P44.** Podaci mjerenja ponovljivosti za butanol

<b>Ponavljanje #</b>	<b><math>t_R</math> (min)</b>	<b>A</b>	<b>A (%)</b>	<b><math>\varphi</math> (%)</b>
<b>1</b>	24,062	223185,00	1,09	1,09
<b>2</b>	24,072	848867,00	2,90	2,90
<b>3</b>	24,062	321098,00	1,51	1,51
<b>4</b>	24,061	272437,00	1,32	1,32
<b>5</b>	24,061	264075,00	1,25	1,25
<b>6</b>	24,071	771667,00	2,53	2,53
<b>7</b>	24,061	285038,00	1,38	1,38
<b>8</b>	24,062	359718,00	1,65	1,65
<b>9</b>	24,064	408585,00	1,85	1,85
<b>10</b>	24,057	204766,00	1,02	1,02
$\bar{x}$	24,063	395944,00	1,65	1,65
<b>RSD (%)</b>	0,020	57,39	37,61	37,52
<b>Najveća vrijednost</b>	24,072	848867,00	2,90	2,90
<b>Najmanja vrijednost</b>	24,057	204766,00	1,02	1,02
<b>s</b>	0,005	227234,58	0,62	0,62

**Tablica P45.** Podaci mjerenja ponovljivosti za metil-izobutil-keton

<b>Ponavljanje #</b>	<b><math>t_R</math> (min)</b>	<b>A</b>	<b>A (%)</b>	<b><math>\varphi</math> (%)</b>
<b>1</b>	27,271	331806,00	1,61	1,61
<b>2</b>	27,274	881945,00	3,02	3,02
<b>3</b>	27,273	388544,00	1,83	1,83
<b>4</b>	27,271	341938,00	1,65	1,65
<b>5</b>	27,272	350931,00	1,67	1,67
<b>6</b>	27,275	834470,00	2,74	2,74
<b>7</b>	27,272	375743,00	1,82	1,82
<b>8</b>	27,271	403803,00	1,85	1,85
<b>9</b>	27,272	491195,00	2,22	2,22
<b>10</b>	27,269	311080,00	1,55	1,55
$\bar{x}$	27,272	471145,00	2,00	2,00
<b>RSD (%)</b>	0,007	44,62	25,31	25,36
<b>Najveća vrijednost</b>	27,275	881945,00	3,02	3,02
<b>Najmanja vrijednost</b>	27,269	311080,00	1,55	1,55
<b>s</b>	0,002	210239,37	0,51	0,51



**Tablica P46.** Podaci mjerenja ponovljivosti za etoksi-2-propanol

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	27,593	87932,00	0,43	0,43
2	27,596	421675,00	1,44	1,44
3	27,593	144067,00	0,68	0,68
4	27,592	113800,00	0,55	0,55
5	27,593	109900,00	0,52	0,52
6	27,595	343979,00	1,13	1,13
7	27,593	121199,00	0,59	0,59
8	27,591	149880,00	0,69	0,69
9	27,593	190459,00	0,86	0,86
10	27,591	83773,00	0,42	0,42
$\bar{x}$	27,593	176666,00	0,73	0,73
<b>RSD (%)</b>	0,006	64,81	45,06	44,85
<b>Najveća vrijednost</b>	27,596	421675,00	1,44	1,44
<b>Najmanja vrijednost</b>	27,591	83773,00	0,42	0,42
s	0,002	114495,36	0,33	0,33

**Tablica P47.** Podaci mjerenja ponovljivosti za toluen

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	27,759	1221923,00	5,94	5,94
2	27,762	2079059,00	7,11	7,11
3	27,760	1303111,00	6,14	6,13
4	27,760	1227301,00	5,94	5,94
5	27,760	1256873,00	5,97	5,97
6	27,763	2174737,00	7,13	7,13
7	27,759	1278475,00	6,19	6,19
8	27,759	1322550,00	6,07	6,07
9	27,760	1461628,00	6,61	6,61
10	27,758	1185709,00	5,89	5,89
$\bar{x}$	27,760	1451136,00	6,30	6,30
<b>RSD (%)</b>	0,005	25,13	7,63	7,62
<b>Najveća vrijednost</b>	27,763	2174737,00	7,13	7,13
<b>Najmanja vrijednost</b>	27,758	1185709,00	5,89	5,89
s	0,002	364704,31	0,48	0,48

**Tablica P48.** Podaci mjerenja ponovljivosti za butil-acetat

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	29,254	179386,00	0,87	0,87
2	29,255	653896,00	2,24	2,24
3	29,254	241534,00	1,14	1,14
4	29,253	206735,00	1,00	1,00
5	29,253	203451,00	0,97	0,97
6	29,254	567704,00	1,86	1,86
7	29,253	225517,00	1,09	1,09
8	29,253	262244,00	1,20	1,20
9	29,253	314725,00	1,42	1,42
10	29,253	170231,00	0,85	0,85
$\bar{x}$	29,253	302542,00	1,26	1,26
<b>RSD (%)</b>	0,002	55,84	36,03	36,01
<b>Najveća vrijednost</b>	29,255	653896,00	2,24	2,24
<b>Najmanja vrijednost</b>	29,253	170231,00	0,85	0,85
s	0,001	168937,47	0,46	0,46

