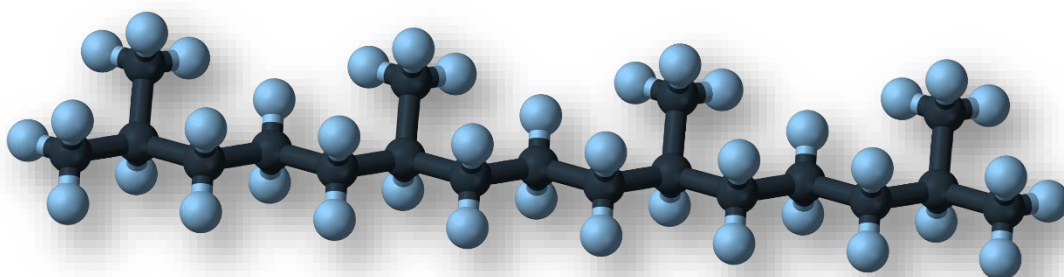




ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΟΡΥΚΤΩΝ ΠΟΡΩΝ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ



Θέμα: «Ανάπτυξη αλγορίθμου ταυτοποίησης βιοδεικτών του πετρελαίου σε δεδομένα αέριας χρωματογραφίας-φασματοσκοπίας μάζας (GC-MS)»

Εξεταστική επιτροπή:

N. Πασαδάκης, Καθηγητής (Επιβλέπων)

N. Καλλίθρακας, Καθηγητής

E. Σιάνος, Δρ. Χημικός Μηχανικός, Agilent

Εύδης Αναστάσιος – Αλέξανδρος
ΧΑΝΙΑ, 2015

Ευχαριστίες

Η εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας έγινε στο πλαίσιο της ολοκλήρωσης των σπουδών μου στο τμήμα Μηχανικών Ορυκτών Πόρων του Πολυτεχνείου Κρήτης. Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον Καθηγητή κ. Πασαδάκη Νικόλαο, αρχικά για την ιδέα και την επιλογή του θέματος και στη συνέχεια για την πολύτιμη βοήθειά του καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της εργασίας. Ακόμη ευχαριστώ τον Καθηγητή κ. Καλλίθρακα Νικόλαο και τον διδάκτορα κ. Σιάνο Ευστάθιο για την συμμετοχή τους στην εξεταστική επιτροπή, καθώς και για τον τελικό έλεγχο και τις σημαντικές παρατηρήσεις που έκαναν επί της εργασίας. Επίσης, ένα ειλικρινές ευχαριστώ στην εργαστηριακή βοηθό κα Χαμηλάκη Ελίνα για την άψογη συνεργασία καθώς και τον διδάκτορα της Σχολής κ. Γαγάνη Βασίλειο για τον χρόνο και την βοήθεια που μου διέθεσε στα διάφορα στάδια της εργασίας. Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στην οικογένειά μου η οποία με στήριξε καθ' όλη την διάρκεια των σπουδών μου.

Περίληψη

Στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η δημιουργία μιας ψηφιακής βάσης φασμάτων μάζας βιοδεικτών πετρελαίου και η χρησιμοποίηση της στην ταυτοποίηση των ενώσεων αυτών σε πετρελαϊκά δείγματα με βάση τα πειραματικά δεδομένα αέριας χρωματογραφίας - φασματοσκοπίας μάζας (GC-MS).

Οι βιοδείκτες είναι σύνθετες οργανικές ενώσεις, οι οποίες ανιχνεύονται στα εκχυλίσματα μητρικών πετρωμάτων, στο πετρέλαιο, στους γαιάνθρακες και γενικά σε όλα τα οργανογενή ορυκτά καύσιμα. Η αξία των βιοδεικτών έγκειται στη ομοιότητα της χημικής δομής τους με εκείνη μορίων της πρόδρομης οργανικής ύλης των ορυκτών καυσίμων. Με βάση τη συσχέτιση αυτή είναι δυνατή η συγκέντρωση σημαντικών πληροφοριών για το περιβάλλον και τις συνθήκες δημιουργίας και διατήρησης του πετρελαίου και των άλλων ορυκτών καυσίμων στους γεωλογικούς σχηματισμούς. Η πληροφορία αυτές είναι σημαντικές στην αναζήτηση σχηματισμών ορυκτών καυσίμων, σε συνδυασμό βέβαια με τα διαθέσιμα γεωλογικά και γεωφυσικά δεδομένα.

Η πολυπλοκότητα της δομής των βιοδεικτών αλλά και ο μεγάλος αριθμός ισομερών που εμφανίζουν, καθιστά δύσκολη την ταυτοποίηση τους ακόμη και με τις σύγχρονες μεθόδους ανάλυσης, ενώ δεν είναι διαθέσιμες εμπορικές βιβλιοθήκες φασμάτων βιοδεικτών. Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας αναπτύχθηκε μια γρήγορη, αλλά ακριβής διαδικασία ψηφιοποίησης φασμάτων μάζας βιοδεικτών με βάση τις διαθέσιμες στη βιβλιογραφία εικόνες τους, με χρήση AutoCAD και Matlab. Τα ψηφιοποιημένα φάσματα από 200+ ενώσεις εντάχθηκαν σε βιβλιοθήκη φασμάτων, η οποία μπορεί να λειτουργεί εντός των εμπορικών λογισμικών επεξεργασίας δεδομένων GC-MS (Mass Hunter, ChemStation). Επιπλέον αναπτύχθηκαν σε περιβάλλον Matlab αλγόριθμοι συσχέτισης και ταυτοποίησης ενώσεων με βάση τη βιβλιοθήκη φασμάτων, οι οποίοι λειτουργούν ανεξάρτητα από τα εμπορικά λογισμικά επεξεργασίας δεδομένων GC-MS και οι οποίοι εξασφαλίζουν ευελιξία αναφορικά με τα κριτήρια συσχέτισης.

Η χρήση της βιβλιοθήκης που αναπτύχθηκε (Bio_X) σε πραγματικά πειραματικά δεδομένα ανάλυσης δειγμάτων πετρελαίου έδειξε ότι με επιτυχία μπορούν να ταυτοποιηθούν οι κυριότεροι βιοδείκτες που χρησιμοποιούνται στις τυπικές γεωχημικές μελέτες. Επιπλέον η βιβλιοθήκη επιτρέπει την εύκολη συμπλήρωση της με νέα δεδομένα, καθιστώντας την έτσι σημαντική βάση για περισσότερο απαιτητικές εφαρμογές στο μέλλον.

Περιεχόμενα

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 Εισαγωγή-Πετρέλαιο

1.1	Η Ιστορία της χρήσης του πετρελαίου	2
1.2	Ορισμός & σύσταση πετρελαίου	3
1.3	Μετασχηματισμός Οργανικής ύλης	3
1.4	Παγκόσμια Αποθέματα	4
1.5	Φυσικές ιδιότητες.....	4
1.6	Χημικά χαρακτηριστικά	5
1.7	Χρήσεις πετρελαίου στην σημερινή εποχή	5
1.8	Οργανική Γεωχημεία	6

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 Βιοδείκτες

2.1	Ορισμός και προέλευση βιοδεικτών	8
2.2	Εφαρμογές των βιοδεικτών	9
2.3	Βιοδείκτες Πρόδρομοι	9
2.4	Στεροχημεία και ονοματολογία των βιοδεικτών	11
2.5	Τα ισοπρενοειδή.....	12
2.6	Τα άκυκλα ισοπρενοειδή.....	13
2.7	Τα κυκλικά ισοπρενοειδή	16
2.8	Τα στεράνια	17
2.9	Διαστεράνια.....	19
2.10	Μεθυλστεράνια	20
2.11	Πεντακυκλικά τριτερπάνια – Χοπάνια	20
2.12	Συνηθέστερα χοπανοειδή	20
2.13	Δείκτες χοπανίων. Δείκτης Ts/(Ts+Tm)	22
2.14	Δείκτης Ολεανανίου	23
2.15	Δείκτης Γαμμακερανίου	24
2.16	Δείκτης Μορετανίου.....	25

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 Αέρια χρωματογραφία Φασματοσκοπία μάζας GC-MS

3.1	Περιγραφή μεθόδου	27
3.2	Ταυτοποίηση χημικών ενώσεων	29
3.3	Λειτουργία GC-MS (Gas Chromatography–Mass Spectrometry).....	32

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 Δημιουργία βιβλιοθήκης βιοδεικτών Bio_X

4.1	Διαδικασία δημιουργίας Bio_X	36
4.2	Retention Time-Retention Index στη Bio_X	48

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 Ανάπτυξη αλγορίθμου ταυτοποίησης βιοδεικτών σε πειραματικά δεδομένα GC-MS ανάλυσης πετρελαίου

5.1	Κώδικας Ταυτοποίησης Συστατικών	50
5.2	Μαθηματικές Μέθοδοι Απόστασης.....	51
5.3	Αποτελέσματα ταυτοποίησης	52

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

6.1	Συμπεράσματα	58
6.2	Προτάσεις	58

Βιβλιογραφία.....	59
-------------------	----

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

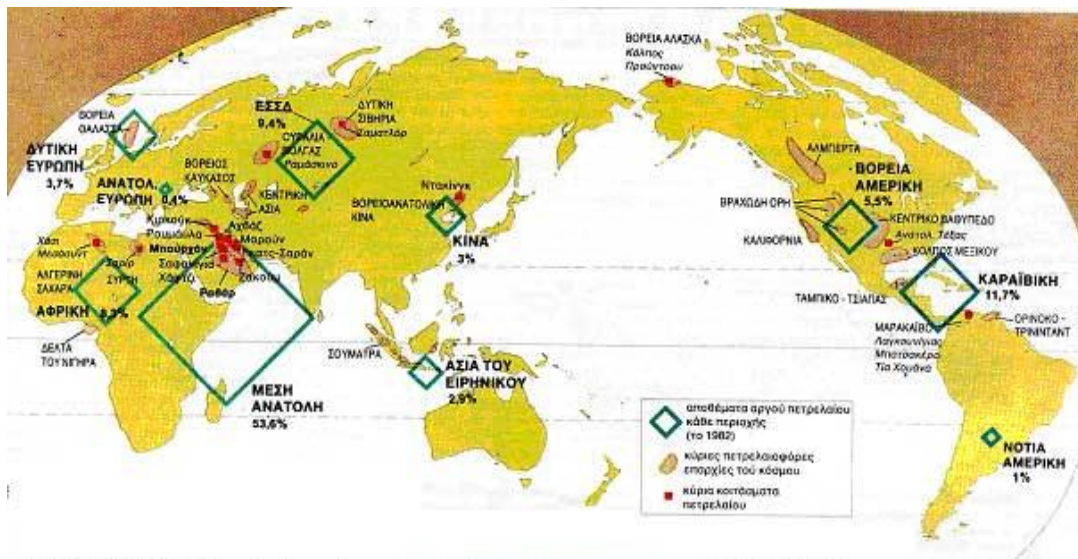
Εισαγωγή Πετρέλαιο

1.1 Η Ιστορία της χρήσης του πετρελαίου

Η ετυμολογία της λέξης πετρέλαιο προέρχεται από την ελληνική λέξη πέτρα και την λατινική *oleum* που σημαίνει «λάδι» και χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Γερμανό ορυκτολόγο Agricola το 1556. Στην αρχαιότητα η Νεκρά Θάλασσα ήταν γνωστή με την ονομασία Ασφαλίτις Λίμνη, λόγω του παχύρευστου πετρελαίου που έβγαινε στις ακτές της από υποθαλάσσιες διαρροές. Οι ανασκαφές στο Ιράν και στο Ιράκ αποκάλυψαν ότι οι κάτοικοι ανακάτευαν στερεά παράγωγα του πετρελαίου με άμμο και ινώδη υλικά για την κατασκευή αρδευτικών τάφρων. Επίσης είναι γνωστό ότι γινόταν χρήση του πετρελαίου στο καλαφάτισμα των πλοίων, στην κατασκευή δρόμων, για την κατασκευή αδιάβροχης ψάθας και καλαθιών και ως συγκολλητικό στα μωσαϊκά. Επιπλέον το χρησιμοποιούσαν στην ιατρική σαν καθαρτικό, σαν υγρό εντριβών και σαν απολυμαντικό.

Κατά τα πρώτα χριστιανικά έτη, οι Άραβες και οι Πέρσες ενδιαφέρθηκαν για το αργό πετρέλαιο και τη διύλισή του σε φωτιστικό πετρέλαιο. Είναι πιθανόν αυτές οι γνώσεις να μεταφέρθηκαν από τους Άραβες στη δυτική Ευρώπη κατά τον 12ο αιώνα. Επίσης το «υγρό πυρ» των Βυζαντινών είχε πιθανότατα ως βάση το πετρέλαιο. Η πρώτη γεώτρηση για την αναζήτηση πετρελαίου έγινε από τον Έντγουιν Ντρέικ στην δυτική Πενσυλβάνια τον Αύγουστο του 1859 και σε βάθος 21 μέτρων, ανοίγοντας τον δρόμο στη βιομηχανία πετρελαίου. Την ίδια περίπου περίοδο πετρελαϊκά πεδία ανακαλύφθηκαν στην Ευρώπη, την Κεντρική Ασία και την Άπω Ανατολή.

Αργότερα με την αρχή του 20ού αιώνα η εμφάνιση του αυτοκινήτου, κατέστησε το πετρέλαιο βασική πηγή ενέργειας. Οι εξελίξεις όσον αφορά τη ζήτηση πετρελαίου και πετρελαιοειδών υπήρξαν αλματώδεις. Το 1974 η συμμετοχή του πετρελαίου στην παγκόσμια κατανάλωση ενέργειας ανήλθε στο 48%. Μετά τις δύο πετρελαϊκές κρίσεις της δεκαετίας του 1970, που είχαν ως αποτέλεσμα την απότομη αύξηση της τιμής του, οι αναπτυγμένες κυρίως χώρες υιοθέτησαν διάφορα μέτρα εξοικονόμησης ενέργειας και μερίμνησαν για την ανάπτυξη άλλων πρωτογενών ενεργειακών πηγών, όπως είναι το ουράνιο-πλουτώνιο (πυρηνική ενέργεια) και οι διαδεδομένες ανανεώσιμες πηγές ενέργειας (ήλιος, άνεμος, υδατοπτώσεις κ.λπ.), με στόχο τη μείωση της εξάρτησης της παγκόσμιας ενεργειακής αγοράς από το πετρέλαιο. [1]



Εικόνα 1.1: Γεωγραφική απεικόνιση αποθεμάτων πετρελαίου [29]

1.2 Ορισμός & σύσταση πετρελαίου

Ο όρος “πετρέλαιο” αναφέρεται κυρίως στα υγρά μείγματα υδρογονανθράκων και άλλων οργανικών τα οποία παράγονται από υπόγειους σχηματισμούς, έχει χαρακτηριστική οσμή, είναι αδιάλυτο στο νερό και ελαφρύτερο από αυτό. Έχει καθιερωθεί ως ο κύριος ενεργειακός πόρος για κυρίως δύο λόγους. Διότι έχει υψηλό ενεργειακό περιεχόμενο σε σύγκριση με τα άλλα συμβατικά καύσιμα (άνθρακας) και είναι υγρό, γεγονός που καθιστά την μεταφορά, την διακίνηση και την αποθήκευσή του ευκολότερη. Η ακριβής του σύσταση παρουσιάζει έντονες διαφοροποιήσεις, ανάλογα με την προέλευση, την ηλικία του και την περιοχή άντλησής του, ενώ συχνά στις υπόγειες κοιλότητες που βρίσκονται τα κοιτάσματά του συναντάται και φυσικό αέριο. [2]. Τα κύρια συστατικά του είναι αλκάνια (παραφίνες), κυκλοαλκάνια (ναφθένια) και αρωματικοί υδρογονάνθρακες και σε μικρότερες ποσότητες οξυγονούχες, αζωτούχες και θειούχες ενώσεις. Έτσι λοιπόν, το πετρέλαιο θεωρείται ως προϊόν του μετασχηματισμού που υφίσταται η αρχική οργανική ύλη, που προέρχεται από νεκρούς οργανισμούς μετά την ταφή τους.

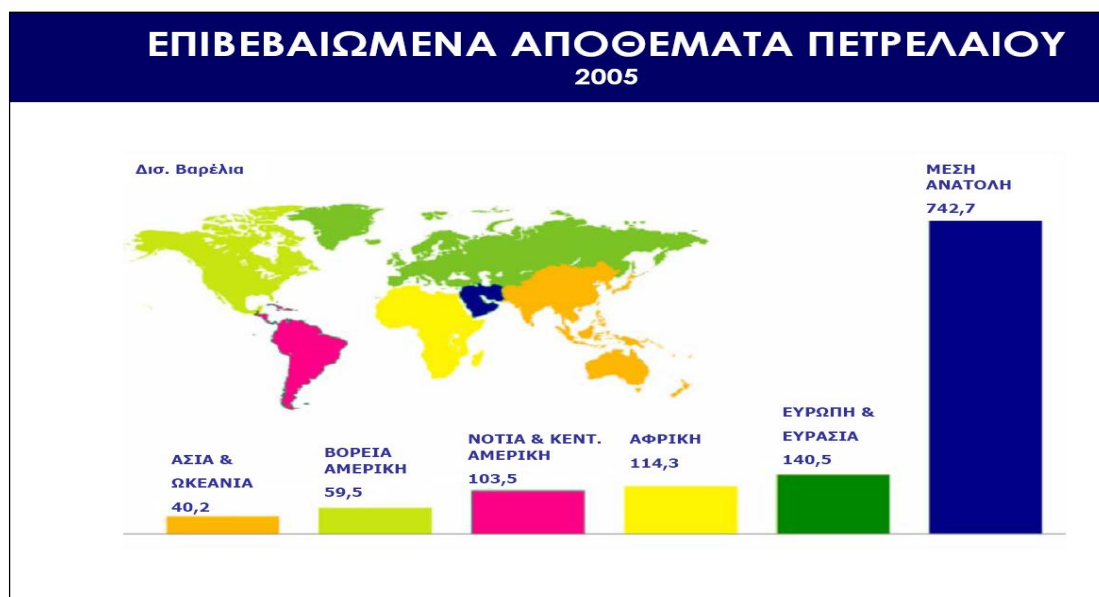
1.3 Μετασχηματισμός της οργανικής ύλης

Η οργανική ύλη των ιζημάτων αποτελείται κυρίως από άνθρακα και υδρογόνο. Επίσης σε μικρότερες συγκεντρώσεις εμφανίζονται στοιχεία όπως το θείο, το άζωτο, ο φωσφόρος και διάφορα στοιχεία οργανομεταλλικών

ενώσεων (Fe, Cu, Ni). Κατά το μετασχηματισμό της οργανικής ύλης λαμβάνουν χώρα οι διεργασίες της διαγένεσης, καταγένεσης και μεταγένεσης

1.4 Παγκόσμια Αποθέματα

Οι συμβατικοί ενεργειακοί πόροι δεν υπάρχουν σε ανεξάντλητες ποσότητες. Η διάρκεια ζωής ενός πόρου ορίζεται ως το πηλίκο του αποθέματός του προς τον ετήσιο ρυθμό κατανάλωσής του. Πρέπει να αναφερθεί, ότι δεν υπάρχει μια στατική ποσότητα αποθεμάτων διότι κάθε χρόνο είτε προστίθενται νέες ποσότητες ύστερα από έρευνα, είτε είναι δυνατή η οικονομική εκμετάλλευση ήδη γνωστών αποθεμάτων με την πρόοδο της τεχνολογίας. Για παράδειγμα, τα παγκόσμια αποθέματα πετρελαίου αυξήθηκαν κατά 11% ανάμεσα στα έτη 1987-1991, ενώ τα αντίστοιχα για το φυσικό αέριο κατά 18%. Στο Σχήμα 1.2 παρουσιάζεται ο καταμερισμός των παγκόσμιων αποθεμάτων πετρελαίου το 2005. Με βάση τα στοιχεία του σχήματος 1.2 βλέπουμε ότι τα περισσότερα αποθέματα πετρελαίου βρίσκονται στην περιοχή της Μέσης Ανατολής, ενώ σημαντικές ποσότητες υπάρχουν στην Ευρασία.



Εικόνα 1.2: Παγκόσμια αποθέματα πετρελαίου σύμφωνα με τα στοιχεία της BP [29]

1.5 Φυσικές ιδιότητες

Οι φυσικές ιδιότητες του πετρελαίου εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες, οι κυριότεροι των οποίων είναι η προέλευση του οργανικού υλικού καθώς και οι επιδράσεις που δέχτηκε κατά τη διάρκεια της γεωλογικής του ιστορίας. Με τη σειρά τους οι ιδιότητες αυτές επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό τις παραμέτρους της μετανάστευσης και παγίδευσης του ρευστού. Το αργό

πετρέλαιο είναι υγρό ελαιώδες, με καστανό χρώμα, χαρακτηριστική δυσάρεστη οσμή, και έχει πολύ μικρή διαλυτότητα στο νερό. Έχει πυκνότητα από 0.73gr/cm^3 μέχρι 1.04gr/cm^3 και η θερμαντική ικανότητά του φτάνει σε 10400 kcal/gr – 11000 kcal/gr . Αποτελείται από υδρογονάνθρακες (ενώσεις άνθρακα και υδρογόνου που σε κανονικές θερμοκρασίες και πιέσεις μπορεί να είναι αέριες, υγρές ή στερεές, ανάλογα με την πολυπλοκότητα των μορίων τους). Το πετρέλαιο σύμφωνα με τη μέση στοιχειακή του σύσταση κατά βάρος αποτελείται από άνθρακα σε ποσοστό 83%-87%, υδρογόνο 10%-14% και άζωτο, οξυγόνο και θείο σε συνολικό ποσοστό 4%. [1],[4]

1.6 Χημικά χαρακτηριστικά

Τα κύρια συστατικά του πετρελαίου είναι οι τρεις ομάδες υδρογονανθράκων, δηλαδή i) οι κεκορεσμένοι με δομή ευθείας αλυσίδας του τύπου $\text{C}_n\text{H}_{2n+2}$, ii) τα ναφθένια με δομή κεκορεσμένου κλειστού δακτυλίου της βενζολίου-- C_nH_{2n} και iii) οι αρωματικοί ακόρεστοι υδρογονάνθρακες με δομή κλειστού δακτυλίου του τύπου $\text{C}_n\text{H}_{2n-6}$. Επιπλέον περιέχει και χιλιάδες ισομερείς ενώσεις διακλαδισμένων αλκανίων αλλά και ναφθενικών και αρωματικών με πλευρικές αλυσίδες αλκανίων. Εκτός απ' αυτά, το πετρέλαιο περιέχει σε μικρές ποσότητες οξυγόνο, σε μορφή ιδίως ναφθενικών οξέων, άζωτο ενωμένο σε διάφορες βάσεις και θείο που βρίσκεται είτε σε ελεύθερη μορφή, είτε σαν στοιχείο οργανικών ενώσεων. Κάθε πετρέλαιο έχει μια μοναδική σύσταση κάτι που οφείλεται στην διαφορετική οργανική ύλη και τις συνθήκες υπό τις οποίες δημιουργήθηκε. [1]

1.7 Χρήσεις πετρελαίου στην σημερινή εποχή

Το πετρέλαιο αποτελεί το σημαντικότερο ορυκτό για την παγκόσμια οικονομία, καθώς αποτελεί την κύρια πρωτογενή πηγή ενέργειας και την πρώτη ύλη από την οποία παράγεται ένας τεράστιος αριθμός προϊόντων (πλαστικά, φάρμακα, καλλυντικά, απορρυπαντικά, φιλμ, εκρηκτικά κ.λπ.).

