



TAMPEREEN
AMMATTIKORKEAKOULU

HEKSABROMISYKLODODEKAANIN MÄÄRITYS EPS- ja XPS-ERISTEISTÄ

Menetelmän kehitys

Olli Sandqvist

Opinnäytetyö
Toukokuu 2018
Energia- ja ympäristötekniikka
Laboriotekniikka



TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Energia- ja ympäristötekniikka
Laboratoriotekniikka

SANDQVIST, OLLI:

Heksabromisyklododekaanin määrittäminen EPS- ja XPS-eristeistä
Menetelmän kehitys

Opinnäytetyö 47 sivua, joista liitteitä 10 sivua
Toukokuu 2018

Heksabromisyklododekaani (HBCD) on bromattuihin palonsuoja-aineisiin (BFR) kuuluva yhdiste, jota käytettiin yleisesti eristeiden, pakkausmateriaalien ja tekstiilien suojaamiseen. Sitä käytettiin etenkin rakennuseristeiksi valmistetun EPS- ja XPS-polystyreenin lisäaineena. Vuonna 2013 HBCD lisättiin Yhdistyneiden kansakuntien ympäristöohjelman Tukholman sopimukseen, joka rajoittaa niin kutsuttujen POP-yhdisteiden, pysyvien orgaanisten yhdisteiden, käyttöä ja päästöjä. HBCD:n valmistaminen ja sitä sisältävien materiaalien käyttökielto astui Euroopan unionissa voimaan vuonna 2015.

Opinnäytetyö oli osa Tampereen ammattikorkeakoulun ja Suomen ympäristökeskuksen projektia, jossa selvitettiin rakennuspurkujätteen sisältämiä HBCD-pitoisuuksia. Opinnäytetyön tavoite oli kehittää laboratorioanalyysi, joka soveltuu EPS- ja XPS-polystyreenijätteelle HBCD:n kvantitatiiviseen määrittämiseen. Opinnäytetyön tarkoitus oli perehtyä jo olemassa olevaan tutkimustietoon, valita sopiva analyysilaitteisto ja kehittää sille analyysimenetelmä HBCD:n määrittämiseen EPS- ja XPS-muoveista.

Analyysilaitteeksi valittiin kaasukromatografi liekki-ionisaatiotekijällä, GC-FID. Menetelmän kehityksessä etsittiin HBCD:n analysointiin sopiva GC-kapillaarikoloni, selvitettiin sopivat laiteparametrit ja kehitettiin näytteenkäsittelyä muovinäytteiden saattamiseksi analysoitavaan muotoon.

Työn tuloksena HBCD:lle kehitettiin analyysimenetelmä, jonka toimivuutta tarkasteltiin osittaisella validoinnilla ja joka todettiin soveltuvaksi vaaditun tarkkuuden puitteissa. Täydellisen validoinnin suorittaminen olisi vaatinut HBCD:tä sisältävän standardimateriaalin, mutta mahdollisia jatkotutkimuksia ajatellen tulokset olivat lupaavia ja hyödyllisiä.

Työn tuloksista pääteltiin, että HBCD:n määrittäminen EPS- ja XPS-muovista on mahdollista tehdä kaasukromatografilla. Kehitettävää myös löydettiin, etupäässä näytteenkäsittelyprosessissa saannon parantamiseksi ja näyteliuosten säilyvyyden selvittämisessä.

ABSTRACT

Tampereen ammattikorkeakoulu
Tampere University of Applied Sciences
Energy and Environmental Engineering
Laboratory Engineering

SANDQVIST, OLLI:

Determination of Hexabromocyclododecane in EPS and XPS Insulation
Method Development

Bachelor's thesis 47 pages, appendices 10 pages
May 2018

Hexabromocyclododecane (HBCD) is a brominated flame retardant (BFR) and was classified as a persistent organic pollutant (POP). A ban on the manufacturing and use of HBCD in EU came into effect on 21 August 2015.

The aim of this thesis was to develop a method for quantitative analysis of HBCD in EPS and XPS foam waste. The purpose was to study existing research information, choose a suitable instrument and develop a method for analyzing HBCD contents of EPS and XPS foams.

The instrument chosen was a gas chromatograph with a flame ionization detector, GC-FID. Method development consisted of choosing a right GC column and parameters as well as developing a way to prepare the foam samples for analysis.

The method was found suitable in a partial validation process. Due to the lack of standardized reference samples a throughout validation of the method was not possible but the results should be useful for any future research on the subject.

The results showed that it is possible to analyze the HBCD content of EPS and XPS foams by GC-FID. However, the sample preparation process and determination of the sample preservation time need more research.

Key words: HBCD, polystyrene, POP, quantitative analysis, GC-FID

SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	7
2	TEORIA	8
2.1	Bromatut palonsuoja-aineet	8
2.2	Heksabromisyklododekaani.....	8
2.3	Pysyvät orgaaniset yhdisteet ja HBCD	10
2.4	Kaasukromatografia HBCD:n määrityksessä	11
3	MENETELMÄN TESTAUKSEN PARAMETRIT	13
3.1	Validoinnin soveltaminen	13
3.2	Selektiivisyys	13
3.3	Lineaarisuus- ja mittausalue	13
3.4	Toteamisraja ja määrittäysraja	14
3.5	Vertailumateriaalit	14
3.6	Saanto.....	14
3.7	Mittausepävarmuus	15
4	MENETELMÄN KEHITYS	16
4.1	Mittauslaitteisto.....	16
4.2	Reagenssit ja liuokset.....	17
4.3	HBCD-standardiliuosten valmistus	17
4.4	Näytteet ja näytteenkäsittelyprosessi	18
4.5	Esikokeet.....	21
4.6	Kolonnin valinta.....	22
4.7	GC-FID ajo-ohjelman optimointi	23
5	MENETELMÄN TESTAUS.....	27
5.1	Standardit	27
5.2	Selektiivisyys	28
5.3	Lineaarisuuden tarkastelu	29
5.4	Toteamisrajan ja määrittäysrajan arviointi	30
5.5	Näytteenkäsittelyn vaikutus saantoon.....	31
5.6	Mittausepävarmuuden arviointi	33
5.7	Näyteliuosten säilyvyys	33
6	Mitattujen näytteiden pitoisuudet	34
7	POHDINTA.....	35
	LÄHTEET.....	36
	LIITTEET	38
	Liite 1. α -HBCD, β -HBCD ja γ -HBCD rakennekaavat ja ominaisuudet.....	38
	Liite 2. HBCD:n analyysin suoritusohje	39

Liite 3. Menetelmän testauksen standardiliuosten mittaustulokset	41
Liite 4. Regressioanalyysin numeeriset tulokset	43
Liite 5. Saannon laskemiseen käytetyt arvot	45

LYHENTEET JA TERMIT

BFR	bromatut palonsuoja-aineet
DDT	diklooridifenyylitrikloorietaani
EPS	paisutettu polystyreeni, styroksi (expanded polystyrene)
FID	liekki-ionisaatiodektoori (flame ionisation detector)
GC	kaasukromatografi (gas chromatograph)
HBCD	heksabromisyklododekaani (hexabromocyclododecane)
ISTD	sisäinen standardi (internal standard)
POP-yhdisteet	pysyvät orgaaniset yhdisteet (persistent organic pollutants)
XPS	suulakepuristettu polystyreeni (extruded polystyrene)

1 JOHDANTO

Tämä opinnäytetyö on osa Suomen ympäristökeskuksen ja Tampereen ammattikorkeakoulun yhteistä projektia, jossa selvitettiin HBCD:n esiintymistä rakennuskannassa ja rakennuspurkujätteessä. Opinnäytetyön tavoite oli kehittää analyysimenetelmä, joka soveltuu HBCD:n kvantitatiiviseen määrittämiseen EPS- ja XPS-polystyreenijätteelle. Opinnäytetyön tarkoitus oli perehtyä jo olemassa olevaan tutkimustietoon, valita sopiva analyysilaitte ja kehittää sille analyysimenetelmä HBCD:n määrittämiseen EPS- ja XPS-muoveista.

1,2,5,6,9,10-Heksabromisyklododekaani (HBCD) kuuluu bromattuihin palonsuoja-aineisiin ja sitä on käytetty vuosikymmeniä etenkin EPS- ja XPS-eristeiden palonsuojaukseen, mihin se on ollut ainoa sopiva tarjolla olevista vaihtoehdoista. HBCD:n on havaittu olevan erittäin pysyvä yhdiste ja kertyvän ravintoketjussa. Sen pitkäaikaisvaikutukset ovat vielä epäselvät, mutta tutkimustulosten perusteella se lisättiin vuonna 2013 Tukholman yleissopimukseen, jolla rajoitetaan pysyvien orgaanisten yhdisteiden (POP) käyttöä ja valmistusta. Samalla listalla HBCD:n kanssa on muun muassa pahamaineinen hyönteismyrkky DDT.

HBCD:n käyttökielto astui voimaan Euroopan unionissa vuonna 2015, jonka jälkeen HBCD:tä sisältävää jätettä arvellaan vuoteen 2017 mennessä syntyneen Euroopassa 23 miljoonaa tonnia. Jos jätteen HBCD-pitoisuus on yli 1000 mg/kg, on se hävitettävä POP-jätettä koskevien säännösten mukaisesti, eikä sitä saa esimerkiksi kierrättää tai uusiokäyttää. Ongelmana on, ettei rakennuksilta tulevasta EPS- ja XPS-jätteestä voida silmämääräisesti sanoa, sisältääkö se HBCD:tä vai ei. HBCD-pitoisuutta voidaan arvioida esimerkiksi kannettavalla laitteella paikan päällä, mutta tulosten oikeellisuuden varmistamiseen tarvitaan toimiva laboratorioanalyysi.

Opinnäytetyössä kehitettiin HBCD-analyysimenetelmä kaasukromatografille. Se todettiin osittaisen validoinnin perusteella toimivaksi vaaditulla tarkkuudella. Täydellistä validointia ei voitu tehdä, sillä vertailumateriaalia tai -menetelmää ei ollut saatavilla. Ongelmia tuotti myös se, että valtavasta rakennuksilta ja jätevirrasta kerätystä näytemäärästä löytyi hyvin vähän HBCD:tä, jolloin näytteenkäsittelyä ei voitu tutkia riittävän perusteellisesti.

2 TEORIA

2.1 Bromatut palonsuoja-aineet

Palonsuoja-aineet ovat kemikaaleja, joita lisätään palaviin materiaaleihin tai annetaan reagoida niiden kanssa tulenarkuuden vähentämiseksi. Tämä ei tarkoita materiaalien tekemistä täysin tulenkestäviksi, vaan palamisprosessin hidastumista, jolloin esimerkiksi tulipalon sattuessa pakoon pääsyn mahdollisuus kasvaa. (Eljarrat & Barcelò 2011, 3.)

Palaminen on kaasufaasissa tapahtuva reaktio palavan aineen ja hapen välillä. Palaminen voidaan jakaa neljään vaiheeseen: palavan aineen lämpiämiseen, haihtumiseen, palamisreaktioon ja palamisen etenemiseen. Palonsuoja-aineen tulisi hidastaa tai estää prosessia jossain näistä vaiheista. (Eljarrat & Barcelò 2011, 3.)

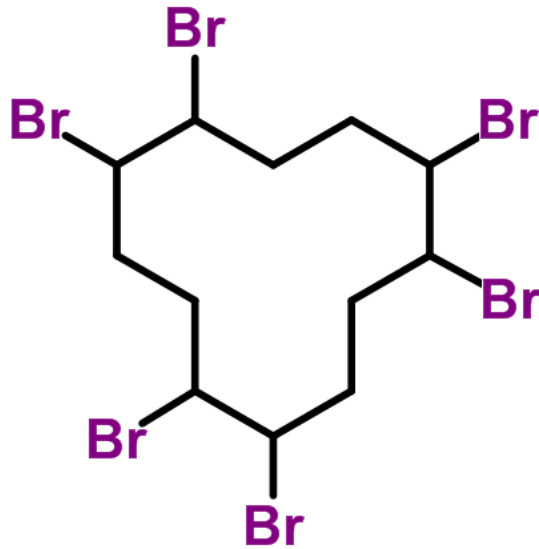
Palamisreaktiossa syntyy vapaita radikaaleja, jotka ovat voimakkaita hapettimia ja tärkeitä palamisen etenemisen kannalta (Eljarrat & Barcelò 2011, 3). Bromatut palonsuoja-aineet hajoavat lämmön vaikutuksesta vetybromidiksi. Vetybromidi reagoi herkästi palamisessa syntyvien H•- ja OH•-radikaalien kanssa muodostamalla vakaita H₂- ja H₂O-molekyylejä, sekä huomattavasti vähemmän reaktiivisia Br•-radikaaleja hidastaen palamisreaktion etenemistä. (Popescu, Zamfir & Dinca 2008, 153–154.)

2.2 Heksabromisyklododekaani

1,2,5,6,9,10-Heksabromisyklododekaani (HBCD) on rakenteeltaan syklinen alifaattinen kahdentoista hiiliatomin rengas, johon on kiinnittynyt kuusi bromi-atomia (kuvio 1). HBCD kuuluu bromattuihin palonsuoja-aineisiin ja sitä valmistettu 60-luvulta lähtien lähinnä rakennusteollisuuden EPS- ja XPS-eristeiden sekä vähemmässä määrin mm. huonekalujen, autojen verhoilun, elektroniikan suojaamiseen. (Marvin ym. 2011. 8613.)