**Tablica P49.** Podaci mjerenja ponovljivosti za etilbenzen

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	30,237	496157,00	2,41	2,41
2	30,238	1521560,00	5,21	5,21
3	30,237	620426,00	2,92	2,92
4	30,237	545769,00	2,64	2,64
5	30,236	541408,00	2,57	2,57
6	30,237	1372476,00	4,50	4,50
7	30,236	591147,00	2,86	2,86
8	30,236	662631,00	3,04	3,04
9	30,237	793685,00	3,59	3,59
10	30,237	473297,00	2,35	2,35
$\bar{x}$	30,237	761856,00	3,21	3,21
<b>RSD (%)</b>	0,002	49,10	29,62	29,67
<b>Najveća vrijednost</b>	30,238	1521560,00	5,21	5,21
<b>Najmanja vrijednost</b>	30,236	473297,00	2,35	2,35
s	0,001	374041,59	0,95	0,95

**Tablica P50.** Podaci mjerenja ponovljivosti za *m-/p*-ksilen

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	30,386	248457,00	1,21	1,21
2	30,386	808608,00	2,77	2,77
3	30,386	319866,00	1,51	1,51
4	30,385	279667,00	1,35	1,35
5	30,385	275087,00	1,31	1,31
6	30,386	717525,00	2,35	2,35
7	30,385	302617,00	1,47	1,47
8	30,385	342329,00	1,57	1,57
9	30,385	411752,00	1,86	1,86
10	30,386	237282,00	1,18	1,18
$\bar{x}$	30,386	394319,00	1,66	1,66
<b>RSD (%)</b>	0,001	51,17	31,62	31,57
<b>Najveća vrijednost</b>	30,386	808608,00	2,77	2,77
<b>Najmanja vrijednost</b>	30,385	237282,00	1,18	1,18
<i>s</i>	0,000	201757,35	0,52	0,52

**Tablica P51.** Podaci mjerenja ponovljivosti za *o*-ksilen

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	30,816	13165,00	0,06	0,06
2	30,816	47363,00	0,16	0,16
3	30,817	17953,00	0,09	0,08
4	30,816	15582,00	0,08	0,08
5	30,815	14929,00	0,07	0,07
6	30,816	40531,00	0,13	0,13
7	30,816	16698,00	0,08	0,08
8	30,816	19091,00	0,09	0,09
9	30,816	23446,00	0,11	0,11
10	30,815	12714,00	0,06	0,06
$\bar{x}$	30,816	22147,00	0,09	0,09
<b>RSD (%)</b>	0,001	54,20	34,67	35,05
<b>Najveća vrijednost</b>	30,817	47363,00	0,16	0,16
<b>Najmanja vrijednost</b>	30,815	12714,00	0,06	0,06
<i>s</i>	0,000	12004,56	0,03	0,03

**Tablica P52.** Podaci mjerenja međupreciznosti (drugi analitičar) za metanol

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	5,786	1921605,00	6,94	6,93
2	5,783	1748631,00	8,92	8,91
3	5,787	2050859,00	8,30	8,30
4	5,784	1829706,00	8,76	8,76
5	5,787	2067848,00	8,30	8,30
6	5,784	1834361,00	8,85	8,85
7	5,786	1942546,00	8,27	8,27
8	5,789	2172729,00	6,73	6,73
9	5,785	1852925,00	8,80	8,80
10	5,782	1754413,00	8,97	8,97
$\bar{x}$	5,785	1917562,00	8,28	8,28
<b>RSD (%)</b>	0,036	7,38	9,79	9,80
<b>Najveća vrijednost</b>	5,789	2172729,00	8,97	8,97
<b>Najmanja vrijednost</b>	5,782	1748631,00	6,73	6,73
s	0,002	141452,46	0,81	0,81

**Tablica P53.** Podaci mjerenja međupreciznosti (drugi analitičar) za etanol

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	8,061	1663521,00	6,00	6,00
2	8,053	1311693,00	6,69	6,69
3	8,061	1703605,00	6,89	6,89
4	8,055	1423823,00	6,81	6,81
5	8,062	1699977,00	6,82	6,82
6	8,055	1371176,00	6,61	6,61
7	8,059	1550250,00	6,60	6,60
8	8,069	2040021,00	6,32	6,32
9	8,056	1384202,00	6,57	6,57
10	8,050	1281316,00	6,55	6,55
$\bar{x}$	8,058	1542959,00	6,59	6,59
<b>RSD (%)</b>	0,067	15,32	4,00	4,00
<b>Najveća vrijednost</b>	8,069	2040021,00	6,89	6,89
<b>Najmanja vrijednost</b>	8,050	1281316,00	6,00	6,00
s	0,005	236400,77	0,26	0,26

**Tablica P54.** Podaci mjerenja međupreciznosti (drugi analitičar) za aceton

Ponavljanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\phi$ (%)
1	9,490	2599814,00	9,38	9,38
2	9,487	2417700,00	12,33	12,33
3	9,490	2827101,00	11,44	11,44
4	9,488	2520129,00	12,06	12,06
5	9,492	2840125,00	11,40	11,40
6	9,490	2549075,00	12,29	12,29
7	9,491	2668367,00	11,36	11,36
8	9,493	2850197,00	8,83	8,82
9	9,490	2587057,00	12,28	12,28
10	9,485	2461499,00	12,58	12,58
$\bar{x}$	9,490	2632107,00	11,40	11,39
<b>RSD (%)</b>	0,022	6,04	11,32	11,33
<b>Najveća vrijednost</b>	9,493	2850197,00	12,58	12,58
<b>Najmanja vrijednost</b>	9,485	2417700,00	8,83	8,82
<i>s</i>	0,002	159079,12	1,29	1,29

