



Osaamista
ja oivallusta
tulevaisuuden
tekemiseen

Rebecca Särkkä

Menetelmän kehitys katalyyttikoetetaan prosessivesien hiilivetyjen määrittämiseen HS-GC-FID:llä

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Laboratorioanalyttikko (AMK)

Laboratorioanalytiikka

Opinnäytetyö

11.11.2019

Tekijä Otsikko Sivumäärä Aika	Rebecca Särkkä Menetelmän kehitys katalyyttikoetehtaan prosessivesien hiilivetyjen määrittämiseen HS-GC-FID:llä 50 sivua + 10 liitettä 11.11.2019
Tutkinto	Laboratorioanalytikko (AMK)
Tutkinto-ohjelma	Laboratorioanalytiikka
Ohjaajat	Laboratorioinsinööri Mari Merikoski Yliopettaja Jukka Niiranen
<p>Tämä opinnäytetyö toteutettiin Borealis Polymers Oy:n muovitehtaan jätevesilaboratoriossa, joka vastaa tehtaiden prosessivesien analytiikasta. Tavoitteena oli kehittää ja validoida kansainväliseen standardiin ISO 11423-1:1997 pohjautuva analyysimenetelmä etanolin, heptaanin ja toluenin pitoisuuksien määrittämiseen katalyyttikoetehtaan prosessivesistä. Menetelmän kehittämisessä laitteena käytettiin Agilent Technologies 7697A Headspace -näytteensyöttäjää ja Agilent Technologies 7890B -kaasukromatografiaa.</p> <p>Menetelmän kehityksessä tarkasteltiin kalibrointiliuosten valmistustapaa sekä kaasukromatografian ja headspace-näytteensyöttäjän ajo-olosuhteita, jotka optimoitiin kaikille analyyteille. Menetelmän validointi kattoi uuden ajo-ohjelman, laitteen ja laitteen kalibroinnin (faktorit), kaikki analyytit (etanoli, tolueni, heptani) ja näytematriisin. Validoinnissa tarkasteltavia parametreja olivat menetelmän lineaarisuus, toteamis- ja määrittämissrajat, tarkkuus ja selektiivisyys.</p> <p>Menetelmän kehitys osoittautui haasteelliseksi analyyttien erilaisten ominaisuuksien vuoksi. Validoinnin tulosten perusteella kehitetty menetelmä oli riittävän tarkka ja toistettava etanolille mittausalueella 10–100 ppm. Menetelmä ei sovellu vielä toluenin tai heptaanin pitoisuuksien määrittämiseen, sillä molempien analyyttien validoinnin tuloksista tunnistettiin systemaattisia ja satunnaisia virheitä. Työn puitteissa tehty validointi ei ollut riittävän laaja virhelähteiden tunnistamiseen. Menetelmän kehitystä ja validointia jatketaan opinnäytetyön tuottaman tiedon perusteella.</p>	
Avainsanat	hiilivety, headspace, HS, kaasukromatografia, GC, menetelmän kehitys, etanoli, tolueni, heptani

Author	Rebecca Särkkä
Title	Method Development for Determination of Hydrocarbons in Catalyst Pilot Plant's Process Waters with HS-GC-FID
Number of Pages	50 pages + 10 appendices
Date	11 November 2019
Degree	Bachelor of Laboratory Services
Degree Programme	Laboratory Sciences
Instructors	Mari Merikoski, Laboratory Engineer Jukka Niiranen, Principal Lecturer
<p>This thesis work was implemented at Borealis Polymers Ltd in the Plastic Plant's wastewater laboratory, which is in charge of analysing the plants' process waters. The aim of this thesis work was to develop and validate a method, which is based on the international standard ISO 11423-1:1997 and that is suitable to determine the concentrations of ethanol, heptane and toluene in the Catalyst Pilot Plant's process waters. The device used in the method development was the Agilent Technologies 7697A Headspace Sampler and the Agilent Technologies 7890B Gas Chromatograph.</p> <p>During method development, the calibration solutions and gas chromatograph's and headspace sampler's working conditions were examined and optimised for all analytes. The method validation included the new working conditions and the device, calibration of the device (factors), all analytes (ethanol, toluene, heptane) and the sample matrix. Method validation included examination of the following parameters: linearity, limit of detection and quantitation, accuracy and selectivity.</p> <p>Developing the method proved challenging due to the difference in features of each analyte. Based on the validation results, the developed method was sufficiently accurate and reproducible for ethanol in the measuring range of 10–100 ppm. The method is not yet suitable for determining the concentrations of toluene and heptane as systematic and random errors were identified from the validation results of both analytes. The validation carried out for this thesis work was not comprehensive enough to identify the source(s) of error. Method development and validation will proceed based on the information produced by this thesis study.</p>	
Keywords	hydrocarbon, headspace, HS, gas chromatography, GC, method development, ethanol, toluene, heptane

Sisällys

Lyhenteet

1	Johdanto	1
2	Ympäristövaikutusten seuranta	2
2.1	Hiilivedyt prosessivesissä	2
2.2	Ympäristönsuojelulaki	3
2.3	Paras käyttökelpoinen tekniikka (BAT)	4
3	Analyyttien keskeiset ominaisuudet	5
4	Analyysitekniikka	6
4.1	Staattinen headspace-näytteensyöttötekniikka	7
4.2	Kaasukromatografia (GC)	9
4.3	Liekki-ionisaatiodetektor (FID)	10
5	Menetelmän validointi	11
5.1	Lineaarisuus ja mittausalue	11
5.2	Toteamis- ja määrittämissrajat	12
5.3	Tarkkuus	13
5.4	Selektiivisyys	14
6	Katalyyttikoetehdas ja prosessivedet	14
7	Laitteisto, välineet ja reagenssit	16
7.1	Laitteiston kuvaus	17
7.2	Välineet ja reagenssit	18
8	Menetelmän kehityksen toteutus ja tulokset	19
8.1	Kalibrintiliuosten ja näytteen valmistus	21
8.2	GC:n ajo-olosuhteet	22
8.3	Headspace-parametrit	23
8.3.1	Näytemäärä	24

8.3.2	Suolan lisäys	24
8.3.3	Tasapainotusaika	27
8.3.4	Tasapainotuslämpötila	28
8.3.5	HS:n ajo-olosuhteet	30
9	Menetelmän validoinnin toteutus ja tulokset	30
9.1	Lineaarisuus ja mittausalue	31
9.2	Toteamis- ja määrittäysrajat	36
9.3	Tarkkuus	37
9.3.1	Saantokokeet	38
9.3.2	Kalibrointiliuokset	39
9.3.3	Prosessivesinäyte	42
9.4	Selektiivisyys	43
10	Johtopäätökset	45
	Lähteet	48
	Liitteet	
	Liite 1. Näytemäärätestit	
	Liite 2. Suolan lisäytestit	
	Liite 3. Alustavat tasapainotusaikatestit 70 °C:ssa	
	Liite 4. Tasapainotusaikatestit 70 °C:ssa	
	Liite 5. Tasapainotusaikatestit 80 °C:ssa	
	Liite 6. Tasapainotuslämpötilatestit	
	Liite 7. Faktorit ja kaavat	
	Liite 8. Kalibrointiliuosten pitoisuudet ja vasteet	
	Liite 9. Saantokokeiden tulokset ja esimerkki kromatogrammista	
	Liite 10. Prosessivesinäytteen vasteet	

Lyhenteet

BAT	<i>Best available technique</i> , paras käyttökelpoinen tekniikka. Ympäristösuojelunlaissa määritelty käsite, jota tulee soveltaa teollisuudessa ympäristövaikutusten minimointiin.
BATC	<i>BAT conclusions</i> , BAT-päätelmät. BAT-vertailuasiakirjojen osa, jossa kuvaillaan parhaat käyttökelpoiset tekniikat, niiden soveltuvuus ja saavutettavat päästötasot.
BREF	<i>BAT Reference Document</i> , BAT-vertailuasiakirja. Viranomaisten ja teollisuuden välisen BAT-tietojen vaihdon tulokset julkaistaan eri toimialojen BAT-vertailuasiakirjoina.
CAS	<i>Chemical Abstract Service</i> , yhdysvaltalainen kemikaalien tunnistenumerojärjestelmä. Helpottaa kemikaalien ja yhdisteiden tunnistamista.
ELY	Elinkeino-, liikenne ja ympäristökeskus. Hoitaa valtiohallinnon alueellisia toimeenpano- ja kehittämistehtäviä, mm. ympäristösuojelua.
FID	<i>Flame ionization detector</i> , liekki-ionisaatiodektektori. Kaasukromatografiassa käytetty yleisdetektori, joka ionisoi yhdisteet vety-ilmaliekissä.
GC	<i>Gas chromatography</i> , kaasukromatografia. Orgaanisessa analytiikassa yleisesti käytetty haihtuvien yhdisteiden erotusmenetelmä.
HS	<i>Headspace</i> , kaasukromatografian näytteensyöttötekniikka. Haihtuvat yhdisteet erotetaan nestemäisestä tai kiinteästä näytteestä siirtämällä yhdisteiden pitoisuuksien tasapainoa kaasufaasiin, josta injektoidaan osa kaasukromatografiin.
HTP	Haitalliseksi tunnettu pitoisuus. Ilman pienin kemikaalipitoisuus, jonka sosiaali- ja terveysministeriö arvioi mahdollisesti aiheuttavan vaaraa tai haittaa työntekijän terveydelle.