Teknistä HBCD:tä valmistetaan 1,5,9-syklododekatrieenistä bromin additioreaktiolla. Teoriassa tuloksena saadaan 16 erilaista isomeeriä, eli kuutta diastereomeeriä, joilla kullakin on kaksi enantiomeeriä, sekä neljää mesomuotoa (Marvin ym. 2011. 8613). Tekninen HBCD on sekoitus pääasiassa kolmea diastereomeeriä, jotka ovat α -HBCD, β -HBCD

ja γ -HBCD. Näistä γ -HBCD on vallitseva yli 70 % osuudella. Vuonna 2001 HBCD-tuotanto maailmanlaajuisesti oli 16700 tonnia, mikä teki siitä maailman kolmanneksi käytetyimmän BFR-yhdisteen. Sitä käytettiin lähinnä XPS- ja EPS-polystyreenissä, joihin se oli tuolloin ainoa vaihtoehto suuren tehokkuutensa ansiosta. Tyypilliset pitoisuudet EPS- ja XPS-muoveissa olivat noin 0,7 % ja 2 %. (Popescu ym. 2008, 154–155.) HBCD:n yleinen rakennekaava on esitetty kuviossa 1.



KUVIO 1. 1,2,5,6,9,10-heksabromisyklododekaani, HBCD (Chemspider.com)

HBCD:n eri diastereomeerit vaikeuttavat aineen analysointia, sillä ne ovat fysiokemiallisilta ominaisuuksiltaan erilaisia. Kun lämpötila nousee yli 150 °C, alkavat eri diastereomeerit ja niiden enantiomeerit muuttua toisikseen niin kutsutun termisen isomeraation kautta. Tästä syystä kaasukromatografilla eri isomeerejä ei voida erottaa toisistaan, vaan siihen tarvitaan korkean erotuskyvyn nestekromatografi. Kun lämpötila nousee yli 200 °C, alkaa HBCD-molekyylä hajota. (Köppen, Becker, Jung & Nels 2008.) Teknisen HBCD:n muodostavien α -HBCD, β -HBCD ja γ -HBCD diastereomeerien rakennekaavat ja ominaisuudet on esitetty liitteessä 1 (Sanders, Knudsen & Birnbaum 2013, 252; Hexabromocyclododecane risk profile 2010, 6-7).

2.3 Pysyvät orgaaniset yhdisteet ja HBCD

Pysyvät orgaaniset yhdisteet eli POP-yhdisteet (persistent organic pollutant) ovat erittäin pysyviä, myrkyllisiä, kauas kulkeutuvia ja eliöihin kertyviä. Niitä on käytetty teollisuuskemikaaleina, palonsuoja-aineina tai torjunta-aineina. POP-yhdisteet säilyvät ympäristössä pitkään, rikastuvat ravintoketjuissa rasvaliukoisina sekä voivat aiheuttaa pieninä pitoisuuksina haittaa ihmiselle ja ympäristölle. POP-yhdisteiden pitkäaikais- tai yhteisvaikutuksia ei tunneta. (Suomen ympäristökeskus 2013.)

Tutkimusten ja simulointien mukaan HBCD kertyy eliöihin ja rikastuu ravintoketjussa. Arktiselta alueelta on löydetty korkeita HBCD-pitoisuuksia, mikä viittaa myös biokulkeutumiseen ilman hiukkasten mukana. Sitä on löydetty vuosien mittaan kasvavina pitoisuuksina myös ihmisistä. HBCD on erittäin myrkyllistä vesieliöille, ja sen on todettu aiheuttavan nisäkkäissä muun muassa lisääntymis-, kehitys- ja käyttöhäiriöitä. HBCD:n eri isomeerit käyttäytyvät ympäristössä eri lailla, ja niistä α -isomeerin on todettu olevan muita herkempi kertymään ympäristöön ja eliöihin. (Hexabromocyclododecane risk profile 2010, 4.)

POP-yhdisteiden käyttöä rajoitetaan kahdella eri sopimuksella, maailmanlaajuisella Tukholman sopimuksella ja YK:n Euroopan Talouskomission alaisella kaukokulkeutumisopimuksella (Suomen ympäristökeskus 2013). HBCD lisättiin vuonna 2013 Tukholman sopimuksen kohtaan A käytöstä poistettavaksi yhdisteeksi. Käyttö- ja valmistuskielto astui voimaan elokuussa 2015, poikkeuksena rakennuksissa eristeenä oleva HBCD:tä sisältävä EPS- ja XPS-muovi. (Listing of Hexabromocyclododecane 2013.)

Suurimmat HBCD-päästöt ympäristöön tulevat eristeteollisuudesta, vedestä, ilmasta sekä tekstiileistä. HBCD:tä vapautuu sitä sisältävistä tuotteista kuitenkin koko tuotteen elinkaaren ajan. (Hexabromocyclododecane risk profile 2010, 4.) Ympäristökeskuksen mukaan on arvioitu, että vuoteen 2017 mennessä Euroopan unionissa on syntynyt noin 23 miljoonaa tonnia HBCD-jätettä. Jätteestä syntyvät päästöt on arvioitu vielä suuremmiksi, kuin tuotannossa tai käytössä syntyvät päästöt. Jätteenkäsittelyn kannalta ongelmallista on, että HBCD-jätettä ei voida ulkonäön perusteella erottaa palonsuojaamattomasta jätteestä. (Suomen ympäristökeskus 2018.)

Euroopan parlamentin asetuksessa on määritelty POP-yhdisteille maksimipitoisuudet, jolloin niitä sisältävä jäte tulee käsitellä asetusten mukaisella tavalla (Asetus 2004/850/EY). Vuonna 2016 Euroopan parlamentin asetuksella lisättiin HBCD tähän listaan, ja sille määritettiin alarajaksi 100 mg/kg. Tämä on pitoisuus, minkä jälkeen tuotetta koskevat asetuksen mukaiset rajoitukset. Tätä alemmissa pitoisuuksissa voidaan tuotetta käsitellä, kuin se ei sisältäisi HBCD:tä. Jos pitoisuus ylittää 1000 mg/kg, pitää tuotetta jätteenä käsitellä POP-jätteelle määrättyjen käytäntöjen mukaisesti. Tätä opinnäytetyötä kirjoitettaessa edellä mainitut pitoisuusrajat oli määrätty tarkistettavaksi viimeistään 20.4.2019 mennessä. (Asetus 2016/293/EU; Asetus 2016/460/EU.)

2.4 Kaasukromatografia HBCD:n määrittämisessä

Jaarisen & Niirasen mukaan kaasukromatografi soveltuu hajoamatta höyrystyvien yhdisteiden analytiikkaan (Jaarinen & Niiranen 2005, 183). Tämä voi aiheuttaa ongelmia HBCD:tä analysoitaessa, sillä sen isomeerit alkavat muuttua toisikseen ja hajota jo ennen sen kiehumispistettä. Isomeerejä ei myöskään voida tämän vuoksi erottaa toisistaan. (Köppen, Becker, Jung & Nels 2008.) Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on kuitenkin HBCD:n kokonaispitoisuuden määrittäminen, jolloin eri isomeerejä ei tarvitse erottaa toisistaan. Koska kaasukromatografi-liekki-ionisaatiodektektori (GC-FID) on verrattain vaivaton analyysityökalu, ja tutkittavat pitoisuudet korkeita, päätettiin analyysimenetelmän kehitystä ensimmäiseksi kokeilla tällä laitteella. GC-FID:n soveltuvuudesta HBCD:n analysointiin polystyreenistä löytyi ohje, jonka pohjalta analyysin toimivuutta päätettiin ryhtyä kokeilemaan tällä laitteella (Cefic & Plastics Europe 2015).

Kaasukromatografiassa näytteet kulkevat höyrystyneinä liikkuvan faasin eli kantajakaasun mukana kapillaareissa, joiden sisäpinnalla on ohut nestemäinen pysyvä faasi. Aineiden erottuminen perustuu niiden höyrönpaineisiin sekä liukoisuuteen pysyvään faasiin. Analyysissä näyte syötetään kaasutiiviin septumin läpi injektoriin, jossa näyte höyrystyy. Injektorista näyte menee kantajakaasun mukana kolonniin ja sen läpi detektorille. Kolonnin lämpötilaa voidaan säädellä ajon aikana, mikä on oleellista erottumisen kannalta. (Jaarinen & Niiranen 2005, 183)

Liekki-ionisaatiodetektorissa (FID) näyte palaa vety-ilmaseoksessa muodostaen elektroneja. Elektronit aikaansaavat sähkövirran, joka muutetaan signaaliksi. FID on yleisdetektori, joka on lineaarinen laajalla alueella ja herkkä useimmille hiilivedyille. (Harris 2010. 581.)

HBCD on syklinen halogenoitu hiilivety, mikä tekee siitä hyvin poolittoman. Poolittomien yhdisteiden erottumiseen sopivat polydimetyylisiloksaanikolonnit, jotka erottavat yhdisteet kiehumispisteiden mukaan. Polydimetyylisiloksaanifaasia voidaan muunnella korvaamalla osa metyyliryhmistä esimerkiksi fenyyli- tai vinyyliryhmillä, jolloin lähes saman kiehumispisteen omaavien yhdisteiden erottaminen paranee. (Jaarinen & Niiranen 2005, 191-192.)

3 MENETELMÄN TESTAUKSEN PARAMETRIT

3.1 Validoinnin soveltaminen

Kemiallisen mittausmenetelmän validointi on menettely, jolla osoitetaan analyttisen menetelmän sopivuus aiottuun käyttötarkoitukseen (Edher 2005, 25). Kehitettyä menetelmää ei varsinaisesti validoitu, vaan sen toimivuutta ja puutteita tarkasteltiin validoinnin parametrien avulla. Suurin ongelma validoinnin kannalta oli, että HBCD:tä sisältävästä polystyreenistä ei ollut käytettävissä sertifioitua vertailunäytettä. Vaikka standardisuorat olivat alusta asti hyviä, ei se taannut, että varsinaisten näytteiden pitoisuudet silti olisivat mitatun suuruisia. Näytteiden HBCD saattoi olla isomeerikoostumukseltaan erilaista kuin standardireagenssi, jolloin isomeerien erilaiset vasteet suhteessa pitoisuuteen aiheuttavat epävarmuutta tuloksiin. Toinen ongelma oli, että valtavasta näytemäärästä huolimatta vain yhdestä pienestä XPS-palasta löydettiin mainittavia HBCD-pitoisuuksia. Kun sopiva näytemateriaali loppui, jouduttiin oikeita näytteitä jäljittämään itsevalmistetulla näyte-liuoksella, jossa puhtaaksi todettua polystyreeniä liuotettiin ISTD-liuoksen sijaan standardiliuokseen, joka sisälsi tunnetun määrän HBCD:tä ja ISTD:tä.

3.2 Selektiivisyys

Mittausmenetelmän selektiivisyys kuvaa menetelmän kykyä määrittää tietty analysoitava aine tai aineet monikomponenttisisä seoksessa siten, että muut komponentit eivät häiritse. Menetelmä on spesifinen, jos se on täysin selektiivinen analysoitavalle aineelle tai aineryhmälle. (Edher 2005, 27.)

3.3 Lineaarisuus- ja mittausalue

Lineaarisuudella tarkoitetaan menetelmän kykyä antaa tietyllä alueella lineaarinen korrelaatio näytteiden vasteen ja pitoisuuden välille. Lineaarisuusalue määritetään silmämääräisesti tekemällä regressioanalyysi vähintään viidestä erivahvuisesta jäljitettävästi valmistetusta näytteestä. Jokaisella näytteellä tulisi suorittaa useita toistoja. Mittausalue on

alue, jolla voidaan saavuttaa hyväksyttävä tarkkuus. Se on yleensä laajempi kuin lineaarinen alue. (Edher 2005, 28–29.)

3.4 Toteamisraja ja määrittysraja

Toteamisraja (LOD) on pienin tutkittavan aineen määrä, joka voidaan luotettavasti havaita käytetyllä menetelmällä. Toteamisraja on usein erisuuruinen erilaisille näytteille. Toteamisraja on monimutkainen parametri, joka on erityisen tärkeä tutkittaessa erittäin pieniä pitoisuuksia. (Eurachem 2016, 34.)

Määrittysraja (LOQ) on pienin tutkittavan aineen määrä, joka voidaan analysoida riittäväällä tarkkuudella. Määrittysrajaa voidaan pitää mitta-alueen alarajana. (Eurachem 2016, 34.)

3.5 Vertailumateriaalit

Vertailumateriaalit ovat ominaisuuksiltaan riittävän homogeenisia ja vakaita niiltä ominaisuuksiltaan, jotka ovat sovitettu käyttötarkoituksen kannalta oleellisiksi. Sertifioidut vertailumateriaalit ovat vertailumateriaaleja, joiden ominaisuudet virherajoineen virallinen taho on todennut valideilla menetelmillä. (Eurachem 2016, 8.)