**Tablica P55.** Podaci mjerenja međupreciznosti (drugi analitičar) za izopropanol

Ponavljanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\phi$ (%)
1	10,242	1412765,00	5,10	5,10
2	10,230	973074,00	4,96	4,96
3	10,240	1348755,00	5,46	5,46
4	10,233	1083935,00	5,19	5,19
5	10,242	1339081,00	5,37	5,37
6	10,232	1014460,00	4,89	4,89
7	10,238	1206389,00	5,14	5,14
8	10,254	1810562,00	5,61	5,61
9	10,233	1022065,00	4,85	4,85
10	10,226	934250,00	4,78	4,78
$\bar{x}$	10,237	1214534,00	5,13	5,14
<b>RSD (%)</b>	0,079	22,28	5,37	5,39
<b>Najveća vrijednost</b>	10,254	1810562,00	5,61	5,61
<b>Najmanja vrijednost</b>	10,226	934250,00	4,78	4,78
<i>s</i>	0,008	270622,87	0,28	0,28

**Tablica P56.** Podaci mjerenja međupreciznosti (drugi analitičar) za metil-etil-keton

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	19,052	1645826,00	5,94	5,94
2	19,046	1292036,00	6,59	6,59
3	19,049	1662645,00	6,73	6,73
4	19,047	1401592,00	6,71	6,71
5	19,052	1656801,00	6,65	6,65
6	19,049	1358208,00	6,55	6,55
7	19,052	1519884,00	6,47	6,47
8	19,058	1979713,00	6,13	6,13
9	19,049	1369958,00	6,51	6,51
10	19,044	1277051,00	6,53	6,53
$\bar{x}$	19,050	1516372,00	6,48	6,48
<b>RSD (%)</b>	0,021	14,58	3,90	3,91
<b>Najveća vrijednost</b>	19,058	1979713,00	6,73	6,73
<b>Najmanja vrijednost</b>	19,044	1277051,00	5,94	5,94
s	0,004	221058,07	0,25	0,25

**Tablica P57.** Podaci mjerenja međupreciznosti (drugi analitičar) za etil-acetat

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	19,388	1483305,00	5,35	5,35
2	19,383	1211199,00	6,18	6,17
3	19,385	1524802,00	6,17	6,17
4	19,383	1301155,00	6,23	6,23
5	19,388	1527808,00	6,13	6,13
6	19,385	1278437,00	6,17	6,17
7	19,388	1401639,00	5,97	5,97
8	19,392	1738419,00	5,38	5,38
9	19,385	1291841,00	6,13	6,13
10	19,380	1207379,00	6,17	6,17
$\bar{x}$	19,386	1396599,00	5,99	5,99
<b>RSD (%)</b>	0,018	12,22	5,57	5,59
<b>Najveća vrijednost</b>	19,392	1738419,00	6,23	6,23
<b>Najmanja vrijednost</b>	19,380	1207379,00	5,35	5,35
s	0,003	170704,23	0,33	0,33

**Tablica P58.** Podaci mjerenja međupreciznosti (drugi analitičar) za cikloheksan

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	21,150	5319386,00	19,20	19,20
2	21,144	4961191,00	25,29	25,29
3	21,147	5633724,00	22,79	22,79
4	21,145	5174053,00	24,76	24,76
5	21,149	5753677,00	23,09	23,09
6	21,148	5309206,00	25,61	25,61
7	21,149	5473942,00	23,30	23,30
8	21,150	5735277,00	17,76	17,76
9	21,148	5400033,00	25,64	25,64
10	21,145	5117450,00	26,16	26,16
$\bar{x}$	21,147	5387794,00	23,36	23,36
<b>RSD (%)</b>	0,010	4,93	12,18	12,18
<b>Najveća vrijednost</b>	21,150	5753677,00	26,16	26,16
<b>Najmanja vrijednost</b>	21,144	4961191,00	17,76	17,76
s	0,002	265473,32	2,85	2,85

**Tablica P59.** Podaci mjerenja međupreciznosti (drugi analitičar) za izooktan

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	22,569	3252059,00	11,74	11,74
2	22,565	2865681,00	14,61	14,61
3	22,567	3486202,00	14,10	14,10
4	22,565	3026499,00	14,48	14,48
5	22,569	3493798,00	14,02	14,02
6	22,567	3036452,00	14,64	14,64
7	22,569	3215981,00	13,69	13,69
8	22,571	3605792,00	11,16	11,16
9	22,568	3083911,00	14,64	14,64
10	22,565	2899624,00	14,82	14,82
$\bar{x}$	22,568	3196600,00	13,79	13,79
<b>RSD (%)</b>	0,009	8,13	9,35	9,34
<b>Najveća vrijednost</b>	22,571	3605792,00	14,82	14,82
<b>Najmanja vrijednost</b>	22,565	2865681,00	11,16	11,16
s	0,002	259929,08	1,29	1,29

**Tablica P60.** Podaci mjerenja međupreciznosti (drugi analitičar) za metoksi-2-propanol

Ponavljanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	23,913	617260,00	2,23	2,23
2	23,902	129150,00	0,66	0,66
3	23,904	245813,00	0,99	0,99
4	23,900	136113,00	0,65	0,65
5	23,904	250599,00	1,01	1,01
6	23,902	133584,00	0,64	0,64
7	23,906	259735,00	1,11	1,11
8	23,917	758299,00	2,35	2,35
9	23,904	146613,00	0,70	0,70
10	23,901	109851,00	0,56	0,56
$\bar{x}$	23,905	278702,00	1,09	1,09
<b>RSD (%)</b>	0,023	80,82	60,47	60,53
<b>Najveća vrijednost</b>	23,917	758299,00	2,35	2,35
<b>Najmanja vrijednost</b>	23,900	109851,00	0,56	0,56
s	0,005	225235,86	0,66	0,66