Η ιστορία της σύγχρονης βιομηχανικής κοινωνίας είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με το πετρέλαιο. Το πετρέλαιο αποτελεί σήμερα την ευρύτερα χρησιμοποιούμενη ενεργειακή πρώτη ύλη και κατά συνέπεια έχει καταστεί απαραίτητη προϋπόθεση για τη λειτουργία και ανάπτυξη της οικονομίας. Έχει καθιερωθεί ως ο κύριος ενεργειακός πόρος αφενός διότι έχει υψηλό ενεργειακό περιεχόμενο συγκρινόμενο με τα άλλα συμβατικά καύσιμα και αφετέρου βρίσκεται σε υγρή φάση σε συνθήκες περιβάλλοντος, γεγονός που καθιστά εύκολη τη μεταφορά, διακίνηση και αποθήκευση του. Επομένως, οι υδρογονάνθρακες (πετρέλαιο αλλά και φυσικό αέριο) αποτελούν τη βασική ενεργειακή πηγή του σήμερα αλλά και του αύριο, τουλάχιστον για όσο δεν

διαφαίνεται στον ορίζοντα επαρκής και αξιόπιστη εναλλακτική πηγή ενέργειας που να διατίθεται σε ανταγωνιστικό κόστος.[3] , [13]

Το πετρέλαιο και το φυσικό αέριο συναντώνται υπό υψηλή πίεση και θερμοκρασία σε υπόγειους σχηματισμούς οι οποίοι ονομάζονται ταμιευτήρες (reservoirs). Οι ταμιευτήρες είναι πορώδη και περατά ιζηματογενή πετρώματα τα οποία περιβάλλονται από αδιαπέρατα πετρώματα (cap-rock) και δημιουργούν συνθήκες παγίδευσης των υδρογονανθράκων. Η παραγωγή τους στην επιφάνεια, δεδομένου ότι βρίσκονται πάντα υπό πίεση και σε μεγάλο βάθος, πραγματοποιείται μέσω γεωτρήσεων. Τέλος, το πετρέλαιο παραμένει η βασική πηγή ενέργειας, από την οποία εξαρτάται το παρόν και το μέλλον της παγκόσμιας οικονομίας. [4]

1.8 Οργανική Γεωχημεία

Η οργανική γεωχημεία αποτελεί τον κλάδο της επιστήμης που μελετά τα οργανικά συστατικά στο περιβάλλον. Η ανάπτυξη της σχετίζεται άμεσα με την εξερεύνηση ενώσεων πετρελαίου, η προέλευσή τους, ο μηχανισμός δημιουργίας τους, οι τρόποι ύπαρξής τους και η αλληλεπίδρασή τους με τα υπόλοιπα ανόργανα στοιχεία του περιβάλλοντος.

Τις τελευταίες τρεις δεκαετίες σημαντική ερευνητική δραστηριότητα έχει διαμορφώσει τον κλάδο αυτό, ο οποίος πλέον διαδραματίζει πρωταγωνιστικό ρόλο στην ανακάλυψη και αξιοποίηση κοιτασμάτων υδρογονανθράκων. Περιοχές με σημαντικές συγκεντρώσεις υδρογονανθράκων μπορούν να προβλεφθούν χρησιμοποιώντας μοντέλα χαρτογράφησης που συνυπολογίζουν τόσο γεωλογικά και γεωφυσικά δεδομένα, όσο και γεωχημικές παραμέτρους.

Ένα από τα μεγαλύτερα πλεονεκτήματα της γεωχημείας είναι η δυνατότητα να παρέχει λεπτομερείς πληροφορίες για τους σχηματισμούς πετρελαίου, βοηθώντας με αυτό τον τρόπο στη λύση προβλημάτων εξόρυξης και βελτιώνοντας τις υπάρχουσες μεθόδους. Για την συλλογή πληροφοριών επί των σχηματισμών, συμβάλλουν οι απολιθωμένοι βιολογικοί δείκτες ή αλλιώς βιοδείκτες.

Οι βιοδείκτες αντανακλούν μέσω της δομής τους το είδος της οργανικής ύλης, τις διεργασίες, τις συνθήκες που οδήγησαν στη δημιουργία των υδρογονανθράκων καθώς και για τον συσχετισμό των πετρελαίων μεταξύ τους. Με αυτό τον τρόπο διευκολύνεται η κατανόηση των σχέσεων μεταξύ των ταμιευτήρων και των διαδρομών μετανάστευσης των υδρογονανθράκων. [2], [30],[31]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

Βιοδείκτες

2.1 Ορισμός και προέλευση βιοδεικτών

Οι βιοδείκτες είναι σύνθετες οργανικές ενώσεις οι οποίες ανιχνεύονται στα εκχυλίσματα μητρικών πετρωμάτων, στο πετρέλαιο, στους γαιάνθρακες και γενικότερα σε όλα τα ορυκτά καύσιμα οργανικής προέλευσης. Η δομή τους υποδηλώνει μια σαφή σχέση με ενώσεις φυτικής ή ζωικής προέλευσης αποτελούμενες κυρίως από άνθρακα και υδρογόνο και δευτερευόντως από άλλα ετεροσυστατικά, όπως το άζωτο και το οξυγόνο. [5]

Προέρχονται από βιολογικά μόρια, τα οποία κατά τη διάρκεια του σταδίου της διαγένεσης έχουν υποστεί ποικίλες αλλαγές, όπως απώλεια χαρακτηριστικών χημικών ομάδων (functional groups), υδρογόνωση, δημιουργία αρωματικών δομών ή ισομερισμό που όμως έχουν διατηρήσει στοιχεία της αρχικής μοριακής δομής τους. Όπως προαναφέρθηκε, οι περισσότερες από τις αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στο στάδιο της διαγένεσης της οργανικής ύλης οφείλονται σε μικροβιακή δράση, ενώ κατά τη διάρκεια του σταδίου της καταγένεσης στη θερμοκρασία.

Ανάμεσα στους βιοδείκτες που έχουν μελετηθεί κατά κόρον είναι τα αλκάνια, τα άκυκλα ισοπρενοειδή, τα κυκλοεξάνια, τα δικυκλοαλκάνια, τα διτερπάνια, τα τριτερπάνια, τα στεράνια και οι ακόρεστες ομόλογες σειρές των παραπάνω συστατικών.

Τα στεράνια (τετρακυκλικά στεροειδή), μαζί με τα χοπάνια (πεντακυκλικά τερπενοειδή), αποτελούν τους πλέον διαδεδομένους βιοδείκτες, εξαιτίας της ανθεκτικότητάς τους στην αποδόμηση σε σχέση με τα κανονικά αλκάνια και τα ισοπρενοειδή. Χρησιμοποιούνται κυρίως στην αξιολόγηση της ποιότητας της οργανικής ύλης, της ωρίμανσής της καθώς και στη συσχέτιση πετρελαίων.

Τα χοπάνια χρησιμοποιούνται κυρίως ως δείκτες του περιβάλλοντος διαγένεσης της οργανικής ύλης, ενώ τα αντίστοιχα στεράνια χρησιμοποιούνται κυρίως για τον χαρακτηρισμό της πρόδρομης οργανικής ύλης.

Οι βιοδείκτες αντανakλούν μέσω της δομής τους το είδος της αρχικής οργανικής ύλης, τις συνθήκες και τις διαδικασίες που οδήγησαν στη δημιουργία των υδρογονανθράκων. Δημιουργία υδρογονανθράκων από μόρια έμβιων οργανισμών, τα οποία εύκολα μετασχηματίζονται σε υδρογονάνθρακες. Η διαδρομή αυτή θεωρείται ότι παράγει το 10-20% των συστατικών του πετρελαίου. Οι περισσότεροι από τους υδρογονάνθρακες αυτούς περιλαμβάνουν περισσότερα από 15 άτομα άνθρακα στο μόριό τους και εμφανίζουν χημικές δομές που εύκολα παραπέμπουν σε βιολογικά μόρια. Η δεύτερη διαδρομή αφορά στο μετασχηματισμό των λιπιδίων, των πρωτεϊνών και των υδατανθράκων των ζωντανών οργανισμών σε οργανική ύλη (κηρογόνο) στα ιζηματογενή πετρώματα. Με την αύξηση της θερμοκρασίας το υλικό αυτό μετασχηματίζεται και δημιουργεί το κηρογόνο, το οποίο με τη σειρά του διασπάται σε υδρογονάνθρακες. Με την αύξηση της θερμοκρασίας τα

συστατικά του πετρελαίου, είτε μετατρέπονται σε ελαφρά μόρια και τελικά σε μεθάνιο, είτε σε μεγάλα μόρια με μικρή περιεκτικότητα σε υδρογόνο. [2], [5]

Η έμβια οργανική ύλη δημιουργείται ακολουθώντας δύο βασικές διαδρομές. Η πρώτη διαδρομή (path) βιοσύνθεσης περιλαμβάνει τις ενζυμικά ελεγχόμενες αντιδράσεις συμπύκνωσης του CH_3COOH , οι οποίες οδηγούν στη δημιουργία αλυσίδων άνθρακα με ζυγό αριθμό ατόμων (C12, C14, C16). Αντίθετα, η δεύτερη διαδρομή βιοσύνθεσης περιλαμβάνει τον πολυμερισμό του ισοπρενίου, το οποίο αποτελεί δομή πέντε ατόμων άνθρακα με αποτέλεσμα τη δημιουργία μορίων με αριθμό ατόμων άνθρακα πολλαπλάσιο του 5. Προφανώς η ύπαρξη των δύο συγκεκριμένων αυτών διαδρομών σύνθεσης των οργανικών ενώσεων από τους έμβιους οργανισμούς εξηγεί και την ύπαρξη στο πετρέλαιο σχετικά μικρού αριθμού ενώσεων, οι οποίες παρουσιάζουν και ομοιότητες στη δομή τους. Αυτό θα ήταν αδύνατο να συμβαίνει εάν η αβιογενική υπόθεση της προέλευσης του πετρελαίου ήταν αληθής.

Τέλος, οι βιοδείκτες αποτελούν την καταλληλότερη ομάδα υδρογονανθράκων που μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μελέτες χημικού αποτυπώματος πετρελαίου. Αυτό έγκειται στο γεγονός ότι εμφανίζουν σχετική σταθερότητα στις συνθήκες περιβάλλοντος και διατηρούνται καλύτερα σε σχέση με άλλες ομάδες υδρογονανθράκων (π.χ. κανονικά αλκάνια). Οι ομάδες ενώσεων αυτές προσδιορίζονται με την ανάλυση της Αέριας Χρωματογραφίας-Φασματοσκοπίας Μάζας (GC-MS) που αναφέρεται σε επόμενο κεφάλαιο. [2]

2.2 Εφαρμογές των βιοδεικτών

Οι βιοδείκτες χρησιμοποιούνται κυρίως:

- Στη μελέτη του περιβάλλοντος εναπόθεσης της οργανικής ύλης και των συνθηκών γένεσης του πετρελαίου.
- Στην αναγνώριση μητρικού πετρώματος γένεσης του πετρελαίου (source rock).
- Στη συσχέτιση μεταξύ πετρελαίων ή / και μητρικών πετρωμάτων.
- Στη συσχέτιση οικογενειών πετρελαίων (oil families).
- Στον προσδιορισμό των πιθανών διαδρομών μετανάστευσης του πετρελαίου.
- Στον προσδιορισμό του βαθμού ωρίμανσης και βιοαποδόμησης της οργανικής ύλης.

2.3 Βιοδείκτες Πρόδρομοι

Οι σημαντικότερες κατηγορίες βιοδεικτών και οι πρόδρομοι τους είναι οι ακόλουθοι:

- n-αλκάνια (>C-22) χερσαίοι φυτικοί οργανισμοί
- n-αλκάνια (C-17, C-22) λιπίδια θαλάσσιων φυτικών οργανισμών (φύκια)
- ισοπρενοειδή (<C-20) ποικιλία χλωροφύλλης
- ισοπρενοειδή (>C-20) λιπίδια ή χλωροφύλλη φυτικών οργανισμών από
- θαλάσσιο υπεραλμυρό (*hypersaline*) περιβάλλον (φύκια) πορφυρίνες χλωροφύλλες
- στεράνια στεροειδή (*steroids*) τριτερπάνια
- βακτηριδιακά τριτερπενοειδή (*bacterial triterpenoids*)
- διτερπάνια υδρογονάνθρακες φυτικών ρητινών
- μεγάλες ναφθenoαρωματικές ενώσεις
- στεροειδή, τριτερπενοειδή (*steroids, triterpenoids*)

Πίνακας 2.1: Οι σημαντικότερες κατηγορίες βιοδεικτών και οι πρόδρομες ενώσεις τους. [6]

Βιοδείκτες	Πρόδρομοι
N – alkanes (>C-22)	χερσαίοι φυτικοί οργανισμοί
n-alkanes (C-17, C-22)	λιπίδια θαλάσσιων φυτικών οργανισμών (φύκια)
isoprenoids (<C-20)	ποικιλία χλωροφύλλης
isoprenoids (>C-20)	λιπίδια ή χλωροφύλλη φυτικών οργανισμών από θαλάσσιο υπεραλμυρό (<i>hypersaline</i>) περιβάλλον (φύκια)
Porphyryns	χλωροφύλλες
Steranes	στεροειδή (<i>steroids</i>)
Triterpanes	βακτηριδιακά τριτερπενοειδή (<i>bacterial triterpenoids</i>)
Diterpanes	υδρογονάνθρακες φυτικών ρητινών
large naphthenoaromatics	στεροειδή, τριτερπενοειδή (<i>steroids, triterpenoids</i>)

Η ανάλυση των βιοδεικτών έχει γίνει αναπόσπαστο κομμάτι στην εξερεύνηση και εκμετάλλευση των οργανικών ορυκτών καυσίμων, ενώ

πρακτικά όλες οι ομάδες συστατικών που ανιχνεύονται σε αυτά (αλκάνια, αλκένια, αλκοόλες, κετόνες και άλλες ετερο-ενώσεις) έχουν μελετηθεί για τον εντοπισμό βιοδεικτών. Ανάμεσα στους βιοδείκτες που έχουν μελετηθεί ιδιαίτερα είναι τα αλκάνια, τα άκυκλα ισοπρενοειδή, τα κυκλοεξάνια, τα δικυκλοαλκάνια, τα διτερπάνια, τα τριτερπάνια, τα στεράνια και οι ακόρεστες ομόλογες σειρές των παραπάνω συστατικών. [6]

2.4 Στερεοχημεία και ονοματολογία των βιοδεικτών

Η πληροφορία της στερεοχημείας περιλαμβάνεται στην ονοματολογία των βιοδεικτών. Η κατανόηση της στερεοχημικής ονοματολογίας παίζει καθοριστικό ρόλο για την ερμηνεία των εφαρμογών της γεωχημείας των βιοδεικτών, καθώς πολλές από τις παραμέτρους που χρησιμοποιούνται στην γεωχημεία πετρελαίου εκφράζουν τις μεταβολές στην στερεοχημεία τους.

Τα άτομα άνθρακα σε ένα κορεσμένο μόριο είναι συνδεδεμένα με τους υποκαταστάτες τους με τέσσερις μονούς ομοιοπολικούς δεσμούς, οι οποίοι ορίζουν ένα κανονικό τετράεδρο στο χώρο. Αν όλοι οι υποκαταστάτες είναι διαφορετικοί μεταξύ τους, τότε το άτομο του άνθρακα ορίζεται ως ασύμμετρο (*asymmetric*) ή χειρικό (*chiral*). Μεταφέροντας δύο οποιαδήποτε από τα υποκατάστατα, είναι δυνατό να αναπτυχθούν δυο κατοπτρικές δομές οι οποίες αναφέρονται ως εναντιομερή. Τα μόρια τα οποία δε μπορούν να συμπίσουν με τα κατοπτρικά τους είδωλα είναι χειρικά. [7]

Στην περίπτωση που το χειρικό κέντρο δεν αποτελεί μέρος των δακτυλίων (*rings system*), όπως για παράδειγμα το άτομο άνθρακα στην θέση C20 στα στεράνια, τότε χρησιμοποιούνται δύο πιθανές διαμορφώσεις για την ονοματοδότηση των ενώσεων, οι R και S. Οι διαμορφώσεις αυτές είναι κατοπτρικές και εξαρτώνται από έναν πολύ απλό κανόνα [8], ο οποίος ακολουθεί τρία βήματα:

Βήμα 1: Το μόριο προσανατολίζεται έτσι ώστε το μικρότερο υποκατάστατο να είναι στραμμένο μακριά από τον παρατηρητή και το ασύμμετρο άτομο άνθρακα κοντά σε αυτόν. Έπειτα θεωρείται ότι η διάταξη των υποκατάστατων σχηματίζει το τιμόνι ενός αυτοκινήτου, όπου ο δεσμός μεταξύ του μικρότερου υποκατάστατου και του ασύμμετρου ατόμου C αντιπροσωπεύει τον άξονα του τιμονιού και τα υπόλοιπα τρία τη στεφάνη του τιμονιού.

Βήμα 2: Τα τρία υποκατάστατα κατατάσσονται από το μεγαλύτερο προς το μικρότερο σύμφωνα με τον ατομικό τους αριθμό.

Βήμα 3: Θεωρείται τόξο το οποίο κατευθύνεται από το ανώτερα ταξινομημένο υποκατάστατο προς το κατώτερα ταξινομημένο εκ των τριών που σχηματίζουν τη στεφάνη του τιμονιού. Το ασύμμετρο άτομο άνθρακα βρίσκεται στην διάταξη "R" (*Rectus* = δεξιός) εάν το τόξο ακολουθεί τη φορά των δεικτών του ρολογιού, δεξιόστροφη κατεύθυνση. Στη περίπτωση όμως που το τόξο κατευθύνεται

αριστερόστροφα, αντίθετα από την φορά των δεικτών ρολογιού, τότε ο ασύμμετρος άνθρακας βρίσκεται στη διάταξη “S” (Sinister = αριστερά).

Όμως, αν το χειρικό κέντρο αποτελεί μέρος των δακτυλίων, (π.χ. θέσεις C14 & C17

στερανίων, τότε οι δυο διαμορφώσεις περιγράφονται ως α και β. Για παράδειγμα, το 5α(H), 14β(H), 17β(H), 20S-C29 στεράνιο, το οποίο είναι ένας κορεσμένος υδρογονάνθρακας της ομάδας των στερανίων με 29 άτομα άνθρακα, έχει τη διαμόρφωση S ως προς το C20 άτομο άνθρακα, ενώ τα υδρογόνα στα άτομα άνθρακα 5, 14 και 17 βρίσκονται σε θέσεις α, β και β αντίστοιχα.

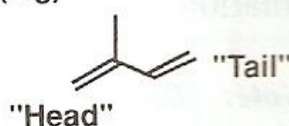
Γενικότερα, η χρήση της ονοματολογίας R και S περιορίζεται για τα άτομα άνθρακα που δεν ανήκουν στο σύστημα δακτυλίων και η ονοματολογία α και β υιοθετείται για την περιγραφή των ασύμμετρων σχηματισμών στα άτομα C των δακτυλίων που βρίσκονται σε φυσικά παραγόμενα χημικές ενώσεις. Για παράδειγμα, το χολεστέριο μπορεί να έχει τις διαμορφώσεις R ή S στη θέση C20 ή τις α ή β στη θέση C14. Ενώσεις όπως, 5α(H), 14α(H), 17α(H)-20R και -20S στεράνια τα οποία διαφέρουν μόνο ως προς την διαμόρφωση ενός ή περισσότερων χειρικών κέντρων ονομάζονται στερεοϊσομερή. [9]

2.5 Τα ισοπρενοειδή

Το ισοπρένιο (μεθυλ-βουταδιένιο) αποτελεί τη βασική δομική μονάδα πολλών βιοδεικτών. Οι ενώσεις που δημιουργούνται με τον ολιγομερισμό ή τον πολυμερισμό του ισοπρενίου ονομάζονται τερπενοειδή, ισοπρενοειδή ή ισοπεντενοειδή. [10]

Όλοι οι ζωντανοί οργανισμοί συνθέτουν ή χρησιμοποιούν τις ενώσεις αυτές. Τα τερπενοειδή δεν αποδομούνται εύκολα στις συνθήκες της διαγένεσης, λόγω του ομοιοπολικού δεσμού C-C στον οποίο στηρίζεται η δομή τους.

Isoprene (C₅)



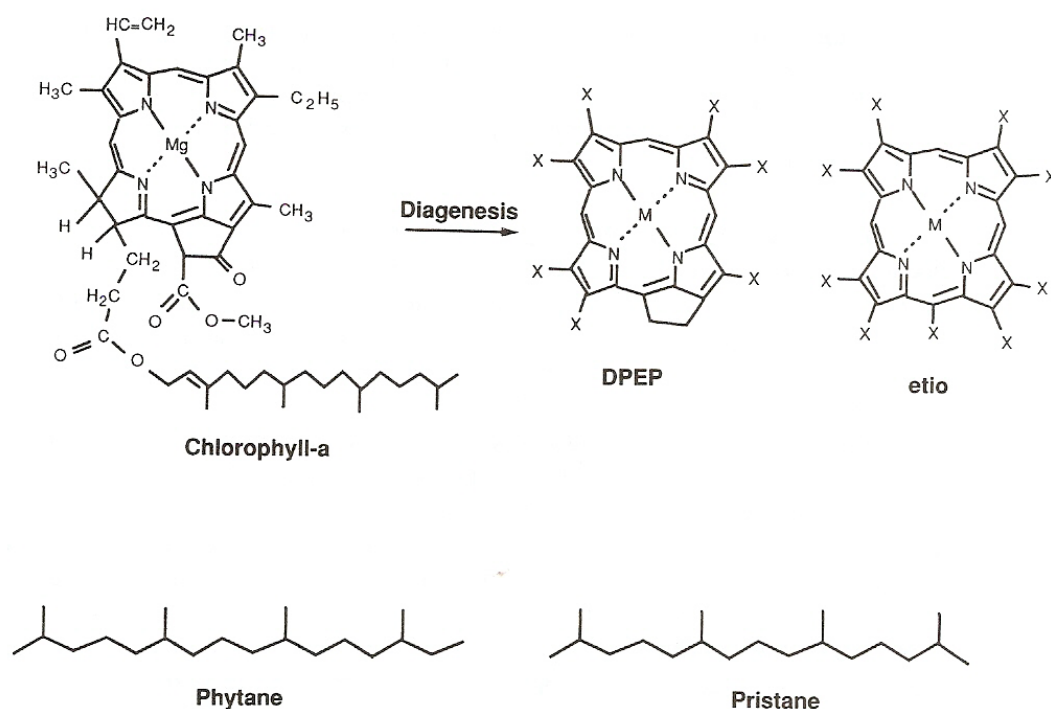
Σχήμα 2.1: Δομή ισοπρενίου

Το ισοπρένιο αποτελεί τη βασική ομάδα πολλών βιοδεικτών και αποτελείται από πέντε άτομα άνθρακα με αποτέλεσμα τη δημιουργία μορίων με αριθμό ατόμων άνθρακα πολλαπλάσιο του πέντε. Προσδιορίζονται με αέρια

χρωματογραφία-φασματοσκοπία μάζας με το θραύσμα m/z 183. Στο Σχήμα 4.2 φαίνεται η δομή του ισοπρενίου. [2] , [7]

2.6 Τα άκυκλα ισοπρενοειδή

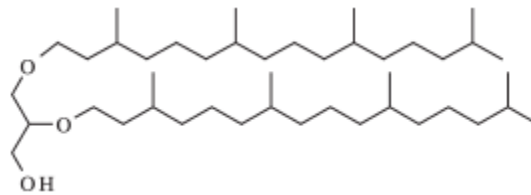
Τα άκυκλα ισοπρενοειδή είναι από τα πλέον διαδεδομένα συστατικά στα ιζήματα και τα πετρέλαια και ο αριθμός ατόμων άνθρακα σ' αυτά κυμαίνεται από 9 έως και 40 [11]. Περισσότερο γεωχημικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν το πριστάνιο (pristane) και το φυτάνιο (phytane). Το πριστάνιο και το φυτάνιο προέρχονται από το φυτύλιο της χλωροφύλλης των φωτότροφων οργανισμών. Ωστόσο, υπάρχουν κι άλλες πιθανές πηγές ισοπρενοειδών όπως βακτηριοχλωροφύλλες, αρχαιοβακτηριδιακά φωσφολιπίδια, τοκοφερόλες από φύκια και πριστάνιο από ζωοπλαγκτόν [12]. Το φυτύλιο, υπό αναγωγικές συνθήκες διασπάται, με αποτέλεσμα μετά από μια σειρά αντιδράσεων να σχηματίζεται το φυτάνιο. Αντίθετα, υπό οξειδωτικές συνθήκες το φυτύλιο οξειδώνεται, αποκαρβοξυλώνεται οπότε σχηματίζεται το πριστάνιο, το οποίο αφού υποστεί αναγωγή δίνει το πριστάνιο. Η αναλογία πριστανίου-φυτανίου (Pr/Ph) χρησιμοποιείται ως δείκτης προέλευσης της οργανικής ύλης των ιζημάτων.