3.6 Saanto

Saannolla kuvataan menetelmän tehoa havaita tutkittavan aineen kokonaismäärä. Näytteenkäsittelyssä ennen mittausta saantoon vaikuttavat monet tekijä, joita ei kaikkia voida edes määrittää. Tutkittavan aineen saanto on aina määritettävä menetelmäkohtaisesti. Saantoa voidaan määrittää esimerkiksi vertaamalla saatua tulosta saannoltaan tunnetun menetelmän tuloksiin, sertifioidulla matriisipohjaisella vertailumateriaalilla saatuihin tuloksiin tai gravimetrisesti mitattujen tunnettujen lisäysten avulla. (Edher 2005, 32-33.) Työn kannalta on oleellista tietää, saostuuko HBCD tai ISTD merkittävässä määrin takaisin polystyreenin mukana isopropanolia lisättäessä.

3.7 Mittausepävarmuus

Mittausepävarmuus on parametri, joka kuvaa mittaussuureen arvojen oletettua vaihtelua. Mittausepävarmuus on kvantitatiivinen arvio niistä rajoista, joiden sisäpuolella mittaus-tuloksen oletetaan olevan tietyllä todennäköisyydellä. Käytännön mittauksissa mittaustu-loksen mittausepävarmuuteen voi vaikuttaa monet tekijät, kuten näytteenotto, matriisin vaikutus ja sen aiheuttamat häiriöt, ympäristöolosuhteet, massan ja tilavuuden määriytykseen liittyvät epävarmuudet, vertailuarvot, mittausten menetelmään liittyvät arviot ja oletuk-set, ja satunnaiset vaihtelut. (Edher 2005, 18-19.)

HBCD:n mittausepävarmuuden määrittämisessä oletettiin perusmittauksien, kuten pun-nitusten ja pipetointien vaikutusten olevan mitätön, sillä niiden suhteelliset epävarmuudet olivat pahimmillaankin vähintään yhtä kertaluokkaa pienempiä kuin standardien GC-mit-taustulosten suhteelliset keskihajonnat ja HBCD:n sekä heksadekaanin epäpuhtaudesta aiheutuvat virheet. Minimiepävarmuutta arvioitiin MIKESIN metrologiaoppaan mukai-sesti (Edher 2005, 23-24). HBCD:n pitoisuuden yhdistetty mittausepävarmuus saadaan kaavalla 1

$$\frac{\Delta c}{c} = \sqrt{(RSD_{st4})^2 + (P_{HBCD})^2 + (P_{heksadekaani})^2} \quad , \quad (1)$$

missä RSD_{st4} on standardi 4 suhteellisten vasteiden suhteellinen keskihajonta (liite 2), P_{HBCD} standardien valmistukseen käytetyn HBCD:n puhtausaste, $P_{heksadekaani}$ sisäisenä standardina toimineen heksadekaanin puhtausaste. Standardi 4 valittiin vertailukohdaksi, koska laimeimpana sen suhteellinen keskihajonta oli mittausalueen standardeista suurin. Laajennettu mittausepävarmuus saadaan kertomalla yhdistetty mittausepävarmuus vaki-olla 2 (Edher 2005, 24).

4 MENETELMÄN KEHITYS

4.1 Mittauslaitteisto

Työssä käytetty GC-FID-laitteisto oli Agilent Technologies 7820A. Kantajakaasuna käytettiin heliumia. FID-asetukset pidettiin työn ajan laboratorion ohjeistuksen mukaisina, lämpötila 300 °C, virtaus 30 ml/min heliumille ja vedylle sekä 400 ml/min ilmalle. Käytetty laitteisto on kuvassa 1.



KUVA 1. GC-FID Agilent Technologies 7820A

HBCD:n määrittämiseen käytettiin sisäisen standardin menetelmää, missä tutkittavan analyysin (HBCD) ja sisäiseksi standardiksi lisätyn toisen aineen (heksadekaani) kromatogrammin piikkien pinta-ala esitetään mitattavan aineen pitoisuuden funktiona.

4.2 Reagenssit ja liuokset

Työssä käytetyt liuottimet löytyivät laboratoriosta, mutta HBCD-standardeihin tarvittava puhdas HBCD tilattiin Sigma-Alrich:lta. Kun otettiin huomioon työn tarkoitus ja mahdollinen runsas kulutus, päätettiin tilata 95 % puhdasta HBCD:tä, joka oli selvästi standardipuhdasta edullisempaa. Käytetyt reagenssit ja liuottimet ovat taulukossa 1.

TAULUKKO 1. Opinnäytetyössä käytetyt liuottimet ja reagenssit

Aine	Valmistaja	Puhtausaste (%)	Käyttö
dikloorimetaani	Merck	99,8	liuotin
kloroformi	Merck	99,8	liuotin
HBCD	Sigma-Aldrich	95	standardi
heksadekaani	Fluka	98	sisäinen standardi
Isopropanoli	Merck	99,5	saostus

4.3 HBCD-standardiliuosten valmistus

Standardiliuoksia ja näytteitä varten valmistettiin sisäisen standardin (ISTD, internal standard) sisältävä liuos. Tätä varten valmistettiin ensin noin 8000 mg/l ISTD-kantaliuos punnitsemalla heksadekaania noin 200 mg suoraan mittalasiin ja laimennettiin 25 ml:ksi dikloorimetaanilla. Tästä kantaliuoksesta laimennettiin noin 80 mg/l ISTD-liuos. Tähän pitoisuuteen päädyttiin vertaamalla analysoitujen standardien heksadekaanipiikkien pinta-aloja HBCD-piikkien pinta-aloihin. Heksadekaani antoi huomattavasti suuremmat piikkien pinta-alat kuin HBCD vastaavalla pitoisuudella. ISTD-piikki haluttiin kuitenkin pitää riittävän korkeana, jotteivat sen kanssa samoihin aikoihin detektorille tulevat epäpuhtaudet vaikuttaneet liikaa piikin alaan.

Standardeja varten valmistettiin 1000 mg/l HBCD-käyttöliuos liuottamalla 100 mg kiinteää HBCD-jauhetta 100 ml ISTD-liuosta. HBCD liukeni dikloorimetaaniin ja kloroformiin hyvin mutta hitaasti. Näistä dikloorimetaania päätettiin käyttää jatkossa sen vähäisempien terveyshaittojen vuoksi. HBCD-käyttöliuoksesta valmistettiin taulukon 2 mukai-

sesti viisi standardia. Kaikki laimennokset tehtiin ISTD-liuoksella, jolloin heksadekaanipitoisuus pysyi aina vakiona. Standardit valmistettiin 25 ml mittapulloihin haitallisen dikloorimetaanijätteen minimoimiseksi.

TAULUKKO 2. Menetelmänkehityksessä käytetyt standardiliuokset

Standardi	<i>c</i> (mg/l)	<i>V</i> (ml)
St 1	20	25
St 2	40	25
St 3	100	25
St 4	200	25
St 5	400	25

4.4 Näytteet ja näytteenkäsittelyprosessi

Käytettävissä oli kiinteitä EPS- ja XPS-näytteitä, jotka oli kerätty rakennustyömailta sekä teollisuuden jätevirrasta. Lisäksi näytteiksi kerättiin elektroniikan sekä kemikaalilähetysten pakkausmateriaaleja laboratorion ja sen lähiympäristöstä. Kuvassa 2 on esimerkki HBCD:tä sisältävästä XPS-näytteestä.



KUVA 2. Jätevirrasta kerätty XPS-näyte DE13, jonka todettiin sisältävän HBCD:tä

Analyysinäytteet valmistettiin leikkaamalla EPS- tai XPS-muovista pieniä palasia välttämällä hiekan ja muiden epäpuhtauksien mukaan pääsemistä. Palasia punnittiin 500 mg suoraan korkilliseen Erlenmeyer-kolviin. Kolviin laitettiin magneettisekoitus, ja lisättiin 5 ml

ISTD-liuosta pitäen korkkia mahdollisimman vähän aikaa auki haihtumisen vähentämiseksi. Kiinteän näytteen annettiin liueta noin 5-10 minuuttia, jonka jälkeen kolviin lisättiin hitaasti 10 ml isopropanolia. Isopropanoli saosti pois polystyreenin, joka kerääntyi isopropanolia lisätessä hiljalleen palloksi. Sekoitus lopetettiin ja näytteen annettiin seistä muutama minuutti, jonka jälkeen pinnalta pipetoitiin analysoitava näyte kromatografian näytepulloon.

Isopropanolin lisääminen kasvatti näyteliuoksen kokonaispitoisuutta teoriassa kolminkertaiseksi. Käytännössä isopropanolin ja dikloorimetaanin seos tuskin käyttäytyy ideaalisesti ja lopputuloksena oli vähemmän kuin 15 ml. Lisättiinpä liuokseen mikä tahansa määrä isopropanolia, säilyi HBCD:n ja ISTD:n pitoisuuksien suhde samana. Koska määritykset tehtiin suhteellisten vasteiden perusteella, voitiin tilavuuden muuttuminen jättää huomiotta kiinteän näytteen pitoisuutta laskiessa.

Näytteenkäsittelyssä saostuksen vaikutusta HBCD:n takaisinsaostumiseen liuoksesta polystyreeniin tutkittiin kahdella kokeella. Ensimmäisessä HBCD:tä sisältävästä DE13-näytepalasta valmistettiin kolme näytettä edellä kuvatulla tavalla, mutta saostamalla ne käyttämällä isopropanolia 5, 10 ja 15 ml. Havaittiin, että 5 ml oli liian pieni määrä saostamaan kaikkea polystyreeniä, ja koska näytteen HBCD-pitoisuuden tasaisesta jakautumisesta ei ollut varmuutta, tehtiin toinen koe. Toisessa kokeessa valmistettiin vastaavasti kolme näytettä liuottamalla HBCD-vapaata EPS-muovia 5 ml standardi 5 -liuokseen ja saostamalla polystyreeni pois 10, 15 ja 20 ml:lla isopropanolia. Vertaamalla HBCD:n ja ISTD:n piikkien suhteita voitiin päätellä, mikä liuos sisälsi eniten HBCD:tä, ja mikä määrä isopropanolia oli optimaalinen yhdisteen liukenemisen kannalta. Mitä suurempi piikkien suhde oli, sitä enemmän kiinteästä näytteestä oli saatu irti HBCD:tä ja sitä suurempi saanto oli. Taulukossa 3 on esitetty vertailun tulokset.

TAULUKKO 3. Kuuden näytteen saostamiseen käytetty isopropanolimäärä V_{IPA} , niitä vastaavat HBCD- ja ISTD-piikkien alat sekä näiden suhteet.

Näyte	V_{IPA} (ml)	A_{HBCD}	A_{ISTD}	A_{HBCD}/A_{ISTD}
N1	10	180,5	1609,4	0,112
N2	15	137,6	1191,3	0,116
N3	20	92,3	930,1	0,099
DE13 A	5	636,3	2281,8	0,279
DE13 B	10	481,8	1482,1	0,325
DE13 C	15	456,2	1127,7	0,405

Todettiin, että kolmesta käytetystä saostusmäärästä 10 ml ja 15 ml antavat melkein samat tulokset, mutta HBCD:n liukeneminen heikentyy, kun isopropanolimäärä kasvatettiin 20 ml:ksi. Koska näytteiden 1 ja 2 välisen eron varmistaminen olisi vaatinut rinnakkaiskokeita, päätettiin pysyä 10 ml saostusmäärässä. Oikeasta HBCD:tä sisältävästä muovista valmistettujen näytteiden välinen ero viittasi siihen, että HBCD oli todellakin epätasaisesti jakautunut matriisiin.

Sisäisen standardin menetelmän mukaisesti näytteen pitoisuus ekstrapoloitiin standardisuoralta, jossa standardiliuosten HBCD-piikin pinta-alan ja ISTD-piikin pinta-alojen suhde on piirretty niitä vastaavan standardiliuoksen HBCD-pitoisuuden funktiona. Työn kannalta oleellista oli tietää kiinteän EPS- tai XPS-muovin HBCD-pitoisuus ppm-arvona, eli mg/kg. Jos analyysinäytettä varten liuotettiin 500 mg muovia 5 ml ISTD-liuosta, voitiin muovin HBCD-pitoisuus C_{HBCD} laskea kaavan 2 avulla

$$C_{HBCD} = \frac{c_{näyte} \cdot V_{näyte}}{m_{muovi}} , \quad (2)$$

missä $c_{näyte}$ = näyteliuoksen mitattu HBCD-pitoisuus (mg/l), $V_{näyte}$ = liuottamiseen käytetyn ISTD-liuoksen tilavuus (l) ja m_{muovi} = liuotetun muovin massa (kg).