IED	<i>Industrial emissions directive</i> , teollisuuspäästödirektiivi. EU:n säätämä direktiivi, jonka perusteella BATin soveltaminen teollisuuden päästötasoja ja ympäristövaikutuksia arvioitaessa tehtiin lakisääteiseksi.
ISO	<i>International Organization for Standardization</i> . Kansainvälinen standardoimisjärjestö, joka tuottaa kansainvälisiä standardeja.
IUPAC	<i>The International Union of Pure and Applied Chemistry</i> . Kansainvälinen teoreettisen ja sovelletun kemian liitto, joka luo kemian alan standardeja, kuten orgaanisten yhdisteiden nimeämiskäytännön.
LOD	<i>Limit of Detection</i> , toteamisraja. Analyytin pienin pitoisuus, jonka perusteella voidaan luotettavasti todeta, onko näytteessä analyyttiä.
LOQ	<i>Limit of Quantitation</i> , määritysraja. Pitoisuuden alaraja, joka menetelmällä voidaan määrittää hyväksyttävällä tarkkuudella.
PEG	Polyetyleeniglykoli. Polyeetteriyhdiste, jota käytetään kaasukromatografiassa kolonnin stationäärifaasina.
S/N	Signaali-kohinasuhde. Kromatografian parametri, jota käytetään usein menetelmän toteamis- ja määritysrajojen laskemiseen.
SYKE	Suomen ympäristökeskus. Valtion tutkimus- ja asiantuntijalaitos, joka tarjoaa palveluja ja tutkimustietoa kestävän kehityksen kannalta merkittävistä yhteiskunnan osa-alueista.
TUKES	Turvallisuus- ja kemikaalivirasto. Toimii työ- ja elinkeinoministeriön hallinnonalalla valtakunnallisena lupa- ja valvontaviranomaisena.
VOC	<i>Volatile organic compound</i> , haihtuva orgaaninen yhdiste. Yhdisteet, joiden kiehumispiste on alle 250 °C ja höyrynpaine > 10 Pa 20 °C:n lämpötilassa.

1 Johdanto

Tämä opinnäytetyö toteutettiin Borealis Polymers Oy:n muovitehtaan jätevesilaboratoriossa, joka sijaitsee Kilpilahden teollisuusalueella Porvoossa. Laboratorio vastaa Borealis Polymers Oy:n tehtaiden prosessivesien analytiikasta ja kehittää käyttötarkoituksiin soveltuvia analyysimenetelmiä. Borealis Polymers Oy:n toiminta on sertifioitu laatustandardin ISO 9000:2000 mukaisesti [1, s. 9].

Katalyyttikoetehtaan toiminta on ympäristöluvanvaraista, mikä edellyttää käytettyjen analyysimenetelmien perustuvan kansalliseen tai kansainväliseen standardiin [1, s. 16]. Haihtuvien hiilivetyjen pitoisuuksien määrittäminen prosessivesistä on aiemmin toteutettu laboratorion sisäisen menetelmän mukaan. Tämän työn tavoitteena oli kehittää ja validoida kansainvälisen standardin ISO 11423-1:1997 [2] mukainen analyysimenetelmä etanolin, heptaanin ja tolueenin pitoisuuksien määrittämiseen katalyyttikoetehtaan prosessivesistä. Menetelmä perustuu hiilivetyjen haihduttamiseen vesimatriisista käyttäen headspace-näytteensyöttötekniikkaa, jonka jälkeen analyytit erotellaan kaasukromatografilla (GC) ja havaitaan liekki-ionisaatiodetektorilla (FID). Menetelmään valitut analyytit ovat koetehtaalla eniten käytettyjä liuottimia, jotka hävitetään ongelmajätteenä. Liuotinjäämien pitoisuuksien seuranta prosessivesistä on osa koetehtaan toiminnasta aiheutuvien päästöjen seuranta, josta raportoidaan vuosittain valvontaviranomaiselle.

Haasteita menetelmän kehitykseen toi analyyttien keskenään erityyppiset ominaisuudet, sillä kaikki analyytit haluttiin määrittää samalla menetelmällä ja samasta näytepullostasta. Tolueenin ja heptaanin pitoisuudet prosessivesissä ovat aiempien mittaustulosten perusteella olleet alle 3 ppm. Etanolin pitoisuus on vaihdellut välillä 0,5–100 ppm, mutta yksittäisiä korkeampiakin tuloksia on ollut. Menetelmän mittausalueeksi valittiin 10–100 ppm, jonka alaraja määräytyi etanolin vasteen mukaan. Etanoli ei haihdu vedestä yhtä herkästi kuin tolueeni ja heptaani, minkä vuoksi sen aikaansaama vaste laitteen detektorilla on huomattavasti pienempi verrattuna muihin analyytteihin. Mittausalueen yläraja asetettiin 100 ppm:ään, jotta menetelmän käyttöalue olisi mahdollisimman laaja.

2 Ympäristövaikutusten seuranta

Tässä luvussa käsitellään hiilivetyliuottimien käyttöä teollisuudessa ja ympäristöluvanvaraista toimintaa ohjaavaa lainsäädäntöä.

2.1 Hiilivedyt prosessivesissä

Hiilivedyt ovat orgaanisia yhdisteitä, jotka koostuvat nimensä mukaisesti hiilestä ja vedystä. Haihtuviksi orgaanisiksi yhdisteiksi eli VOC-yhdisteiksi (*volatile organic compound*) luokitellaan orgaaniset yhdisteet, joiden höyrynpaine on 20 °C:n lämpötilassa yli 10 Pascalia (Pa). VOC-yhdisteitä syntyy muun muassa epätäydellisessä palamisessa, liikenteessä ja teollisuuden prosesseissa, esimerkiksi orgaanisten liuottimien käytön seurauksena. Suomen ympäristökeskus (SYKE) tekee vuosittaisen katsauksen VOC-yhdisteiden päästömääristä kotimaista seurantaan varten. Liuottimien käytön päästölähdesektorille suunnattu kysely osoitetaan mm. maali- ja muoviteollisuudelle. [3.]

Orgaaniset hiilivetyliuottimet ovat olomuodoltaan nestemäisiä, mutta useimmat haihtuvat huoneenlämmössä nopeasti. Liuottimia käytetään teollisuudessa muun muassa raaka-aineena, ohenteena ja puhdistusaineena. [4.] Toiminnanharjoittajan tulee olla tietoinen käyttämiensä kemikaalien mahdollisista haittavaikutuksista ja toiminnasta syntyvien prosessivesien laadusta. Käyttöön soveltuvista kemikaaleista tulee valita vähiten ympäristöä kuormittava ja vähiten terveydelle haitallinen ja vaaraa aiheuttava kemikaali. [5, s. 24, 30.]

Kemikaalien käyttöä tulee minimoida, ja käytöstä aiheutuvat päästöt ympäristöön tulee estää tai pitää mahdollisimman pienenä. Viemäriin ei saa johtaa liuottimia eikä sellaisia prosessivesiä, jotka voisivat aiheuttaa vauriota viemäriverkostolle tai haitata jätevesilaitoksen toimintaa. Liuotinjämiä voi päätyä pieninä pitoisuuksina laitoksen prosessivesiin tuotantotilojen lattiakaivojen kautta, esimerkiksi huuhteluvesien mukana. Orgaaniset liuottimet muodostavat viemärissä työturvallisuushaitan, sillä suurin osa haihtuu viimeistään jätevesilaitoksen käsittelyssä, esimerkiksi esi-ilmastuksen tai hiekanerotuksen ai-

kana. Liuotintyypeistä ja pitoisuuksista riippuen ne voivat aiheuttaa prosessivesissä tulipalo- ja räjähdysvaaraa, haju- ja työterveyshaittaa sekä olla haitallisia tai vaarallisia vesieliöille. [5, s. 24, 30.]

Kemikaalien kanssa työskennellessä tulee aina huomioida niiden mahdolliset terveysvaikutukset ja HTP-arvot (haitallisiksi tunnetut pitoisuudet) sekä turvallisuusriskit. Liuottimien haittavaikutuksille altistuminen tapahtuu pääasiassa liuotinhöyryjä hengittämällä, mutta ne voivat imeytyä elimistöön myös ihon läpi. Lyhytaikaiset terveysvaikutukset liuotinhöyryjen hengittämisestä voivat olla nenän ja nielun limakalvojen sekä silmien ärsytys ja ohimenevät hermosto-oireet, kuten huimaus, päänsärky ja huonovointisuus. Roiskeet voivat vahingoittaa silmiä ja aiheuttaa ihon kuivumista ja ärsytystä. Pitkäaikainen altistuminen voi aiheuttaa pysyviä keskushermostomuutoksia, jonka seurauksena mm. muistin ja keskittymiskyvyn heikkenemistä. Tietyt kemikaalit, kuten tolueeni, voivat lisätä melun aiheuttaman kuulovaurion riskiä. Monet liuottimet ovat lisäksi syttyviä ja palavia nesteitä. [4.]

Nyky aikaisten suojautumiskeinojen ansiosta altistuminen vaarallisille kemikaalipitoisuuksille pystytään estämään, jolloin pitkäaikaisten haittavaikutusten riskit minimoidaan [4]. Tuntemattoman kemikaalin kanssa työskentely tulee aloittaa aina lukemalla käyttöturvallisuustiedote, jotta mahdolliset riskit terveydelle ja ympäristölle osataan huomioida ja ennaltaehkäistä tarkoitukseen soveltuvilla henkilökohtaisilla suojaimilla ja muilla tarvittavilla toimenpiteillä. Kemikaalijätteen lajittelu on myös tärkeää oikeanlaisen jätteenkäsittelyn varmistamiseksi.

2.2 Ympäristönsuojelulaki

Ympäristönsuojelulain (527/2014) tarkoituksena on muun muassa ehkäistä ympäristön pilaantumista ja sen vaaraa, vähentää päästöjä ja niiden haitallisia vaikutuksia sekä torjua ilmastonmuutosta. Lakia sovelletaan teollisuuteen ja muuhun toimintaan, josta voi aiheutua ympäristön pilaantumista ja/tai toimintaan, jossa syntyy jätettä. Toiminnanharjoittajalla on selvillä olovelvollisuus toimintansa ympäristövaikutuksista ja -riskeistä sekä niiden hallinnasta. Elinkeino-, liikenne- ja ympäristökeskus (ELY-keskus) valvoo säädösten noudattamista, ja Turvallisuus- ja kemikaalivirasto (Tukes) valvoo orgaanisten liuotimien käytöstä aiheutuvien orgaanisten yhdisteiden päästöjen rajoittamista. [6.]