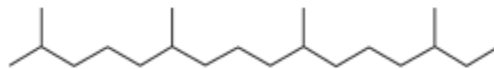
Σχήμα 2.2: Σχηματική μετατροπή της α-χλωροφύλλης σε πριστάνιο και φυτάνιο κατά τη διάρκεια της διαγένεσης

Συγκεκριμένα τα δύο ισοπρενοειδή προέρχονται από το φυτυλικό τμήμα της αλυσίδας της χλωροφύλλης φωτοτροφικών και άλλων οργανισμών.

Ωστόσο έχουν αναφερθεί και άλλες πηγές προέλευσης των δύο ισοπρενοειδών κατά τη διάρκεια της διαγένεσης, πέραν της φυτόλης. Κύριες πηγές σχηματισμού του φυτανίου είναι: οι χλωροφύλλες, οι βακτηριοχλωροφύλλες, τα φωσφολιπίδια και τα φύκη. Η αρχαιόλη (διφυτάνυλο) είναι ο πιο ευρέως αναφερόμενος λιπιδικός πυρήνας των βακτηρίων Archaea, που εμφανίζεται στα κυριότερα βασίλεια των Euryarchaeota και Crenarchaeota και αποτελεί μία σημαντικότερη πηγή φυτανίου.

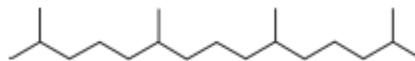


Σχήμα 2.3: Δομή αρχαιόλης



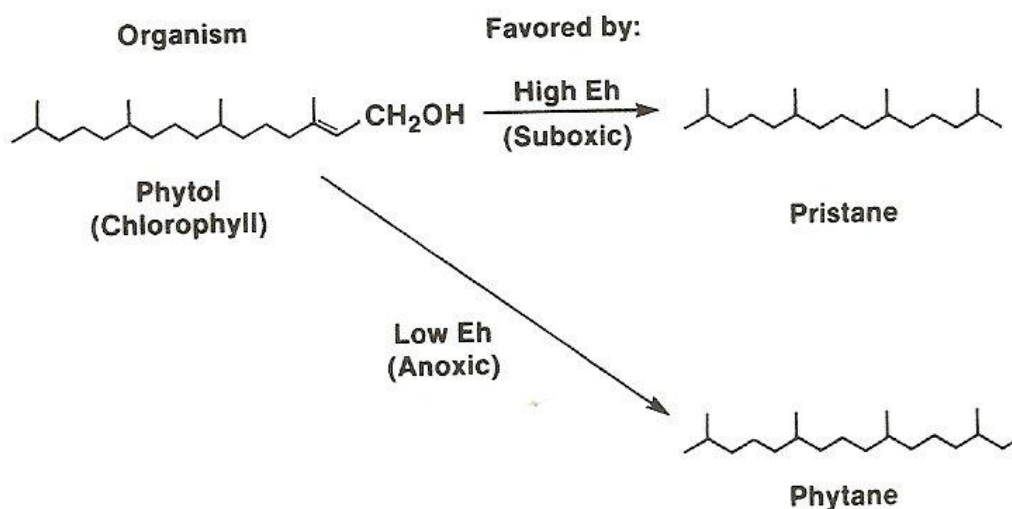
Σχήμα 2.4: Δομή φυτανίου

Για το πριστανίο, η κύρια πηγή σχηματισμού του είναι το ζωοπλαγκτόν. Ωστόσο έχουν αναφερθεί και φυτοπλαγκτονικές πηγές του πριστανίου, όπως είναι οι τοκοφερόλες.



Σχήμα 2.5: Δομή πριστανίου

Ανάλογα με το περιβάλλον διαγένεσης έχουμε τις ακόλουθες μετατροπές:



Σχήμα 2.6: Μετατροπή της φυτόλης ανάλογα με το περιβάλλον εναπόθεσης της οργανικής ύλης

Σε οξειδωτικό περιβάλλον, το φυτυλικό τμήμα της αλυσίδας της χλωροφύλλης παράγει φυτόλη, η οποία οξειδώνεται σε ένα πρώτο στάδιο σε φυτενικό οξύ, που με τη σειρά του αποκαρβοξυλώνεται και σχηματίζει πριστένιο. Τέλος, το παραγόμενο πριστένιο ανάγεται και σχηματίζει το πριστάνιο, σύμφωνα με τις παρακάτω αντιδράσεις:



Σε αναγωγικό περιβάλλον, το φυτυλικό τμήμα της αλυσίδας της χλωροφύλλης παράγει φυτόλη, η οποία ανάγεται σε ένα πρώτο στάδιο σε διϋδροφυτόλη και σε ένα δεύτερο στάδιο σε φυτάνιο:



Συμπερασματικά, ο λόγος Pr/Ph χρησιμοποιείται ως δείκτης για το περιβάλλον εναπόθεσης της οργανικής ύλης. Εάν ο λόγος των δύο συστατικών Pr/Ph είναι μεγαλύτερος του 1 το περιβάλλον εναπόθεσης είναι οξειδωτικό, ενώ τιμές του λόγου μικρότερες της μονάδας υποδεικνύουν αναγωγικό διαγενετικό περιβάλλον. Τα δύο άκυκλα ισοπρενοειδή χρησιμοποιούνται επίσης στη συσχέτιση μεταξύ πετρελαίων.

Επιπλέον πετρέλαια που προέρχονται από χερσαία οργανική ύλη εμφανίζουν υψηλές συγκεντρώσεις ισοπρενοειδών με μακριές αλυσίδες, σε σχέση με πετρέλαια θαλάσσιας προέλευσης. [2]

2.7 Τα κυκλικά ισοπρενοειδή

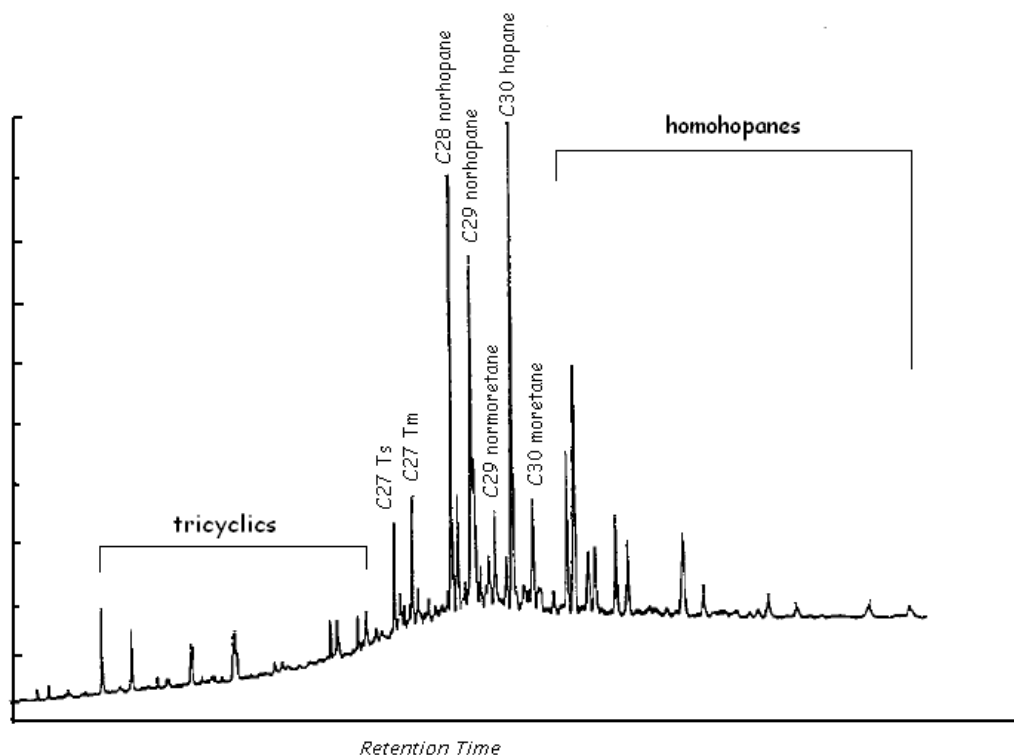
Τα περισσότερα τερπενοειδή με μεγάλο αριθμό ατόμων άνθρακα έχουν κυκλικές δομές (δακτυλίους), οι οποίες μπορεί να είναι κορεσμένες ή ακόρεστες. **[14]** Τα κυκλικά τερπενοειδή που χρησιμοποιούνται συνήθως στις γεωχημικές μελέτες είναι τα τερπάνια. Οι ενώσεις αυτές δε συναντώνται με κορεσμένη δομή στους ζωντανούς οργανισμούς. Αντίθετα προέρχονται από μόρια με παρόμοια δομή κατά τους χημικούς μετασχηματισμούς που λαμβάνουν χώρα κατά τη διαγένεση της οργανικής ύλης. **[15]**

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον στη γεωχημεία του πετρελαίου έχουν τα χοπάνια τριτερπάνια. Τα χοπάνια είναι πεντακυκλικά τερπάνια με 27-35 άτομα άνθρακα στο μόριο τους. Τα τριτερπάνια αποτελούν μια ομάδα ενώσεων που απαντάται ευρέως στην γεώσφαιρα, με χαρακτηριστικό δομικό συστατικό την μονάδα του χοπανίου. Οι ενώσεις αυτές προέρχονται από μικροοργανισμούς και οι πρόδρομες μορφές τους ανιχνεύονται σε βακτηρίδια. Λόγω της πολυμορφίας των οργανισμών που αναπτύσσονται σε διαφορετικά περιβάλλοντα δημιουργούνται αντίστοιχα και πολλές διαφορετικές ομάδες βιοδεικτών τριτερπανίων. Επομένως οι βιοδείκτες αυτοί μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες του περιβάλλοντος διαγένεσης της οργανικής ύλης. **[16]**

Κατά την διάρκεια των διαδικασιών της διαγένεσης και της καταγένεσης, η “βιολογική”, στερεοχημική, πρόδρομη διαμόρφωση των χοπανίων 17β(H), 21β(H)- ή (ββ)-χοπάνια, μετασχηματίζεται σε 17α(H), 21β(H)-χοπάνια ή (αβ)-χοπάνια και τα 17β(H), 21α(H)-μορετάνια (moretanes) ή χάριν συντομίας (βα)-χοπάνια. Οι τρεις αυτές διαμορφώσεις αποτελούν τις βασικότερες και περισσότερο γνωστές σειρές χοπανίων που απαντώνται συνήθως στα ιζήματα και τα πετρέλαια. **[7]**

Τα συνηθέστερα στη χημεία του πετρελαίου χοπάνια απεικονίζονται στο χρωματογράφημα μάζας m/z 191 των κορεσμένων υδρογονανθράκων, (Εικόνα 2.7).

Συνήθως, τα πιο ευδιάκριτα αυτών είναι τα C29 και C30 χοπάνια, όπως επίσης και τα αντίστοιχα μορετάνια. **[17]**



Σχήμα 2.7: Τα σημαντικότερα χοπανοειδή που διακρίνονται στο φάσμα ιόντος m/z 191.[18]

Πρόκειται για ενώσεις των οποίων η εμφάνιση σε ένα πετρέλαιο ή συμπύκνωμα είναι καθοριστική. Συγκεκριμένα, η αναλογία των συγκεντρώσεων των μορετανίων προς τα αντίστοιχα χοπάνια, C29-μορετάνια προς C29-χοπάνια ή C30-μορετάνια προς C30-χοπάνια, είναι δυνατό να δώσει πληροφορίες για τον βαθμό ωριμότητας του δείγματος. Τα μορετάνια ή (βα)-χοπάνια, είναι λιγότερο σταθερά ως διαστερεομερή των χοπανίων και για αυτό καταστρέφονται πολύ γρηγορότερα με την αύξηση του βαθμού ωρίμανσης.

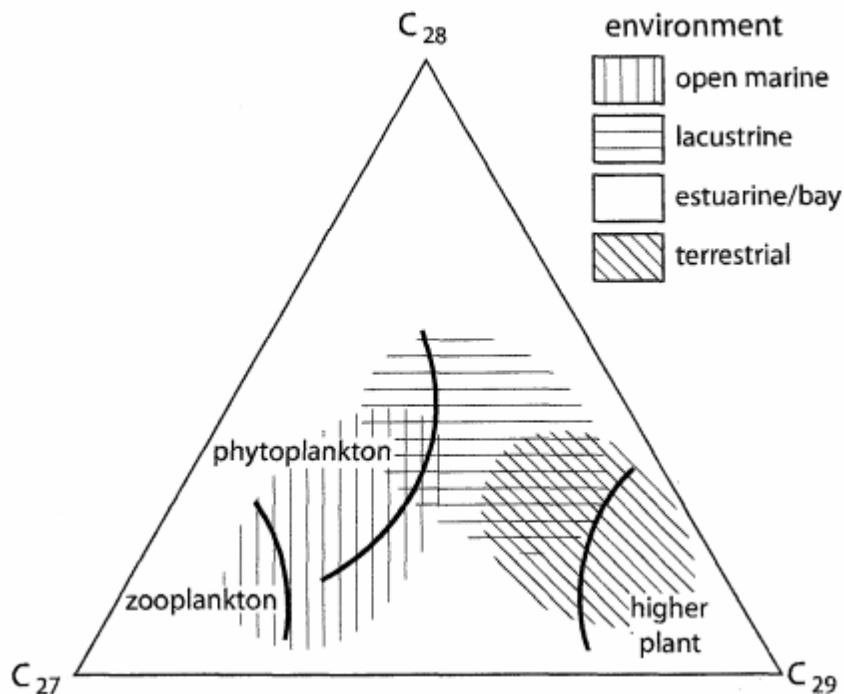
Τα περισσότερα τερπενοειδή με μεγάλο αριθμό ατόμων άνθρακα έχουν κυκλικές δομές, οι οποίες μπορεί να είναι κορεσμένες ή ακόρεστες. Τους γεωχημικές μελέτες χρησιμοποιούνται οι κορεσμένοι υδρογονάνθρακες, τα τερπάνια. Οι ενώσεις αυτές δεν συναντώνται με κορεσμένη δομή τους ζωντανούς οργανισμούς, αλλά προέρχονται από μόρια με παρόμοια δομή κατά τους χημικούς μετασχηματισμούς που λαμβάνουν χώρα στη διαγένεση.[2]

2.8 Τα στεράνια

Τα στεράνια είναι υδρογονάνθρακες, οι οποίοι προήλθαν από στερόλες C27-C30, οι οποίες βρίσκονται στους ανώτερους φυτικούς οργανισμούς (ευκαριωτικοί οργανισμοί). [19] Η ομοιότητα της δομής μιας πρόδρομης μορφής στερόλης, με το αντίστοιχο στεράνιο δημιουργείται από αυτή κατά τη διαγένεση.

Τα στεράνια χρησιμοποιούνται κυρίως στην αξιολόγηση πετρελαίων και μητρικών πετρωμάτων ως προς την ποιότητα της οργανικής ύλης, ως δείκτες ωριμότητας και στη συσχέτιση πετρελαίων. Συναντώνται στα ιζήματα με τρεις βασικές δομές: τα κανονικά στεράνια (regular or rearranged steranes), τα διαστεράνια (diasteranes) και τα μεθυλ-στεράνια. Τα γεωλογικά δείγματα περιέχουν στεράνια στην περιοχή C26 έως C30, με τυπικότερα τα C27, C28 και C29.

Ο δείκτης αυτός εκφρασμένος ως σχετική συγκέντρωση των επιμέρους στερανίων (C27, C28, C29) αποτελεί ένδειξη του είδους της οργανικής ύλης, από την οποία προέρχονται και μπορεί να δώσει πληροφορίες για το περιβάλλον γένεσης. Χρησιμοποιείται ακόμα στη συσχέτιση μεταξύ πετρελαίων και πετρελαίων με μητρικά πετρώματα. Η αξιολόγηση γίνεται με βάση τα τριγωνικά διαγράμματα, στα οποία απεικονίζεται η σχετική συγκέντρωση των C27, C28, C29 στερανίων. Στο Σχήμα 2.8 φαίνεται η συσχέτιση του αριθμού των ατόμων άνθρακα των στερανίων με το οικοσύστημα. Η υπεροχή των C29 στερανίων υποδεικνύει χερσογενή οργανική ύλη, ενώ η υπεροχή των C27 συσχετίζεται με οργανική ύλη από θαλάσσιο φυτοπλαγκτόν. Υψηλές τιμές των C28 στερανίων δείχνουν λιμναία βλάστηση. Η χρήση του διαγράμματος αυτού δεν οδηγεί σε ασφαλή συμπεράσματα, διότι έχει αποδειχθεί ότι σε ιζήματα θαλάσσιας προέλευσης υπερτερούν τα C29 στεράνια. [20], [7], [2]



Σχήμα 2.8 Συσχέτιση αριθμού ατόμων άνθρακα στερανίων και οικοσυστήματος (Πασαδάκης, Γεωχημεία Πετρελαίου, 2007).

Η δομή των στερανίων εμφανίζει αρκετά χειρικά κέντρα, επιτρέποντας την ύπαρξη μεγάλου αριθμού ισομερών. Τα σημαντικότερα, από γεωλογική άποψη, κέντρα στερεοϊσομέρειας είναι τα C-5, C-14, C-17 και το C-20 στην παράπλευρη υδρογονανθρακική. [7] Τα χειρικά κέντρα στους δακτυλίους δίνουν τρεις στερεοϊσομερείς δομές που έχουν εντοπιστεί στη γεώσφαιρα:

- 5β(H), 14α(H), 17α(H)
- 5α(H), 14α(H), 17α(H)
- 5α(H), 14β(H), 17β(H)

Το χειρικό κέντρο στο C-20 επιτρέπει στερεοϊσομερείς δομές 20S και 20R. Στα ανώριμα δείγματα τα κανονικά στεράνια βρίσκονται στη μορφή 5α(H), 14α(H), 17α(H)-20R ενώ σε πολύ μικρότερες συγκεντρώσεις συναντώνται τα ισομερή 5α(H), 14α(H), 17α(H)-20S και 5α(H), 14β(H), 17β(H)-20R και 20S. Με την συνεχή αύξηση του βαθμού ωρίμανσης, επέρχεται ισομερισμός στις θέσεις C-14, C-17 και C-20. Έτσι λοιπόν, τα 5α(H), 14α(H), 17α(H) στεράνια ισομερίζονται και δίνουν σχεδόν ισότιμες συγκεντρώσεις των 20R και 20S στερεομερών, μέχρι που στα ώριμα ιζήματα το ποσοστό των 20S αυξάνει και τα ποσοστά των δυο στερεομερών υπολογίζονται περίπου, 45% 20R και 55% 20S. Μόλις επιτευχθεί αυτό, η τιμή του λόγου (20S)/(20R) παραμένει σταθερή στην τιμή 1.1. Σε μερικές περιπτώσεις όμως, όπως αυτές των πολύ ώριμων ιζημάτων φαίνεται να φθίνει λαμβάνοντας την τιμή 0.7. Παράλληλα, ισομερίζονται και τα 5α(H), 14β(H), 17β(H) στεράνια, δίνοντας εξίσου ισοδύναμες συγκεντρώσεις των 20R και 20S διαμορφώσεων. Στην συνέχεια, ανάλογα με την εξέλιξη της ωρίμανσης τα 5α(H), 14β(H), 17β(H) [ή (ββ)] στεράνια βαθμιαία επικρατούν των 5α(H), 14α(H), 17α(H) [ή (αα)] στερανίων, με μια αναλογία της τάξης 3:1, η οποία είναι και η μέγιστη τιμή για τα ώριμα δείγματα.

2.9 Διαστεράνια

Τα αναδιευθετημένα στεράνια (rearranged steranes) ή απλούστερα τα διαστεράνια (diasteranes), πιστεύεται ότι, σχηματίσθηκαν στο αρχικό στάδιο της διαγένεσης. Συγκεκριμένα, προέρχονται από στεράνια που στην συνέχεια διαμορφώθηκαν σε στερένια (sterenes) από καταλυτική δράση οξέων, τα οποία εμφανίστηκαν λόγω της παρουσίας αργίλων. Συναντώνται κυρίως, με τη στερεοχημεία 13β(H), 17^α(H), ενώ διαστεράνια με διαμόρφωση 13α(H), 17β(H) απαντώνται σε ασήμαντες ποσότητες. Γενικότερα, τα διαστεράνια απουσιάζουν, ή βρίσκονται σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, σε δείγματα που έχουν παραχθεί από ανθρακικά πετρώματα, ενώ εμφανίζονται σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις σε πετρέλαια των οποίων τα μητρικά πετρώματα είναι

κλαστικά. Επιπλέον θεωρούνται περισσότερο υ945 ανθεκτικά κατά την βιοαποδόμηση απ' ότι τα κανονικά στεράνια.

2.10 Μεθυλστεράνια

Τα 4-μεθυλστεράνια (4-methylsteranes), C26-στεράνια, συναντώνται σε ιζήματα και πετρώματα της Μεσοζωικής εποχής αλλά και νεότερης. Η κατανομή τους (C26 στεράνια) στα πετρώματα, εξαρτάται από το οργανικό υλικό από το οποίο προήλθαν, αλλά και από τον βαθμό ωρίμανσης. Το περισσότερο γνωστό από τα 4-μεθύλστεράνια είναι το C30, το οποίο εμφανίζεται μόνο σε δείγματα θαλάσσιων ιζημάτων.

2.11 Πεντακυκλικά τριτερπάνια – Χοπάνια

Χοπάνια καλούνται τα πεντακυκλικά τριτερπάνια με 27-35 άτομα C σε ναφθενική δομή που αποτελείται από τέσσερις εξαμελείς δακτυλίου και ένα πενταμελή. Η σειρά των χοπανίων είναι αρκετά μεγάλη, περιλαμβάνοντας 150 περίπου μέλη από διάφορα είδη ιζηματογενούς οργανικής ύλης. Τα σημαντικότερα μέλη είναι:

- C29 και C30 17α(H) που δεν έχουν ασύμμετρο άτομο άνθρακα
- C31 και C40 17α(H) χοπάνια που έχουν ασύμμετρο άτομο άνθρακα στον
- C22 κι έτσι έχουμε αριστερόστροφα χοπάνια C22S και δεξιόστροφα χοπάνια
- C22R, άρα έχουμε επιμερισμό. Αυτά τα χοπάνια ονομάζονται ομοχοπάνια ή εκτεταμένα χοπάνια (extended hopanes).

2.12 Συνηθέστερα χοπανοειδή

Πίνακας 2.2: Κυριότερα χοπανοειδή

ΕΝΩΣΗ	ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΤΥΠΟΣ
18α(H)-22,29,30- Τρισ-νορ-νεοχοπάνιο, Ts	C ₂₇ H ₄₆
17α(H)-22,29,30-Τρισνορχοπάνιο, Tm	C ₂₇ H ₄₆
17α(H), 18α(H), 21β(H)-28, 30-Δισνορχοπάνιο	C ₂₈ H ₄₈
17α(H), 21β(H)-30-Νορχοπάνιο	C ₂₉ H ₅₀
17α(H), 21β(H)-χοπάνιο	C ₃₀ H ₅₂
17β(H), 21α(H)-Μορετάνιο	C ₃₀ H ₅₂
17α(H), 21β(H)-30-Ομοχοπάνιο	C ₃₁ H ₅₄

17α(H), 21β(H)-30, 31-Δισομοχοπάνιο	C ₃₂ H ₅₆
17α(H), 21β(H)-30, 31, 32-Τρισομοχοπάνιο	C ₃₃ H ₅₈
17α(H), 21β(H)-30, 31, 32, 33-Τετραομοχοπάνιο	C ₃₄ H ₆₀
17α(H), 21β(H)-30, 31, 32, 33, 34-Πεντομοχοπάνιο	C ₃₅ H ₆₂

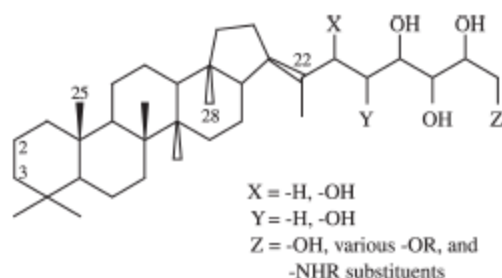
Τα κυριότερα μη χοπανοειδή είναι το γαμμακεράνιο που απαντάται στα πρωτόζωα και το ολεανάνιο που απαντάται υπό τη μορφή ολεανίνης στα αγγειόσπερμα τα οποία παράγουν ρητίνη. Στην ομάδα των μη χοπανοειδών ανήκουν και το ουρσάνιο (φυτά), το λουπάνιο (φυτά) και το αρμποράνιο (φυτά).