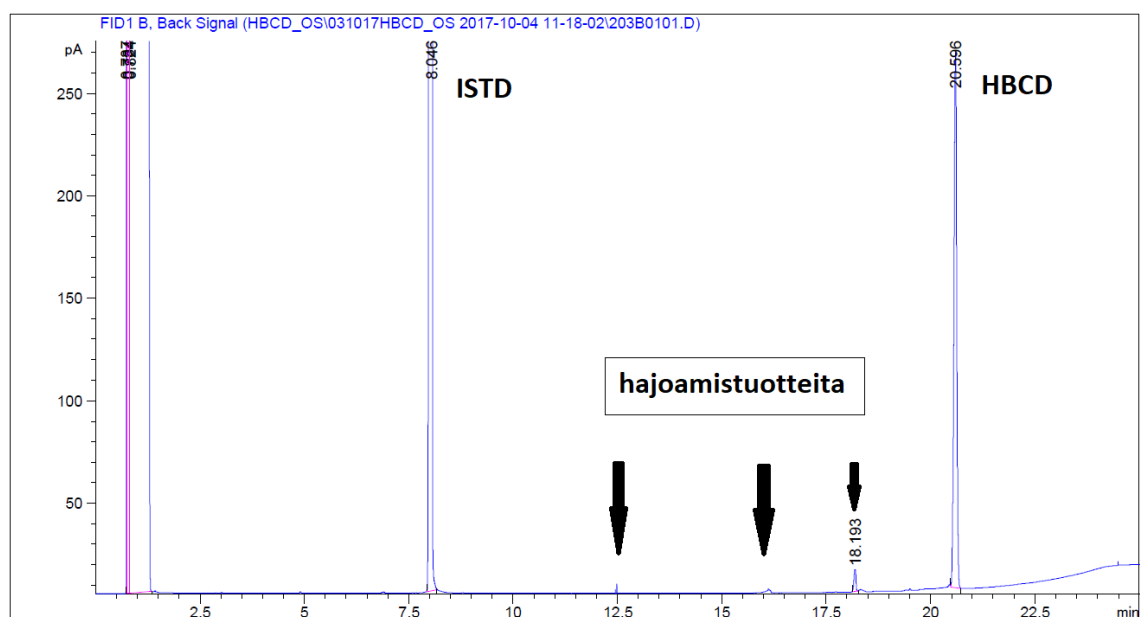
4.5 Esikokeet

Esikokeita varten valmistettiin viisi standardia taulukon 2 mukaisesti. Alkuperäisen analyysiohjeen perusteella laadittiin taulukon 4 mukainen ajo-ohjelma (Cefic & Plastics Europe 2015, 4). Kolonniksi valittiin vanha katkaistu HP-1-kapillaarikolonne.

TAULUKKO 4. Kokeiluohjelman mukaiset asetusrvot GC-FID –laitteelle

Parametri	Asetusarvo
Lämpötila, injektori	180 °C
Lämpötila, uuni	alku: 80 °C, 10 °C/min → 320 °C
Lämpötila, FID	300 °C
Injektio	1 µl, splitless
Kantajakaasu	He, vakiovirtaus 6 ml/min

Koeajossa sisäisen standardin pidättymisajaksi todettiin noin 5 minuuttia ja HBCD:n noin 16 minuuttia. Lisäksi HBCD:n hajoamistuotteet antoivat kolme pientä piikkiä ennen pääpiikkiä. Huomattiin, että pitoisuuteen nähden HBCD:n vaste FID-detektorilla oli suhteellisen alhainen, noin kymmenesosa samalla pitoisuudella olleen heksadekaanin vasteesta. Kuvion 2 kromatogrammissa näkyvät ISTD:n, HBCD:n sekä sen hajoamistuotteiden piikit. Näistä jälkimmäiset näkyivät tosin jo selvästi heikompina kuin esikokeissa.



KUVIO 2. HBCD:n hajoamistuotteet kromatogramilla ennen pääpiikkiä

Esikokeiden tulosten pohjalta ryhdyttiin hiomaan menetelmää, jotta analyysiaika saataisiin lyhennettyä. Tämän oletettiin ajan säästämisen lisäksi vähentävän HBCD:n hajoamista kolonnissa, mikä parantaisi tarkkuutta etenkin pienissä pitoisuuksissa.

4.6 Kolonnin valinta

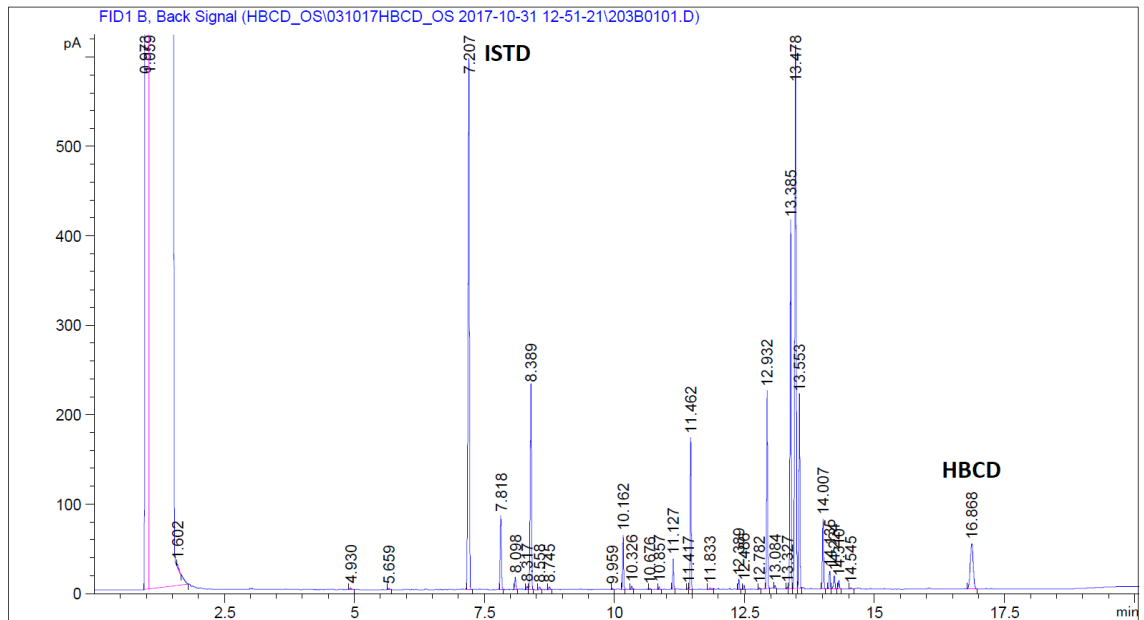
Alkuperäisen ohjeen mukaisesti päätettiin kokeilla HP-1 ja HP-5 kapillaarikolonneja. HP-1-kolonnit ovat puhtaita polydimetyylisiloksaanikolonneja, kun taas HP-5-kolonneissa sisältää 5 % fenyyli-ryhmiä metyyli-ryhmien tilalla paremman erottumisen antamiseksi poolittomille yhdisteille. Kaikki käytetyt kolonnit löytyvät taulukosta 5.

TAULUKKO 5. Menetelmänkehityksessä käytetyt kolonnit

Kolonne	Tyyppi	Pituus (m)	Pysyvä faasi (μm)	Sisähalkaisija (mm)
1	HP-1	15 m	-	-
2	HP-5	30 m	0,25 μm	0,32 mm
3	HP-1	30 m	1 μm	0,32 mm
4	HP-1	30 m	0,25 μm	0,32 mm

Kolonne 1 oli vanha katkaistu HP-1 kolonne, jonka alkuperästä tai tarkoista mitoista ei ollut varmuutta. Sillä kokeiltiin ensimmäisen ajo-ohjelman toimivuutta. Kolonne 2 oli opetuskäytössä ollut HP-5, mikä ominaisuuksiltaan on ihanteellinen suurien halogenoitujen hiilivetyjen analysointiin. Kolonne 3 kokeiltiin, jotta voitiin selvittää epätavallisen paksun pysyvän faasin vaikutus hitaasti liikkuvan HBCD:n pidäytymiseen ja erottumiseen. Kolonne 4 ostettiin erityisesti tätä opinnäytetyötä varten.

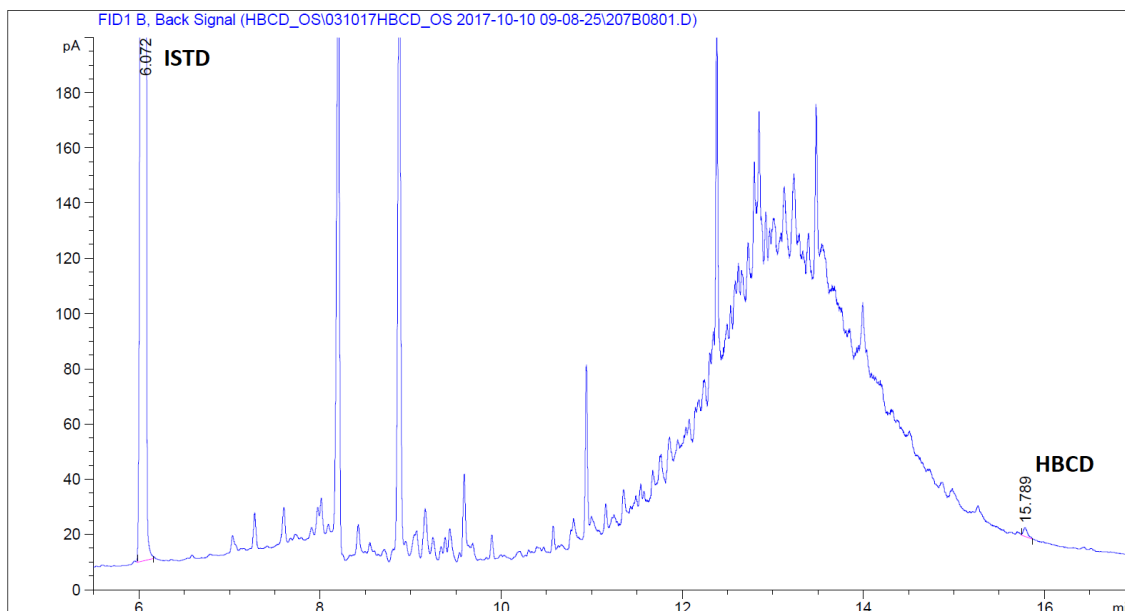
Kolonne 3 todettiin huonoksi välittömästi, sillä paksu pysyvä faasi hidasti liikaa HBCD:n kulkemista kolonnissa kasvattaen analyysiaikaa kohtuuttomasti. Sekä kolonne 2 että kolonne 4 todettiin sopiviksi analyysiin. Kolonne 4 valittiin lopulliseksi analyysikolonniksi. Tähän päädyttiin uuden kolonnin paremman tarkkuuden vuoksi ja koska HBCD:n todettiin erottuvan HP-1:llä yhtä hyvin muista yhdisteistä kuin HP-5:llä ja mahdollinen stereoisomeerien erottumisen aiheuttama HBCD-piikin leviäminen haluttiin pitää minimissä. Kuviossa 3 on esitetty HBCD:tä sisältävän näytteen (DE13) kromatogrammi.



KUVIO 3. Tyypillinen HBCD:tä sisältävän polystyreeninäytteen kromatogrammi, kolonnina HP-5

4.7 GC-FID ajo-ohjelman optimointi

Lämpötilaohjelman muokkaaminen aloitettiin kolonnilla 2. DE13-näytteestä valmistettiin näyteliuos, josta todettiin HBCD- ja ISTD-piikit sekä suuri määrä tuntemattomia piikkejä. Lämpötilaohjelmaa säädettiin nostamalla alkulämpötilaa ja muuttamalla lämmitysnopeutta eri vaiheissa ajoa. Liian korkea alkulämpötila sekä lämmitysnopeus alussa haittasivat ISTD:n piikin erottumista, kun taas liian nopea lämmitysohjelma ennen HBCD:n tuloa detektorille aiheutti toisessa, paljon epäpuhtauksia sisältävässä, EPS näytteessä valtavien yhteispiikkin HBCD-piikin alueelle. Tästä on esimerkki kuviossa 4, missä HBCD:n piikki melkein hukkuu huonon erottumisen vuoksi.



KUVIO 4. Liian suuren lämmitysnopeuden aiheuttama huono HBCD:n erottuminen

Kantajakaasun virtausnopeuden muutosta testattiin nostamalla ja laskemalla sitä alkupe-
räisestä arvosta. Molemmissa tapauksissa pidättymisajat pitenevät. Lievä suhteellinen
vasteen nousu korkeammalla virtausnopeudella ei tuntunut olevan kasvaneen analyy-
siajan arvoinen. Virtausnopeuden kasvattamisen yli 9 ml/min huomattiin myös nostavan
kolonnin paineen herkästi yli laitteen salliman maksimin. Tämä aiheutti automaattisen
ajon keskeytyksen. Kokeilun tulokset on esitetty taulukossa 6.

TAULUKKO 6. Virtausnopeuden muutoksen vaikutus HBCD:n ja ISTD:n pidättymis-
aikoihin T_R ja piikkien pinta-aloihin

virtausnopeus (ml/min)	$T_{R(HBCD)}$ (min)	$T_{R(ISTD)}$ (min)	A_{HBCD}	A_{ISTD}	$A_{HBCD}/$ A_{ISTD}
3	16,9	7,2	200,7	1095,4	0,183
6	15,3	6,0	347,9	1094,2	0,320
8	17,8	8,5	386,1	1176,9	0,328

Alkuperäisessä ohjeessa injektori-osan lämpötila oli säädetty 180 °C eli reilusti alle
HBCD:n kiehumispisteen. Injektorin lämpötilan nostamisen vaikutusta tutkittiin vertaa-
malla HBCD- ja ISTD-piikkien pinta-aloja. Koe osoitti, että injektoriin lämpötilan nosta-
minen 225 °C antoi parhaan suhteellisen vasteen. Arvot testatuille lämpötiloille ovat tau-
lukossa 7.