**Tablica P61.** Podaci mjerenja međupreciznosti (drugi analitičar) za butanol

Ponavljanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	24,076	1079441,00	3,90	3,90
2	24,058	223701,00	1,14	1,14
3	24,062	421632,00	1,71	1,71
4	24,057	206207,00	0,99	0,99
5	24,063	426634,00	1,71	1,71
6	24,060	229652,00	1,11	1,11
7	24,064	450386,00	1,92	1,92
8	24,081	1307079,00	4,05	4,05
9	24,062	261551,00	1,24	1,24
10	24,057	185148,00	0,95	0,95
$\bar{x}$	24,064	479143,00	1,87	1,87
<b>RSD (%)</b>	0,034	81,98	61,84	61,82
<b>Najveća vrijednost</b>	24,081	1307079,00	4,05	4,05
<b>Najmanja vrijednost</b>	24,057	185148,00	0,95	0,95
s	0,008	392781,64	1,16	1,16



**Tablica P62.** Podaci mjerenja međupreciznosti (drugi analitičar) za metil-izobutil-keton

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	27,275	922387,00	3,33	3,33
2	27,268	305661,00	1,56	1,56
3	27,270	505511,00	2,05	2,05
4	27,268	362833,00	1,74	1,74
5	27,271	501926,00	2,01	2,01
6	27,270	320328,00	1,55	1,54
7	27,272	479849,00	2,04	2,04
8	27,277	1179837,00	3,65	3,65
9	27,272	319399,00	1,52	1,52
10	27,269	286113,00	1,46	1,46
$\bar{x}$	27,271	518384,00	2,09	2,09
<b>RSD (%)</b>	0,010	57,69	37,11	37,09
<b>Najveća vrijednost</b>	27,277	1179837,00	3,65	3,65
<b>Najmanja vrijednost</b>	27,268	286113,00	1,46	1,46
s	0,003	299050,07	0,78	0,78

**Tablica P63.** Podaci mjerenja međupreciznosti (drugi analitičar) za etoksi-2-propanol

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	27,597	490308,00	1,77	1,77
2	27,590	80945,00	0,41	0,41
3	27,590	170524,00	0,69	0,69
4	27,589	73814,00	0,35	0,35
5	27,592	175421,00	0,70	0,70
6	27,592	91094,00	0,44	0,44
7	27,592	198481,00	0,85	0,84
8	27,600	556053,00	1,72	1,72
9	27,594	103163,00	0,49	0,49
10	27,592	70798,00	0,36	0,36
$\bar{x}$	27,593	201060,00	0,78	0,78
<b>RSD (%)</b>	0,012	87,81	68,70	68,90
<b>Najveća vrijednost</b>	27,600	556053,00	1,77	1,77
<b>Najmanja vrijednost</b>	27,589	70798,00	0,35	0,35
s	0,003	176554,87	0,53	0,54

**Tablica P64.** Podaci mjerenja međupreciznosti (drugi analitičar) za toluen

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	27,762	1955608,00	7,06	7,06
2	27,757	1155109,00	5,89	5,89
3	27,758	1586599,00	6,42	6,42
4	27,757	1299769,00	6,22	6,22
5	27,760	1592531,00	6,39	6,39
6	27,759	1215932,00	5,86	5,86
7	27,760	1482988,00	6,31	6,31
8	27,765	2465632,00	7,63	7,63
9	27,759	1218113,00	5,78	5,78
10	27,758	1118724,00	5,72	5,72
$\bar{x}$	27,759	1509101,00	6,33	6,33
<b>RSD (%)</b>	0,009	28,11	9,62	9,62
<b>Najveća vrijednost</b>	27,765	2465632,00	7,63	7,63
<b>Najmanja vrijednost</b>	27,757	1118724,00	5,72	5,72
s	0,002	424279,17	0,61	0,61

**Tablica P65.** Podaci mjerenja međupreciznosti (drugi analitičar) za butil-acetat

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	29,255	723550,00	2,61	2,61
2	29,252	173045,00	0,88	0,88
3	29,253	304440,00	1,23	1,23
4	29,253	191556,00	0,92	0,92
5	29,254	313591,00	1,26	1,26
6	29,254	183237,00	0,88	0,88
7	29,254	328950,00	1,40	1,40
8	29,255	880563,00	2,73	2,73
9	29,254	189752,00	0,90	0,90
10	29,252	154690,00	0,79	0,79
$\bar{x}$	29,253	344338,00	1,36	1,36
<b>RSD (%)</b>	0,003	73,25	52,83	52,90
<b>Najveća vrijednost</b>	29,255	880563,00	2,73	2,73
<b>Najmanja vrijednost</b>	29,252	154690,00	0,79	0,79
s	0,001	252237,33	0,72	0,72

**Tablica P66.** Podaci mjerenja međupreciznosti (drugi analitičar) za etilbenzen

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	30,238	1612451,00	5,82	5,82
2	30,235	461300,00	2,35	2,35
3	30,236	759864,00	3,07	3,07
4	30,236	527523,00	2,53	2,52
5	30,237	777175,00	3,12	3,12
6	30,236	486478,00	2,35	2,35
7	30,237	796700,00	3,39	3,39
8	30,239	1988607,00	6,16	6,16
9	30,237	496946,00	2,36	2,36
10	30,236	422093,00	2,16	2,16
$\bar{x}$	30,237	832914,00	3,33	3,33
<b>RSD (%)</b>	0,003	64,36	43,85	43,87
<b>Najveća vrijednost</b>	30,239	1988607,00	6,16	6,16
<b>Najmanja vrijednost</b>	30,235	422093,00	2,16	2,16
<i>s</i>	0,001	536043,71	1,46	1,46