Πίνακας 2.3: Κυριότερα μη χοπανοειδή

ΕΝΩΣΗ	ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΤΥΠΟΣ
Γαμμακεράνιο	C ₃₀ H ₅₂
18α(H)-Ολεανάνιο	C ₃₀ H ₅₂

Τα χοπάνια αποτελούν τους πλέον συνήθεις βιοδείκτες στο πετρέλαιο και προέρχονται από μικροοργανισμούς, ενώ οι πρόδρομες μορφές τους τα ``χοπανοειδή`` ανιχνεύονται σε βακτήρια, κυανοβακτήρια (μπλε-πράσινα φύκη), καθώς και σε ανώτερα φυτά όπως οι φτέρες, ενώ απουσιάζουν από φύκη. Συγκεκριμένα οι χοπανοειδείς πρόδρομοί τους είναι συνήθως συστατικά μεμβρανών (χοπανοειδή) τα οποία είναι ανθεκτικά στην αποικοδόμηση κατά τη διάρκεια του σταδίου της διαγένεσης. Ως εκ τούτου το πιο σταθερό C₃₀ ισομερές, 17(α)H, 21(β)H-χοπάνιο, μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν δείκτης για τη βιοαποδόμηση αργών πετρελαίων. Τα χοπανοειδή βρίσκονται σε επιλεκτικές ομάδες βακτηρίων από τα οποία όλα είναι αερόβια. Στην πραγματικότητα, τα χοπανοειδή αναγνωρίστηκαν σαν χημικά ορυκτά καύσιμα γεωτρήσεων, πολύ πριν διαπιστωθεί η βακτηριακή τους προέλευση. Απαντώνται ως συστατικά ιζηματογενούς οργανικής ύλης και πετρελαίου όλων των γεωλογικών περιόδων.

Σε γενικές γραμμές είναι αποδεκτό ότι τα χοπάνια προέρχονται από το C₃₀-χοπανοειδές, το διπλοπτένιο, ή από την πρόδρομη C₃₅-βακτηριοχοπανοτετρόλη, που αποτελεί προϊόν κυκλοποίησης των σκουαλενίων. Οι λειτουργικές ομάδες όλων των χοπανοειδών στα βακτήρια είναι οι αμφιφιλικές βακτηριοχοπανοπολυόλες (BHP).

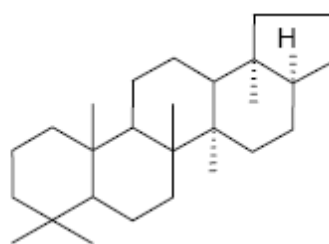


Σχήμα 2.9: Δομή βακτηριοχοπανοπολυολών

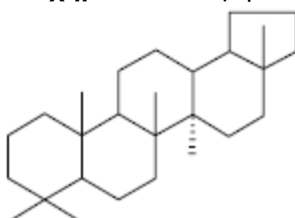
Πέραν της παράδοξης εύρεσης της BHP μόνο σε αερόβια βακτήρια, υπάρχουν ενδείξεις σύμφωνα με τις οποίες η σύνθεση των χοπανοειδών θα μπορούσε να γίνει και παρουσία αναερόβιων βακτηρίων. Γενικά χρησιμοποιούνται στις διάφορες ερευνητικές μελέτες ως δείκτες της πηγής ιζηματογένεσης, για τη συσχέτιση πετρελαίου-πετρελαίου και πετρελαίου-μητρικού πετρώματος καθώς και σαν δείκτες ωρίμανσης. [17] , [7]

2.13 Δείκτες χοπανίων. Δείκτης Ts/ (Ts+Tm)

Οι σημαντικότεροι δείκτες των χοπανίων που μελετώνται στα πετρέλαια είναι ο δείκτης Tm ο οποίος είναι ένα 17α(H)-22,29,30 Τρισ-νορ-νεοχοπάνιο που σχηματίζεται με τον ίδιο τρόπο που σχηματίζονται και τα υπόλοιπα χοπάνια, ενώ ο δείκτης Ts είναι ένα 18α(H)-22,29,30 Τρισ-νορ-νεοχοπάνιο και προέρχεται από μία εναλλακτική πηγή οργανικής ύλης. [17]



Σχήμα 2.10: Δομή Tm



Σχήμα 2.11: Δομή Ts

Ο συγκεκριμένος δείκτης προσδιορίζεται από τον λόγο:

$$\frac{T_s}{T_m} = \frac{18\alpha(H) - 22, 29, 30 - \text{τρισνορνεο χοπάνιο}}{17\alpha(H) - 22, 29, 30 - \text{τρισνορχοχοπάνιο}}$$

Η συγκέντρωση του T_m επηρεάζεται από μεταβολές της θερμικής ωρίμανσης ενώ το T_s είναι ενδεικτικό της πηγής της οργανικής ύλης και παραμένει σταθερός στις θερμικές μεταβολές. Ως εκ τούτου ο δείκτης αυξάνεται με την αύξηση της θερμικής ωρίμανσης και την αύξηση του βάθους ενταφιασμού. Ωστόσο θα πρέπει να χρησιμοποιείται με προσοχή και πάντοτε σε συνδυασμό και με άλλους δείκτες. [7]

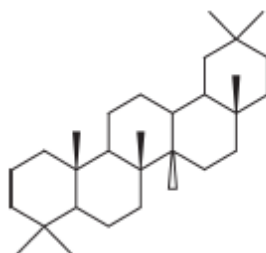
Επιπρόσθετα, ο λόγος επηρεάζεται και από την λιθολογία του μητρικού πετρώματος, καθώς και από το περιβάλλον εναπόθεσης. Τιμές του δείκτη μικρότερες της μονάδας επιβεβαιώνουν λιμναίο/αλατώδες θαλάσσιο εβαποριτικό ή θαλάσσιο ανθρακικό περιβάλλον εναπόθεσης, αντίθετα τιμές μεγαλύτερες της μονάδας υποδεικνύουν λιμναίο (φρέσκου νερού) ή θαλάσσιο δελταϊκό περιβάλλον με αυξημένη αλατότητα. [21]

Οι παραπάνω δείκτες μειώνονται επίσης σε ανοξικά περιβάλλοντα, ενώ αυξάνονται με την αύξηση της θερμικής ωρίμανσης.

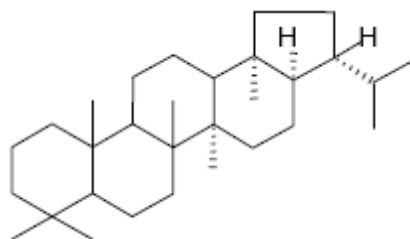
Κατά τον υπολογισμό αυτό του λόγου υπάρχουν αλληλεπικάλυψης των T_s , T_m με άλλα τρικυκλικά και τετρακυκλικά τερπάνια στο $m/z=191$. Για το λόγο αυτό και το θραύσμα $m/z=370$. [7]

2.14 Δείκτης ολεανανίου

Το 18α(H)-ολεανάνιο είναι ένα πεντακυκλικό τριτερπάνιο το οποίο προέρχεται από βιτουλινέλαια και άλλα πεντακυκλικά τριτερπάνια των αγγειόσπερμων που άρχιζαν να επικρατούν στο άνω Κρητιδικό.



Σχήμα 2.12: Δομή Ολεανανίου [22]



Σχήμα 2.13: Δομή C30 Χοπανίου [7]

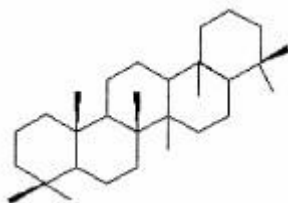
Ο συγκεκριμένος δείκτης ολεανανίου υπολογίζεται από το λόγο:

$$= \frac{18a(H) - \text{ολεανάνιο}}{C30 - 17a(H), 21b(H) - \text{χοπάνιο}}$$

Ανιχνεύεται κυρίως από το ιόν $m/z=191$ και η παρουσία του θεωρείται δείκτης ύπαρξης ανώτερων φυτών που εναποτέθηκαν σε δελταϊκό περιβάλλον άνω κρητιδικής ή νεότερης ηλικίας. [21] , [23] Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί και για σύγκριση δειγμάτων με διαφορετική θερμική ωρίμανση, καθώς εμφανίζεται σε ανώριμα βιτουμένια και πετρέλαια. [7]

2.15 Δείκτης γαμμακερανίου

Το γαμμακεράνιο είναι ένα C30 πεντακυκλικό τριτερπάνιο που προέρχεται πιθανότητα από την αναγωγή της τετραχυμανόλης, ενός λιπιδίου που αντικαθιστά τα στεροειδή στις μεμβράνες ορισμένων πρωτόζωων, φωτοτροφικών βακτηρίων και άλλων οργανισμών. [7]



Σχήμα 2.14: Δομή γαμμακερανίου [22]

Το γαμμακεράνιο είναι το μόνο πεντακυκλικό τριτερπάνιο που εμφανίζεται στα ζώα και η έλλειψη του μπορεί να σημαίνει έλλειψη οργανικής ύλης προερχόμενης από ζώα. [53] Ανιχνεύεται από το ιόν $m/z=191$, επειδή όμως υπάρχει η πιθανότητα αλληλεπικάλυψής του με άλλα τερπάνια, γίνεται πιο αξιόπιστη ποιοτική και ποσοτική ανίχνευση του σε $m/z=412$. [7]

Ο δείκτης γαμμακερανίου υπολογίζεται από το λόγο:

$$\frac{\text{Γαμμακεράνιο}}{C30 - 17a(H), 21b(H) - \text{χοπάνιο}}$$

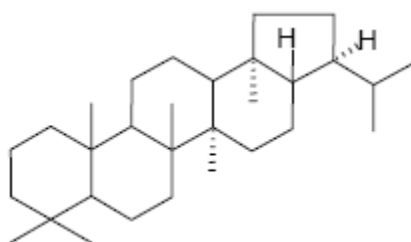
Μαζί με το β-καροτένιο και τα άλλα καροτενοειδή αποτελεί κύριο βιοδείκτη για λιμναία περιβάλλοντα. Η ύπαρξή του σε υψηλές συγκεντρώσεις υποδεικνύει υψηλά αναγωγικό υπεραλατώδες περιβάλλον εναπόθεσης. [23] Ωστόσο δεν παράγουν όλα τα υψηλής αλατότητας μητρικά πετρώματα, πετρώματα με υψηλές συγκεντρώσεις γαμμακερανίου. [17] Χρησιμοποιείται επίσης και σαν δείκτης θαλάσσιου εβαποριτικού ή ασβεστολιθικού περιβάλλοντος γένεσης. [21], [24]

2.16 Δείκτης μορετανίου

Υπολογίζεται από τον λόγο:

$$= \frac{(\alpha\beta) \text{ μορετάνια}}{(\alpha\beta) \text{ χοπάνια} + (\beta\beta) \text{ χοπάνια}}$$

Ο συγκεκριμένος δείκτης αποτελεί δείκτη ωρίμανσης. Τα μορετάνια μειώνονται σε σχέση με τα χοπάνια με την αύξηση της θερμικής ωρίμανσης. Ο λόγος παίρνει τιμή ~0.8 για ανώριμα πετρώματα, ενώ μειώνεται σε 0.15 για ώριμα. [7]



Σχήμα 2.15: Δομή μορετανίου [25]

Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι τιμές του δείκτη από 0.1-0.3 αποδίδονται σε μητρικά πετρώματα τριτογενούς ηλικίας, ενώ αρκετά μικρές τιμές του δείκτη <0,1 αποδίδεται σε οργανική ύλη παλαιότερων πετρωμάτων. [7]

Επιπλέον ο συγκεκριμένος λόγος εξαρτάται από το είδος του μητρικού πετρώματος, όπως και το περιβάλλον ιζηματογένεσης. Αποτελεί επίσης δείκτη μητρικού πετρώματος. Μη θαλάσσια ιζήματα που έχουν αποθεθεί σε περιβάλλον υψηλής αλατότητας τείνουν να έχουν υψηλή αφθονία μορετανίων σε σχέση με θαλάσσια ιζήματα ίδιας ωρίμανσης. [21] , [23]

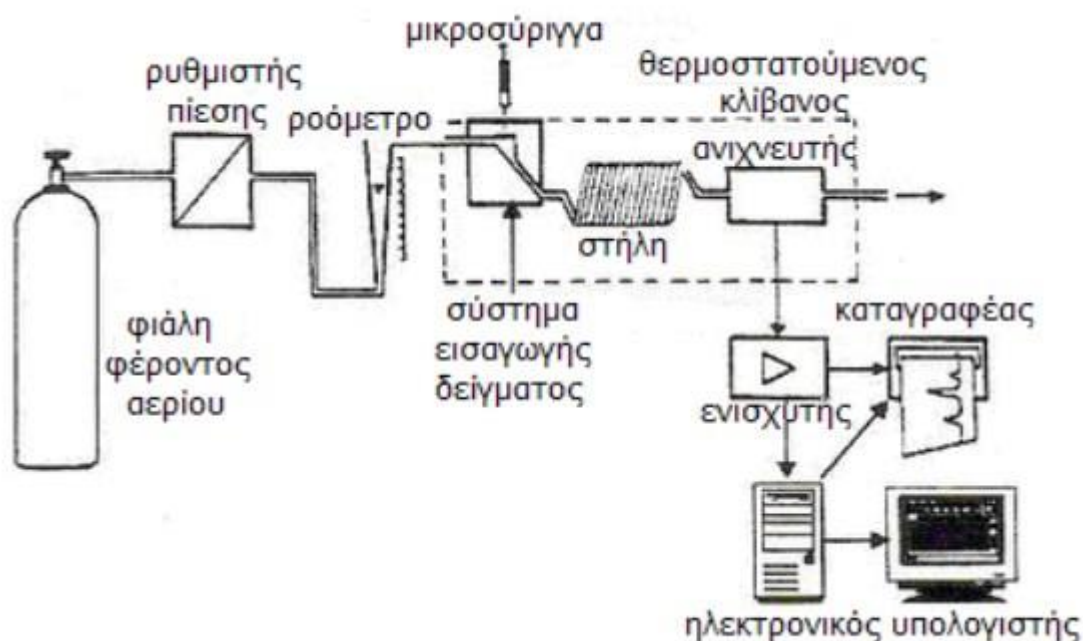
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

Αέρια χρωματογραφία- Φασματοσκοπία μάζας GC-MS

3.1 Περιγραφή μεθόδου

Η αέρια χρωματογραφία αναπτύχθηκε ως αναλυτική τεχνική τα τελευταία πενήντα χρόνια. Η τεχνική αυτή είναι σχετικά απλή και χρησιμοποιείται για την ανάλυση πτητικών ουσιών σε τρόφιμα, φάρμακα, προϊόντα πετρελαίου κ.λπ.

Αναφέρεται στο διαχωρισμό των συστατικών ενός δείγματος ανάμεσα σε μια κινητή και μια στάσιμη φάση, η οποία μπορεί να είναι ένα στερεό προσροφητικό υλικό ή ένα υγρό σε μορφή λεπτού υμένα. Στο Σχήμα 3.1 φαίνεται η διάταξη του αέριου χρωματογράφου.



Σχήμα 3.1: Σχεδιάγραμμα διάταξης αέριου χρωματογράφου

Οι στήλες διακρίνονται σε πεπληρωμένες και τριχοειδείς, έχουν μεγάλο μήκος, μικρό πάχος και βρίσκονται μέσα σε θερμοστατούμενο κλίβανο. Στη μία άκρη τους εισάγεται το δείγμα με μικροσύριγγα και στην άλλη άκρη τους έχει συνδεθεί ένας ανιχνευτής, ο οποίος ταυτοποιεί τα συστατικά του μίγματος, καθώς αυτά εξέρχονται από την χρωματογραφική στήλη. Συνήθως αφού διαλυτοποιηθεί το δείγμα στον κατάλληλο διαλύτη, εισάγεται με σύριγγα στον εισαγωγέα, που βρίσκεται σε υψηλή θερμοκρασία (280°C) και εξατμίζεται. Τα συστατικά του δείγματος συμπαρασύρονται από ρεύμα του φέροντος αδρανούς αερίου (ηλίου ή αζώτου) κατά μήκος της στήλης και διαχωρίζονται.

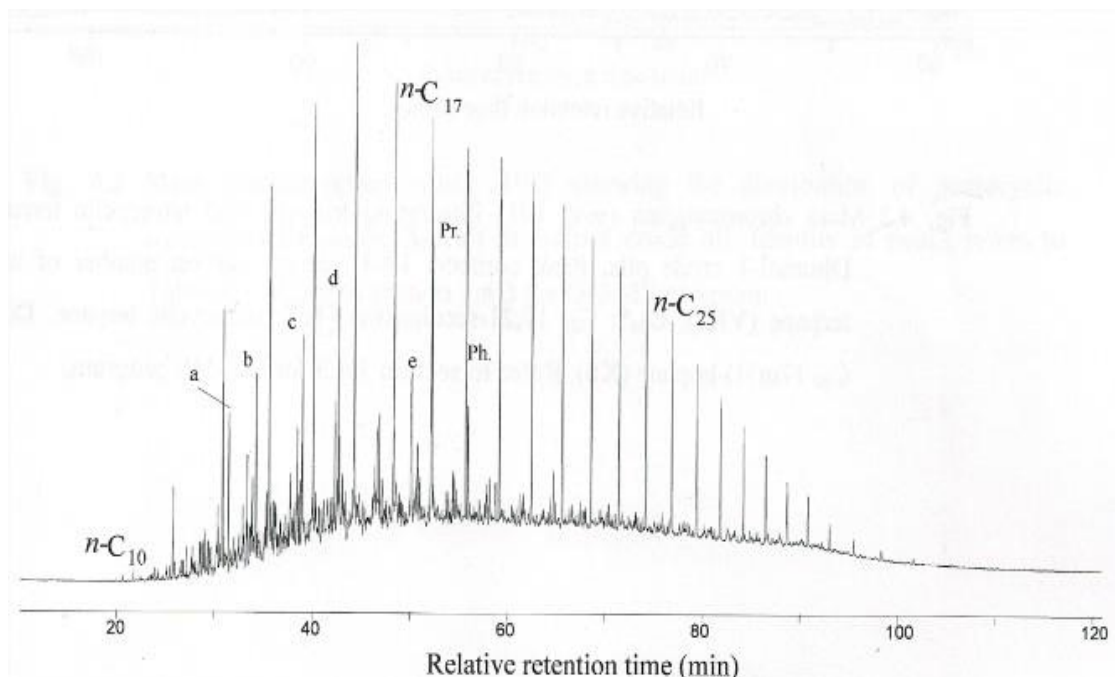
Οι αισθητά διαφορετικές ταχύτητες ροής που κινούνται τα συστατικά καθώς και το φέρον αέριο επηρεάζουν σημαντικά την διαδικασία διαχωρισμού τους. Οι ταχύτητες αυτές, εξαρτώνται κυρίως από παράγοντες όπως η τάση ατμών των συστατικών και η διαλυτότητά τους στην υγρή φάση.

Ως φέρον αέριο μπορεί να χρησιμοποιηθεί κάθε αέριο σε υπερκάθαρη κατάσταση, το οποίο μπορεί να διαφοροποιηθεί στον ανιχνευτή, από τα διάφορα συστατικά του μίγματος. Το φέρον αέριο πρέπει να είναι αδρανές και απαλλαγμένο από προσμίξεις. Επίσης δεν πρέπει να περιέχει οξυγόνο, γιατί οξειδώνει τη στατική φάση και αυτό σημαίνει καταστροφή της στήλης, ιδιαίτερα όταν αυτή είναι τριχοειδής και η ποσότητα της στατικής φάσης είναι ελάχιστη. Ίχνη υγρασίας επίσης απενεργοποιούν τη στατική φάση, για αυτό το φέρον αέριο πρέπει να είναι απαλλαγμένο από υγρασία. Η επιλογή του φέροντος αερίου εξαρτάται κυρίως από τον τύπο του ανιχνευτή που χρησιμοποιείται. **[26]**

Κατά τη διάρκεια της ανάλυσης η θερμοκρασία μπορεί να αυξάνεται σταδιακά για να επιταχύνονται έτσι τα βαρύτερα και τα λιγότερο πτητικά συστατικά με αποτέλεσμα και τα ελαφριά και τα βαρύτερα να περνούν από τη στήλη σε ένα λογικό χρόνο. Καθώς οι ενώσεις εξέρχονται από τη στήλη ο ανιχνευτής τα αναγνωρίζει και καταγράφει σήμα ανάλογο με τη συγκέντρωσή τους. Η κάθε κορυφή αντιπροσωπεύει μια ένωση και το σύνολο των κορυφών ενός δείγματος αποτελούν το αέριο χρωματογράφημα του δείγματος.

Η φασματοσκοπία μαζών (mass spectrometry) αποτελεί μια από τις σημαντικότερες μεθόδους προσδιορισμού δομής και μοριακού βάρους των οργανικών ενώσεων. Τα μεταγενέστερα συστήματα φασματοσκοπίας μαζών έχουν νέα συστήματα κενού, ποικίλες τεχνικές ιονισμού, μεγάλη διαχωριστική χρωματογραφική ικανότητα, αναλυτές απλής και διπλής εστίασης, θραυσματοποίηση και υψηλής ποιότητας διαχωρισμό μοριακών θραυσμάτων και ποικιλία ανιχνευτών (διαφορικός, υπεριώδους-ορατού, φθορισμού, ηλεκτροχημικός, κ.λπ.) . Η καταγραφή του φάσματος γίνεται με εξαιρετική ακρίβεια, επιδέχεται διορθώσεις και με τεράστιες βάσεις δεδομένων μπορεί να πραγματοποιηθεί σύγκριση της αναζητούμενης δομής των οργανικών ενώσεων που αναλύει. Η νέα τεχνολογία της συζευγμένης φασματοσκοπίας μαζών ή δίδυμης φασματοσκοπίας (tandem LC-MS-MS) με τετραπολικό αναλυτή μαζών (TSQ, Triple Stage Quadrupole) έχει βελτιώσει σημαντικά την ανάλυση θραυσμάτων πολικών ενώσεων.

Η ταυτοποίηση των ενώσεων γίνεται με σύγκριση του χρωματογραφήματος με άλλα πρότυπων δειγμάτων. Σε ό,τι αφορά τον ποσοτικό προσδιορισμό των ενώσεων κάθε δείγματος, αυτό πραγματοποιείται μετρώντας το εμβαδόν κάτω από κάθε κορυφή. Με βάση τα αέρια χρωματογραφήματα υπολογίζονται τα εμβαδά των κανονικών αλκανίων (n-alkanes) που υπήρξαν οι πρώτες ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ως βιοδείκτες. Από αυτά τα εμβαδά υπολογίζονται βασικοί γεωχημικοί δείκτες. **[27]**
[7] , [2]



Σχήμα 3.2: Χρωματογράφημα Αλκανίων και Ισοπρενοειδών

3.2 Ταυτοποίηση χημικών ενώσεων

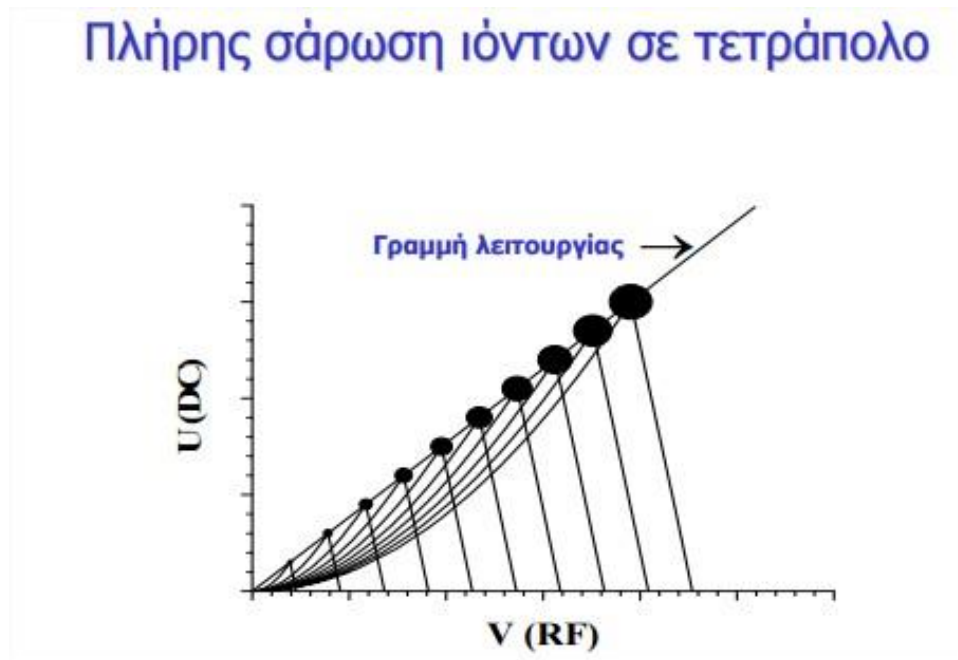
Η Αέρια Χρωματογραφία-Φασματοσκοπία Μάζας αποτελεί την αποτελεσματικότερη αναλυτική μέθοδο στη μελέτη των βιοδεικτών. Είναι ο διαχωρισμός των συστατικών του κλάσματος των κορεσμένων με αέρια χρωματογραφία, ανίχνευση και ποσοτικοποίησή του με φασματογραφία μάζας.