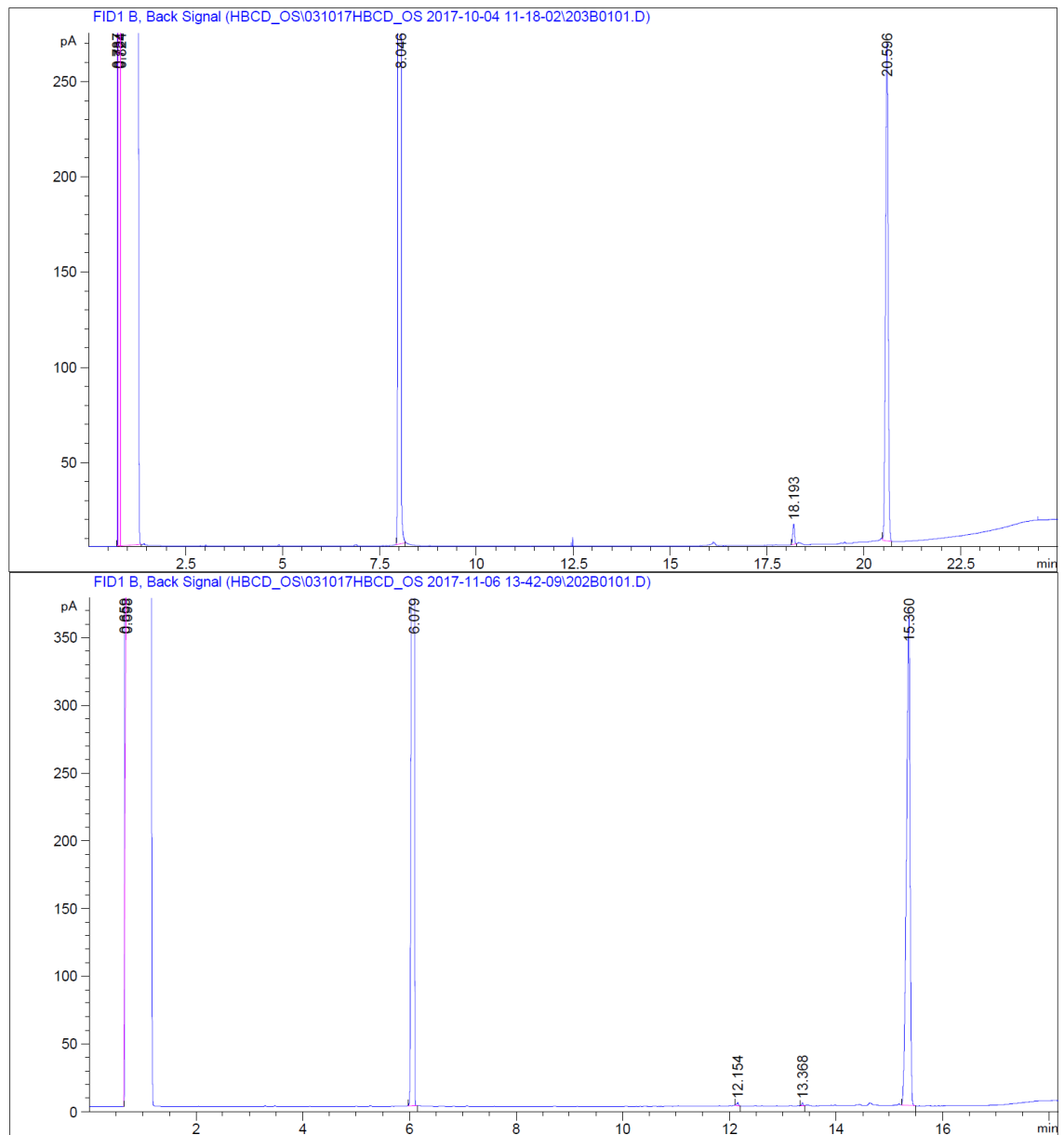
Taulukko 7. HBCD:n ja ISTD:n piikkien pinta-alat ja niiden suhteet eri injektorin lämpötiloilla

Lämpötila, injektori (°C)	A_{HBCD}	A_{ISTD}	A_{HBCD}/ A_{ISTD}
180	503,2	5045,1	0,0997
200	1408,6	4976,1	0,283
225	1680,5	4966,5	0,338
250	1674,9	5225,5	0,321

Taulukossa 8 on esitetty lopullinen menetelmä. Sen toimivuutta lähdettiin tutkimaan validointiparametrejä käyttäen. Kuviossa 5 on esitetty yllä alkuperäinen ajo-ohjelman mukainen kromatogrammi standardiliuoksesta ja alla lopullisen ohjelman mukainen ajo. Analyysiaikaa saatiin lyhennettyä 5 minuuttia ja hajoamistuotteiden piikkejä suhteessa HBCD:n pääpiikkiin pienennettyä. Ohje HBCD:n analyysiin löytyy liitteestä 2.

TAULUKKO 8. Menetelmän kehityksen tuloksena päätetyt GC-FID- parametrit

Parametri	Asetusarvo
lämpötila, injektori	225 °C
	alku: 100 °C,
	10 °C/min → 190 °C
lämpötila, uuni	20 °C/min → 250 °C
	5 °C/min → 280 °C
	60 °C/min → 320 °C, pito 1 min
ajoaika	19,7 min
lämpötila, FID	300 °C
injektio	1 µl, splitless
kantajakaasu	He, vakiovirtaus 6 ml/min



KUVIO 5. Standardi 5 alkuperäisellä ajo-ohjelmalla (yllä) sekä lopullisella ajo-ohjelmalla (alla)

5 MENETELMÄN TESTAUS

5.1 Standardit

100,9 g kiinteää HBCD-jauhetta liuotettiin 100 ml:ksi ISTD-liuosta, jonka heksadekaanipitoisuus oli 83,12 mg/l. Tämä käyttöliuoksesta otettiin suoraan standardi 11 ja laimennettiin standardit 6-10. Standardista 6 laimennettiin edelleen standardit 2-5 ja standardista 3 standardi 1. Standardit 1-11 ajettiin järjestyksessä laimeimmasta väkevimpään, kukin kuusi kertaa. Saatujen ISTD- ja HBCD-piikkien pinta-alat taulukoitiin, ja niistä laskettiin kunkin standardin keskiarvo, keskihajonta sekä suhteellinen keskihajonta (liite 3). Standardit esitetty taulukossa 9.

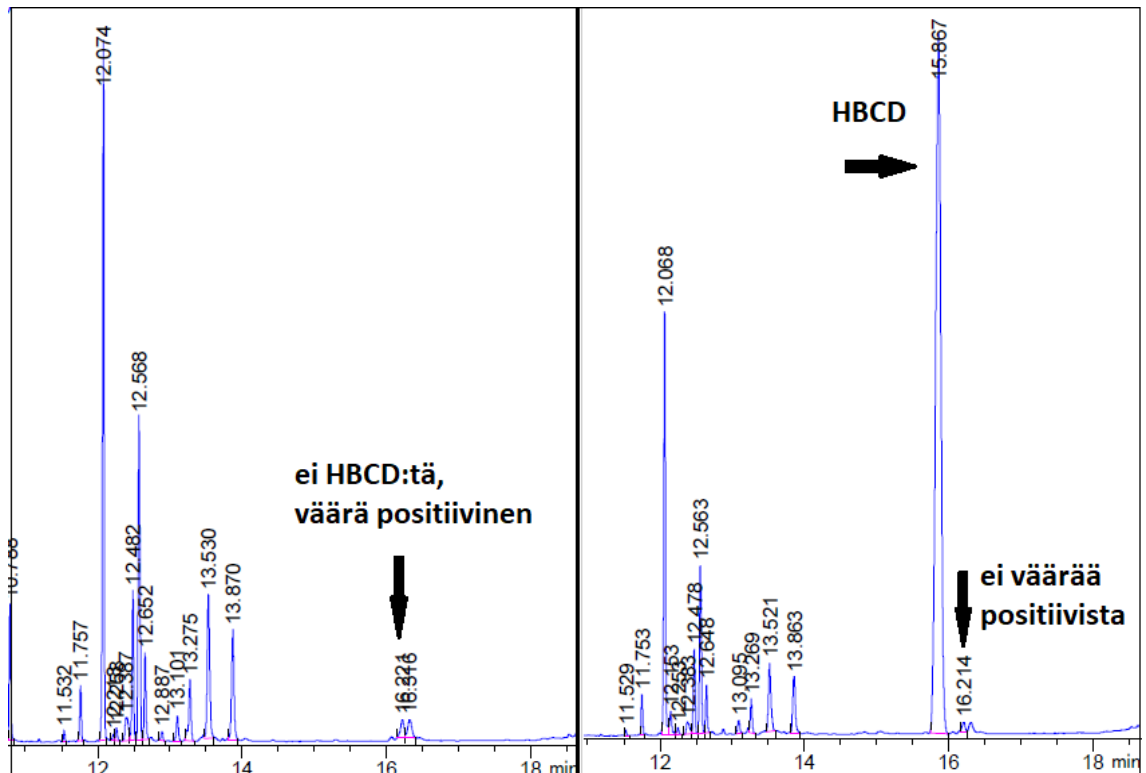
TAULUKKO 9. Standardit, niiden pitoisuus c , sekä kuuden injektoinnin suhteellinen keskihajonta RSD

Standardi	c (mg/l)	RSD
Std 1	1	0,1293
Std 2	4	0,0825
Std 3	10	0,0543
Std 4	20	0,0352
Std 5	40	0,0214
Std 6	100	0,0260
Std 7	200	0,0212
Std 8	400	0,0258
Std 9	600	0,0236
Std 10	800	0,0307
Std 11	1000	0,0277

Jokaisen standardin kuuden mittauksen välissä ajettiin näyte heksaania pitäen injektorin lämpötila 300 °C epäpuhtauksien huuhtomiseksi. Mahdollisesti tästä syystä standardien ensimmäinen mittaus antoi selvästi pienemmän alan HBCD-piikille. Tämän arveltiin johtuvan injektorin lämpötila-asetuksesta, joka on alle HBCD:n arvioidun kiehumispisteen. Mahdollisesti HBCD:tä jäi injektorin inlet-putken seiniin ja lasivillaan tai kolonnin alkupäähän, joiden kyllästymisen vei osan ensimmäisten mittausten HBCD:stä.

5.2 Selektiivisyys

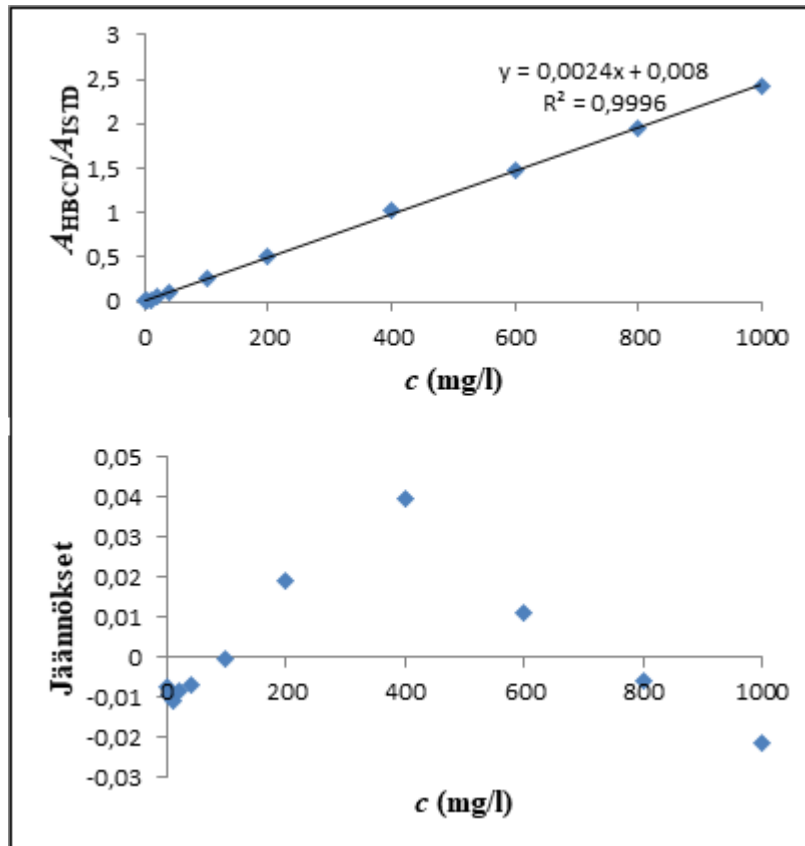
Joissain näytteissä oli tuntematonta yhdistettä, jonka pidättymisaika oli hyvin lähellä HBCD:n pidättymisaikaa. Jos tätä yhdistettä sisältävät näytteet eivät sisältäneet HBCD:tä, tunnisti kromatografian automaattinen integrointiohjelma piikit virheellisesti HBCD:n piikeiksi. Erottumista tutkittiin lisäämällä tällaiseen näytteeseen HBCD:tä ja analysoimalla se uudestaan. HBCD:n ja tuntemattoman yhdisteen pidättymisaikojen ero oli noin 0,4 minuuttia ja ne erottuivat toisistaan selvästi. HBCD:n lisäyksen jälkeen ohjelma myös tunnisti sen oikein. Menetelmän todettiin olevan selektiivisyydeltään korkea, mutta näytteiden piikkien integrointi oli syytä tarkistaa käsin väärin positiivisten tulosten välttämiseksi. Kuviossa 6 on esitetty esimerkki väärästä positiivisesta näytteestä ennen ja jälkeen HBCD-lisäystä.