Ympäristönsuojelulain mukaan toiminnanharjoittajan tulee hakea ympäristölupaa, mikäli toiminta aiheuttaa ympäristön pilaantumisen vaaraa. Ympäristöluvanvaraiselle toiminnalle voidaan määritellä tarkempia säännöksiä esimerkiksi toiminnan sallitusta laajuudesta, päästöraja-arvoista sekä näytteenoton ja tutkimusten luotettavuudesta ja laadun varmistamisesta. Ympäristölupapäätöksessä luvan voimassaolo määritetään joko toistaiseksi voimassa olevaksi tai määräaikaiseksi. [6.]

2.3 Paras käyttökelpoinen tekniikka (BAT)

Ympäristönsuojelulaissa 527/2014 [6] paras käyttökelpoinen tekniikka (*Best Available Technique*, BAT) on määritelty seuraavasti:

mahdollisimman tehokkaita ja kehittyneitä, teknisesti ja taloudellisesti toteuttamiskelpoisia tuotanto- ja puhdistusmenetelmiä ja toiminnan suunnittelu-, rakentamis-, ylläpito-, käyttö- sekä lopettamistapoja, joilla voidaan ehkäistä toiminnan aiheuttama ympäristön pilaantuminen tai tehokkaimmin vähentää sitä ja jotka soveltuvat ympäristölupamääräysten perustaksi.

BATin periaatteen soveltamisen taustalla on EU:n säätämä teollisuuspäästädirektiivi (*Industrial Emissions Directive*, IED, 2010/75/EU), joka yhdistää useita aiempia päästöjä sääteleviä direktiivejä yhdeksi kokonaisuudeksi. Direktiivin tarkoituksena on suojella ympäristöä ja säädellä teollisuuslaitosten ympäristövaikutuksia luvanvaraisen toiminnan kautta. Euroopan komissio organisoi BATin tietojen vaihtoa teollisuuden ja viranomaisien välillä, jonka tulokset julkaistaan BAT-vertailuasiakirjoina (*BAT Reference Document*, BREF). [7.] Suomessa BAT-tietojen vaihtoa koordinoi Suomen ympäristökeskus (SYKE) [8].

Teollisuuspäästädirektiivin soveltamisalaan kuuluvien laitosten lupamääräysten toteutuksen on perustuttava BAT-päätelmiin (*BAT Conclusions*, BATC). BAT-päätelmät sisältyvät BAT-vertailuasiakirjoihin, joissa kuvataan jokaisen toimialan parhaat käytössä olevat tekniikat ja niillä saavutettavat päästötasot [9, s. 3]. BAT-vertailuasiakirjojen tarkoituksena on yhtenäistää ympäristölupakäytäntöjä EU:ssa ja edistää ympäristönsuojelua [10].

3 Analyyttien keskeiset ominaisuudet

Tässä työssä keskitytään etanolin, heptaanin ja tolueenin pitoisuuksien määrittämiseen, mutta prosessivedet saattavat sisältää myös muita haihtuvia hiilivetyjä. Orgaaniset hiilivetyliuottimet jaotellaan kemiallisen rakenteensa perusteella. [4.] Taulukossa 1 on esitetty analyyttien jaottelu hiilivetyjen pää- ja alaryhmiin.

Taulukko 1. Analyyttien jaottelu [4].

Pääryhmä	Alaryhmä	Yhdiste
Hiilivedyt	Alifaattinen	Heptaani
Hiilivedyt	Aromaattinen	Tolueeni
Oksygenoidut hiilivedyt	Alkoholi	Etanoli

Heptaani on suoraketjuinen alkaani, joka kuuluu alifaattisten hiilivetyjen alaryhmään [4]. Se on pooliton yhdiste, joka sisältää vain lähes poolittomia vety- ja hiiliatomien välisiä sidoksia. Heptaani on pooliseen veteen erittäin niukkaliukoinen. Vesimolekyylien väliset vahvat vetysidokset estävät hiilivety-molekyylejä työntymästä väliin, jolloin aineet eivät sekoitu keskenään. [11, s. 75–76.]

Tolueeni eli metyylibentseeni koostuu bentseenirenkaasta, johon on sitoutunut metyyli-ryhmä ja se kuuluu aromaattisten hiilivetyjen alaryhmään [4]. Tolueeni sisältää myös vain vedyn ja hiilen välisiä sidoksia, eli se on pooliton yhdiste ja veteen suhteellisen niukkaliukoinen [11, s. 75–76].

Etanoli on oksygenoitu eli happea sisältävä hiilivety, joka kuuluu alkoholien alaryhmään [4]. Vahvasti poolinen hydroksyyli-ryhmä tekee etanolista poolisen yhdisteen. Lyhytketjuisen alkoholin ja vesimolekyylien hydroksyyli-ryhmien välille muodostuu vahvoja vetysidoksia, mikä selittää etanolin vesiliukoisuutta. [11, s. 76–77.]

Taulukkoon 2 on koottu analyyttien ja apuliuottimena käytetyn metanolin keskeisimmät ominaisuudet menetelmän laitetekniikan ja vesimatriisin kannalta.

Taulukko 2. Liuottimien keskeisimmät ominaisuudet HS-GC-FID-tekniikassa [12].

IUPAC-nimi	Metanoli	Etanoli	Heptaani	Tolueeni
Synonyymi	metyylialkoholi	etyylialkoholi	<i>n</i> -heptaani	metyylibentseeni
CAS-numero	67-56-1	64-17-5	142-82-5	108-88-3
Molekyylikaava	CH ₄ O	C ₂ H ₆ O	C ₇ H ₁₆	C ₇ H ₈
Molekyyli massa (g/mol)	32,0	46,1	100,2	92,1
Tiheys 20 °C (g/cm ³)	0,791	0,789	0,684	0,867
Sulamispiste (°C)	-97,5	-114	-90,5	-95,0
Kiehumispiste (°C)	64,5	78,2	98,4	111
Höyrynpaine 25 °C (kPa)	16,9	7,87	6,09	3,79
Liukoisuus veteen 25 °C (g/kg H ₂ O)	<i>msc</i> *	<i>msc</i> *	0,00242	0,519

**msc* = *miscible* (Liuotin muodostaa veden kanssa homogeenisen seoksen.)

4 Analyysitekniikka

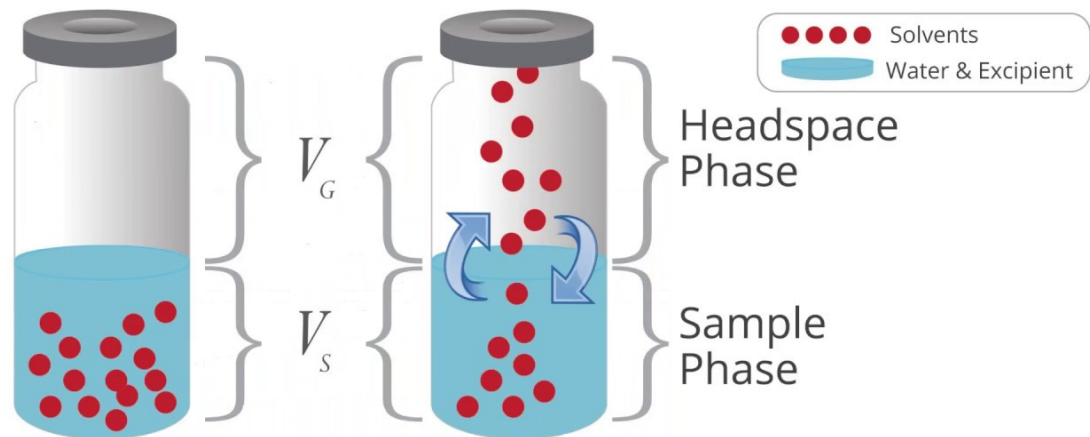
Tässä luvussa käsitellään työssä käytetyn HS-GC-FID-tekniikan toimintaperiaatteita ja niiden soveltamista prosessivesien hiilivetyjen pitoisuuksien määrittämiseen. Headspace-näytteensyöttötekniikka yhdistettynä kaasukromatografiin on yleinen haihtuvien orgaanisten yhdisteiden analyysitekniikka ja nopea tapa analysoida kompleksisia näytematriiseja. [13, s. 2–3.] Tyypillisimpiä näytematriiseja ovat erilaiset nesteet ja kiinteät aineet [14, s.117].

Headspace-tekniikat voidaan jakaa toimintaperiaatteensa mukaan staattisiin ja dynaamisiin tekniikoihin. Dynaamisessa headspace-tekniikassa jatkuva kaasuvirta uutaa analyyttejä näytematriisista ja lopuksi koko uutettu näytemäärä ohjataan kaasukromatografille eroteltavaksi. Yleinen dynaaminen tekniikka on *purge and trap* -menetelmä. Tässä työssä käytettiin staattista headspace-tekniikkaa, jossa näyte pidetään vakioiduissa olosuhteissa, kunnes analyyttien pitoisuudet tasapainottuvat kahden faasin välille ennen osanäytteenottoa kaasufaasista. [14, s. 4.]

Headspace-tekniikat voidaan jaotella myös laitteen injektitekniikan perusteella. Tässä työssä käytettiin venttiili- ja silmukkatekniikkaa, jonka toimintaperiaate on kerrottu luvussa 7.1.