Η ταυτοποίηση των χημικών ενώσεων πραγματοποιείται μέσω της διάσπασής τους σε ηλεκτρικά φορτισμένα ιόντα. Η διάσπαση κάθε ένωσης εξαρτάται από την χημική δομή της και δίνει μόνο ένα μοναδικό αποτύπωμα ιόντων, που είναι χαρακτηριστικό για αυτή.

Καθώς η ένωση εισάγεται στην πηγή ιονισμού του φασματογράφου βομβαρδίζεται από μια δέσμη ηλεκτρονίων. Έτσι επιτυγχάνεται ο ιονισμός της ένωσης σχηματίζοντας ένα θετικά φορτισμένο μοριακό ιόν, το οποίο έχει το ίδιο βάρος με την αρχική ένωση αλλά και μικρότερα θραύσματα (fragments). Τα ιόντα επιταχύνονται στη συνέχεια σε συνθήκες κενού με τη βοήθεια ηλεκτρομαγνητικού πεδίου. Η διαδρομή του κάθε ιόντος στον αναλυτή καθορίζεται από την τιμή της αναλογίας μάζας προς φορτίο (m/z), που έχει το κάθε θραύσμα και από την ένταση του ηλεκτρομαγνητικού πεδίου.

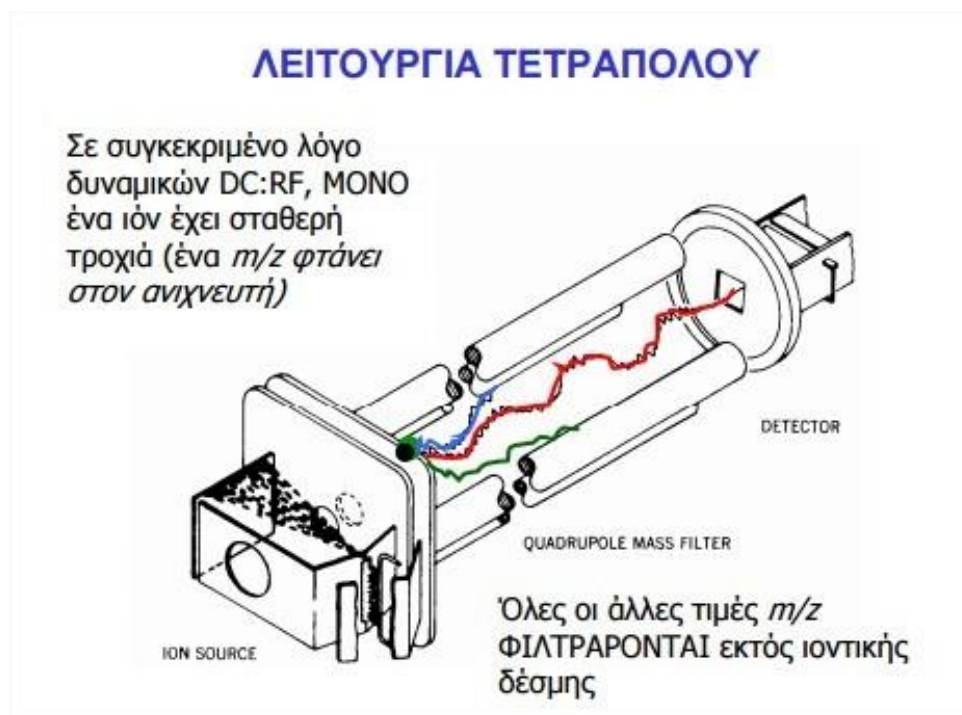
Συνήθως ο ιονισμός των μορίων πραγματοποιείται είτε με τον βομβαρδισμό τους με ηλεκτρόνια (electron impact, EI), είτε σαν αποτέλεσμα της σύγκρουσής τους με άλλα ιόντα που δημιουργούνται για τον σκοπό αυτό (chemical ionization, CI). Οι κυριότεροι τρόποι λειτουργίας του GC-MS είναι η σάρωση περιοχών ιόντων (total ion current, TIC) και η παρακολούθηση

ξεχωριστών ιόντων (selected ion monitoring, SIM). Η σάρωση περιοχής ιόντων συνήθως στην περιοχή 50-600 m/z , χρησιμοποιείται ως πρώιμο στάδιο, ιδίως σε δείγματα άγνωστης προέλευσης. Σε αυτές τις περιπτώσεις, το φάσμα μάζας (mass spectrum) κάθε ένωσης, είναι το κύριο χαρακτηριστικό της ταυτοποίησης.



Σχήμα 3.4: Πλήρης σάρωση τετραπόλου [34]

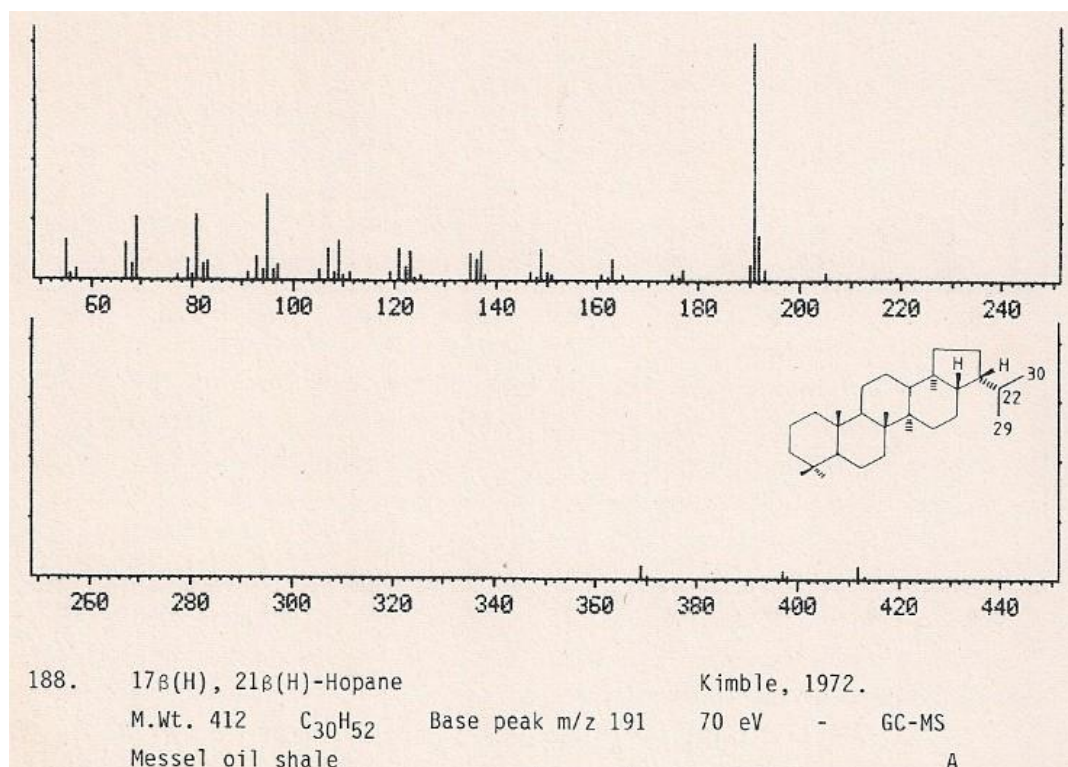
Κατά την ανάπτυξη της τεχνικής GC-MS, σημαντική εξέλιξη αποτέλεσε η δημιουργία του φασματογράφου διαδοχικών σταδίων (tandem mass spectrometer). Στην περίπτωση αυτή τα αρχικά ιόντα διαχωρίζονται σε ένα πρώτο τετράπολο το οποίο συνήθως λειτουργεί με την παρακολούθηση ξεχωριστών ιόντων. Στη συνέχεια επιλεγμένα ιόντα εισέρχονται σε ένα δεύτερο τετράπολο, όπου λόγω συγκρούσεων ιονίζονται ξανά, με αποτέλεσμα την δημιουργία “θυγατρικών” ιόντων τα οποία με τη σειρά τους διαχωρίζονται σε ένα τρίτο τετράπολο και οδηγούνται στον ανιχνευτή. Η ταυτοποίηση των ενώσεων από τα θραύσματα των δημιουργηθέντων στο πρώτο στάδιο είναι εξαιρετικά χρήσιμη στην ανάλυση των βιοδεικτών. Στο παρακάτω διάγραμμα παρουσιάζεται η λειτουργία του τετραπόλου σε έναν αέριο χρωματογράφο-φασματογράφο μάζας.



Σχήμα 3.5: Λειτουργία τετραπόλου [34]

Στα σύγχρονα συστήματα GC-MS οι αναλυτές έχουν ευθύγραμμο σχήμα και η λειτουργία τους στηρίζεται στην μεταβολή του ηλεκτρομαγνητικού πεδίου, που δημιουργείται μεταξύ μεταλλικών ράβδων, με αποτέλεσμα κάθε χρονική στιγμή μόνο ιόντα με μια τιμή m/z να περνούν από το τετράπολο που παράγει το μαγνητικό πεδίο χωρίς να συγκρούονται με τα τοιχώματά του. Τα ιόντα αυτά φθάνουν στον ανιχνευτή, όπου το ηλεκτρικό σήμα ενισχύεται και καταγράφεται.

Η γραφική αναπαράσταση με τη μορφή κανονικοποιημένου ιστογράμματος του προφίλ των θραυσμάτων κάθε συστατικού ανάλογο της παρουσίας ιόντων με συγκεκριμένο λόγο μάζας προς φορτίο ονομάζεται φάσμα μάζας (mass spectrum). Το φάσμα είναι χαρακτηριστικό της δομής του συστατικού και επιτρέπει την ταυτοποίησή του με βάση τη σύγκρισή του με διαθέσιμες βιβλιοθήκες φασμάτων.



Σχήμα 3.6: Γραφική αναπαράσταση φάσματος μάζας χοπανίου [17]

Για την ανάλυση των βιοδεικτών με τη μέθοδο GC-MS χρησιμοποιείται το σύστημα HP 7890/5970 της Agilent, με τριχοειδή στήλη HP-5 (5% φαινυλομεθυλο-σιλοξάνιο), 30m x 0,25mm x 0,25 μm με He ως φέρον αέριο και εισαγωγέας pulsed splitless. Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα της ανάλυσης ήταν άνοδος από τους 60°C στους 300°C με ρυθμό 40°C/min και παραμονή για 40 min. Ο ιονισμός πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία της πηγής 230°C. Στο δείγμα των κορεσμένων προστέθηκε διαλύτης εξάνιο και έπειτα έγινε η εισαγωγή 0,5 μl διαλύματος με χρήση μικροσύριγγας.

Από τα χρωματογραφήματά τους προσδιορίζονται γεωχημικοί δείκτες, που πληροφορούν για την προέλευση και την ωρίμανση της οργανικής ύλης των δειγμάτων. Το σύστημα του αέριου χρωματογράφου-φασματογράφου μάζας GC-MS που χρησιμοποιείται σήμερα από τα εργαστήρια ανάλυσης πετρελαίου φαίνεται παρακάτω στα Σχήματα 3.3. και 3.4. [27] , [7] , [2]. Στις παρακάτω εικόνες παρουσιάζονται τα σύγχρονα συστήματα αέρια χρωματογραφίας-φασματοσκοπία μάζας.

3.3 GC-MS (Gas Chromatography–Mass Spectrometry)

Η ταυτοποίηση μιας ένωσης στην αέρια χρωματογραφία - φασματοσκοπία μάζας GC-MS, επιτυγχάνεται συνήθως με το ταίριασμα των φασμάτων που αναζητάμε με συγκεκριμένα πειραματικά φάσματα σε μια βιβλιοθήκη αναφοράς.

Αν και διάφορα μέτρα ομοιότητας φασμάτων έχουν αναπτυχθεί και έχουν συγκριθεί χρησιμοποιώντας μια μικρή βιβλιοθήκη αναφοράς, παραμένει ακόμα άγνωστο πως η σχέση μεταξύ μέτρου ομοιότητας του φάσματος και του μεγέθους της βιβλιοθήκης αναφοράς έχει επιπτώσεις στην ακρίβεια προσδιορισμού καθώς επίσης και το βέλτιστο παράγοντα βάρους.

Χρησιμοποιήθηκαν τρεις βιβλιοθήκες αναφοράς για να ερευνηθεί η εξάρτηση του βέλτιστου παράγοντα βάρους, μέτρου ομοιότητας του φάσματος και του μεγέθους της βιβλιοθήκης αναφοράς. Η μελέτη κατέδειξε ότι ο βέλτιστος παράγοντας βάρους εξαρτάται από όχι μόνο το φασματικό μέτρο ομοιότητας αλλά και το μέγεθος της βιβλιοθήκης αναφοράς. Επιπλέον, η ακρίβεια του σύνθετου προσδιορισμού που χρησιμοποιεί μια μεγαλύτερη βιβλιοθήκη αναφοράς στο μέλλον υπολογίζεται με την ποικιλία του μεγέθους της βιβλιοθήκης αναφοράς. Η μελέτη προσομοίωσης δείχνει ότι το ημι-μερικό μέτρο συσχετισμού μιγμάτων θα έχει την καλύτερη απόδοση με την αύξηση της βιβλιοθήκης αναφοράς στο μέλλον.

Η αέρια χρωματογραφία- φασματοσκοπία μάζας χρησιμοποιείται ευρέως για να αναλύσει τις χημικές ενώσεις στα σύνθετα δείγματα, όπου οι ενώσεις είναι πρώτα χωρισμένες σε ένα σύστημα αέριας χρωματογραφίας και περαιτέρω μετρημένες σχετικά με ένα μαζικό φασματόμετρο που είναι συνήθως εξοπλισμένο με μια ιονική πηγή ιονισμού ηλεκτρονίων.

Ο σύνθετος προσδιορισμός στην ανάλυση των στοιχείων χρωματογραφία- φασματοσκοπία επιτυγχάνεται συνήθως με το ταίριασμα των πειραματικών πρότυπων μαζικών φασμάτων με τα φάσματα μιας βιβλιοθήκης αναφοράς, δηλαδή πραγματοποιείται μαζικό φασματικό ταίριασμα. Για να βελτιωθεί η ακρίβεια του σύνθετου προσδιορισμού, έχουν αναπτυχθεί αρκετά φασματικά μέτρα μαζικής ομοιότητας.

Για να αυξηθεί το βάρος των μέγιστων εντάσεων των ιόντων με τις ισχυρότερες τιμές m/z , οι εντάσεις και οι τιμές m/z μετασχηματίζονται συνήθως με ένα σύνολο παραγόντων βάρους για τον υπολογισμό της φασματικής ομοιότητας. Ο Stein και Scott πρότειναν τον παράγοντα βάρους (0.5, 3) για το μετασχηματισμό δύναμης της ιονικών έντασης τεμαχίων και της αξίας m/z , αντίστοιχα. Επίσης, επισημάνθηκε ότι ο παράγοντας βάρους (0.5, 2) ήταν εξίσου αποτελεσματικός.

Οι στόχοι αυτής της μελέτης ήταν για να συγκριθεί η απόδοση των αναφερόμενων φασμάτων που χρησιμοποιούν τη βιβλιοθήκη NIST11 και να ερευνηθεί η εξάρτηση μεταξύ του βέλτιστου παράγοντα βάρους, του φασματικού μέτρου ομοιότητας και του μεγέθους της βιβλιοθήκης αναφοράς.[30]

Ολοκληρώνοντας, με τη γρήγορη ανάπτυξη της βιβλιοθήκης φασματοσκοπίας, περισσότερα παρόμοια φάσματα προστίθενται στη βιβλιοθήκη αναφοράς, κάνοντας το πιο προκλητικό για τον υψηλό σύνθετο προσδιορισμό ακρίβειας. Το μέγεθος της βιβλιοθήκης αναφοράς έχει την

δυνατότητα να αυξηθεί μελλοντικά και είναι σημαντικό για την πρόβλεψη της σύνθετης ακρίβειας προσδιορισμού του πρότυπου φάσματος με το σύνολο φασμάτων της νέας βιβλιοθήκης αναφοράς. **[28] , [30]**

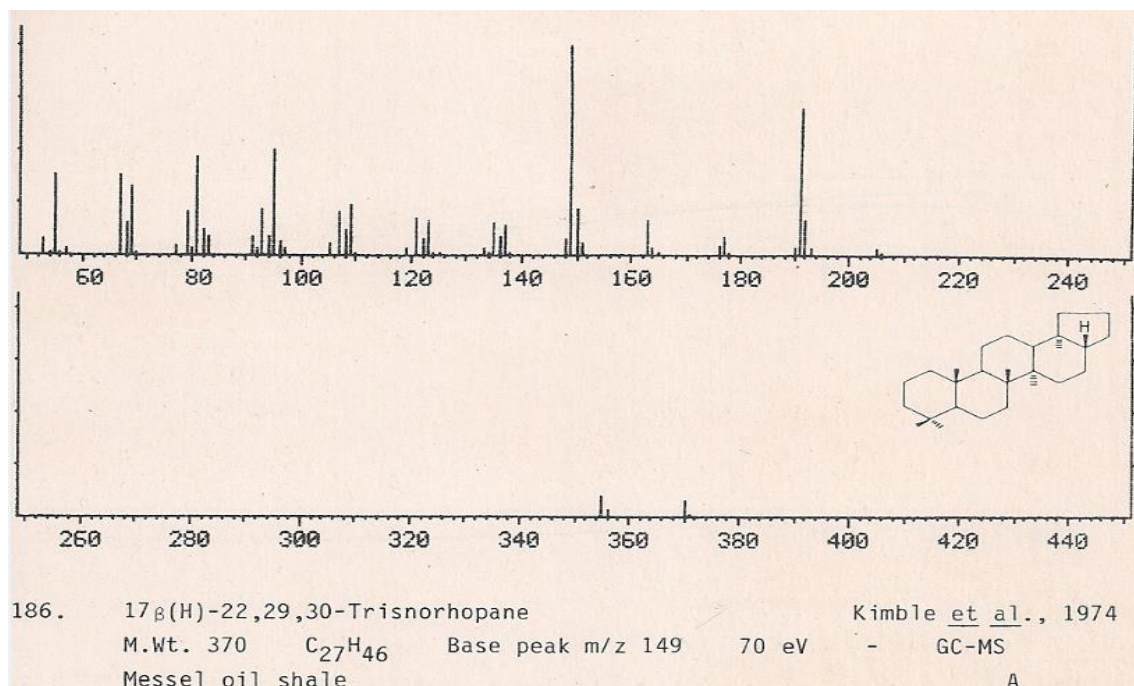
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

Δημιουργία Βιβλιοθήκης βιοδεικτών Bio_X

4.1 Διαδικασία δημιουργίας Bio_X

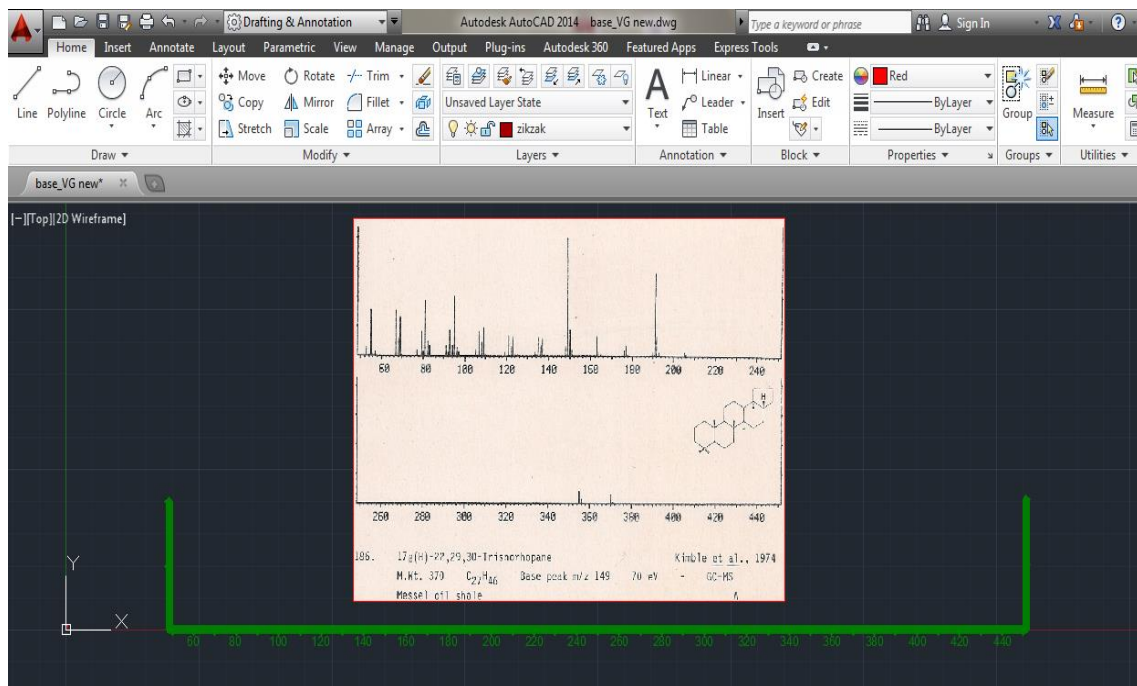
Για την ψηφιοποίηση φάσματος και την δημιουργία της βιβλιοθήκης Bio_X, απαιτούνται τα παρακάτω βήματα:

1. Προσεκτικό σκανάρισμα της εικόνας του φάσματος από το βιβλίο FOSSIL FUEL BIOMARKERS, Application and Spectra. R.P.PHILP.



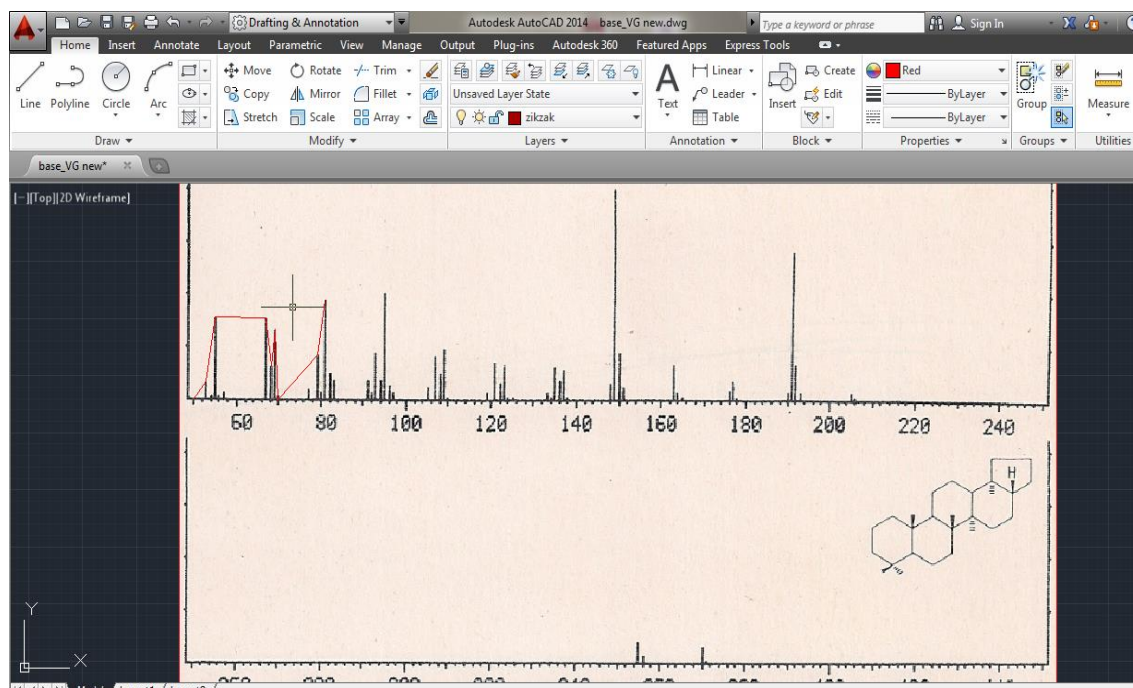
Εικόνα 4.1

2. Αντιγραφή της εικόνας 4.1 στο AutoCAD και δημιουργία βαθμονομημένων αξόνων σύμφωνα με την βαθμονόμηση του φάσματος.