KUVIO 6. Väärä positiivinen tulos näytteelle (vasen) ja sama näyte HBCD:n lisäämisen jälkeen (oikea).

5.3 Lineaarisuuden tarkastelu

Standardien HBCD- ja ISTD-piikkien suhteiden keskiarvoista vastaavien pitoisuuksien funktiona tehtiin regressioanalyysi Microsoft Excel -taulukkolaskentaohjelmalla. Standardien 1-11 regressioanalyysi osoitti HBCD:n pitoisuuden pysyvän silminnähden lineaarisena koko tutkitulla alueella. Jäännöskaavion tarkastelu osoitti suoran kaareutuvan lievästi ylöspäin kuperaksi. Standardisuora ja jäännöskaavio on esitetty kuviossa 7.

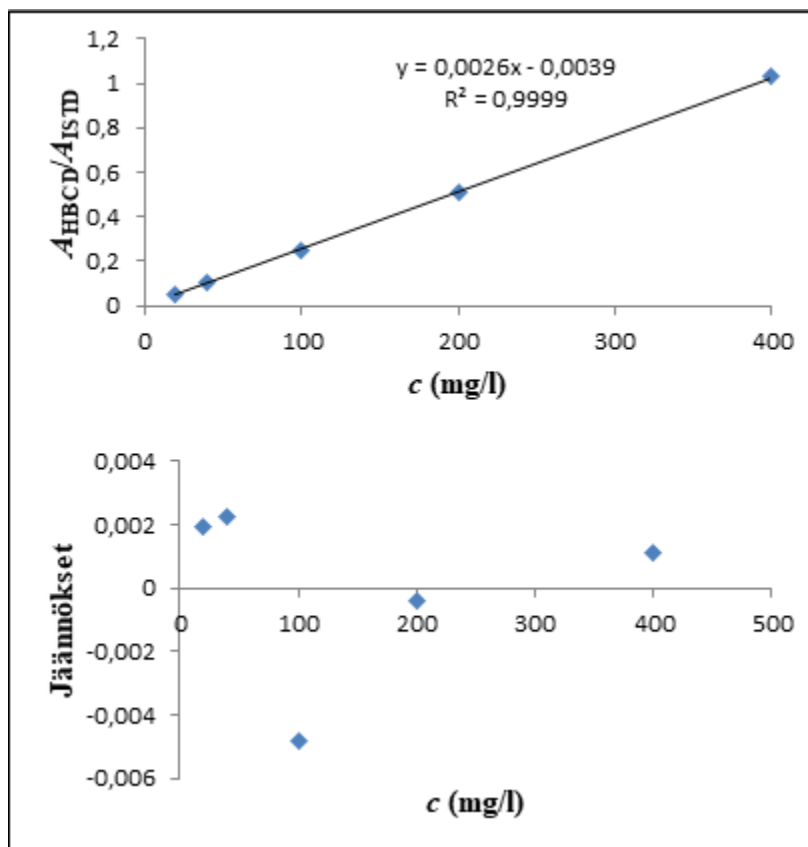


KUVIO 7. Standardien 1-11 keskiarvojen mukaan piirretty suora, suoran yhtälö sekä korrelaatiokerroin (yllä) ja jäännöskaavio (alla)

Laitteen mittausalueeksi oltaisiin kuvion 6 suoran perusteella voitu valita koko tutkittu alue. Huomioitavaa kuitenkin oli, että näytteenkäsittelyssä saostaminen noin kolminkertaisesti näyteliuoksen tilavuuden. Tästä syystä HBCD:n ja ISTD:n vasteet vastaavasti pienentyvät kolmasosaan niiden suhteen silti muuttumatta. Näin näyteliuosten suhteelliset epävarmuudet olivat suuremmat kuin vastaavilla pitoisuuksilla olevien standardien. Tätä ja työn tarkoitusta ajatellen mittausalueeksi valittiin 20–400 mg/l alue, jolloin pienillä

näytteen pitoisuuksilla kaasukromatografian mittaaman vasteen suhteellisen epätarkkuuden ei oletettu kasvavan kohtuuttoman suureksi. Vastaavasti näyteliuosten oletettiin pysyvän lineaarisella alueella 1200 mg/l asti.

Kun standardeille 4–8 tehtiin edellisen mukainen regressioanalyysi, korrelaatiokerroimen R^2 parantuminen ja jäännöskaavion molemmiin puolin nollaa jakautuneet jäännöspisteet osoittivat muokatun standardisuoran olevan lineaarinen alueella 20–400 mg/l. Kaavan 1 mukaisesti perusteella menetelmän mittausalueeksi valittiin 200–12000 mg/kg (ppm). Kuviossa 8 on esitetty standardisuora pitoisuuksille 20–400 mg/l. Regressioanalyysien numeeriset tulokset löytyvät liitteestä 4.



KUVIO 8. Standardien 4–8 toisen mittauskerran mukaan piirretty suora, suoran yhtälö sekä korrelaatiokerroin (yllä) ja jäännöskaavio (alla)

5.4 Toteamisrajan ja määrittämissuoran arviointi

Toteamisrajan laskennallinen määrittäminen sisälsi niin paljon epävarmuustekijöitä, ettei sitä tehtyjen mittausten perusteella ja työn tarkoituksen huomioon ottaen lähdetty tekemään.

Laikein mitattu standardi sisälsi 1 mg/l HBCD:tä, joten kohdassa 5.3 käsitellyn näytteiden vasteiden pienentymisen perusteella ainakin 30 mg/kg sisältävä näyte ylittää havaitsemiskynnyksen. Menetelmän määrittäjärajaksi päätettiin asettaa 20 mg/l, mikä vastaa 200 mg/kg kiinteässä näytteessä.

5.5 Näytteenkäsittelyn vaikutus saantoon

Näytteenkäsittelyssä liuotuksen ja saostuksen huomattiin olevan tarkkuutta vaativia operaatioita. Punnittu polystyreenimäärä on suuri suhteessa liuotustilavuuteen ja leikkaaminen tekee siitä sähköistä. Liuottamisen seurauksena syntyi hyvin paksu liemi, joka tarttui lasiastioiden seiniin. Tästä syystä arveltiin osan HBCD:stä mahdollisesti jäävän liukeneematta. Liuotustilavuutta ei haluttu lisätä, koska se olisi heikentänyt vastaavassa suhteessa näytteen vastetta ja nostanut määrittäjärajaa.

Saannon määrittämiseen ei ollut saatavilla vertailumateriaaleja. Ongelmana oli myös saatavilla olevan HBCD:tä sisältävien näytteiden vähäinen määrä, sekä oletettu epätasainen jakautuminen näytematriisiin. Tämän vuoksi saantoa pyrittiin arvioimaan alkuperäistä ohjetta mukailien liuottamalla puhtaaksi todettua EPS-muovia standardiliuoksiin, ja käsitellen nämä kuten tavalliset näytteet taulukon 10 mukaisesti.

TAULUKKO 10. Saannon määrittämistä varten valmistetut näyteliuokset

Näyte	$m_{(PS)}$ (mg)	Liuotin (5 ml)	Isopropanoli (ml)	$c_{(HBCD)}$ (mg/l)
1A	501,0	ISTD-liuos	10	0
2A	500,7	St 7	10	200
3A	500,2	St 8	10	400
4A	501,0	St 9	10	600
5A	501,1	St 10	10	800

Isopropanolilla saostuksen jälkeen jokaisen näytteen nestefaasi kerättiin talteen ja saostunut polystyreeni kuivattiin typpipuhalluksella. Kuiva polystyreeni käsiteltiin uudelleen näytteen tavoin liuottamalla se ISTD-liuokseen ja saostamalla pois saaden näyte 1–5 B. Operaatio toistettiin saaden vielä näytteet 1–5 C. Jokainen liuos analysoitiin kolme kertaa

validointiajo-ohjelman mukaisesti. Näyteliuosten pitoisuudet mitattiin, ja niiden keskiarvoista laskettiin kullekin näytteelle saannot jokaisen liuotuksen välillä, sekä kokonaisuus, jotka on esitetty taulukossa 11. Saannon laskentaan käytetyt arvot löytyvät liitteestä 5.

TAULUKKO 11. Mitattujen näytteiden pitoisuudet c , näytteen valmistukseen käytetyn standardin pitoisuus c_0 ja näytteiden saanto suhteessa standardin pitoisuuteen

Näyte	c (mg/l)	c_0 (mg/l)	Saanto (%)
n1a	0	0	0
n2a	143,9	200	72,0
n3a	279,2	400	69,8
n4a	389,2	600	64,9
n5a	511,1	800	63,9
n2b	21,7	200	10,9
n3b	42,5	400	10,6
n4b	61,5	600	10,2
n5b	85,0	800	10,6
n2c	4,5	200	2,3
n3c	8,5	400	2,1
n4c	10,2	600	1,7
n5c	15,5	800	1,9

Saannon tarkastelussa huomattiin, että näytteenkäsittelyssä HBCD:stä saadaan talteen noin 70%, pitoisuudesta riippumatta. Sisäisen standardin saanto oli sitä huonompi, mitä matalampi HBCD-pitoisuus liuoksessa oli. Tämän vuoksi piikkien suhteista laskettujen pitoisuuksien vertailu näyttää saannon laskevan HBCD-pitoisuuden kasvaessa. Kun kaikkien kolmen liuotuskertojen saannot lasketaan yhteen, jää alkuperäisestä HBCD:stä puuttumaan vielä noin 20 %. Tämän perusteella näytteenkäsittelyssä on vielä paljon kehittämisen varaa. Ei voida varmuudella tietää miten polystyreenimatriisissa olevat muut aineet mahdollisesti vaikuttavat ISTD:n tai HBCD:n liukoisuuteen polystyreenin ja dikloorimeetaanin välillä.

5.6 Mittausepävarmuuden arviointi

Kaavaan 1 sijoitettiin standardin 4 mittausten suhteellinen keskihajonta 0,035194 (liite 2), HBCD-reagenssin epäpuhtaudesta johtuva virhe 0,05 (taulukko 1) sekä heksadekaanin epäpuhtaudesta johtuva virhe 0,02 (taulukko 1)

$$\frac{\Delta c}{c} = \sqrt{(0,035194)^2 + (0,05)^2 + (0,02)^2}$$

$$\approx 0,0643$$

josta saadaan laajennettu mittausepävarmuus kertomalla kahdella

$$0,0643 \cdot 2 = 0,1286$$

$$\approx 0,13$$

Näin saadaan näytteen HBCD-pitoisuudelle prosentuaaliseksi virheeksi 13 %. Monet tuntemattomat epävarmuustekijät varsinkin näytteenkäsittelyssä kuitenkin voivat nostaa tämän virheen huomattavasti suuremmaksi.

5.7 Näyteliuosten säilyvyys

Validointimittaukset kestivät yli kaksi vuorokautta, minkä ajan standardit ja näytteet olivat kromatografian näytteensyöttäjän telineessä alttiina valolle ja lämmölle. Mitattaessa standardeja viiden päivän päästä uudestaan huomattiin niiden HBCD-pitoisuuksien laskeutuminen suhteessa ISTD-pitoisuuteen. Tästä aiheutui selvä standardisuoran kaareutumisen. Pääteltiin HBCD:n joko alkaneen hajota, saostua tai adsorboitua näytepullon lasipintaan. Asiaa ei lähdetty erikseen tutkimaan mutta pääteltiin HBCD-näytteiden vaativan kylmäsäilytyksen ja mahdollisimman nopean analyysin valmistamisen jälkeen.

6 Mitattujen näytteiden pitoisuudet

Menetelmän kehitystä varten oli käytössä suuri määrä erilaisia polystyreeninäytteitä, joista valtaosa analysoitiin joko menetelmän kehityksen yhteydessä tai validoinnin jälkeen. Lopulta vain kolmesta näytteestä löytyi HBCD:tä havaittava määrä. Näytteiden pitoisuudet on laskettu kaavan 2 mukaisesti ja niitä ei ole korjattu saantokertoimella. Rinakkaiskokeita toistettavissa olosuhteissa ei myöskään ole suoritettu. Tulokset ovat taulukossa 12.

TAULUKKO 12. Analysoidut EPS- ja XPS-näytteet, ja niiden lasketut pitoisuudet

Näyte	C _{HBCD} (mg/kg)	Näyte	C _{HBCD} (mg/kg)
DE1	0	DE13	10000-15000*
DE3	2200	DE14	0
DE5	0	HK1	0
DE6	0	HK13	0
DE8	0	HK15	0
DE9	0	HK16	0
DE11	0	HK18	<200
EL1	0	HK20	0
EL10	0	EL1	0
Näyte 17	0	Näyte 19	0

*Useiden mittausten vaihteluväli

DE3 ja DE13 olivat ainoat näytteet, joissa HBCD-tasot ylittivät selvästi Euroopan unionin HBCD:lle asettaman rajan. HK18 sisälsi alle HBCD:tä alle määrittäjärajaa, mikä on mahdollisesti peräisin kontaminaatiosta. DE13-näytteen analyysien perusteella HBCD on epätasaisesti jakautunut näyttematriisiin. Tätä ei voida kuitenkaan varmuudella sanoa, koska kaikki mittaustulokset on saatu erilaisilla GC-parametreillä tai näytteenäostusmenetelmällä.