**Tablica P67.** Podaci mjerenja međupreciznosti (drugi analitičar) za *m-/p*-ksilen

Ponavljjanje #	$t_R$ (min)	A	A (%)	$\varphi$ (%)
1	30,386	884933,00	3,19	3,19
2	30,384	237671,00	1,21	1,21
3	30,385	395223,00	1,60	1,60
4	30,385	265384,00	1,27	1,27
5	30,386	406926,00	1,63	1,63
6	30,385	251198,00	1,21	1,21
7	30,385	424711,00	1,81	1,81
8	30,387	1083068,00	3,35	3,35
9	30,385	258654,00	1,23	1,23
10	30,385	215143,00	1,10	1,10
$\bar{x}$	30,385	442291,00	1,76	1,76
<b>RSD (%)</b>	0,003	67,63	47,13	47,08
<b>Najveća vrijednost</b>	30,387	1083068,00	3,35	3,35
<b>Najmanja vrijednost</b>	30,384	215143,00	1,10	1,10
<i>s</i>	0,001	299128,80	0,83	0,83

**Tablica P68.** Podaci mjerenja međupreciznosti (drugi analitičar) za *o*-ksilen

<b>Ponavljanje #</b>	<b><math>t_R</math> (min)</b>	<b><math>A</math></b>	<b><math>A</math> (%)</b>	<b><math>\varphi</math> (%)</b>
<b>1</b>	30,816	52938,00	0,19	0,19
<b>2</b>	30,815	12713,00	0,07	0,06
<b>3</b>	30,815	21632,00	0,09	0,09
<b>4</b>	30,815	13162,00	0,06	0,06
<b>5</b>	30,816	22539,00	0,09	0,09
<b>6</b>	30,816	13578,00	0,07	0,07
<b>7</b>	30,816	24366,00	0,10	0,10
<b>8</b>	30,816	63341,00	0,20	0,20
<b>9</b>	30,816	14252,00	0,07	0,07
<b>10</b>	30,815	11315,00	0,06	0,06
$\bar{x}$	30,815	24984,00	0,10	0,10
<b>RSD (%)</b>	0,002	72,99	52,71	53,12
<b>Najveća vrijednost</b>	30,816	63341,00	0,20	0,20
<b>Najmanja vrijednost</b>	30,815	11315,00	0,06	0,06
$s$	0,000	18235,34	0,05	0,05

Tablica P69. Podaci za provedbu *F*-testa i *t*-testa za metanol

<b><i>F</i>-test</b>			
<b>Analitičar 1</b>	<b>A</b>	<b>Analitičar 2</b>	<b>A</b>
	1921605		1863684
	1748631		2127163
	2050859		1875724
	1829706		1846124
	2067848		1895365
	1834361		2256988
	1942546		1830912
	2172729		1907328
	1852925		1848151
	1754413		1840587
$\bar{A}$	1917562,30	$\bar{A}$	1929202,60
$s^2$	20008779985	$s^2$	20710322175
<b>df</b>	9	<b>df</b>	9
<b><i>F</i></b>		1,04	
<b><i>P(F&lt;=f)</i></b>		0,48	
<b><i>F</i><sub>kritični</sub></b>		3,18	
<b><i>t</i>-test</b>			
<b>Pearson korelacija</b>		-0,296	
<b><i>t</i></b>		0,16	
<b>P (T&lt;=<i>t</i>) jednostrani</b>		0,44	
<b><i>t</i><sub>kritični</sub> jednostrani</b>		1,83	
<b>P (T&lt;=<i>t</i>) dvostrani</b>		0,88	
<b><i>t</i><sub>kritični</sub> dvostrani</b>		2,26	

Tablica P70. Podaci potrebni za provedbu  $F$ -testa i  $t$ -testa za etanol

<b><math>F</math>-test</b>			
<b>Analitičar 1</b>	<b>A</b>	<b>Analitičar 2</b>	<b>A</b>
	1663521		1386754
	1311693		1860540
	1703605		1417645
	1423823		1364470
	1699977		1410531
	1371176		2003325
	1550250		1390191
	2040021		1443647
	1384202		1480047
	1281316		1337212
<b><math>\bar{A}</math></b>	1542958,40	<b><math>\bar{A}</math></b>	1509436,20
<b><math>s^2</math></b>	55885374316	<b><math>s^2</math></b>	52282949574
<b>df</b>	9	<b>df</b>	9
<b><math>F</math></b>		1,07	
<b><math>P(F \leq f)</math></b>		0,46	
<b><math>F_{\text{kritični}}</math></b>		3,18	
<b><math>t</math>-test</b>			
<b>Pearson korelacija</b>		-0,365	
<b><math>t</math></b>		0,28	
<b><math>P(T \leq t)</math> jednostrani</b>		0,39	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> jednostrani</b>		1,83	
<b><math>P(T \leq t)</math> dvostrani</b>		0,79	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> dvostrani</b>		2,26	

Tablica P71. Podaci potrebni za provedbu  $F$ -testa i  $t$ -testa za aceton

<b><math>F</math>-test</b>			
<b>Analitičar 1</b>	<b>A</b>	<b>Analitičar 2</b>	<b>A</b>
	2599814		2485708
	2417700		2834262
	2827101		2476022
	2520129		2469302
	2840125		2522300
	2549075		2413836
	2668367		2521252
	2850197		2439847
	2587057		2455648
	2461499		3053194
$\bar{A}$	2632106,40	$\bar{A}$	2567137,10
$s^2$	25306151247	$s^2$	43151223665
<b>df</b>	9	<b>df</b>	9
<b><math>F</math></b>		1,71	
<b><math>P(F \leq f)</math></b>		0,22	
<b><math>F_{\text{kritični}}</math></b>		3,18	
<b><math>t</math>-test</b>			
<b>Pearson korelacija</b>		-0,343	
<b><math>t</math></b>		0,68	
<b>P (T&lt;=t) jednostrani</b>		0,26	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> jednostrani</b>		1,83	
<b>P (T&lt;=t) dvostrani</b>		0,51	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> dvostrani</b>		2,26	