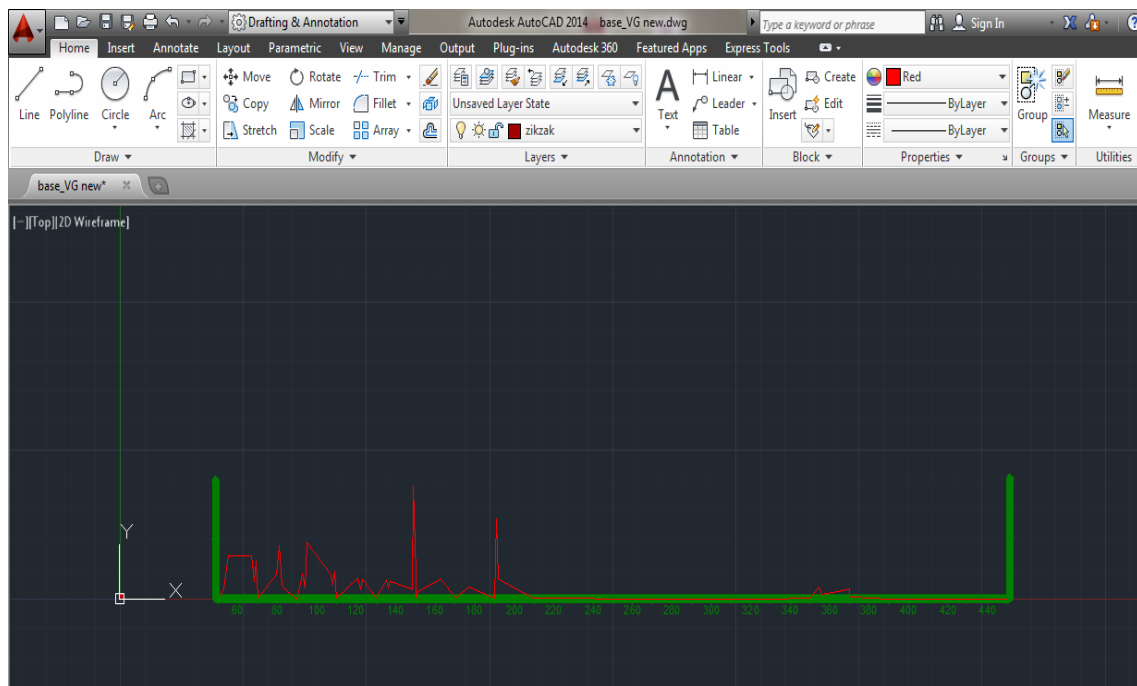
Εικόνα 4.2

- Χρήση της εντολής Polyline ενώνοντας τις ισχυρές κορυφές των ιόντων του φάσματος (peaks), επιλέγοντας σταθερά σημεία του οριζόντιου άξονα m/z με συγκεκριμένο βήμα (ανά 20) για την σταθεροποίηση της γραμμής Polyline.



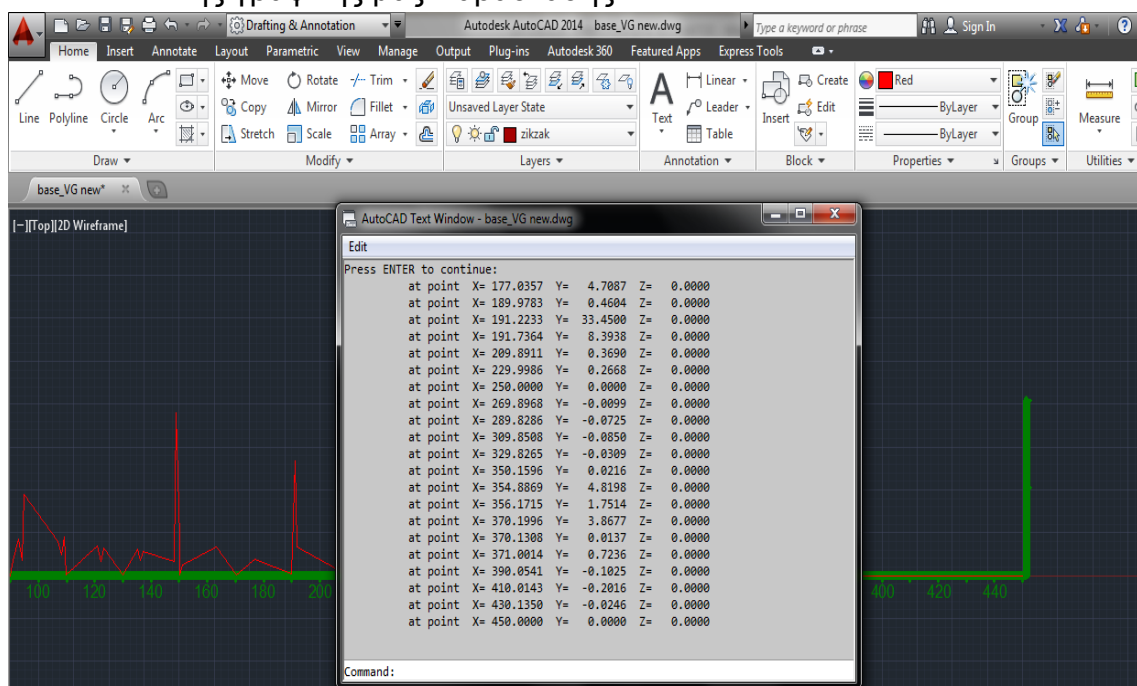
Εικόνα 4.3

4. Χρήση της εντολής ALIGN για μεταφορά της ολοκληρωμένης γραμμής Polyline στους βαθμονομημένους άξονες, επιλέγοντας την αρχή της γραμμής Polyline της εικόνας [first point (50,0)], την αρχή των βαθμονομημένων αξόνων [first destination (0,0)] και ομοίως για το [second point (250,0)], [second destination (250,0)]. Ξαναχρησιμοποιούμε την εντολή ALIGN για να μεταφέρουμε τα σημεία που βρίσκονται από 250-450 m/z.



Εικόνα 4.4

5. Χρήση της εντολής JOIN, κάνοντας κλικ στην γραμμή Polyline για την ένωση των κομματιών του γραφήματος που έχει δημιουργηθεί και τη μετατροπή αυτού σε μία ενιαία γραμμή.
6. Επιλογή της γραμμής και χρήση της εντολής LIST για να καταγραφούν και να εμφανιστούν οι συντεταγμένες των σημείων της γραφικής μας παράστασης.



Εικόνα 4.5

7. Αντιγραφή των συντεταγμένων και μεταφορά τους σε φύλλο Excel με Import.

Συντεταγμένες φασμάτων AutoCAD(23-369) - Excel

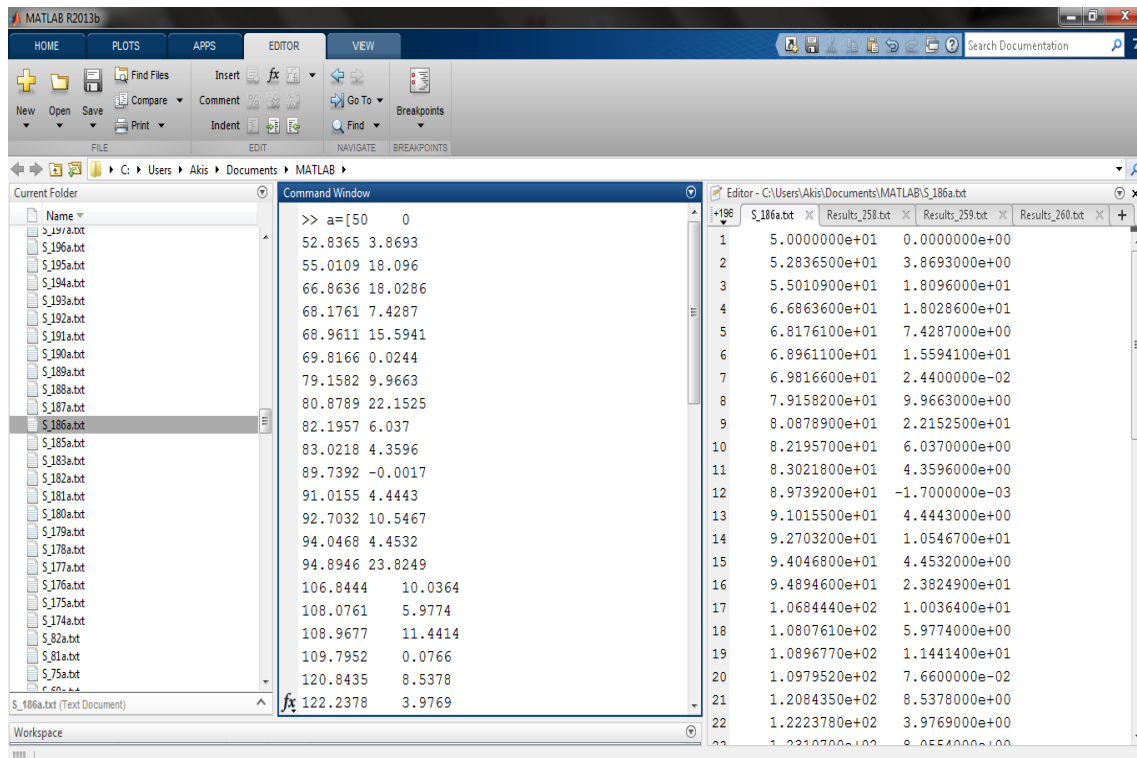
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W
1	186			187			188			189			190			191			192			193	
2	50	0		50	0		50	0		50	0		50	0		50	0		50	0		50	0
3	52.8365	3.8693		66.9938	14.889		54.9383	7.9934		55.0408	15.215		55.0501	27.869		55.1252	15.6505		52.9151	5.9244		55.1804	14.4621
4	55.0109	18.096		68.093	8.8176		66.7149	7.466		57.0896	18.0543		55.8586	8.5989		57.1955	7.3154		55.2136	38.8495		67.1173	12.3637
5	66.8636	18.0286		68.993	26.0711		68.8173	12.5707		66.7865	10.0024		57.1302	23.2036		67.0264	21.917		55.9343	6.9489		68.321	5.6426
6	68.1761	7.4287		69.8469	4.7813		69.6993	0.0136		68.0959	7.9232		67.0106	19.5852		68.2141	7.3109		57.1755	17.9884		69.2271	21.5508
7	68.9611	15.5941		69.8038	-0.0246		79.0448	4.3325		68.9655	23.8409		68.193	13.023		69.8368	-0.0518		67.0561	23.0777		69.8348	-0.005
8	69.8166	0.0244		71.178	7.8243		80.5976	12.9931		69.7537	-0.126		69.0702	34.3807		79.2401	12.9408		68.226	13.8614		79.3689	6.7183
9	79.1582	9.9663		77.026	3.8571		82.8903	3.94		71.0411	10.9242		69.8342	6.9166		80.9489	32.9482		69.0933	46.7961		81.161	23.5611
10	80.8789	22.1525		79.2262	6.9901		89.6864	-0.0974		79.1417	4.729		69.7902	-0.0886		82.2859	10.9448		69.8702	6.7924		82.364	6.1881
11	82.1957	6.037		80.8494	22.4696		92.5807	4.8263		80.7543	18.0273		71.1474	14.5935		83.1113	11.0217		69.8066	-0.0415		83.1883	6.693
12	83.0218	4.3596		82.2336	7.8858		94.6645	17.0375		82.0963	13.3869		79.1244	9.9579		89.9126	-0.1188		71.1185	11.86		89.9617	-0.2031
13	89.7392	-0.0017		83.0173	8.8125		106.72	6.3973		82.8783	13.3757		80.8903	32.3041		91.1018	7.2782		72.8316	5.2779		91.2345	5.6164
14	91.0155	4.4443		89.7479	-0.0955		108.784	7.9854		85.0246	4.7503		82.2009	14.9822		92.8349	14.4686		74.9584	8.2409		92.8829	7.6665
15	92.7032	10.5467		90.9658	5.2593		109.676	-0.0412		89.6999	-0.2612		83.0121	14.5799		95.049	33.4961		77.0979	6.8169		95.1657	27.1229
16	94.0468	4.4532		92.639	8.1726		120.709	6.4105		92.6279	8.2545		85.0775	8.4386		97.0513	8.3446		79.2562	11.8946		106.977	7.1205
17	94.8946	23.8249		94.0214	3.7937		122.915	5.8752		94.8597	23.6685		89.8484	-0.1912		105.119	5.8453		81.0297	40.2251		109.08	13.1265
18	106.8444	10.0364		94.8632	21.944		129.723	-0.0504		96.8193	6.6242		91.054	6.8268		106.86	11.4094		82.3238	16.3532		109.855	-0.1624
19	108.0761	5.9774		96.0809	3.6929		134.82	5.4763		106.68	7.1733		91.8791	4.2973		108.116	6.2292		83.1791	17.3684		120.959	9.0753
20	108.9677	11.4414		96.9378	4.7554		136.034	4.3446		108.766	11.2317		92.7509	12.9768		108.994	22.7077		85.1789	9.2987		123.207	13.6061
21	109.7952	0.0766		105.069	4.7531		136.948	5.9538		109.592	-0.4089		94.0634	8.3855		109.836	-0.0885		89.8641	-0.2383		129.876	-0.2859
22	120.8435	8.5378		106.784	9.3094		148.694	6.3744		111.019	4.4701		94.9146	47.0491		120.859	14.4361		91.0841	6.683		135.101	6.6828
23	122.2378	3.9769		108.034	4.7782		150.124	0.0245		120.637	6.0395		96.1519	9.8757		122.238	6.2952		91.8974	5.1286		136.35	9.1336
24	123.107	8.0554		108.888	14.3331		162.85	4.4757		122.835	10.119		96.9505	11.4113		123.055	16.4711		92.8801	16.3943		137.213	11.2121
25	129.8994	0.0657		109.661	-0.0542		170	0.0592		129.747	-0.4115		105.034	6.8648		129.904	-0.1422		94.1285	8.332		149.022	7.6932
26	135.0514	7.6084		111.123	3.1554		190.081	3.4069		136.192	4.1256		106.737	12.931		134.965	15.4888		95.1065	36.5408		150.328	4.6528
27	136.2517	4.4729		119.088	3.6562		190.078	0.0718		136.947	10.278		107.998	11.3169		136.093	8.3788		96.193	9.32		150.291	-0.1689
28	137.1512	7.0532		120.779	8.7134		190.73	47.1585		148.794	7.6691		108.926	22.5607		136.933	12.4474		97.1243	13.2803		163.042	8.8763
29	148.182	4.041		122.149	6.7694		191.76	9.1071		150.16	6.1413		109.764	4.7795		148.809	14.5344		105.124	5.2385		170.274	-0.0246
30	148.0738	47.4311		122.070	13.7851		210.041	0.1031		150.313	0.137		100.733	0.1203		150.165	0.0371		106.886	13.2401		100.37	0.0083

Εικόνα 4.5

8. Αντιγραφή των συντεταγμένων κάθε φάσματος και μεταφορά αυτών στη MATLAB ακολουθώντας τα βήματα του κώδικα κανονικοποίησης.

9. Βήματα του κώδικα κανονικοποίησης MATLAB:

- Command window: `a=[συντεταγμένες φάσματος];`
- Save S_’αριθμός φάσματος’.txt –ascii a
- Align spectrum, ενημερώνουμε το όνομα του αρχείου
- Αποθηκεύουμε και F5 για να τρέξει ο κώδικας
- Command window: `save Results_’αριθμός φάσματος’.txt _ascii X`
- Editor window: Αντιγραφή των συντεταγμένων σε φύλλο Excel



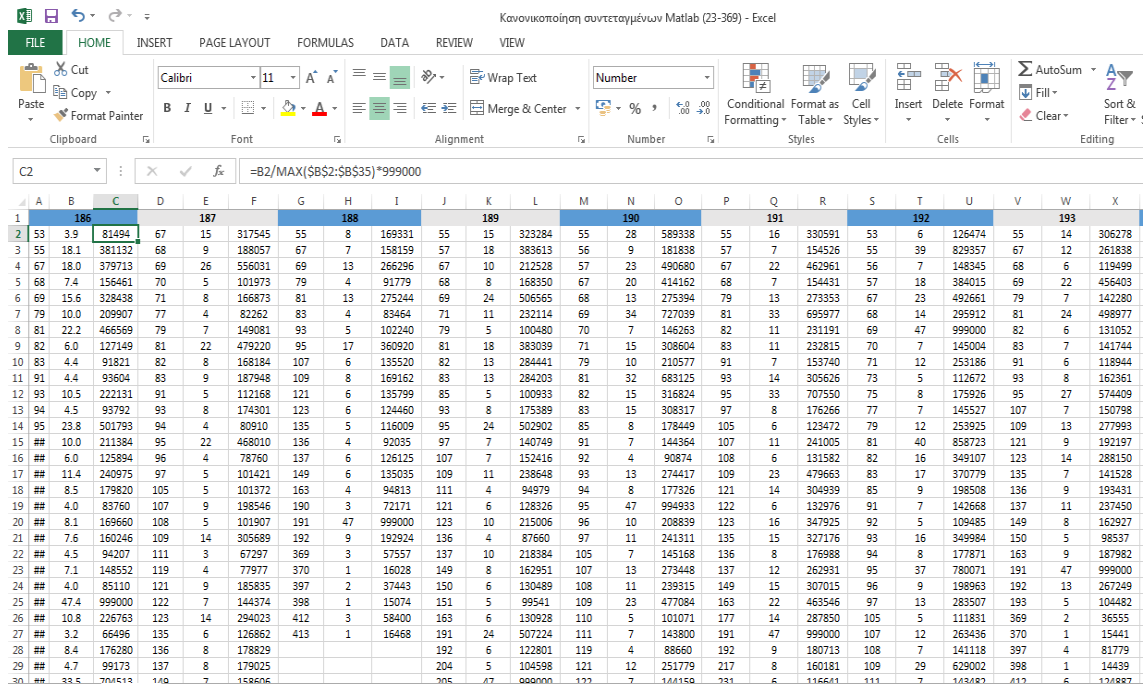
Εικόνα 4.6

10.Επικόλληση στο φύλλο Excel σε Numbers, στρογγυλοποίηση καθώς και δημιουργία μίας τρίτης στήλης η οποία ικανοποιεί την εξίσωση κανονικοποίησης στο 999.000 για τις συντεταγμένες y.

Εξίσωση κανονικοποίησης για συντεταγμένες y:

$$K = \frac{(1^{\text{η}} \text{συντεταγμένη } y)}{\max [(y_{\text{αρχικό}} \text{ έως } y_{\text{τελικό}})]} \cdot 999.000$$

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4



Κανονικοποίηση συντεταγμένων Matlab (23-369) - Excel

FILE HOME INSERT PAGE LAYOUT FORMULAS DATA REVIEW VIEW

Clipboard Font Alignment Number Styles Cells Editing

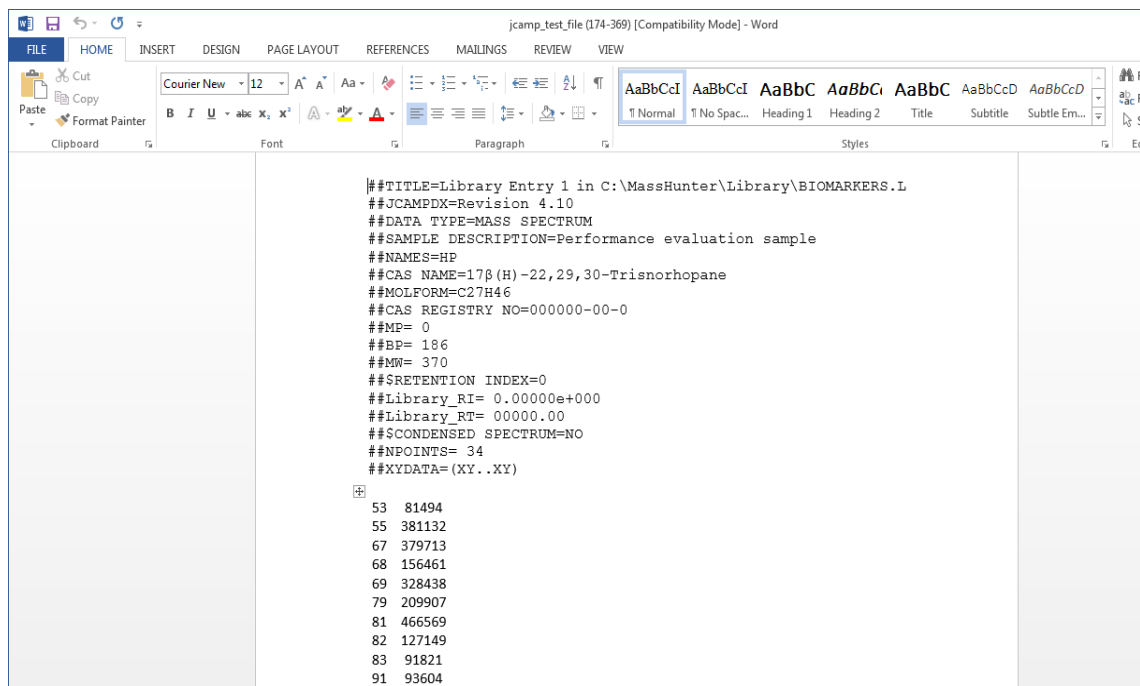
C2 : X ✓ fx =B2/MAX(\$B\$2:\$B\$35)*999000

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X
1			186		187		188		189		190		191		192		193		194		195		196	
2	53	3.9	81494	67	15	317545	55	8	169331	55	15	323284	55	28	589338	55	16	330591	53	6	126474	55	14	306278
3	55	18.1	381132	68	9	188057	67	7	158159	57	18	383613	56	9	181838	57	7	154526	55	39	829357	67	12	261838
4	67	18.0	379713	69	26	556031	69	13	266296	67	10	212528	57	23	490680	67	22	462961	56	7	148345	68	6	119499
5	68	7.4	156461	70	5	101973	79	4	91779	68	8	168350	67	20	414162	68	7	154431	57	18	384015	69	22	456403
6	69	15.6	328438	71	8	166873	81	13	275244	69	24	506565	68	13	275394	79	13	273353	67	23	492661	79	7	142280
7	79	10.0	209907	77	4	82262	83	4	83464	71	11	232114	69	34	727039	81	33	695977	68	14	295912	81	24	498977
8	81	22.2	466569	79	7	149081	93	5	102240	79	5	100480	70	7	146263	82	11	231191	69	47	999000	82	6	131052
9	82	6.0	127149	81	22	479220	95	17	360920	81	18	383039	71	15	308604	83	11	232815	70	7	145004	83	7	141744
10	83	4.4	91821	82	8	168184	107	6	135520	82	13	284441	79	10	210577	91	7	153740	71	12	253186	91	6	118944
11	91	4.4	93604	83	9	187948	109	8	169162	83	13	284203	81	32	683125	93	14	305626	73	5	112672	93	8	162361
12	93	10.5	222131	91	5	112168	121	6	135799	85	5	100933	82	15	316824	95	33	707550	75	8	175926	95	27	574409
13	94	4.5	93792	93	8	174301	123	6	124460	89	8	175389	83	15	308317	97	8	176266	77	7	145527	107	7	150798
14	95	23.8	501793	94	4	80910	135	5	116009	95	24	502902	85	8	178449	105	6	123472	79	12	253920	109	13	277993
15	##	10.0	211384	95	22	468010	136	4	92035	97	7	140749	91	7	144364	107	11	241005	81	40	858723	121	9	92197
16	##	6.0	125894	96	4	78760	137	6	126125	107	7	152416	92	4	90874	108	6	131582	82	16	349107	123	14	288150
17	##	11.4	240975	97	5	101421	149	6	135035	109	11	238648	93	13	274417	109	23	479663	83	17	370779	135	7	141528
18	##	8.5	178820	105	5	101372	163	4	94813	111	4	94979	94	8	177326	121	14	304999	85	9	198508	136	9	109431
19	##	4.0	83760	107	9	198546	190	3	72171	121	6	128326	95	47	994993	122	6	132976	91	7	142668	137	11	237450
20	##	8.1	169660	108	5	101907	191	47	999000	123	10	215006	96	10	208839	123	16	347925	92	5	109485	149	8	162927
21	##	7.6	160246	109	14	305689	192	9	192924	136	4	87660	97	11	241311	135	15	327176	93	16	349984	150	5	98537
22	##	4.5	94207	111	3	67297	369	3	57557	137	10	218384	105	7	145168	136	8	176988	94	8	177871	163	9	167982
23	##	7.1	148552	119	4	77977	370	1	16028	149	8	162951	107	13	274448	137	12	262991	95	37	780071	191	47	999000
24	##	4.0	85110	121	9	185835	397	2	37443	150	5	130489	108	11	239315	149	15	307015	96	9	198963	192	13	267249
25	##	47.4	999000	122	7	144374	398	1	15074	151	5	99541	109	23	477084	163	22	463546	97	13	283507	193	5	104482
26	##	10.8	226763	123	14	294023	412	3	58400	163	6	130928	110	5	101071	177	14	287850	105	5	111831	369	2	36555
27	##	3.2	66496	135	6	126862	413	1	16468	191	24	507224	111	7	143800	191	47	999000	107	12	263436	370	1	15441
28	##	8.4	176280	136	8	178829				192	6	122801	119	4	88660	192	9	180713	108	7	141118	397	4	81779
29	##	4.7	99173	137	8	179025				204	5	104598	121	12	251779	217	8	160181	109	29	629002	398	1	14439
30	##	33.5	704513	149	7	158606				205	47	999000	122	7	146159	231	6	116641	111	7	143482	412	6	136827

Εικόνα 4.7

11. Οι τελικές συντεταγμένες κάθε φάσματος που προέκυψαν από την διαδικασία κανονικοποίησης φαίνονται παρακάτω.