4.1 Staattinen headspace-näytteensyöttötekniikka

Staattisessa headspace-tekniikassa näyte suljetaan kaasutiiviiseen näytepulloon ja haihtuvat yhdisteet erotetaan haihtumattomista komponenteista siirtämällä niiden pitoisuuksien tasapainoa pullon höyrytilaan (kuva 1). [13, s. 2–3.] Osa näytepullon kaasufaasista johdetaan kaasukromatografille, jossa sen sisältämät yhdisteet erotellaan.



Kuva 1. Analyyttimolekyylin tasapainon muodostuminen faasien välillä näytepulloissa [15].

Kvantitatiivinen toistettavuus on mahdollista vain, jos näyte- ja kaasufaasin välillä muodostuu analyyttien pitoisuuksien tasapaino [14, s. 118]. Tasapainon muodostumiseen vaikuttavat monet tekijät, kuten tasapainotusaika ja -lämpötila, ravistelu, näytemäärä sekä näytematriisi ja analyyttien ominaisuudet, kuten poolisuus [16].

Tarvittava tasapainotusaika määritetään tekemällä useita toistoja samasta näytteestä identtisissä olosuhteissa, mutta pidentämällä tasapainotusaikaa. Analyytin vasteesta ja tasapainotusajoista muodostetaan kuvaaja, jossa analyytin vasteen vakioitumiskohta korreloi tarvittavaan tasapainotusaikaan. Lyhimmät tasapainotusajat ovat nestemäisillä matriiseilla, joilla on alhainen viskositeetti. Tasapainon muodostumista voidaan nopeuttaa näytepullon ravistelulla, jonka vaikutus poolisten yhdisteiden haihtumiseen on vähäinen niiden korkean jakaantumiskertoimen vuoksi. [14, s. 118, 120, 122.]

Jakaantumiskerroin (K) kuvaa analyyttimolekyylin pitoisuuksien suhdetta näyte- ja kaasufaasin välillä kaavan 1 mukaan.

$$K = \frac{c_S}{c_G} \quad (1)$$

C_S = analyytin pitoisuus näytefaasissa

C_G = analyytin pitoisuus kaasufaasissa

Yhdisteet, joilla on pieni jakaantumiskerroin, hakeutuvat helpommin kaasufaasin puolelle ja antavat suhteellisen suuren vasteen [13, s. 3–4]. Analyytin jakaantumiskerroin on kääntäen verrannollinen sen höyrynpaineeseen (p) ja aktiivisuuskertoimeen (γ). Analyytin höyrynpaine kasvaa, kun lämpötilaa kohotetaan. Korkeampi lämpötila siis pienentää analyytin jakaantumiskerrointa, jolloin sen pitoisuuden tasapaino siirtyy enemmän kaasufaasiin. [16, s. 10.] Tarvittava tasapainotuslämpötila määritetään kuten em. tasapainotusaika, mutta nostamalla lämpötilaa näytteiden välillä.

Taulukossa 3 on esitetty etanolin ja tolueenin jakaantumiskertoimen muutos vesi-ilma-systeemissä lämpötilan kohoamisen myötä. Heptaanin osalta ei ollut vastaavaa tietoa saatavilla. Alkoholin ja veden hydroksyyli-ryhmät muodostavat keskenään vetysidoksia, mikä selittää etanolin korkean jakaantumiskertoimen vesimatriisissa [16, s. 4]. Taulukosta huomataan, kuinka suuri vaikutus lämpötilalla on etanolin jakaantumiskertoimeen ja kuinka paljon tolueenin ja etanolin jakaantumiskertoimet eroavat keskenään.

Taulukko 3. Lämpötilan vaikutus etanolin ja tolueenin jakaantumiskertoimeen (K) [16, s.10].

Yhdiste	40 °C	60 °C	70 °C	80 °C
Etanoli	1355	511	328	216
Tolueeni	2,82	1,77	1,49	1,27

Faasisuhde (β) kuvaa kaasu- ja näytefaasin tilavuuksien suhdetta näytepullossa kaavan 2 mukaan.

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

V_G = kaasufaasin tilavuus

V_S = näytefaasin tilavuus

Faasisuhde pienenee, kun näytteen tilavuutta lisätään. Suurempi näytemäärä lisää poolittomien yhdisteiden konsentraatiota kaasufaasissa niiden alhaisen jakaantumiskertoimen vuoksi. Korkean jakaantumiskertoimen omaavat yhdisteet ovat vähemmän riippuvaisia faasisuhteesta. [13, s. 4.]

Aktiivisuuskerroin (γ) kuvaa analyytin ja näytematriisin välistä vuorovaikutusta. Suolan lisäys suurentaa poolisten yhdisteiden aktiivisuuskerrointa, jolloin niiden liukoisuus vesimatriisiin pienenee ja pitoisuuden tasapaino siirtyy enemmän kaasufaasiin. Tätä kutsutaan *salting out*- eli ulossuolaus-efektiksi. Lisätyn suolan massaosuuden tulee olla vähintään 5 %, jotta sillä olisi mainittavaa vaikutusta analyyttien vasteisiin. Suolaa sisältävän veden viskositeetti on suurempi kuin puhtaan, mikä voi pidentää tarvittavaa tasapainotusaikaa. Suolan sisältämät epäpuhtaudet voivat kontaminoida näytteen ja aiheuttaa haamupiikkejä kromatogrammiin. [14, s. 31–33, 140.]

4.2 Kaasukromatografia (GC)

Kaasukromatografia (*gas chromatography*, GC) on herkkä erotusmenetelmä, joka soveltuu hajoamatta höyrystyvien yhdisteiden analytiikkaan. Liikkuvana faasina on inertti kantajakaasu (esim. helium) ja stationäärifaasina on yleensä inertti neste, joka on sidottu kapillaarikolonnin sisäpintaan. Erottuminen perustuu yhdisteiden höyrynpaineisiin ja erilaisiin liukoisuuksiin stationäärifaasiin. Näytteensyöttäjä haihduttaa näytteen GC:lle soveltuvaan kaasumaiseen muotoon. Näyte kulkeutuu kantajakaasun mukana kapillaarikolonnein, jossa yhdisteet erottuvat ja edelleen detektoriin, jossa yhdisteiden muodostama signaali havaitaan. [17, s. 183–184.]

Näyte injektoidaan kolonnein suora- tai jakoinjektiotekniikalla. Suorainjektiossa koko näytemäärä ohjataan kolonnein. Tässä työssä käytettiin jakoinjektiota (*split injection*), jossa suurin osa kantajakaasusta virtaa kolonnin ohi jakoventtiilin kautta ulos injektorista. Jakosuhteella määritellään, kuinka suuri osa kaasusta, ja siten näytteestä, kulkeutuu kolonnein. Jakoinjektio soveltuu suurille pitoisuuksille, jossa koko näytemäärän ohjaaminen kolonnille kestäisi liian kauan ja aiheuttaisi leveitä piikkejä kromatogrammiin. Eri tavalla höyrystyvät yhdisteet voivat jakautua eri suhteessa kolonnein ja ohivirtaukseen, mikä voi vaikuttaa menetelmän toistettavuuteen ja lineaarisuuteen. [17, s. 186–188.]

Kantajakaasuilla on erilainen optimaalinen lineaarinen virtausnopeus, mikä vaikuttaa yhdisteiden erottumiseen. Analyysiaika lyhenee, kun kaasun virtausnopeutta nostetaan. Kun kantajakaasuna on helium, virtausnopeutta voidaan nostaa optimivirtausta suuremmaksi ilman, että erottumisen tehokkuus kärsii. [17, s. 184.]

Kolonnin lämpötilaa säädellään kolonniuunilla, jossa lämpötila pidetään vakiona (isoterminen) tai nostetaan ajon aikana (gradientti). Lämpötila on yhdisteiden erottumisen kannalta keskeinen tekijä, koska se vaikuttaa yhdisteiden tasapainoon liikkuvan faasin ja stationäärifaasin välillä. [17, s. 183–184, 190.]

Kolonnin ominaisuudet vaikuttavat myös erotuksen tehokkuuteen ja analyysiaikaan. Pooliton kolonni erottelee yhdisteet kiehumispisteen mukaan. Poolinen kolonni lisää erotuksen selektiivisyyttä, sillä erotukseen vaikuttaa myös molekyylin rakenne. Pitkä kolonni parantaa resoluutiota, mutta pidentää analyysiaikaa [17, s. 193]. Kapea sisähalkaisija tehostaa kolonnin erotuskykyä, mutta pienentää kolonnin näytekapasiteettia. Paksu stationäärifaasi pidättää yhdisteet kauemmaksi ajaksi ja soveltuu pienikokoisten ja helposti haihtuvien orgaanisten yhdisteiden erotteluun. [18, s. 556.]

4.3 Liekki-ionisaatiodektoori (FID)

Liekki-ionisaatiodektoori (*flame ionization detector*, FID) on herkkä yleisdektoori, joka havaitsee yhdisteet, jotka muodostavat sähköisesti varattuja hiukkasia palaessaan vetyliekissä. Hiukkaset johdetaan sähkökentässä kollektorielektrodille ja syntynyt sähkövirta mitataan. Dektoerin lämpötila on suurempi kuin kolonnin, ettei sinne kondensoidu palamisreaktiossa syntyvää vettä tai muita epäpuhtauksia. FID soveltuu orgaanisille yhdisteille ja on laajalla alueella lineaarinen, mutta sen herkkyys pienenee, jos molekyylissä on happi-, typpi-, rikki-, fosfori- tai halogeeniatomeja eikä sillä pystytä havaitsemaan vettä, hiilidioksidia tai jalokaasuja [17, s. 193].

Yhdisteet tunnistetaan retentioaikojen perusteella eli kuinka kauan yhdisteillä kestää kulkea injektorilta dektoorille. Yhdisteen vaste kalibroidaan tunnetuilla liuoksilla ja pitoisuus lasketaan vasteen vahvuuden eli kromatogrammin piikin pinta-alan tai korkeuden perus-

teella. [17, s. 193.] Retentioaika ei ole riittävän luonteenomainen yhdisteen tunnistamiseksi, minkä vuoksi analyysissä tulisi käyttää joko kahta eri poolisuuden omaavaa kolonnia tai spesifisempää detektoria. [18, s. 556.]