Tablica P72. Podaci potrebni za provedbu  $F$ -testa i  $t$ -testa za izopropanol

<b><math>F</math>-test</b>			
<b>Analitičar 1</b>	<b>A</b>	<b>Analitičar 2</b>	<b>A</b>
	1412765		1050640
	973074		1566679
	1348755		1091585
	1083935		1030696
	1339081		1070685
	1014460		1701976
	1206389		1071981
	1810562		1110803
	1022065		1188723
	934250		998476
<b><math>\bar{A}</math></b>	1214533,60	<b><math>\bar{A}</math></b>	1188224,40
<b><math>s^2</math></b>	73236727968	<b><math>s^2</math></b>	58842138223
<b>df</b>	9	<b>df</b>	9
<b><math>F</math></b>		1,24	
<b><math>P(F \leq f)</math></b>		0,37	
<b><math>F_{\text{kritični}}</math></b>		3,18	
<b><math>t</math>-test</b>			
<b>Pearson korelacija</b>		-0,373	
<b><math>t</math></b>		0,20	
<b>P (T&lt;=t) jednostrani</b>		0,42	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> jednostrani</b>		1,83	
<b>P (T&lt;=t) dvostrani</b>		0,85	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> dvostrani</b>		2,26	



Tablica P73. Podaci potrebni za provedbu  $F$ -testa i  $t$ -testa za metil-etil-keton

<b><math>F</math>-test</b>			
<b>Analitičar 1</b>	<b>A</b>	<b>Analitičar 2</b>	<b>A</b>
	1645826		1395998
	1292036		1937429
	1662645		1426895
	1401592		1385523
	1656801		1419232
	1358208		2085912
	1519884		1399789
	1979713		1456115
	1369958		1494544
	1277051		1356364
$\bar{A}$	1516371,40	$\bar{A}$	1535780,10
$s^2$	48866687748	$s^2$	65583695865
<b>df</b>	9	<b>df</b>	9
<b><math>F</math></b>		1,34	
<b><math>P(F \leq f)</math></b>		0,33	
<b><math>F_{\text{kritični}}</math></b>		3,18	
<b><math>t</math>-test</b>			
<b>Pearson korelacija</b>		-0,390	
<b><math>t</math></b>		0,15	
<b>P (T&lt;=t) jednostrani</b>		0,44	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> jednostrani</b>		1,83	
<b>P (T&lt;=t) dvostrani</b>		0,88	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> dvostrani</b>		2,26	

Tablica P74. Podaci potrebni za provedbu  $F$ -testa i  $t$ -testa za etil-acetat

<b><math>F</math>-test</b>			
<b>Analitičar 1</b>	<b>A</b>	<b>Analitičar 2</b>	<b>A</b>
	1483305		1278243
	1211199		1698495
	1524802		1296837
	1301155		1271635
	1527808		1298454
	1278437		1831428
	1401639		1269873
	1738419		1325874
	1291841		1333477
	1207379		1249472
<b><math>\bar{A}</math></b>	1396598,40	<b><math>\bar{A}</math></b>	1385378,80
<b><math>s^2</math></b>	29139941963	<b><math>s^2</math></b>	41651090288
<b>df</b>	9	<b>df</b>	9
<b><math>F</math></b>		1,43	
<b><math>P(F \leq f)</math></b>		0,30	
<b><math>F_{\text{kritični}}</math></b>		3,18	
<b><math>t</math>-test</b>			
<b>Pearson korelacija</b>		-0,388	
<b><math>t</math></b>		0,11	
<b>P (T&lt;=t) jednostrani</b>		0,46	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> jednostrani</b>		1,83	
<b>P (T&lt;=t) dvostrani</b>		0,91	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> dvostrani</b>		2,26	

Tablica P75. Podaci potrebni za provedbu  $F$ -testa i  $t$ -testa za cikloheksan

<b><math>F</math>-test</b>			
<b>Analitičar 1</b>	<b>A</b>	<b>Analitičar 2</b>	<b>A</b>
	5319386		5000276
	4961191		5555410
	5633724		4956120
	5174053		4998277
	5753677		5083769
	5309206		4832188
	5473942		5070187
	5735277		4850399
	5400033		4976567
	5117450		6087499
$\bar{A}$	5387793,90	$\bar{A}$	5141069,20
$s^2$	70476064682	$s^2$	150787949209,29
<b>df</b>	9	<b>df</b>	9
<b><math>F</math></b>		2,14	
<b><math>P(F \leq f)</math></b>		0,14	
<b><math>F_{\text{kritični}}</math></b>		3,18	
<b><math>t</math>-test</b>			
<b>Pearson korelacija</b>		-0,310	
<b><math>t</math></b>		1,46	
<b><math>P(T \leq t)</math> jednostrani</b>		0,09	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> jednostrani</b>		1,83	
<b><math>P(T \leq t)</math> dvostrani</b>		0,18	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> dvostrani</b>		2,26	