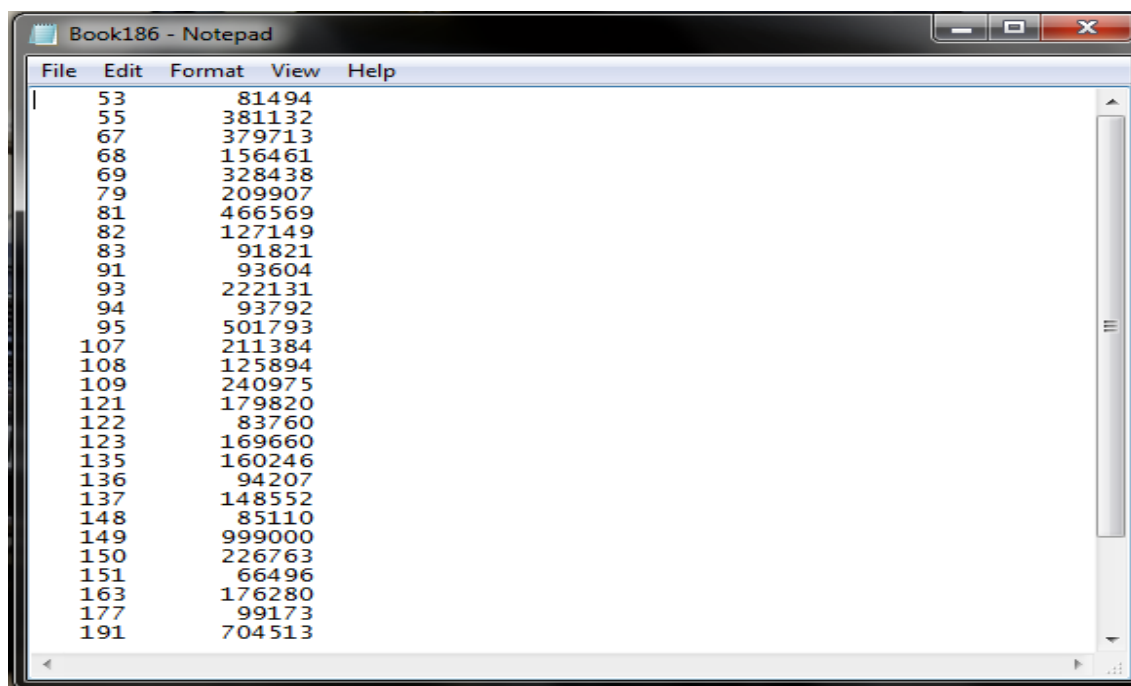
</



Εικόνα 4.9

13. Για να επιτευχθεί η συγκεκριμένη στοίχιση των συντεταγμένων, αντιγράφοντας τις συντεταγμένες του αρχείου Excel (Εικόνα 4.7) σε νέο φύλλο Excel πραγματοποιούμε τα εξής:

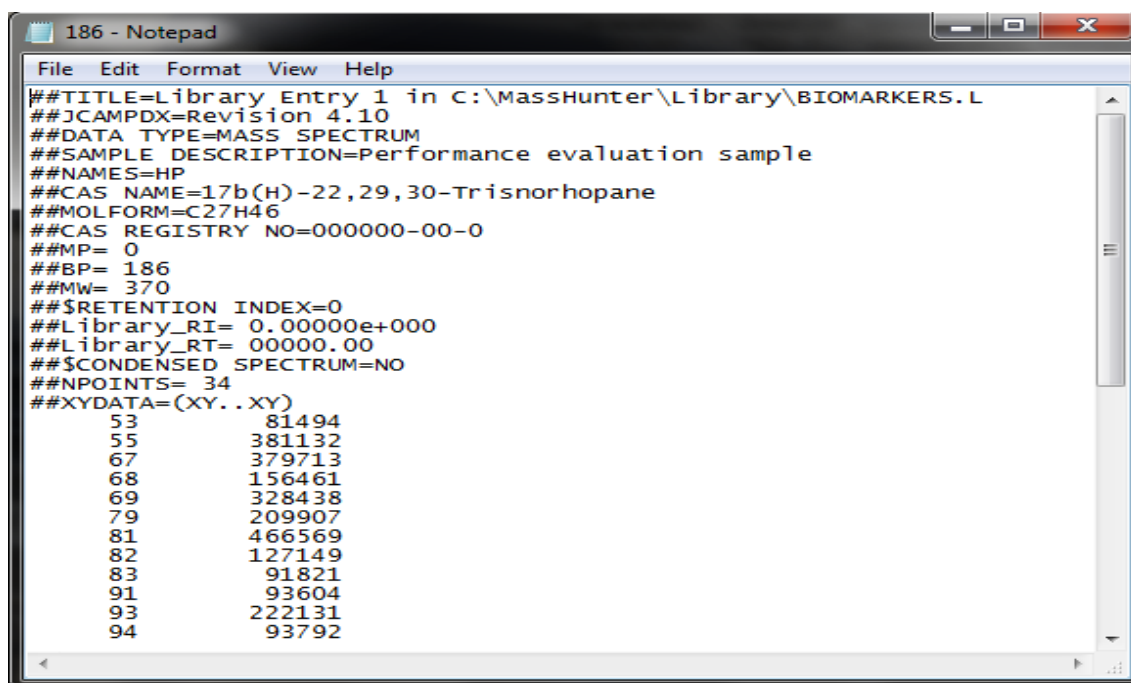
- Για τις συντεταγμένες x,y: στοίχιση δεξιά.
- Για συντεταγμένες έντασης x: αλλαγή πλάτους στήλης σε 6.
- Για συντεταγμένες μαζών y: αλλαγή πλάτους στήλης σε 12.
- Αποθήκευση ως αρχείο Notepad, Formatted Text/Space Delimited με το όνομα Book'αριθμός φάσματος'.



m/z	Relative Intensity
53	81494
55	381132
67	379713
68	156461
69	328438
79	209907
81	466569
82	127149
83	91821
91	93604
93	222131
94	93792
95	501793
107	211384
108	125894
109	240975
121	179820
122	83760
123	169660
135	160246
136	94207
137	148552
148	85110
149	999000
150	226763
151	66496
163	176280
177	99173
191	704513

Εικόνα 4.10

14. Δημιουργία νέου ολοκληρωμένου αρχείου Notepad αυτής της μορφής:



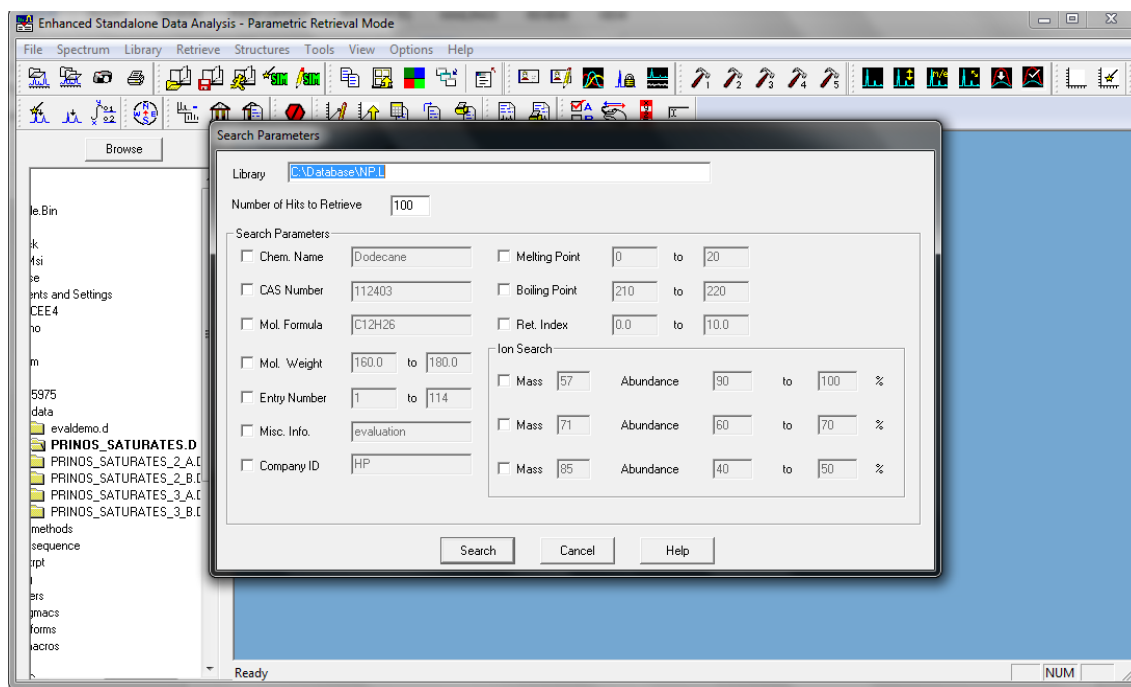
```

##TITLE=Library Entry 1 in C:\MassHunter\Library\BIOMARKERS.L
##JCAMPDX=Revision 4.10
##DATA TYPE=MASS SPECTRUM
##SAMPLE DESCRIPTION=Performance evaluation sample
##NAMES=HP
##CAS NAME=17b(H)-22,29,30-Trisnorhopane
##MOLFORM=C27H46
##CAS REGISTRY NO=000000-00-0
##MP= 0
##BP= 186
##MW= 370
##$RETENTION INDEX=0
##Library_RI= 0.00000e+000
##Library_RT= 00000.00
##$CONDENSED SPECTRUM=NO
##NPOINTS= 34
##XYDATA=(XY..XY)
53      81494
55      381132
67      379713
68      156461
69      328438
79      209907
81      466569
82      127149
83      91821
91      93604
93      222131
94      93792

```

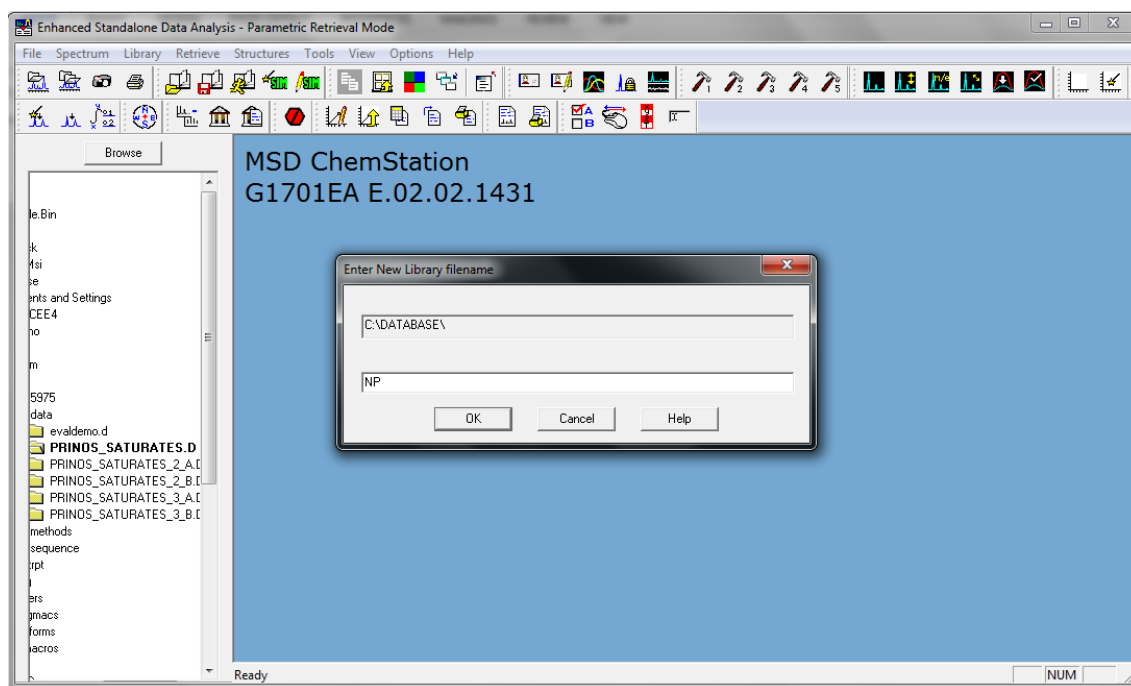
Εικόνα 4.11

15. Ελέγχουμε ότι οι κενοί χαρακτήρες για τις παραπάνω συντεταγμένες (Εικόνα 4.10) είναι 6 για τις συντεταγμένες x και 12 για τις y μετρώντας από την αρχή της στοίχισης χρησιμοποιώντας τα βελάκια του υπολογιστή.
16. Δημιουργία JCAMP αρχείου: Αποθήκευση του παραπάνω αρχείο Notepad ως αρχείο .txt στην βιβλιοθήκη Bio_X.L που βρίσκεται στο Local Disc (C:)/Database/Bio_X.L για να το αναγνωρίσει το λογισμικό του GC-MS Data Analysis παρακάτω.
17. Ανοίγοντας το MSD Productivity Chemstation Data Analysis, επιλέγουμε το menu: View->Parametric Retrieval. Στο παράθυρο που θα εμφανιστεί, Cancel.



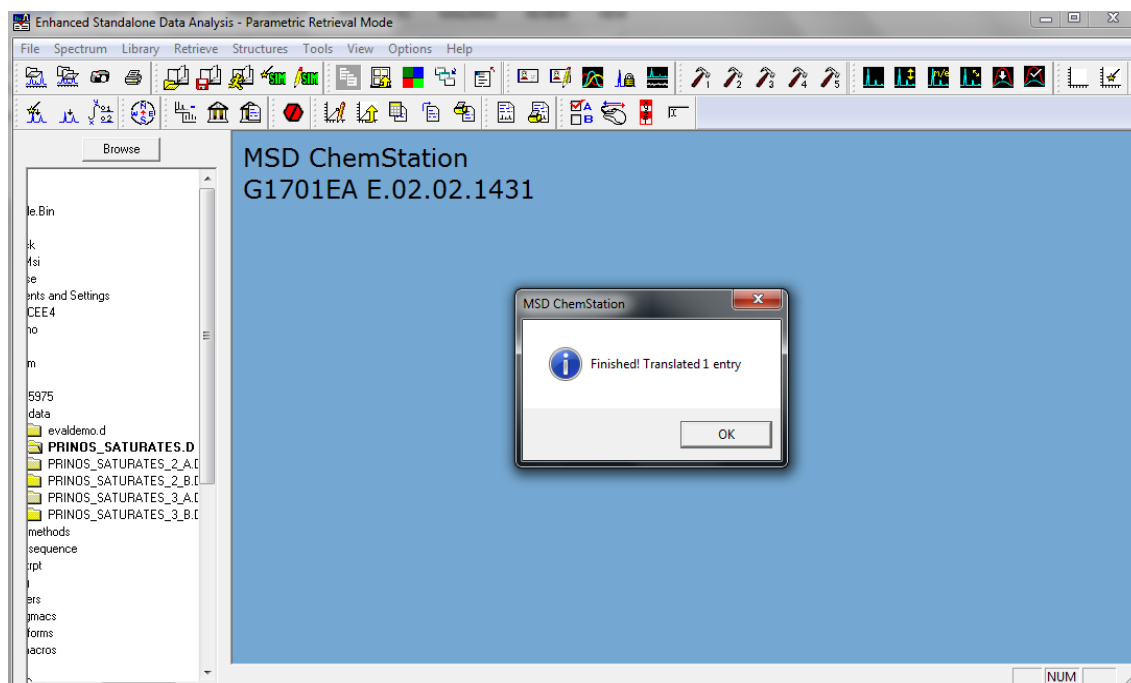
Εικόνα 4.12

18. Στη συνέχεια κάνουμε αναφορά στο αρχείο JCAMP που έχουμε δημιουργήσει προηγουμένως, επιλέγοντας στο menu: Library->Read JCAMP File και επιλογή του αρχείου txt.
19. Επιλογή ονόματος βιβλιοθήκης π.χ. Bio_X.L, δεν χρειάζεται να βάλουμε την κατάληξη .L καθώς το λογισμικό την τοποθετεί μόνο του.



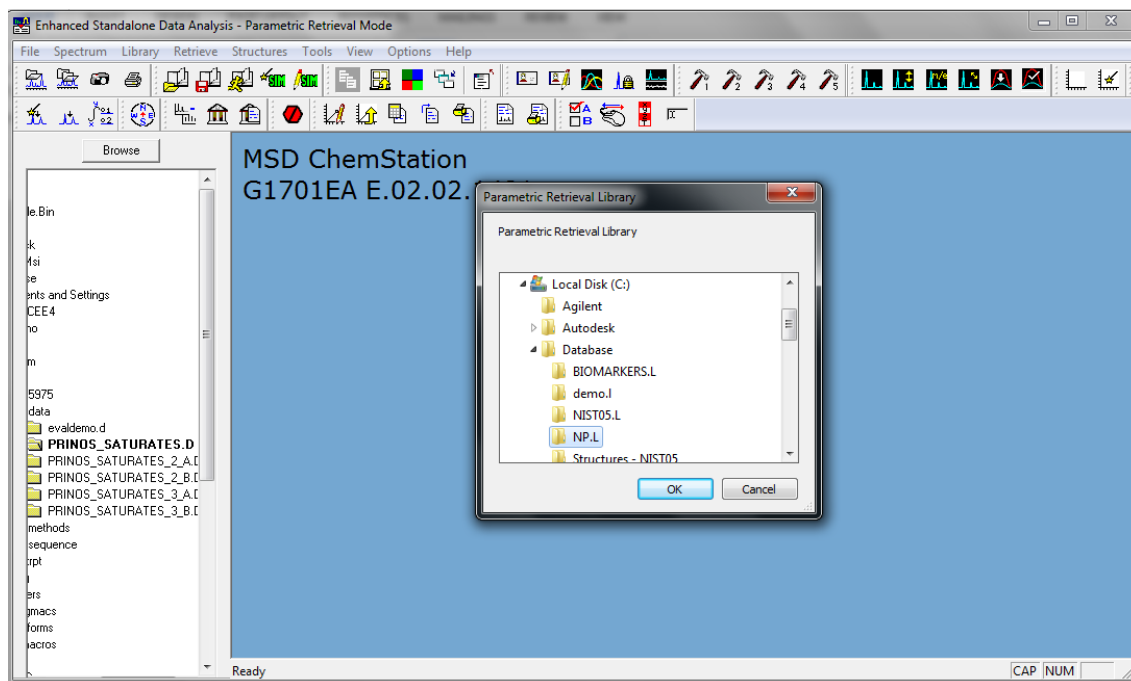
Εικόνα 4.13

20. Αναμένουμε μήνυμα επιτυχίας ότι προστέθηκε το φάσμα στην βιβλιοθήκη Bio_X.L .



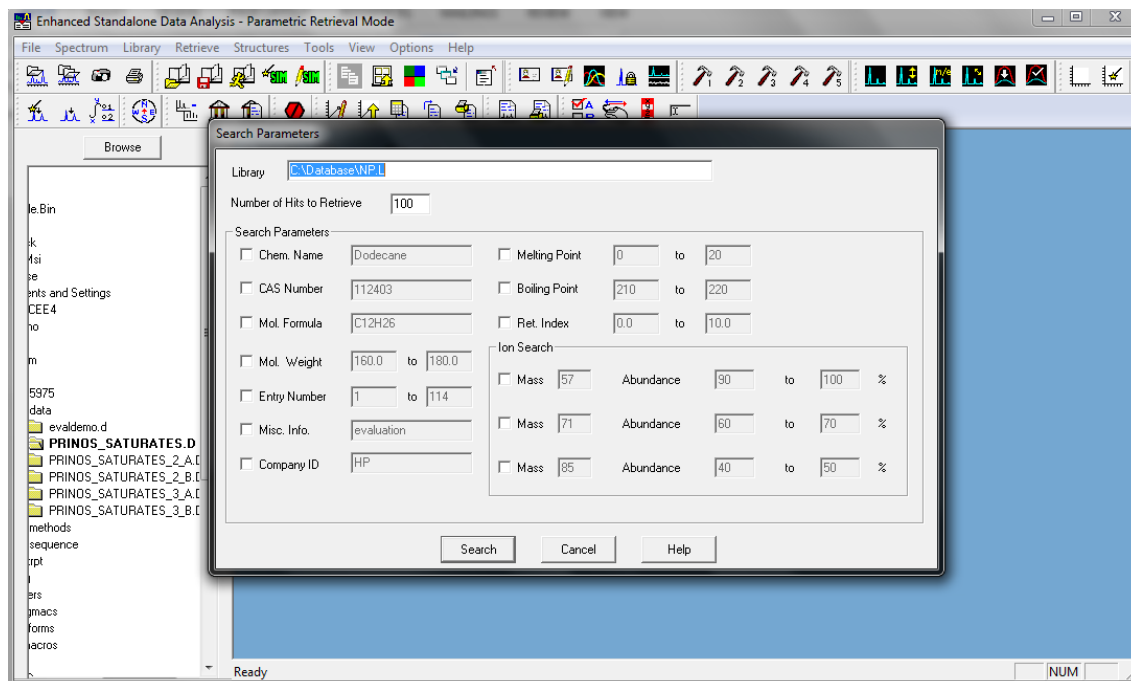
Εικόνα 4.14

21. Στη συνέχεια επιλέγουμε στο menu: Retrieve-> Select Library, κάνοντας αναφορά στην μόλις δημιουργημένη βιβλιοθήκη Bio_X.L.