7 POHDINTA

Opinnäytetyön tavoite oli kehittää laboratorioanalyysi, joka soveltuu HBCD:n kvantitatiiviseen määrittämiseen EPS- ja XPS-polystyreenijätteelle. Opinnäytetyön tarkoitus oli perehtyä jo olemassa olevaan tutkimustietoon, valita sopiva analyysilaitte ja kehittää sille analyysimenetelmä HBCD:n määrittämiseen EPS- ja XPS-muoveista.

Työtä varten valittiin analyysilaitteeksi GC-FID, vaikkei se lähteiden mukaan ollut paras mahdollinen valinta HBCD:n määrittämiseen, koska eri stereoisomeerien erottaminen ei onnistu. Tarkoituksena oli kuitenkin selvittää, sisältääkö EPS- ja XPS-eristejäte HBCD:tä yli 1000 mg/kg, jolloin eri isomeerejä ei haluttu erottaa toisistaan, eikä korkeimpaan mahdolliseen tarkkuuteen pyrkiminen ollut tarpeellista.

Työn tuloksena kehitettiin menetelmä, joka oli verrattain yksinkertainen standardien, näytteenkäsittelyn sekä mittausprosessin suhteen. HBCD:n GC-FID:ltä saatu vaste pitoisuuden funktiona oli lineaarinen suurimpaan kokeiltuun pitoisuuteen ja mittausalue oli laaja. Menetelmälle arvioitiin määrittämissuoraksi 200 mg/kg ja virherajaksi 13 %. Analysoidut näytteet oli kerätty eri rakennustyömailta ja teollisuuden jätevirrasta. Näistä vain kahdesta löytyi 1000 mg/kg raja-arvon ylittävät pitoisuudet ja yhdessä HBCD:tä oli alle määrittämissuoran.

Keskeinen ongelma työn kannalta oli HBCD:tä sisältävän polystyreenin niukkuus ja HBCD:tä sisältävän vertailumateriaalin puute. Tämän vuoksi kaikkia haluttuja testejä menetelmän tarkastelun yhteydessä ei voitu suorittaa. Näytteenkäsittely polystyreenin sähköisyyden ja pienen liuotustilavuuden vuoksi aiheutti myös ongelmia.

Työn tavoite saavutettiin, vaikka kehitettyä menetelmää ei voitu loppuun asti validoida. Saatujen tulosten pohjalta tiedetään, että kaasukromatografilla voidaan analysoida suhteellisen vaivattomasti polystyreenin HBCD-pitoisuus kohtuullisella tarkkuudella. Näytteenkäsittelyn eri mahdollisuuksia ja HBCD-liuosten säilyvyyttä olisi myös voitu tutkia tarkemmin. Lisäselvitykset ovat tarpeen tulosten pätevyyden osoittamiseksi, sillä saannon, tarkkuuden ja mittausepävarmuuden tarkempi määrittäminen vaativat kokeita vertailunäytteillä, joiden tarkat pitoisuudet tunnetaan.

LÄHTEET

Cefic & Plastics Europe. Determination of HBCD in Polystyrene Foams with the GC-FID Technique. 2015. Luettu 27.4.2018 <http://chm.pops.int/Implementation/NationalImplementationPlans/Guidance/AdditionalGuidance/NIPsGuidance/CommentsonDecisionSC710/tabid/5545/ctl/Download/mid/16672/Default.aspx?id=2&ObjID=23306>

Asetus 2004/850/EY. Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus pysyvistä orgaanisista yhdisteistä. Euroopan unionin virallinen lehti. Luettu 28.4.2018. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FI/TXT/PDF/?uri=CELEX:32004R0850&from=FI>

Asetus 2016/293/EU. Euroopan komission asetus pysyvistä orgaanisista yhdisteistä annetun Euroopan parlamentin ja neuvoston asetuksen (EY) N:o 850/2004 liitteen I muuttamisesta. Euroopan unionin virallinen lehti. Luettu 28.4.2018. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FI/TXT/PDF/?uri=CELEX:32016R0293&from=FI>

Asetus 2016/460/EU. Euroopan komission asetus pysyvistä orgaanisista yhdisteistä annetun Euroopan parlamentin ja neuvoston asetuksen (EY) N:o 850/2004 liitteiden IV ja V muuttamisesta. Euroopan komission virallinen lehti. Luettu 28.4.2018. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FI/TXT/PDF/?uri=CELEX:32016R0460&from=FI>

Barwick, V. 2016. Eurachem/CITAC Guide: Guide to Quality in Analytical Chemistry: An Aid to Accreditation. 3rd edition. Luettu 4.5.2018 https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/Eurachem_CITAC_QAC_2016_EN.pdf

ChemSpider. 2018. Hexabromocyclododecane. Luettu 28.4.2018 <http://www.chemspider.com/ImageView.aspx?id=17499>

Eljarrat, E. & Barcelò, D. 2011. Brominated Flame Retardants. Nide 16 / Handbook of Environmental Chemistry. Saksa: Springer

Harris, D. 2010. Quantitative Chemical Analysis. 8th edition. USA: W. H. Freeman and Company.

Köppen, R., Becker, R., Jung, C. & Nehls, I. 2008. On the Thermally Induced Isomerisation of Hexabromocyclododecane Stereoisomers. Chemosphere. 71. 656–62.

Listing of hexabromocyclododecane. 2013. Sixth Meeting of the Conference of the Parties to the Stockholm Convention. Sveitsi, 28.4–10.5.2013. Luettu 22.4.2017 <http://chm.pops.int/Portals/0/download.aspx?d=UNEP-POPS-COP.6-SC-6-13.English.pdf>

Marvin, C., Tomy, G., Armitage, J., Arnot, J., McCarty, L., Covaci, A. & Palace, V. 2011. Hexabromocyclododecane: Current Understanding of Chemistry, Environmental Fate and Toxicology and Implications for Global Management. American Chemical Society. Environ. Sci. Technol., 45 (20), pp 8613–8623

Edher, T. 2005. MIKES: Kemian metrologian opas. Helsinki: Metrologian neuvottelukunta. Luettu 3.5.2018 www.vtt.fi/inf/pdf/MIKES/2005-J6.pdf

Popescu, C., Zamfir, A. & Dinca, N. 2008. Applications of Mass Spectrometry in Life Safety. 1st edition. Alankomaat: Springer.

Risk profile on hexabromocyclododecane. 2010. Sixth meeting of the Persistent Organic Pollutants Review Committee. Sveitsi, 11–15.10.2010. Luettu 28.4.2018 <http://chm.pops.int/TheConvention/POPsReviewCommittee/Meetings/PO-PRC5/HBCDdraftRiskProfilecomments/tabid/775/ctl/Download/mid/3384/Default.aspx?id=4>

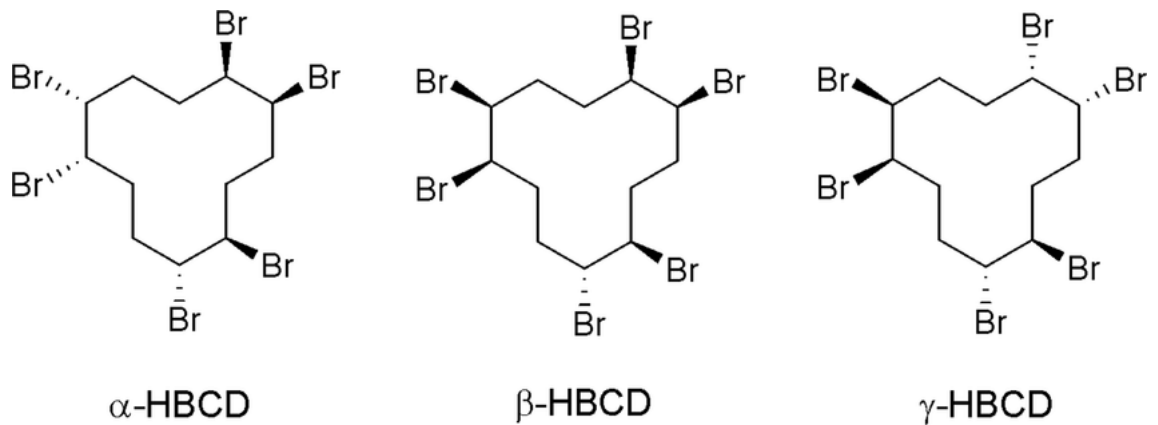
Sanders, J., Knudsen, G., Birnbaum, L. 2013. The Fate of -Hexabromocyclododecane in Female C57BL/6 Mice. Official journal of the Society of Toxicology. Toxicological sciences 134 (2), 251–257

Suomen ympäristökeskus. 2013. Pysyvät orgaaniset yhdisteet (POP). Julkaistu 5.8.2013. päivitetty 26.1.2018. Luettu 22.4.2018 http://www.ymparisto.fi/fi-FI/Kultus_ja_tuotanto/Kemikaalien_ymparistoriskit/Pysyvat_organiset_yhdisteet_POP

Suomen ympäristökeskus. 2018. Heksabromisyklododekaani (HBCD). Julkaistu 26.1.2018. Luettu 22.4.2018 <http://www.ymparisto.fi/download/no-name/%7BB29622E3-DB3A-455D-B9D5-9CA0E629A273%7D/134722>

LIITTEET

Liite 1. α -HBCD, β -HBCD ja γ -HBCD rakennekaavat ja ominaisuudet



KUVIO 9. Kolme HBCD-stereoisomeeria, joista kaupallinen palonsuoja-aine pääasiassa koostuu (Sanders ym. 2013, 252)

TAULUKKO 13. HBCD-isomeerien ja niiden seoksen sulamispisteet, molekyylimassa, oktanoli-vesi-jakaantumiskerroin sekä CAS-numerot

Isomeeri	Sulamis- piste (°C)	Molekyy- limassa (g/mol)	log K_{ow}	CAS-numero
α -HBCD	179–181	641,7	5,07 ± 0,09	134237- 50-6
β -HBCD	170–172	641,7	5,12 ± 0,09	134237-51-7
γ -HBCD	207–209	641,7	5,47 ± 0,10	134237-52-8
tekninen seos	190*	641.7		3194-55-6

*keskiarvo

Liite 2. HBCD:n analyysin suoritusohje

1(2)

Heksabromisyklododekaanin (HBCD) määrittäminen EPS- ja XPS-muoveista GC-FID-laitteella

Työssä käytettävien aineiden käyttöturvatiedotteet on syytä lukea ennen aloittamista. Liuosten valmistus ja säilytys tehdään vetokaapissa. Reagenssien sekä liuosten käsittelyssä on käytettävä asianmukaisia suojaruosteita ja jätteet on kerättävä niitä varten oleviin suljettaviin jättestioihin.

Valmistele kaasukromatografi paahtamalla ja säätämällä asetukset taulukon 14 mukaisiksi. Kolonniksi käyvät HP-1, HP-5 tai vastaava jonka pituus on 30 m, sisähalkaisija 0,32 mm ja pysyvän faasin paksuus 0,25 µm.

TAULUKKO 14. Kaasukromatografian asetukset

Parametri	Asetusarvo
lämpötila, injektor	225 °C
	alku: 100 °C, 10 °C/min → 190 °C
lämpötila, uuni	20 °C/min → 250 °C 5 °C/min → 280 °C 60 °C/min → 320 °C, pito 1 min
lämpötila, FID	300 °C
injektio	1 µl, splitless
kantajakaasu	He, vakiovirtaus 6 ml/min

1. Valmista ISTD-kantaliuos heksadekaanista punnitsemalla noin 200 mg ja laimentamalla 25 ml dikloorimetaania. Laimenna tästä 50-100 mg/l käyttöliuos ja laske tarkka pitoisuus.
2. Valmista kiinteästä HBCD:stä 20, 40, 100, 200 ja 400 mg/l standardit ISTD-käyttöliuokseen.
3. Valmista näyte punnitsemalla noin 0,5 g EPS- tai XPS-muovia ja liuota se 5 ml ISTD-käyttöliuosta varovasti sekoittaen käsin tai magneettisekoittajalla.
4. Kun näyte on liennut noin 10 minuuttia, lisää hiljalleen samalla sekoittaen 10 ml isopropanolia.

5. Siirrä ruiskulla teflonsuodattimen läpi näyte kromatografिन näytepulloon.
2(2)
6. Analysoi standardit laimeimmasta väkevimpään ja sen jälkeen näytteet ajomene-
telmän mukaisesti.
7. Käytä standardisuoran piirtämisessä sisäisen standardin menetelmää. Sisäisenä
standardina toimii heksadekaani.
8. Splitless-injektion vuoksi on suositeltavaa suorittaa analyysisarjojen välissä pesu-
ajo liuottimella, esimerkiksi heksaanilla.