5 Menetelmän validointi

Validoinnilla arvioidaan kehitetyn menetelmän suorituskykyä ja sen soveltuvuutta aiotuun käyttötarkoitukseen. Suorituskykyparametreja arvioidaan suunniteltujen mittaussarjojen perusteella. Lopuksi validoinnin tulokset ja tausta-aineisto kerätään yhteen ja niiden perusteella todetaan menetelmän luotettavuus. Näytteen ominaisuudet vaikuttavat validoinnin suunnitteluun, sillä näytteen muut komponentit ja näytematriisi voivat vaikuttaa analyttien pitoisuuksien mittaamiseen. [17, s. 11.]

Tässä työssä käytettiin ulkoisen kalibroinnin menetelmää, jossa laitteen signaalintasot mitataan pitoisuuksiltaan tarkasti tunnetuille kalibrointiliuoksille. Kalibrointia ei tarvitse toistaa jokaisella analysointikerralla, vaan kalibroinnin pysyvyyttä seurataan, esimerkiksi laadunvarmistusnäytteellä, jonka sallittu vaihteluväli on määritelty [17, s. 21].

5.1 Lineaarisuus ja mittausalue

Lineaarisuudella tarkoitetaan menetelmän kykyä antaa hyväksyttävä lineaarinen korrelaatio analyytin vasteen ja pitoisuuden välillä. Eri pitoisuustason mittapisteitä tulee olla vähintään viisi, jotka kattavat koko mittausalueen. Tuloksista laaditaan regressiosuora pienimmän neliösumman menetelmällä, josta arvioidaan menetelmän lineaarinen alue. Samalla määritetään mittausalue, jolla menetelmää voidaan käyttää hyväksyttävällä tarkkuudella. [19, s. 29.] Mittausalueen alkupäässä rajoittava tekijä on menetelmän määrittäjä ja loppupäässä laitteen detektio-ominaisuudet [20, s. 23].

Regressiosuoran selitysaste (r^2) kuvaa, kuinka suuri osuus vastemuuttujan vaihtelusta on regressiomallin avulla selitettävissä ja saa arvons välillä 0...1. Jos selitysaste on nolla, mallin muuttujien välillä ei ole lainkaan lineaarista riippuvuutta. [21.] Selitysaste on kor-

relaatiokertoimen (r) neliö. Korrelaatiokerroin kuvaa kalibrointipisteiden osumista kalibrointisuoralle. Korrelaatiokertoimelle voidaan asettaa tavoitearvo menetelmän lineaarisuuden kriteeriksi, mutta se ei riitä ainoaksi arviointiperusteeksi. [17, s. 25.]

Residuaalit ovat mitattujen ja regressiosuoralta laskettujen y -muuttujan erotuksia. Residuaalikuvaajasta tarkastellaan, miten mittapisteet sijoittuvat suhteessa nolllatasoon. Mikäli suora on lineaarinen, residuaalit jakautuvat satunnaisesti nolllatason molemmin puolin. Jos residuaalit muodostavat selkeän käyrän, tulee mitta-alueetta pienentää tai käyttää toisen asteen yhtälöä suoran sovitukseseen. [22, s. 18.]

5.2 Toteamis- ja määrittäysraja

Toteamisraja (*Limit of Detection*, LOD) on analyytin pienin pitoisuus, jonka perusteella voidaan todeta luotettavasti, onko näytteessä analyyttiä lainkaan. Määrittäysraja (*Limit of Quantitation*, LOQ) on se pitoisuuden alaraja, joka voidaan määrittää hyväksyttävällä tarkkuudella. [22, s. 29.]

Toteamisraja arvioidaan usein kromatografiassa kertomalla taustan signaali-kohinasuhde (S/N-suhde) kolmella ja saatua arvoa vastaava pitoisuus lasketaan kalibrointisuoran avulla. Määrittäysraja saadaan kertomalla toteamisraja tietyllä kertoimella. [22, s. 30.] Tässä työssä tarkasteltava mitta-alue on sen verran suurille pitoisuuksille (10–100 ppm) ja S/N-suhde on niin pieni, etteivät laskettuja arvoja vastaavat pitoisuudet osu suoralle.

Menetelmän toteamis- ja määrittäysraja voidaan laskea myös vasteen keskihajonnan ja kalibrointisuorien kulmakertoimien perusteella, kun laitteen vasteen ja näytteen pitoisuuden suhteen on osoitettu olevan lineaarinen. Vasteen keskihajonta voidaan määrittää joko y -residuaalien tai y -leikkauspisteiden keskihajontana. [23, s. 24.]

5.3 Tarkkuus

Menetelmän tarkkuudella tarkoitetaan mitatun arvon ja todellisen arvon yhtäpitävyyttä tai laitteen kykyä antaa lähellä tosiarvoa olevia vasteita. Tarkkuutta tarkastellaan oikeellisuuden ja toistotarkkuuden parametreja tutkimalla. Mittauksen oikeellisuus tarkoittaa rinnakkaismittausten tulosten keskiarvon yhtäpitävyyttä mitattavan arvon sovitun tosiarvon kanssa. Tuloksen oikeellisuus ilmaistaan usein suhteellisena poikkeamana (*bias*) sovitusta tosiarvosta. Sertifioitujen vertailumateriaalin käyttö on suositeltavaa, mutta mittauksissa voidaan käyttää myös itse tehtyjä materiaaleja. [19, s. 35.] Oikeellisuus kuvaa menetelmässä esiintyvää systemaattista virhettä eli mittausvirheen osaa, joka pysyy mitausta toistettaessa vakiona tai vaihtelee ennustettavalla tavalla [20, s. 24, 35].

Toistotarkkuudella (tunnetaan myös täsmällisyytenä) tarkoitetaan tulosten yhtäpitävyyttä keskenään, jota arvioidaan toistojen välistä keskihajontaa tarkastelemalla. Menetelmän toistotarkkuutta tutkitaan kahden parametrin avulla, jotka ovat toistettavuus ja uusittavuus. Toistettavuus tarkoittaa mittaustulosten yhtäpitävyyttä, kun mittaukset tehdään lyhyellä aikavälillä samalla menetelmällä ja samassa laboratorioissa, mutta saman tai eri tekijän suorittamana ja samoilla tai eri mittauslaitteilla. Uusittavuus kuvaa mittausten välistä yhtäpitävyyttä, kun mittaukset tehdään samalla tai eri menetelmällä, eri mittauslaitteilla, eri laboratorioissa, eri tekijöiden suorittamana ja riittävän pitkällä aikavälillä. [22, s. 40.] Toistettavuudella tutkitaan siis mittaustuloksen yhtäpitävyyttä samoissa olosuhteissa ja uusittavuudella muuttuneissa olosuhteissa [19, s. 37]. Mittaukset voidaan suorittaa varsinaisilla näytteillä, vertailumateriaalilla tai saantokokeilla ja tuloksista lasketaan keskiarvo, keskihajonta ja suhteellinen keskihajonta. Toistotarkkuus kuvaa menetelmässä esiintyvää satunnaisvirhettä (*random error*) eli mittausvirheen osaa, joka vaihtelee ennustamattomalla tavalla mittausta toistettaessa. [20, s. 24, 32, 34.]

Validoinnissa menetelmän tarkkuutta arvioidaan siis tarkastelemalla mittauksissa esiintyviä systemaattisia ja satunnaisia virheitä, joiden perusteella voidaan arvioida menetelmän kokonaisvirhettä [17, s. 30]. Systemaattisia virheitä ei saisi esiintyä lainkaan ja satunnaisvirheitä mahdollisimman vähän. Kyseessä on systemaattinen virhe, kun mitattu tulos on aina suurempi tai pienempi kuin todellinen arvo, mikä voi johtua virheellisestä kalibroinnista, määritysolosuhteista tai näytteen muuttumisesta ennen analysointia. [22,

s. 33.] Satunnaisvirheiden vaikutusta mittaukseen voidaan vähentää tekemällä riittävästi toistoja, mutta systemaattisen virheen vaikutus mittaukseen on vakio [20, s. 27].

5.4 Selektiivisyys

Selektiivisyydellä tarkastellaan menetelmän kykyä tuottaa vaste usealle analyyttille, joiden joukosta voidaan erottaa spesifisesti määritettävä analyytti. Näytematriisi voi sisältää epäpuhtauksia, jotka häiritsevät mittauksia muuttamalla mittalaitteen herkkyyttä analyytin suhteen (*matrix effect*) tai vaikuttamalla detektorin vasteeseen (*interference*). Epäpuhtaudet voivat häiritä analyysia heikentämällä tai vahvistamalla analyyttien signaalia, vaikka eivät itse muodostaisi havaittavaa signaalia. Tällöin häiriö voidaan tunnistaa vain systemaattisella testauksella ja tulosten tilastollisella käsittelyllä. Selektiivisyyteen vaikuttavat käytetty analyysitekniikka ja -menetelmä sekä näytteenkäsittely. [22, s. 9–10, 13.]

Selektiivisyyskokeilla tutkitaan eri taustatekijöiden aiheuttamaa systemaattista virhettä. Tutkimuksissa voidaan käyttää puhtaita aineita, seoksia tai kompleksisia matriiseja. Mitäustuloksista määritetään analyyttien saanto, esimerkiksi lisäämällä tutkittavia yhdisteitä näytematriisiin, jonka perusteella kartoitetaan mahdollisia häiriötekijöitä. Kromatografiassa näkyviä häiriötekijöitä voidaan tutkia määrittämällä kromatogrammeista piikkien resoluutiota ja symmetrisyyttä [19, s. 27; 20, s. 29–30.]