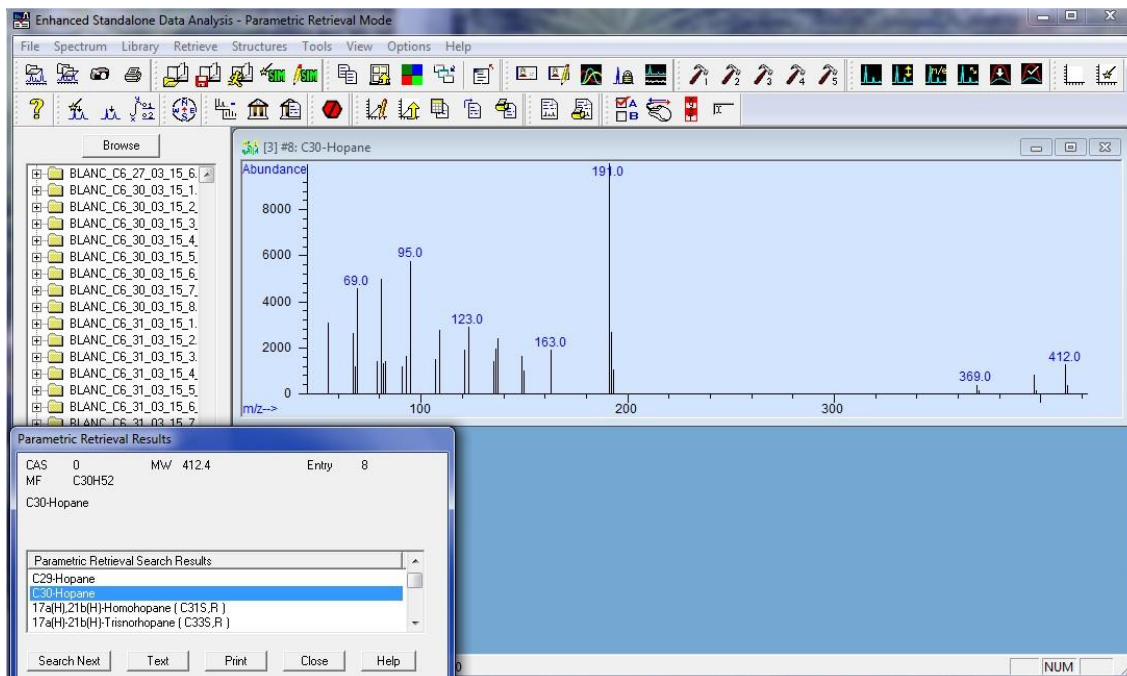
Εικόνα 4.15

22. Συνεχίζοντας από το menu: Retrieve->Set Parameters, ελέγχουμε ότι στο πρώτο πεδίο Library βρίσκεται η σωστή βιβλιοθήκη και Search.



Εικόνα 4.16

23. Στο κάτω αριστερό μέρος της οθόνης εμφανίζονται τα διαθέσιμα φάσματα της βιβλιοθήκης Bio_X.L, όπου επιλέγοντάς τα εμφανίζεται το εκάστοτε φάσμα τους στο πάνω μέρος της οθόνης.



Εικόνα 4.17

24. Έτσι, ολοκληρώνοντας την παραπάνω διαδικασία έχουμε ολοκληρώσει την ψηφιοποίηση της βιβλιοθήκης Bio_X.

4.2 Retention Time- Retention Index στη Bio_X

Ως χρόνος συγκράτησης (RT) ορίζεται το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί από την στιγμή της εισαγωγής της ένωσης έως και τη στιγμή λήψης του χρωματογραφήματος. Ο χρόνος συγκράτησης για όμοιες συνθήκες συστατικών είναι συγκεκριμένος για κάθε συστατικό και από μόνος του δεν μπορεί να ταυτοποιήσει ένα συστατικό. Για να επιτευχθεί η ταυτοποίηση απαιτείται Φασματοσκοπία Μαζών (Mass Spectrometers). Στην βιβλιοθήκη Bio_X καταχωρήθηκαν οι χρόνοι συγκράτησης 17 διαφορετικών συστατικών σύμφωνα με πειραματικές καταγραφές. Βάσει των 17 πειραματικών βιοδεικτών, δημιουργήθηκε ο κώδικας ταυτοποίησης για να πραγματοποιηθεί η σύγκριση με το σύνολο φασμάτων της βάσης Bio_X.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

**Ανάπτυξη αλγορίθμου
ταυτοποίησης βιοδεικτών σε
πειραματικά δεδομένα GC-MS
ανάλυσης πετρελαίου**

5.1 Κώδικας Ταυτοποίησης Συστατικών

Στο σημείο αυτό δημιουργήθηκε μέσω του προγράμματος Matlab κώδικας ταυτοποίησης βασισμένος στην απόσταση, ο οποίος συγκρίνει και ταυτοποιεί 17 πειραματικά συστατικά με το σύνολο των συστατικών που έχουν καταχωρηθεί στην βιβλιοθήκη Bio_X. Σύμφωνα με την διαδικασία ταιριάσματος των βιοδεικτών αυτών εμφανίζονται ποσοστιαία τα πέντε πιο κοντινά συστατικά τα οποία αντιλαμβάνεται ο κώδικας ότι ταυτίζονται με τα πειραματικά.

Βασίζεται στην μέθοδο απόστασης του σταθμισμένου συνημιτόνου. Παρακάτω εμφανίζονται η διάταξη του κώδικα καθώς και τα αποτελέσματα ταυτοποίησης.

```
a=input('1- create new library: , 2- match spectra to an existing library: ');
if a==1
[filename, filepath]=uigetfile({'*.xlsx'; '*.xls'}, 'Workbook1');
[Data, names]=xlsread(strcat(filepath,filename));
names=names(1,1:2:end);
[x1,y1]=size(Data);
Lib_spectra=zeros(500,y1/2);
K=1;
for n=1:y1/2;
for m=1:x1;
if ~isnan(Data(m,K))
Lib_spectra(Data(m,K),n)=Data(m,K+1);
end
end
K=K+2;
end
save('Bio_X.mat', 'Lib_spectra');
save('names.mat', 'names');
elseif a==2
load Bio_X.mat;
load names.mat;
[filename, filepath]=uigetfile({'*.xlsx'; '*.xls'}, 'Workbook1');
[Raw_spectra, Spec_No]=xlsread(strcat(filepath,filename));
[x2,y2]=size(Raw_spectra);
Exp_spectra=zeros(500,y2/2);
K=1;
for n=1:y2/2;
for m=1:x2;
if ~isnan(Raw_spectra(m,K))
Exp_spectra(round(Raw_spectra(m,K)),n)=Raw_spectra(m,K+1);
end
end
end
```

```

K=K+2;
end
for i=1:size(Exp_spectra,2)
for j=1:size(Lib_spectra,2);
cc(i,j)=(Exp_spectra(:,i)*Lib_spectra(:,j))/(norm(Exp_spectra(:,i))*norm(Lib_spectra(:,j)));
end
end
figure;
%      bar(cc);
%      pcolor(cc);
hold on;
figure;
for k = 1:size(Exp_spectra,2);
subplot(size(Exp_spectra,2),1,k), bar(cc(k,:), 'FaceColor',[0.8314 0.8157 0.7843]);
%      subplot((size(Exp_spectra,2)),1,k), bar(cc(k,:), 'FaceColor',[0.8314 0.8157 0.7843]);
hold on;
end
for i=1:size(Exp_spectra,2)
[sortedValues,sortIndex]=sort(cc(i,:), 'descend');
maxIndex = sortIndex(1:5);
maxValues = sortedValues(1:5);
disp('compound'), i, disp('match fitting')
for k=1:length(maxIndex)
disp('Component          CC')
disp(names(1,maxIndex(k)));
disp('CC')
disp( maxValues(k));
end
disp('next compound match fitting')
end
else disp('Nothing to do');
end

```

5.2 Μαθηματικές Μέθοδοι Απόστασης

Για την επίτευξη της βέλτιστης ταυτοποίησης χρησιμοποιήθηκαν και συγκρίθηκαν εκ των αποτελεσμάτων, οι παρακάτω μαθηματικές μέθοδοι απόστασης.

<i>Dissimilarity measure</i>			
1	Euclidean	$\sqrt{\sum_{j=1}^I (x_{ij} - x_{kj})^2}$	Used in all cases
2	City block	$\sum_{j=1}^I x_{ij} - x_{kj} $	Used in all cases
3	Chebyshev	$\max x_{ij} - x_{kj} $	Used in all cases
4	Minkowski (order n)	$\sqrt[n]{\sum_{j=1}^I (x_{ij} - x_{kj})^n}$	General for order n , equal to Euclidean distance if $n=2$
5	Canberra	$\sqrt{\sum_{j=1}^I \frac{ x_{ij} - x_{kj} }{x_{ij} + x_{kj}}}$	Only useful for non-negative values
<i>Similarity measure</i>			
6	Pearson correlation coefficient	$\frac{\sum_{j=1}^I (x_{ij} - \bar{x}_i)(x_{kj} - \bar{x}_k)}{\sqrt{\sum_{j=1}^I (x_{ij} - \bar{x}_i)^2 \sum_{j=1}^I (x_{kj} - \bar{x}_k)^2}}$	Varies from +1 to -1
7	Squared Pearson correlation coefficient	$\left[\frac{\sum_{j=1}^I (x_{ij} - \bar{x}_i)(x_{kj} - \bar{x}_k)}{\sqrt{\sum_{j=1}^I (x_{ij} - \bar{x}_i)^2 \sum_{j=1}^I (x_{kj} - \bar{x}_k)^2}} \right]^2$	Varies from +1 to 0
8	Cosine	$\frac{\sum_{j=1}^I x_{ij} x_{kj}}{\sqrt{\sum_{j=1}^I x_{ij}^2 \sum_{j=1}^I x_{kj}^2}}$	Varies from +1 to -1

Μετά από την σύγκριση των αποτελεσμάτων η μέθοδος του σταθμισμένου συνημιτόνου παρουσίασε τις βέλτιστες προσεγγίσεις σύμφωνα με τα πέντε πλησιέστερα συστατικά βάσει του μαθηματικού τύπου 8 που φαίνεται παραπάνω.

5.3 Αποτελέσματα ταυτοποίησης

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα ταυτοποίησης των 17 πειραματικών βιοδεικτών με τα 208 συστατικά της βάσης δεδομένων Bio_X.

1.Experimental Compound: Gammacerane

Matching with Bio_X:

- (186) 17b(H), 21b(H)- Hopane 97,2%
- (242) Gammacerane 96,9%
- (236) 18a(H)-Oleanane 96,2%
- (193) C30-Hopane 94,5%
- (202) 17a(H),21a(H)-Hopane 93,9%

2.Experimental Compound: 17a(H),-22,29,30 Bisnorhopane (Tm)

Matching with Bio_X:

- (183) C29 –Tricyclic terpane 86%
- (234) 17b(H)-28,Norlupane 80,1%
- (188) 17b(H),21b(H)-Hopane 79,8%
- (199) C30-Moretane 79,1%
- (242) Gammacerane 78%

3.Experimental Compound: Oleanane

Matching with Bio_X:

- (236) 18a(H)-Oleanane 96,2%
- (193) C30-Hopane 95,8%
- (202) 17a(H),21a(H)-Hopane 94,5%
- (242) Gammacerane 92,6%
- (188) 17b(H),21b(H)-Hopane 92,4%

4.Experimental Compound: C30 Moretane

Matching with Bio_X:

- (236) 18a(H)-Oleanane 95,4%
- (193) C30-Hopane 93,9%
- (202) 17a(H),21a(H)-Hopane 92,6%
- (242) Gammacerane 92%
- (188) 17b(H),21b(H)-Hopane 91,4%

5.Experimental Compound: C30 Hopane

Matching with Bio_X:

- (236) 18a(H)-Oleanane 96,6%
- (193) C30-Hopane 96,5%
- (202) 17a(H),21a(H)-Hopane 94,8%
- (242) Gammacerane 93,9%
- (188) 17b(H),21b(H)-Hopane 93,5%

6.Experimental Compound: C19-tricyclic

Matching with Bio_X:

- (191) 17a(H),18a(H),21b(H)-28,30-Bisnorhopane (BNH) 77,7%
- (262) Dommara-13(17),24-diene 75%
- (193) C30-Hopane 72,9%
- (204) 17a(H),21b(H)-25-Norhopane 72,3%
- (261) Resin compound T 72%

7.Experimental Compound: C20-tricyclic

Matching with Bio_X:

- (43) 3,7,11,15-Tetramethyloctadecane 92,2%
- (49) 3,7,11,15,19,23-Hexamethylpentacosane 91,4%
- (45) 3,7,11,15,19-Pentamethylheneicosane 90,8%
- (47) 3,7,11,15,19-Pentamethyltricosane 89,8%
- (48) 3,7,11,15,19-Pentamethyltetracosane 88,3%

8.Experimental Compound: C21-tricyclic

Matching with Bio_X:

- (201) 17a(H),21a(H)-30-Norhopane 63,5%
- (193) C30-Hopane 63,2%
- (236) 18a(H)-Oleanane 63,2%
- (196) 17a(H),21b(H)-C40-Hopane 63,1%
- (202) 17a(H),21a(H)-Hopane 62,8%

9.Experimental Compound: C22-tricyclic

Matching with Bio_X:

- (307) C21-5b-Pregnane 86,5%
- (306) C21-5a-Pregnane 80,8%
- (205) 17b(H),18a(H),21a(H)-25,28,30-Trisnormoretane 78,8%
- (326) C27aaaS,R 77,4%
- (197) 17b(H),18a(H),21a(H)-28,30-Bisnormoretane 75,3%

10.Experimental Compound: C23-tricyclic

Matching with Bio_X:

- (183) C29 –Tricyclic terpane 83,7%
- (234) 17b(H)-28,Norlupane 77,7%
- (199) C30-Moretane 77,1%
- (188) 17b(H),21b(H)-Hopane 76,3%
- (209) 17,21-Secohopane (C27) 76,2%

11.Experimental Compound: C24-tricyclic

Matching with Bio_X:

- (308) C23-Sterane 72,7%
- (200) 17b(H),21a(H)-Homomoretane 70,8%
- (181) C28 –Tricyclic terpane 69,4%
- (313) Cholestadiene 67,7%
- (192) C29-Hopane 65,2%

12. Experimental Compound: **C29-aaa S**

Matching with Bio_X:

- (205) 17b(H),18a(H),21a(H)-25,28,30-Trisnormoretane 66,8%
- (246) Cycloeuclane 66,2%
- (197) 17b(H),18a(H),21a(H)-28,30-Bisnormoretane 65,4%
- (327) 5b(H)-Cholestane 64,4%
- (319) 5a(H)-Cholest-6-ene 63,2%

13. Experimental Compound: **C29-aaa R**

Matching with Bio_X:

- (349) C27 ba-diaS 88,8%
- (349) C27 ba-diaR 88,8%
- (205) 17b(H),18a(H),21a(H)-25,28,30-Trisnormoretane 86,5%
- (263) Resin compound R 81,3%
- (243) Filicane 80,5%

14. Experimental Compound: **C27-ba-dia, S**

Matching with Bio_X:

- (307) C21-5b-Pregnane 81%
- (205) 17b(H),18a(H),21a(H)-25,28,30-Trisnormoretane 79,5%
- (326) C27aaaS,R 79,5%
- (327) 5b(H)-Cholestane 77,9%
- (197) 17b(H),18a(H),21a(H)-28,30-Bisnormoretane 77,3

15. Experimental Compound: **C27-ba-dia, R**

Matching with Bio_X:

- (205) 17b(H),18a(H),21a(H)-25,28,30-Trisnormoretane 81,1%
- (197) 17b(H),18a(H),21a(H)-28,30-Bisnormoretane 79,6%
- (307) C21-5b-Pregnane 78,7%
- (246) Cycloeuclane 78,4%
- (327) 5b(H)-Cholestane 77,9%

16. Experimental Compound: C34 S

Matching with Bio_X:

- (236) 18a(H)-Oleanane 92,1%
- (193) C30-Hopane 92,1%
- (202) 17a(H),21a(H)-Hopane 91%
- (188) 17b(H),21b(H)-Hopane 90,2%
- (182) C29 –Tricyclic terpane 90%

17. Experimental Compound: C34 R

Matching with Bio_X:

- (193) C30-Hopane 78,1%
- (192) C29-Hopane 77,7%
- (174) C21 –Tricyclic terpane 77,3%
- (180) C26 –Tricyclic terpane 77%
- (236) 18a(H)-Oleanane 76,4%

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

Συμπεράσματα-Προτάσεις

6.1 Συμπεράσματα

Η παρούσα διαδικασία ψηφιοποίησης είναι μία αρκετά αποτελεσματική μέθοδος δημιουργίας μιας ψηφιακής βάσης δεδομένων και η άρτια ολοκλήρωσή της αποτελεί ένα πολύτιμο και εύχρηστο εργαλείο για την Οργανική Γεωχημεία και την ανάλυση πετρελαίου.

Αποτελεί την μόνη διαθέσιμη βιβλιοθήκη βιοδεικτών η οποία περιλαμβάνει από 208 διαφορετικά φάσματα βιοδεικτών έτοιμα για χρήση και δοκιμή ανάλυσης. Επίσης, η συγκεκριμένη βάση είναι εύκολα επεκτάσιμη με ότι φάσμα δημοσιεύεται στην βιβλιογραφία.

Στην συγκεκριμένη προσπάθεια ταυτοποίησης των συστατικών της βιβλιοθήκης Bio_X με τα 17 πειραματικά πρότυπα συστατικά, ο αποδεκτός βαθμός ταύτισης ορίστηκε σε ποσοστά άνω του 65% με ορισμένα συστατικά να φθάνουν σε εξαιρετικά υψηλά ποσοστά ταυτοποίησης (97%).

Με βάση την απόδοση του παραπάνω κώδικα, παρατηρείται ότι σε ορισμένα συστατικά δεν εμφανίζεται η αναμενόμενη ταυτοποίηση βάσει της απόστασης και αυτό μπορεί να οφείλεται στην διαφορετικότητα των φασμάτων τους ή στην ανακριβή ψηφιοποίηση παλαιών αναλογικών συγγραμμάτων.

Πρέπει να σημειωθεί πως η διαδικασία δημιουργίας της βιβλιοθήκης απαιτεί αρκετό χρόνο, ακρίβεια και προσοχή στα διάφορα στάδια υλοποίησής της. Συμπληρωματικά, απαιτείται γνώση και εξοικείωση με τα περιβάλλοντα του AutoCAD, Matlab και GC msd Data Chemstation Analysis.

Τέλος, η χρήση των βιοδεικτών στην ανίχνευση και τον εντοπισμό κοιτασμάτων οργανικών ορυκτών πόρων (πετρελαίου, ανθράκων) αποτελεί ένα ισχυρό αναλυτικό εργαλείο, ιδιαίτερα όταν χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με άλλα διαθέσιμα γεωφυσικά και γεωλογικά δεδομένα και συντελεί σημαντικά στην γνωστοποίηση πληροφοριών για την χημική σύσταση και την προέλευση του πετρελαίου. Η κατάρτιση της ψηφιακής βιβλιοθήκης μπορεί να λειτουργήσει καταλυτικά σε μελλοντική έρευνα του συγκεκριμένου κλάδου της Γεωχημείας.

6.2 Προτάσεις

Για μελλοντική έρευνα του αντικειμένου της ψηφιοποίησης φασμάτων, προτείνεται η χρήση διαφορετικού μαθηματικού μοντέλου (μετρικές αποστάσεις) για την επίτευξη ακριβέστερων αποτελεσμάτων και την ελαχιστοποίηση πιθανών σφαλμάτων. Η χειροκίνητη αναγνώριση και η καταγραφή των κορυφών βιβλιογραφικών φασμάτων μάζας που πραγματοποιείται μέσω AutoCAD, μπορεί να αυτοματοποιηθεί με την δημιουργία αλγορίθμου σε περιβάλλον Matlab, βελτιστοποιώντας την διαδικασία όχι μόνο χρονικά αλλά και ποιοτικά με σημαντική μείωση των σφαλμάτων. Ολοκληρώνοντας, συνιστάται ο εμπλουτισμός της βάσης δεδομένων Bio_X, για καταγραφή υπόλοιπων κατηγοριών βιοδεικτών και περαιτέρω έρευνα τους.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. <http://www.petrelaio.gr/>
2. **Πασαδάκης Ν., 2007.** Γεωχημεία πετρελαίου, Εκδόσεις Τζιόλα, Θεσσαλονίκη.
3. **Καρώνης, Δ., Λόης, Ε. και Ζαννίκος, Φ., 2007.** Σημειώσεις για το μάθημα της τεχνολογίας πετρελαίου και φυσικού αερίου. Σχολή Χημικών Μηχανικών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.
4. **Gordon J. Hookey 1981,** ASTM Designation D 86-93, Standard Test Method Distillation of Petroleum Products.
5. **Eglinton & Calvin, 1967.** Chemical fossils. Scientific American 216: 32–43.
6. **Waples, D. W. 1985** Geochemistry in Petroleum exploration.
7. **Peters, K.E. J.M. Moldowan 1993,** The biomarker guide, interpreting molecular fossils in Petroleum and ancient sediments.
8. **Cahn, 1966** Asymmetric C that obeys counter clockwise.
9. **Seifert & Moldowan, 1980** Biomarkers and Isotopes in Petroleum Exploration and Earth History, Maturity-related biomarker parameters.
10. **Nes W. R. and McKean M. L. 1977** Biochemistry of Steroids and other Isoprenoids. University Park Press, Baltimore
11. **Volkman, J.K. & Maxwell, J.R. 1986.** Acyclic isoprenoids as biological markers. In: Biological Markers in the Sedimentary Record. Methods in Geochemistry and Geophysics, 24, Elsevier Science Publishers BV. pp. 1-42 ISBN: 0-444-42598-5.
12. **Goossens, H., Leeuw, J. De, Schenck, P., & Brassell, S. 1984.** Tocopherols as likely precursors of pristane in ancient sediments and crude oils. Nature.
13. **Speight, J. 2014.** The chemistry and technology of petroleum.

14. **Simoneit, B. 1986.** Characterization of organic constituents in aerosols in relation to their origin and transport: a review. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*

15. **Silverman, S. R. 1971** Influence of petroleum and transformation on its distribution and redistribution in sedimentary rock. In: *Proceedings of the Eighth World Petroleum Congress*, Applied Science Publishers, London, pp. 47-54

16. **Whitehead, I.M., Prakash, M.D. and Dixon, R.A. 1982.** Differential patterns of phytoalexin accumulation and enzyme induction in wounded and elicitor treated tissues of *Phaseolus vulgaris*. *Planta* 154.

17. **Philp R.P. 1985** Fossil fuel biomarkers application and spectra, 1985 (New York. Elsevier Science Publishers B.V.,

18. *Petroleum Geochemistry for Exploration Geoscientists, Part 2: Applications of biomarkers in petroleum exploration.*

19. **Mackenzie A.S., Brassell S.C., Eglinton G., Maxwell J.R. (1982)** Chemical fossils: The geological fate of steroids. *Science* 217:491-509

20. **Barakat, A.O., Mostafa, A.R., Rullkötter, J. and Hegazi, A.R., 1999.** Application of a multimolecular marker approach to fingerprint petroleum pollution in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, v.38, p.p. 535-544.

21. **A.o. Barakat, A.R. Mostafa, J. Rullkötter and A. Hegazi,** Application of multimolecular marker approach to fingerprint petroleum pollution in the marine environment. (Biomarkers and hydrocarbons: 'The biomarker catalogue')

22. <http://www.main.com/~pra/webhand.htm>

23. **Simoneit, B. (1999).** A review of biomarker compounds as source indicators and tracers for air pollution. *Environmental Science and Pollution Research*.

24. **Fuentes-Rios, D., Orrego, R., & Rudolph, A. (2005).** EROD activity and biliary fluorescence in *Schroederichthys chilensis* (Guichenot 1848): Biomarkers of PAH exposure in coastal environments of the South. *Chemosphere*.

25. **Πασαδάκης Ν.** “Οι βιοδείκτες : Πανεπιστημιακές Σημειώσεις για το μάθημα της Οργανικής Γεωχημείας”

26. **Brocks, Logan, Buick, & Summons, 1999.** Archean molecular fossils and the early rise of eukaryotes. *Science (New York, N.Y.)*, 285(5430).

27. **Schlesinger, 2005)Schlesinger, W. (2005).** *Biogeochemistry*.

28. **Dwyer, T., & Fillo, J. 2006.** Assaying α -Dicarbonyl Compounds in Wine: A Complementary GC–MS, HPLC, and Visible Spectrophotometric Analysis. *Journal of Chemical Education*.

29. **Karasek and Clement, 1988,** Basic gas chromatography-mass spectrometry: Principles and techniques.

30. **Koo, Imhoi Kim, Seongho, Zhang, Xiang 2011,** ‘Comparative analysis of mass spectral matching-based compound identification in gas chromatography-mass spectrometry’

31. <http://www.energeia.gr/>

32. **Kenneth E. Peters, J. Michael Moldovan,** Interpreting Molecular Fossils in Petroleum and Ancient Sediments

33. Paul W. Brooks and Marrin G. Fowler, Application Of Biomarkers to Petroleum Geochemistry

34. J. Throck Watson and O. David, John Wiley & Sons, Sparkman 2007, "Introduction to Mass Spectrometry: Interpretation, Applications, and Strategies for Data Interpretation "4th Edition.