Tablica P76. Podaci potrebni za provedbu  $F$ -testa i  $t$ -testa za izooktan

<b><math>F</math>-test</b>			
<b>Analitičar 1</b>	<b>A</b>	<b>Analitičar 2</b>	<b>A</b>
	3252059		3104454
	2865681		3786181
	3486202		3098476
	3026499		3091306
	3493798		3137490
	3036452		4099543
	3215981		3013023
	3605792		3165739
	3083911		3091582
	2899624		3052352
$\bar{A}$	3196599,90	$\bar{A}$	3264014,60
$s^2$	67563117586	$s^2$	135183748798,27
<b>df</b>	9	<b>df</b>	9
<b><math>F</math></b>		2,00	
<b><math>P(F \leq f)</math></b>		0,16	
<b><math>F_{\text{kritični}}</math></b>		3,18	
<b><math>t</math>-test</b>			
<b>Pearson korelacija</b>		-0,389	
<b><math>t</math></b>		0,41	
<b>P (T&lt;=t) jednostrani</b>		0,35	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> jednostrani</b>		1,83	
<b>P (T&lt;=t) dvostrani</b>		0,69	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> dvostrani</b>		2,26	

Tablica P77. Podaci potrebni za provedbu  $F$ -testa i  $t$ -testa za metoksi-2-propanol

<b><math>F</math>-test</b>			
<b>Analitičar 1</b>	<b>A</b>	<b>Analitičar 2</b>	<b>A</b>
	617260		133921
	129150		521597
	245813		187173
	136113		158757
	250599		155670
	133584		469582
	259735		169850
	758299		212080
	146613		245611
109851	123729		
$\bar{A}$	278701,70	$\bar{A}$	237797,00
$s^2$	50731203940	$s^2$	19884736758
<b>df</b>	9	<b>df</b>	9
<b><math>F</math></b>		2,55	
<b><math>P(F \leq f)</math></b>		0,09	
<b><math>F_{\text{kritični}}</math></b>		3,18	
<b><math>t</math>-test</b>			
<b>Pearson korelacija</b>		-0,311	
<b><math>t</math></b>		0,43	
<b>P (T&lt;=t) jednostrani</b>		0,34	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> jednostrani</b>		1,83	
<b>P (T&lt;=t) dvostrani</b>		0,68	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> dvostrani</b>		2,26	

Tablica P78. Podaci potrebni za provedbu  $F$ -testa i  $t$ -testa za butanol

<b><math>F</math>-test</b>			
<b>Analitičar 1</b>	<b>A</b>	<b>Analitičar 2</b>	<b>A</b>
	1079441		223185
	223701		848867
	421632		321098
	206207		272437
	426634		264075
	229652		771667
	450386		285038
	1307079		359718
	261551		408585
	185148		204766
$\bar{A}$	479143,10	$\bar{A}$	395943,60
$s^2$	154277461908,99	$s^2$	51635479016
<b>df</b>	9	<b>df</b>	9
<b><math>F</math></b>		2,99	
<b><math>P(F \leq f)</math></b>		0,06	
<b><math>F_{\text{kritični}}</math></b>		3,18	
<b><math>t</math>-test</b>			
<b>Pearson korelacija</b>		-0,301	
<b><math>t</math></b>		0,52	
<b>P (T&lt;=t) jednostrani</b>		0,31	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> jednostrani</b>		1,83	
<b>P (T&lt;=t) dvostrani</b>		0,62	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> dvostrani</b>		2,26	

Tablica P79. Podaci potrebni za provedbu  $F$ -testa i  $t$ -testa za metil-izobutil-keton

<b><math>F</math>-test</b>			
<b>Analitičar 1</b>	<b>A</b>	<b>Analitičar 2</b>	<b>A</b>
	922387		331806
	305661		881945
	505511		388544
	362833		341938
	501926		350931
	320328		834470
	479849		375743
	1179837		403803
	319399		491195
	286113		311080
$\bar{A}$	518384,40	$\bar{A}$	471145,50
$s^2$	89430915163	$s^2$	44200569520
<b>df</b>	9	<b>df</b>	9
<b><math>F</math></b>		2,02	
<b><math>P(F \leq f)</math></b>		0,15	
<b><math>F_{\text{kritični}}</math></b>		3,18	
<b><math>t</math>-test</b>			
<b>Pearson korelacija</b>		-0,354	
<b><math>t</math></b>		0,35	
<b>P (T&lt;=t) jednostrani</b>		0,37	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> jednostrani</b>		1,83	
<b>P (T&lt;=t) dvostrani</b>		0,73	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> dvostrani</b>		2,26	

Tablica P80. Podaci potrebni za provedbu  $F$ -testa i  $t$ -testa za etoksi-2-propanol

<b><math>F</math>-test</b>			
<b>Analitičar 1</b>	<b>A</b>	<b>Analitičar 2</b>	<b>A</b>
	490308		87932
	80945		421675
	170524		144067
	73814		113800
	175421		109900
	91094		343979
	198481		121199
	556053		149880
	103163		190459
	70798		83773
$\bar{A}$	201060,10	$\bar{A}$	176666,40
$s^2$	31171620285	$s^2$	13109192722
<b>df</b>	9	<b>df</b>	9
<b><math>F</math></b>		2,38	
<b><math>P(F \leq f)</math></b>		0,11	
<b><math>F_{\text{kritični}}</math></b>		3,18	
<b><math>t</math>-test</b>			
<b>Pearson korelacija</b>		-0,338	
<b><math>t</math></b>		0,32	
<b>P (T&lt;=t) jednostrani</b>		0,38	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> jednostrani</b>		1,83	
<b>P (T&lt;=t) dvostrani</b>		0,76	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> dvostrani</b>		2,26	