6 Katalyyttikoetehdas ja prosessivedet

Katalyyttikoetehdalla tutkitaan ja kehitetään katalyyttien valmistusmenetelmiä ja valmistetaan katalyyttejä polyolefiinien polymerointiprosesseihin. Katalyyttien valmistus tapahtuu panosprosessilla erikokoisia (20–165 l) reaktoreita käyttäen. Valmistettuja katalyyttieriä analysoidaan ja testataan polymerointikoetehdalla ja Borealis Polymers Oy:n laboratorioissa. [1, s. 5.]

Katalyyttien valmistusprosessissa ei käytetä lainkaan vettä. Liuottimien käyttömäärät sekä jätemäärät riippuvat tuotettavasta katalyyttityypistä. Toiminnalle on haastavaa löytää soveltuvia BAT-vertailuasiakirjoja (BREF), sillä tuotantolaitoksille laaditut dokumentit

eivät kata koetehtaita, joiden toiminta on vaihtelevaa ja kampanjaluonteista. [1, s. 7–9.] Liuottimia (etanoli, heptaani, tolueeni) käytetään katalyyttien valmistuksessa ja säiliöiden pesussa [1, s. 6, 20]. BAT-vertailuasiakirjojen käyttö teollisuudessa on käsitelty luvussa 2.3.

Katalyyttikoetehtaan prosessivedet kerätään öljyisen veden keräilykaivoon (kuva 2), jonne johdetaan prosessitilojen lattiakaivojen vedet, bunkkerikaivosta tulevat vedet, säiliöalueen sadevedet sekä soihdun vesilukon läpi virtaava vesi. Keräilykaivon prosessivedet johdetaan Neste Oil Oyj:n jätevesilaitokselle, jossa ne puhdistetaan aktiivihiihi-suodatuksella ja lopuksi johdetaan mereen. [1, s. 9–10, 20.]



Kuva 2. Katalyyttikoetehtaan öljyisen veden keräilykaivo.

Prosessivesinäyte otetaan öljyisen veden keräilykaivosta kerran viikossa. Kaivoon tuleva vesi muodostuu useista eri lähteistä, jolloin myös vesinäytteen sisältämät epäpuhtaudet voivat vaihdella. Vesinäyte otetaan kaivosta noin kolme metriä pitkän näytteenottimen avulla. Näytepullo kiinnitetään näytteenottimen päässä olevaan kiinteään korkkiin, jossa on venttiilillä avattava reikä. Näytteenotin lasketaan hitaasti kaivoon. Näytepullolla varoetaan osumasta kaivon pohjaan ja palloventtiili avataan varren kahvasta, jolloin näytepullo täyttyy ja kaivon vedenpinta alkaa kuplia. Näyte toimitetaan välittömästi näytteenoton jälkeen Borealis Polymers Oy:n muovitehtaan jätevesilaboratorioon analysoitavaksi. Kuvassa 3 on esitetty prosessivesinäytteen ottaminen öljyisen veden keräilykaivosta.



Kuva 3. Prosessivesinäyte öljyisen veden keräilykaivosta.

Katalyyttikoetetaan toiminta on ympäristöluvanvaraista, ja siitä raportoidaan vuosittain Uudenmaan ELY-keskukselle ja Porvoon kaupungin ympäristönsuojeluviranomaiselle. Raportista ilmenee mm. laitoksen tuotantomäärä, ilmaan ja jätevesiin aiheutuneet arvioidut ja mitatut haihtuvien orgaanisten yhdisteiden päästöt, veden kulutus ja prosessivesien määrä. [1, s. 16, 24.]

Ympäristöluvassa on määritelty, että mittaukset, näytteidenotto ja analysointi on suoritettava kansallisesti tai kansainvälisesti yleisessä käytössä olevan standardin mukaisesti (SFS, CEN, ISO tai vastaava). Borealis Polymers Oy:llä on sertifioidut järjestelmät: laadulle (ISO 9000:2000), ympäristölle (ISO 14001:2004) ja terveydelle/turvallisuudelle (OHSAS 18001:2007). [1, s. 9, 24.]

7 Laitteisto, välineet ja reagenssit

Tässä luvussa kerrotaan menetelmän kehityksessä käytetyn laitteen toimintaperiaate sekä luetellaan käytetyt reagenssit ja välineet.

7.1 Laitteiston kuvaus

Menetelmän kehittämisessä laitteena käytettiin Agilent Technologies 7697A Headspace -näytteensyöttäjää ja Agilent Technologies 7890B -kaasukromatografia. HS-näytteensyöttö toimii venttiili- ja silmukkatekniikalla (*valve and loop system*). Näytepullon tasapainotusajan päätyttyä, neula-anturi lävistää näytepullon septumin ja *Fill to pressure* -toiminnoilla täyttää näytepullon paineistuskaasulla mahdollisimman nopeasti asetettuun tavoitepaineeseen ja testaa lopuksi, mikäli näytepullo vuotaa (*dynamic leak check*). [24, s. 13, 19–20.] Seuraavaksi HS tarkistaa, että GC on valmiustilassa ja suorittaa yhden näytteenoton ja injektion näytteenpullon septumin lävistystä kohti (*standard extraction*) [24, s. 23–24].

Paineistettu kaasu purkautuu näytepullosta näytesilmukan läpi täyttäen silmukan näytteellä [24, s. 13–14]. Näytesilmukan täytyminen perustuu silmukan ja näytepullon väliseen paine-eroon, joten näytepulloon täytyy kehittyä tai lisätä riittävästi painetta [24, s. 47]. Mikäli paine-ero on liian suuri, riittämätön osuus näytekäasusta voi pidäytyä silmukkaan, jolloin analyysitulosten toistettavuus huononee [24, s. 50]. Näytesilmukan tasapainotusajan jälkeen, kaasujen kulkua ohjaava venttiili kääntyy ja kantajakaasu pyyhkäisee näytteen silmukasta siirtolinjaa pitkin GC:lle. [24, s. 13–14.]

Injektoinnin jälkeen laite lähettää aloituskomennon GC:lle ja lopuksi purkaa näytepullosta loput paineet takapaneelin tuuletusventtiilin kautta, ettei näytepulloon jäänyt paineistettu ja mahdollisesti haitallinen sisältö purkaudu laboratorioon. [24, s. 24–25.]

HS-näytteensyöttäjässä on näytepullon ravistelumahdollisuus (9 eri nopeustasoa), mikä edesauttaa analyysin siirtymistä näytematriisista kaasufaasiin [24, s. 18]. Uunin lämpötilan tulee olla alle vesimatriisin kiehumispisteen, ettei vesihöyry kulkeudu näytteen mukana kolonnille ja vahingoita kolonnin stationäärifaasia. Näytesilmukan ja siirtolinjan lämpötilan tulee olla uunin lämpötilaa korkeampia, ettei näyte kondensoidu matkalla [24, s. 35].






Estääkseen *carryover*-ilmiötä HS-laite puhdistaa näytesilmukan ja neula-anturin kierrättämällä systeemissä korkealla virtauksella paineistuskaasua (*purge flow*) jokaisen näytepullon välissä. Sekvenssien välissä HS-laite puhdistuu kierrättämällä samaan tapaan kaasua jatkuvalla, matalalla virtausnopeudella (*standby flow*). [24, s. 26.]

Kaasukromatografi on varustettu Phenomenexin Zebron ZB-WAX -kapillaarikolonnilla, jonka pituus on 30 m, kapillaariputken sisähalkaisija on 0,25 mm ja stationäärifaasin paksuus on 1 μm . Kolonnin stationäärifaasi koostuu 100-prosenttisesti poolisesta polyetyleeniglykolista (PEG), jolloin analyyttien rakenne vaikuttaa myös niiden retentioaikoihin. Kolonnin lämpötila tulee pitää välillä 40 ... 250 °C, ja se soveltuu useiden yhdisteiden, kuten alkoholien ja liuottimien, erotteluun. [25, s. 6.] Kantokaasuna on helium ja detektorityyppinä FID. Tulosten käsittelyssä käytössä on Agilent Technologies OpenLAB CDS 2.1 -tietojärjestelmä.

7.2 Välineet ja reagenssit

Työssä käytetyt reagenssit on lueteltu taulukossa 4. Huomioitavaa on, että kaikilla liuottimilla on jonkinasteisesta terveysvaarasta varoittava merkki, joten oikeanlainen suojautuminen ja vetokaapissa työskentely on hyvin tärkeää. Heptaanilla on varoitusmerkki myös vesiympäristölle vaarallisuudesta.

Taulukko 4. Menetelmän kehittämisessä ja validoinnissa käytettyjen reagenssien tiedot.