Muovinäytteen HBCD-pitoisuus C_{HBCD} voidaan laskea kaavan 3 mukaisesti, missä $c_{\text{näyte}}$ on näyteliuoksen mitattu HBCD-pitoisuus (mg/l), $V_{\text{näyte}}$ liuottamiseen käytetyn ISTD-liuoksen tilavuus (l) ja m_{muovi} liuotetun muovin massa (kg).

$$C_{\text{HBCD}} = \frac{c_{\text{näyte}} \cdot V_{\text{näyte}}}{m_{\text{muovi}}} \quad (3)$$

Liite 3. Menetelmän testauksen standardiliuosten mittaustulokset

1(2)

TAULUKKO 15. Standardit pitoisuuksineen, niiden kuuden injektion ISTD- sekä HBCD piikkien alat keskiarvoineen ja alojen suhteet keskiarvoineen, keskihajontoineen sekä suhteellisine keskihajontoineen

Näyte	A _{ISTD}	A _{HBCD}	A _{HBCD} /A _{ISTD}	keskihajonta	
				A _{HBCD} /A _{ISTD}	rsd A _{HBCD} /A _{ISTD}
Std 1 1 mg/l	1487,3	4,8	0,003227	0,000375941	0,129318
	1464,3	4,8	0,003278		
	1439,9	3,3	0,002292		
	1444,6	4,5	0,003115		
	1447,7	4	0,002763		
	1453,4	4	0,002752		
\bar{A}	1456,2	4,233333	0,002907		
Std 2 4 mg/l	1455,3	11,1	0,007627	0,000678367	0,082473
	1445,3	11,3	0,007818		
	1426,9	13,5	0,009461		
	1445,2	12,2	0,008442		
	1427,8	11,1	0,007774		
	1431,4	11,8	0,008244		
\bar{A}	1438,65	11,83333	0,008225		
Std 3 10 mg/l	1457,6	29,6	0,020307	0,001177165	0,054274
	1447,6	30,5	0,021069		
	1481,2	35,3	0,023832		
	1442,9	31	0,021485		
	1463,7	31,8	0,021726		
	1439,5	31,2	0,021674		
\bar{A}	1455,417	31,56667	0,021689		
Std 4 20 mg/l	1428	65	0,045518	0,001704023	0,035194
	1430,9	70,9	0,049549		
	1410,1	70,6	0,050067		
	1410	70	0,049645		
	1377,1	65,9	0,047854		
	1420,1	68	0,047884		
\bar{A}	1412,7	68,4	0,048418		
Std 5 40 mg/l	1438,1	141,3	0,098255	0,002120652	0,021441
	1430,2	145,1	0,101454		
	1423,9	136,9	0,096144		
	1403,7	138,1	0,098383		
	1412,2	138	0,09772		
	1448,6	146,9	0,101408		
\bar{A}	1426,117	141,05	0,098905		

TAULUKKO 15. jatkuu

Näyte	A _{ISTD}	A _{HBCD}	A _{HBCD} /A _{ISTD}	keskihajonta	
				A _{HBCD} /A _{ISTD}	rsd A _{HBCD} /A _{ISTD}
std6 100 mg/l	1418,1	341,5	0,240815	0,006547086	0,025972
	1417,4	352,9	0,248977		
	1415,7	357,3	0,252384		
	1434,2	365,9	0,255125		
	1386,4	359,5	0,259305		
	1386,9	355,2	0,256111		
\bar{A}	1409,783	355,3833	0,252084		
std7 200 mg/l	1361,9	674,1	0,49497	0,010939666	0,021222
	1348,1	689,1	0,511164		
	1341,4	699,2	0,521246		
	1338,1	698,4	0,521934		
	1346,4	702,8	0,521985		
	1336,9	697,8	0,521954		
\bar{A}	1345,467	693,5667	0,515484		
std8 400 mg/l	1346	1316,5	0,978083	0,0264923	0,025846
	1331,8	1369,3	1,028157		
	1338,6	1379,5	1,030554		
	1340,1	1380,3	1,029998		
	1321,7	1401,3	1,060225		
	1337,5	1369,3	1,023776		
\bar{A}	1335,95	1369,367	1,025013		
std9 600 mg/l	1355,5	1920,4	1,416747	0,035110662	0,023641
	1354,5	2013,6	1,4866		
	1348,9	2032,4	1,506709		
	1349,3	2034,4	1,507745		
	1344,4	2026,9	1,507661		
	1344	1997,1	1,485938		
\bar{A}	1349,433	2004,133	1,485167		
std10 800 mg/l	1358,5	2496,3	1,837541	0,059978535	0,030652
	1347,8	2658,7	1,972622		
	1340,9	2637,7	1,967112		
	1339,8	2644	1,973429		
	1334,2	2671,2	2,002099		
	1334,7	2655,6	1,989661		
\bar{A}	1342,65	2627,25	1,956765		
std11 1000 mg/l	1350,3	3102,7	2,297786	0,067368278	0,027728
	1341,9	3298,5	2,458082		
	1339,3	3309,8	2,471291		
	1363,9	3302,2	2,421145		
	1348,2	3310	2,455125		
	1354,4	3351,9	2,474823		
\bar{A}	1349,667	3279,183	2,429625		

Liite 4. Regressioanalyysin numeeriset tulokset

1(2)

YHTEEENVETO TULOSTUS						
<i>Regressiotunnusluvut</i>						
Kerroin R	0,99981					
Korrelaatiokerro	0,99962					
Tarkistettu korre	0,999578					
Keskivirhe	0,018076					
Havainnot	11					
ANOVA						
	<i>va</i>	<i>NS</i>	<i>KN</i>	<i>F</i>	<i>:n tarkkuus</i>	
Regressio	1	7,733492	7,733492	23668,91	1,05E-16	
Jäännös	9	0,002941	0,000327			
Yhteensä	10	7,736432				
	<i>Kertoimet</i>	<i>Keskivirhe</i>	<i>Tunnusluku</i>	<i>P-arvo</i>	<i>Alin 95%</i>	<i>Ylin 95%</i>
Leikkauspiste	0,007957	0,007121	1,117397	0,292765	-0,00815	0,024067
Muuttuja X 1	0,002443	1,59E-05	153,847	1,05E-16	0,002407	0,002479
JÄÄNNÖSTULOSTUS				TODENNÄKÖISYYS TULOSTUS		
<i>Havainto</i>	<i>nnustettu</i>	<i>äännökseisoidut</i>	<i>jäännökset</i>	<i>Prosenttipisä</i>	<i>Y</i>	
1	0,0104	-0,00749	-0,43697	4,545455	0,002907	
2	0,01773	-0,0095	-0,55424	13,63636	0,008225	
3	0,032388	-0,0107	-0,6239	22,72727	0,021689	
4	0,056819	-0,0084	-0,48989	31,81818	0,048418	
5	0,10568	-0,00678	-0,39509	40,90909	0,098905	
6	0,252264	-0,00018	-0,01054	50	0,252084	
7	0,496572	0,018913	1,102886	59,09091	0,515484	
8	0,985186	0,039828	2,322546	68,18182	1,025013	
9	1,4738	0,011367	0,662838	77,27273	1,485167	
10	1,962414	-0,00565	-0,32947	86,36364	1,956765	
11	2,451029	-0,0214	-1,24818	95,45455	2,429625	

KUVIO 10. Regressioanalyysi standardien 1–11 HBCD- ja ISTD-piikkien alojen keskiarvoista pitoisuuden funktiona

2(2)

YHTEENVETO TULOSTUS						
<i>Regressiotunnusluvut</i>						
Kerroin R	0,999974					
Korrelaati	0,999947					
Tarkistettu	0,99993					
Keskivirhe	0,003354					
Havainnot	5					
ANOVA						
	<i>va</i>	<i>NS</i>	<i>KN</i>	<i>F</i>	<i>:n tarkkuus</i>	
Regressio	1	0,640922	0,640922	56986,22	1,62E-07	
Jäännös	3	3,37E-05	1,12E-05			
Yhteensä	4	0,640955				
	<i>Kertoimet</i>	<i>Keskivirhe</i>	<i>Tunnusluku</i>	<i>P-arvo</i>	<i>Alin 95%</i>	<i>Ylin 95%</i>
Leikkausp	-0,00391	0,002223	-1,75703	0,177165	-0,01098	0,003169
c	0,002577	1,08E-05	238,7179	1,62E-07	0,002543	0,002612
JÄÄNNÖSTULOSTUS				TODENNÄKÖISYYS TULOSTUS		
<i>Havainto</i>	<i>stettu A(n)</i>	<i>jäännökseisoidut jäännökset</i>	<i>Prosenttipisi</i>	<i>A(n)/A(i)</i>		
1	0,047642	0,001907	0,656689	10	0,049549	
2	0,09919	0,002264	0,779563	30	0,101454	
3	0,253835	-0,00486	-1,67265	50	0,248977	
4	0,511576	-0,00041	-0,14195	70	0,511164	
5	1,027059	0,001099	0,378347	90	1,028157	

KUVIO 11. Regressioanalyysi standardien 4–8 HBCD- ja ISTD-piikkien alojen keskiarvoista pitoisuuden funktiona, Microsoft Excel

Liite 5. Saannon laskemiseen käytetyt arvot

1(3)

TAULUKKO 16. Saannon määrittystä varten valmistettujen näyteliuosten kolmen mittauksen tulokset, missä A_i on ISTD-piikin pinta-ala, A_n HBCD-piikin pinta-ala ja c näyteliuoksen HBCD-pitoisuus

Näyte	A_i	A_n	A_n/A_i	c (mg/l)	saanto (%)
n1	421,8	0	0	0	0
	429	0	0	0	0
	430,3	0	0	0	0
n2	432,3	158,0	0,365	147,7	73,8
	439,3	164,0	0,373	150,8	75,4
	433,8	157,2	0,362	146,4	73,2
n3	434,5	312,4	0,719	290,5	72,6
	443,6	325,7	0,734	296,6	74,2
	445,9	309,4	0,694	280,4	70,1
n4	447,4	445,7	0,996	402,5	67,1
	445,5	449,8	1,010	407,9	68,0
	465,2	461,4	0,992	400,7	66,8
n5	458	629,0	1,373	554,9	69,4
	468,6	602,5	1,286	519,5	64,9
	470,1	603,1	1,283	518,3	64,8
n2B	461,8	24,3	0,053	21,3	10,6
	467,3	24,5	0,052	21,2	10,6
	463,3	23,7	0,051	20,7	10,3
n3B	454,1	44,9	0,099	39,9	10,0
	439,8	51,7	0,118	47,5	11,9
	458,4	46,1	0,101	40,6	10,2
n4B	446,2	67,7	0,152	61,3	10,2
	449,8	69,6	0,155	62,5	10,4
	447,9	70,3	0,157	63,4	10,6
n5B	444,7	102,8	0,231	93,4	11,7
	456,8	97,0	0,212	85,8	10,7
	454	91,8	0,202	81,7	10,2

TAULUKKO 16. jatkuu

Näyte	A_i	A_n	A_n/A_i	c (mg/l)	saanto (%)
n2C	455,7	3,7	0,008	3,3	1,6
	465,3	3,5	0,008	3,0	1,5
	463,8	3,6	0,008	3,1	1,6
n3C	485,9	10,5	0,022	8,7	2,2
	475,1	7,6	0,016	6,5	1,6
	470,8	7,8	0,017	6,7	1,7
n4C	462,8	10,3	0,022	9,0	1,5
	455,1	10,2	0,022	9,1	1,5
	458,1	10,2	0,022	9,0	1,5
n5C	470	16,1	0,034	13,8	1,7
	461,1	17,0	0,037	14,9	1,9
	462,7	17,2	0,037	15,0	1,9

3(3)

TAULUKKO 17. Näytteiden ISTD-piikkien alat A_i , vertailustandardien ISTD-piikkien alat A_{i0} , HBCD-piikkien alat A_n , vertailustandardien HBCD-piikkien alat A_{n0} , ISTD-piikkien alojen suhteet vertailualoihin A_i/A_{i0} , HBCD-piikkien alojen suhteet vertailualoihin A_n/A_{n0} sekä alojen suhteiden ja vertailualojen suhteiden suhteet

Näyte	A_i	A_{i0}	A_n	A_{n0}	A_i/A_{i0}	A_n/A_{n0}	$\frac{A_{n0}/A_{i0}}{A_n/A_i}$
n1a	427,0	485,4	0	0,0	0,880	0,000	0,000
n2a	435,1	448,5	159,7	231,2	0,970	0,691	0,712
n3a	441,3	445,3	315,8	456,5	0,991	0,692	0,698
n4a	452,7	449,8	452,3	668,0	1,006	0,677	0,673
n5a	465,6	447,6	611,5	875,8	1,040	0,698	0,671
n2b	464,1	448,5	24,2	231,2	0,956	0,105	0,101
n3b	450,8	445,3	47,6	456,5	0,929	0,104	0,103
n4b	448,0	449,8	69,2	668,0	0,923	0,104	0,104
n5b	451,8	447,6	97,2	875,8	0,931	0,111	0,110
n2c	461,6	448,5	3,6	231,2	0,951	0,016	0,015
n3c	477,3	445,3	8,6	456,5	0,983	0,019	0,018
n4c	458,7	449,8	10,2	668,0	0,945	0,015	0,015
n5c	464,6	447,6	16,8	875,8	0,957	0,019	0,018