Tablica P81. Podaci potrebni za provedbu  $F$ -testa  $t$ -testa za toluen

<b><math>F</math>-test</b>			
<b>Analitičar 1</b>	<b>A</b>	<b>Analitičar 2</b>	<b>A</b>
	1955608		1221923
	1155109		2079059
	1586599		1303111
	1299769		1227301
	1592531		1256873
	1215932		2174737
	1482988		1278475
	2465632		1322550
	1218113		1461628
	1118724		1185709
$\bar{A}$	1509100,50	$\bar{A}$	1451136,60
$s^2$	180012772422,50	$s^2$	133009297358,27
<b>df</b>	9	<b>df</b>	9
<b><math>F</math></b>		1,35	
<b><math>P(F \leq f)</math></b>		0,33	
<b><math>F_{\text{kritični}}</math></b>		3,18	
<b><math>t</math>-test</b>			
<b>Pearson korelacija</b>		-0,385	
<b><math>t</math></b>		0,28	
<b>P (T&lt;=t) jednostrani</b>		0,39	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> jednostrani</b>		1,83	
<b>P (T&lt;=t) dvostrani</b>		0,79	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> dvostrani</b>		2,26	

Tablica P82. Podaci potrebni za provedbu  $F$ -testa i  $t$ -testa za butil-acetat

<b><math>F</math>-test</b>			
	<b>A</b>		<b>A</b>
<b>Analitičar 1</b>	723550	<b>Analitičar 2</b>	179386
	173045		653896
	304440		241534
	191556		206735
	313591		203451
	183237		567704
	328950		225517
	880563		262244
	189752		314725
	154690		170231
$\bar{A}$	344337,40	$\bar{A}$	302542,30
$s^2$	63623707711	$s^2$	28539923236
<b>df</b>	9	<b>df</b>	9
<b><math>F</math></b>		2,23	
<b><math>P(F \leq f)</math></b>		0,12	
<b><math>F_{\text{kritični}}</math></b>		3,18	
<b><math>t</math>-test</b>			
<b>Pearson korelacija</b>		-0,330	
<b><math>t</math></b>		0,38	
<b>P (T&lt;=t) jednostrani</b>		0,36	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> jednostrani</b>		1,83	
<b>P (T&lt;=t) dvostrani</b>		0,71	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> dvostrani</b>		2,26	

Tablica P83. Podaci potrebni za provedbu  $F$ -testa i  $t$ -testa za etilbenzen

<b><math>F</math>-test</b>			
<b>Analitičar 1</b>	<b>A</b>	<b>Analitičar 2</b>	<b>A</b>
	1612451		496157
	461300		1521560
	759864		620426
	527523		545769
	777175		541408
	486478		1372476
	796700		591147
	1988607		662631
	496946		793685
	422093		473297
$\bar{A}$	832913,70	$\bar{A}$	761855,60
$s^2$	287342862008,01	$s^2$	139906979201,82
<b>df</b>	9	<b>df</b>	9
<b><math>F</math></b>		2,05	
<b><math>P(F \leq f)</math></b>		0,15	
<b><math>F_{\text{kritični}}</math></b>		3,18	
<b><math>t</math>-test</b>			
<b>Pearson korelacija</b>		-0,340	
<b><math>t</math></b>		0,30	
<b>P (T&lt;=t) jednostrani</b>		0,39	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> jednostrani</b>		1,83	
<b>P (T&lt;=t) dvostrani</b>		0,77	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> dvostrani</b>		2,26	

Tablica P84. Podaci potrebni za provedbu  $F$ -testa za  $m$ -/ $p$ -ksilen

<b><math>F</math>-test</b>			
<b>Analitičar 1</b>	<b>A</b>	<b>Analitičar 2</b>	<b>A</b>
	884933		248457
	237671		808608
	395223		319866
	265384		279667
	406926		275087
	251198		717525
	424711		302617
	1083068		342329
	258654		411752
	215143		237282
<b><math>\bar{A}</math></b>	442291,10	<b><math>\bar{A}</math></b>	394319,00
<b><math>s^2</math></b>	89478107501	<b><math>s^2</math></b>	40706062544
<b>df</b>	9	<b>df</b>	9
<b><math>F</math></b>		2,20	
<b><math>P(F \leq f)</math></b>		0,13	
<b><math>F_{\text{kritični}}</math></b>		3,18	
<b><math>t</math>-test</b>			
<b>Pearson korelacija</b>		-0,336	
<b><math>t</math></b>		0,37	
<b>P (T &lt;= t) jednostrani</b>		0,36	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> jednostrani</b>		1,83	
<b>P (T &lt;= t) dvostrani</b>		0,72	
<b><math>t_{\text{kritični}}</math> dvostrani</b>		2,26	

Tablica P85. Podaci potrebni za provedbu  $F$ -testa i  $t$ -testa za  $o$ -ksilen

<b><math>F</math>-test</b>			
<b>Analitičar 1</b>	<b>A</b>	<b>Analitičar 2</b>	<b>A</b>
	52938		13165
	12713		47363
	21632		17953
	13162		15582
	22539		14929
	13578		40531
	24366		16698
	63341		19091
	14252		23446
	11315		12714
$\bar{A}$	24983,60	$\bar{A}$	22147,20
$s^2$	332525862,49	$s^2$	144109160,84
$df$	9	$df$	9
<b><math>F</math></b>		2,31	
<b><math>P(F \leq f)</math></b>		0,11	
<b><math>F_{kritični}</math></b>		3,18	
<b><math>t</math>-test</b>			
<b>Pearson korelacija</b>		-0,335	
<b><math>t</math></b>		0,36	
<b>P (T&lt;=t) jednostrani</b>		0,36	
<b><math>t_{kritični}</math> jednostrani</b>		1,83	
<b>P (T&lt;=t) dvostrani</b>		0,73	
<b><math>t_{kritični}</math> dvostrani</b>		2,26	