Reagenssi	CAS-nro	Valmistaja	Puhtaus	Varoitusmerkki
Etanoli	64-17-5	Altia Oyj	≥ 99,5 %	
Heptaani	142-82-5	Scharlau	≥ 99,2 %	
Kaliumkarbonaatti	584-08-7	Sigma Aldrich	≥ 99,5 %	
Metanoli	67-56-1	Roth	≥ 99,9 %	
Natriumkloridi	7647-14-5	Scharlau	≥ 99,5 %	-
Tolueneeni	108-88-3	Sigma Aldrich	≥ 99,7 %	

Menetelmän kehittämisessä ja validoinnissa käytettiin seuraavia välineitä:

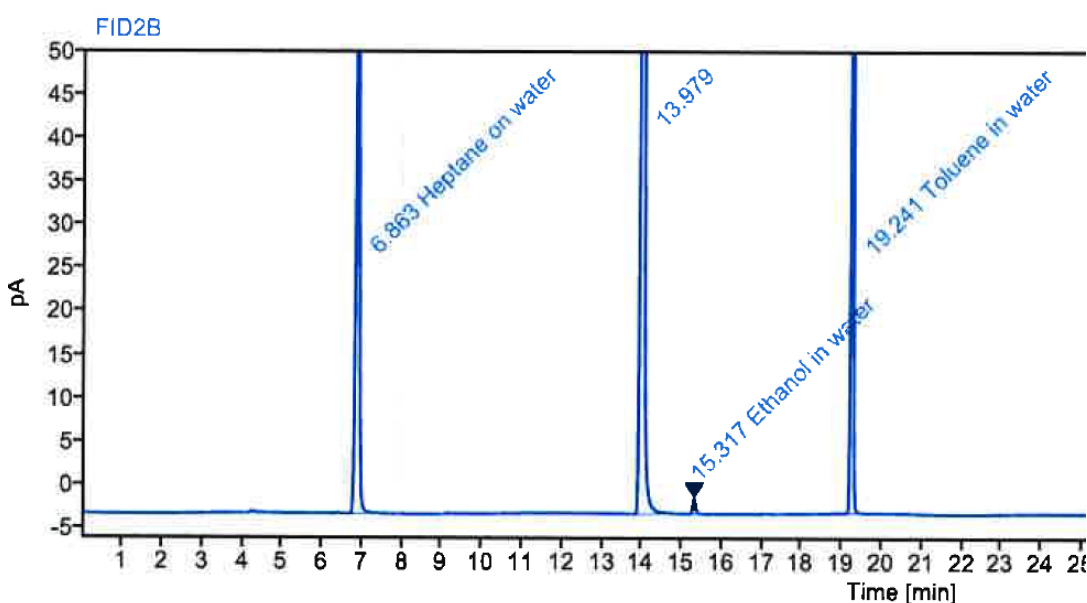
- analyysivaaka
- lasisia Pasteur-pipettejä
- mittapulloja, 20–500 ml
- automaattipipetti + kärkiä
- täyspipettejä, 1–10 ml
- punnituslaivoja
- lasisia 20 ml:n näytepulloja
- alumiinikorkkeja + PTFE/silikoni-septumeja
- sähköinen sulkija.

8 Menetelmän kehityksen toteutus ja tulokset

Tavoitteena oli kehittää kansainvälisen standardin ISO 11423-1:1997 [2] mukainen analyysimenetelmä etanolin, heptaanin ja tolueneenin pitoisuuksien määrittämiseen katalyytti-koetehtaan prosessivesistä. Laiteparametrit haluttiin optimoida siten, että kaikki analyytit saatiin analysoitua samasta näytematriisista samoilla ajo-olosuhteilla. Näytteen esikäsittelyn tuli olla mahdollisimman yksinkertainen ja nopea. Menetelmän olosuhteita pyrittiin

optimoimaan samanaikaisesti poolisen ja poolittomien analyyttien osalta sekä erottelemaan yhdellä kolonnilla.

Mittausalueeksi valittiin 10–100 ppm, jonka alaraja määräytyi etanolin vasteen mukaan. Kuva 4 havainnollistaa, kuinka pienen vasteen 5 ppm kalibrintiliuos tuotti etanolille 70 °C:n tasapainotuslämpötilassa verrattuna muihin analyytteihin. Metanolin retentioaika oli noin 14 min. Mittausalueen ylärajaksi asetettiin 100 ppm, jotta menetelmän käyttöalue olisi mahdollisimman laaja.



Kuva 4. Analyyttien ja metanolin kromatogrammi 5 ppm:n kalibrintiliuksella.

Menetelmän kehitys aloitettiin ajamalla GC:llä etanoli, tolueni ja heptaani puhtaina aineina, mistä selvitettiin aineiden retentioajat ja saapumisjärjestys detektorille. Retentioaika kertoo, kuinka kauan kukin aine kulkee laitteiston läpi ja niiden perusteella eri aineet saatiin tunnistettua. Poolisella kolonnilla analyyttien rakenne vaikutti vuorovaikutukseen stationäärifaasin kanssa, jolloin yhdisteen kiehumispiste ei pelkästään määritellyt analyyttien eluoitumista kolonnista detektorille.

Headspace-näytteensyöttäjälle ja GC:lle ajoparametrit asetettiin standardin ISO 11423-1:1997 mukaan niiltä osin, kun ne oli määritelty ja olivat käytössä oleville laitteille soveltuvat. Aluksi tarkasteltiin liuosten valmistustapaa sekä GC:n ajo-olosuhteiden optimointia

tarkastelemalla visuaalisesti piikkien muotoa ja resoluutiota. Lopuksi tarkasteltiin niitä Headspace-näytteensyöttäjän parametreja, joilla oli suurin vaikutus analyyttien pitoisuuksien tasapainottumiseen faasien välille. Analyyttien pitoisuuksien tasapainoa pyrittiin siirtämään kaasufaasiin ja samalla minimoimaan matriisivaikutusta. Optimoitavat parametrit olivat näytemäärä, näytteen tasapainotusaika ja -lämpötila sekä lisätyn suolan laatu ja määrä. HS-parametrien tarkastelussa hyödynnettiin Rautsolan [26] opinnäytetyötä, jossa kehitettiin analyysimenetelmä BTEX-yhdisteiden pitoisuuksien määrittämiseen tehtaan jätevesistä HS-GC-FID-tekniikalla.

8.1 Kalibrintiliuosten ja näytteen valmistus

Standardin ISO 11423-1:1997 mukaan kalibrintiliuokset voidaan valmistaa suoraan tislattuun veteen tai edistämään apuliuottimella puhdasaineiden liukenemista vesimatriisiin. Apuliuottimen käyttöä haluttiin tarkastella poolittomien analyyttien osalta, jotka ovat veteen suhteellisen niukkaliukoisia. Kaikissa testauksissa kaikki analyytit lisättiin samoihin kalibrintiliuoksiin ja analyyttien vasteet määritettiin samasta näytepullosta. Analyyttien vesiliukoisuus on ilmaistu numeerisina arvoina taulukossa 2.

Kalibrintiliuosten kantaliuos valmistettiin punnitsemalla mittapulloon puhdasaineet ja metanolia, josta kalibrintiliuokset valmistettiin punnitsemalla mittapulloon kantaliuosta ja tislattua vettä. Kalibrintiliuos muuttui suurissa pitoisuuksissa kantaliuoksen lisäyksen jälkeen sameaksi eli lisätty liuotin ei liuennut täysin tislattuun veteen. Kalibrintiliuoksia valmistettiin viisi eri pitoisuustasoa mittausalueella 10–100 ppm. Kalibrintiliuosten vasteiden perusteella analyytit liukenivat veteen nousevin pitoisuuksin.

Puhdasaineiden liukenemista kokeiltiin myös suoraan tislattuun veteen, mikä vastasi paremmin näytteen matriisia. Puhdasaineita ja tislattua vettä punnittiin mittapulloon ja analyyttien liukeneminen veteen varmistettiin visuaalisesti tarkastelemalla. Tislattuun veteen ja metanoliin valmistettujen kalibrintiliuosten vasteita verrattiin keskenään. Samoilla pitoisuustasoilla heptaanin vaste oli tislattuun veteen valmistetussa liuoksessa selkeästi pienempi kuin metanoliin liuotettuna. Etanolilla vaikutus oli päinvastainen eli etanolin vaste oli suurempi tislattuun veteen valmistetussa liuoksessa kuin metanoliin liuotettuna. Tolueenin vasteet vesi- ja metanolipohjaisissa liuoksissa olivat keskenään samaa luok-

kaa. Heptaanin tulos oli ennakoitavissa ottaen huomioon analyytin niukkaliukoisuus veteen. Etanolin vasteen pienenemiselle metanolia sisältävässä kalibrintiliuoksessa ei tunnistettu selvää syytä, mutta tämä oli hyvä tieto mahdollisia jatkotutkimuksia ajatellen.

Laitevalidoinnissa päätettiin käyttää metanolia kalibrintiliuosten valmistuksessa, jotta menetelmän lineaarisuutta voitiin tutkia paremmin myös heptaanin osalta. Yhden pisteen kalibroinnissa eli analyyttien faktorien määrittämisessä ja saantokokeissa käytettiin tislattuun veteen valmistettuja liuoksia, jotta ne vastaisivat paremmin tutkittavaa näytematriisia. Myös HS-parametrien tarkastelussa käytettiin ainoastaan tislattuun veteen valmistettuja liuoksia.

Näyte valmistettiin pipetoimalla näytepulloon 10 ml tutkittavaa näytettä täyspipetillä, minkä jälkeen pulloon lisättiin esipunnittu suola ja suljettiin tiiviisti korkilla käyttäen sähköistä sulkijaa. Korkin tiiveys varmistettiin heti sulkemisen jälkeen. Korkki on riittävän tiukka, kun sitä ei pysty kevyellä voimalla kääntämään helposti. Lopuksi näyte sekoitettiin kääntämällä näytepulloa rivakasti kolme kertaa ylösalaisin. Näytteen valmistuksessa käytettiin pipetointia punnitsemisen sijaan, koska sen katsottiin olevan nopeampaa ja siten minimoivan haihtumista näytteen esikäsittelyn aikana.

8.2 GC:n ajo-olosuhteet

GC:n ajo-olosuhteiden optimoinnissa laitteen lämpötila-asetuksia muokattiin yksi parametri kerrallaan. Muutoksien vaikutuksia arvioitiin visuaalisesti tarkastelemalla kromatogrammeja, joista erityisesti tarkasteltiin analyyttien retentioaikojen toistettavuutta sekä piikkien resoluutiota ja muotoa. Kaikkien piikkien kohdalla havaittiin lievää häntimistä, mikä voi johtua liian matalasta injektorin tai kolonnin lämpötilasta. Myös liian alhainen jakosuhte voi osaltaan aiheuttaa piikkien häntimistä. [27, s. 20.] Resoluutio osoittautui hyväksi kaikkien analyyttien osalta. Erityisesti metanolin ja etanolin piikkien erottumiseen kiinnitettiin huomiota, etteivät yhdisteet eluoidu osittain päällekkäin. Kehitetyn menetelmän ajo-olosuhteet on esitetty taulukoissa 5 ja 6.

Taulukko 5. GC:n ajo-ohjelma.

Injektorin lämpötila (°C)	250
Split-suhde	25:1
Injektorin kokonaisvirtaus (ml/min)	24
Septumin huuhtelu (ml/min)	3
Injektorin paine (psi)	29
Kolonnin virtaus (ml/min)	0,8
Kolonnin paine (psi)	29
Detektorin lämpötila (°C)	270

Taulukossa 6 on kolonniuunin gradientti lämpötilaohjelma.

Taulukko 6. GC:n kolonniuunin lämpötilaohjelma.

Nostonopeus (°C/min)	Lämpötila (°C)	Pitoaika (min)
-	40	8
7	150	3
20	220	10

8.3 Headspace-parametrit

Tässä työssä tutkittiin olosuhteita, joilla oli suurin vaikutus analyyttien tasapainottumiseen näyte- ja kaasufaasin välille, kun näytematriisina on vesi. Tutkittavat parametrit olivat näytemäärä, näytteen tasapainotuslämpötila ja -aika sekä suolan lisäyksen laatu ja määrä.

Näytteensyöttäjän asetukset olivat alussa seuraavat: HS-uunin lämpötila 70 °C, tasapainotusaika 60 min, näytemäärä 10 ml ja suolan lisäyksen massaosuus 20 %. Ravistelija oli asetuksella kaksi (asteikolla 0–9). Käytettyjen näytepullojen tilavuus oli 20 ml. Kalibrointiliuokset valmistettiin tislattuun veteen, lukuun ottamatta suolan lisäyksen testejä. Kaikki analyytit lisättiin puhtaina aineina samoihin kalibrointiliuoksiin.

8.3.1 Näytemäärä

Suuri näytemäärä lisää poolittomien analyyttien konsentraatiota kaasufaasissa niiden alhaisen jakaantumiskertoimen vuoksi. Suuri näytemäärä voi myös vaikuttaa menetelmän herkkyyteen.

Menetelmän kehityksessä näytemäärän muutoksen vaikutusta tarkasteltiin kahdesta prosessivesinäytteestä, joista valmistettiin 2–3 rinnakkaisnäytettä kahdella näytemäärällä (5 ja 10 ml). Jokaiseen näytteeseen lisättiin suolaa samassa suhteessa (20 m-%). Kumpikaan näytteistä ei sisältänyt heptaania, minkä vuoksi se jätettiin tarkastelun ulkopuolelle. Taulukossa 7 on esitetty analyyttien vasteiden suhteellinen muutos (%).

Taulukko 7. Analyyttien vasteiden suhteellinen muutos (%) kahdella prosessivesinäytteellä.

	Etanoli (%)	Tolueeni (%)
Näyte 1	-2,2	37
Näyte 2	-0,15	46

Muutoksen suuruus laskettiin kaavalla 3 [28]. Suurempi näytemäärä (10 ml) on kaavassa uutena havaintona.

$$\frac{\text{uusi havainto} - \text{vanha havainto}}{\text{vanha havainto}} * 100 \quad (3)$$

Näytemäärän lisääminen ei vaikuttanut etanolin vasteeseen merkittävästi. Tolueenin vaste kasvoi noin 40 %, ja teoreettisesti poolittoman heptaanin osalta vaikutus olisi samankaltainen. Menetelmän näytemääräksi valittiin 10 ml poolittomien analyyttien vasteiden kasvattamiseksi. Liitteessä 1 on esitetty analyyttien vasteet.

8.3.2 Suolan lisäys

Epäorgaaninen suola vähentää erityisesti etanolin liukoisuutta vesimatriisiin, jolloin sen pitoisuuden tasapaino siirtyy enemmän kaasufaasin puolelle. Suolan lisäyksen vaikutusta tutkittiin kahdella suolalla, natriumkloridilla (NaCl) ja kaliumkarbonaatilla (K₂CO₃).

Natriumkloridin lisäämisen vaikutusta tutkittiin kuudella eri pitoisuustason kalibrintiliuoksella, joiden vasteet määritettiin ilman suolaa ja suolan lisäyksen (20 m-%) kanssa. Kantaliuos valmistettiin metanoliin, jotta suolan vaikutusta voitiin tarkastella myös suuremmilla pitoisuustasoilla. Analyyttien vasteiden suhteellinen muutos (taulukko 8) laskettiin kaavalla 3, jossa uutena havaintona oli suolaa sisältävät näytteet.

Taulukko 8. Kalibrintiliuosten pitoisuudet (ppm) ja analyyttien vasteiden suhteellinen muutos (%) suolan lisäyksen (NaCl) jälkeen.

Etanoli (ppm)	Etanoli (%)	Heptaani (ppm)	Heptaani (%)	Tolueeni (ppm)	Tolueeni (%)
6,7	115	6,42	13	6,0	62
13,4	57	12,83	43	11,9	33
29,1	42	27,96	-15	26,0	15
35,7	-41	34,28	40	31,9	-20
60,9	49	58,41	9,3	54,3	11
68,0	47	65,25	7,2	60,6	-15

Suolan vaikutus oli merkittävin etanolin vasteeseen. Etanolin piikkien pinta-ala oli neljän tuloksen keskiarvona noin 50 % suurempi. Suolan vaikutus oli muiden analyyttien vasteeseen satunnainen, johtuen mahdollisesti analyyttien epätasaisesta liukenemisestä. Suolan lisäystä jatkettiin etanolin vasteen kasvattamiseksi. Taulukossa 8 nähtävät negatiiviset arvot kertovat vasteen pienemisestä. Selkeää syytä vasteen pienemiselle ei tunnistettu. Näytteen valmistuksessa tai käsittelyssä on voinut tapahtua analyyttien haihtumista. Analyyttien vasteet on esitetty liitteessä 2.

Natriumkloridin ja kaliumkarbonaatin vaikutuksia analyyttien vasteisiin verrattiin yhden pitoisuustason kalibrintiliuoksella. Teoreettisesti kaliumkarbonaatti vahvistaa etanolin signaalia enemmän kuin natriumkloridi, mikä haluttiin varmistaa käytännössä. Kalibrintiliuoksen analyyttien pitoisuudet olivat etanoli 35 ppm, tolueeni 43 ppm ja heptaani 44 ppm. Taulukossa 9 on esitetty analyyttien vasteet ja niiden suhteellinen muutos (%) (kaava 3). Kaliumkarbonaatin vasteet ovat kaavassa uutena havaintona.

Taulukko 9. Analyyttien piikkien pinta-alat (A) ja vasteiden suhteellinen muutos (%).

	Etanoli (A)	Heptaani (A)	Tolueeni (A)
NaCl	34,517	36,973	3741,880
K ₂ CO ₃	45,541	50,030	3748,726
Muutos-%	32	35	0,18

Etanolin ja heptaanin vasteet olivat kaliumkarbonaatilla yli 30 % suuremmat kuin natriumkloridilla. Tolueenin vasteeseen eri suolalaadulla ei ollut merkittävää vaikutusta. Heptaanin muutoksen suuruutta voi osaltaan selittää analyytin epätasainen jakautuminen näytteisiin, sillä poolittomana yhdisteenä ulossuolauksella ei pitäisi olla niin suurta vaikutusta heptaanin vasteeseen. Etanolin vasteen kasvu oli jatkotutkimusten kannalta merkittävin, joten testauksia päätettiin jatkaa kaliumkarbonaatilla, jonka liukoisuus veteen oli myös parempi kuin natriumkloridilla.

Kaliumkarbonaatille haluttiin selvittää pienin lisätty määrä, jolla etanolin vaste vakioituu. Suosituksena oli, että suolaa lisätään vähintään 5 m-%, jotta sillä olisi mainittavaa vaikutusta analyyttien vasteeseen [14, s. 140]. Yhden pitoisuustason kalibroitiliuoksesta analysoitiin kolme rinnakkaisnäytettä eri suolamäärillä, jotka olivat 0,5 g, 1 g, 1,5 g ja 2 g (5–20 m-%). Analyyttien vasteet on esitetty taulukossa 10, kolmen rinnakkaistuloksen keskiarvona.

Taulukko 10. Analyyttien piikkien pinta-alat (A) eri suolamäärillä (K₂CO₃).

Suolan määrä (g)	Etanoli (A)	Heptaani (A)	Tolueeni (A)
0,5	24,005	5,988	1445,507
1,0	30,469	5,165	1497,713
1,5	40,653	3,142	1221,499
2,0	48,377	2,661	1470,882

Suolan määrän muuttamisen vaikutus oli vähäinen poolittomien analyyttien vasteisiin. Etanolin vaste ei vakioitunut lainkaan, joten tulosten perusteella lisätyn suolan määrä päädyttiin pitämään 2 g:ssa. Analyyttien vasteet ja kalibroitiliuoksen pitoisuudet ovat liitteessä 2.

8.3.3 Tasapainotusaika

Näytteen tasapainotusaikaan vaikuttavat näytemäärä, ravistelu, tasapainotuslämpötila ja näytematriisin viskositeetti. Suolaa sisältävän veden viskositeetti on suurempi kuin puhtaan veden, mikä voi pidentää tarvittavaa tasapainotusaikaa. Standardin ISO 11423-1:1997:n mukaan tasapainotusaika tulee olla vähintään 60 min ja tasapainotuslämpötila yli 60 °C.

Tasapainotusajoista tehtiin ensin suppeampi testaus, jonka perusteella optimaalinen tasapainotusaika rajattiin välille 30–60 min. Tarkemman ajan selvittämiseksi määrityksiä tehtiin tiheämmillä aikaväleillä. Alustavan testauksen kalibroitiliuoksen pitoisuudet, analyttien vasteet ja kuvaajat ovat liitteessä 3.

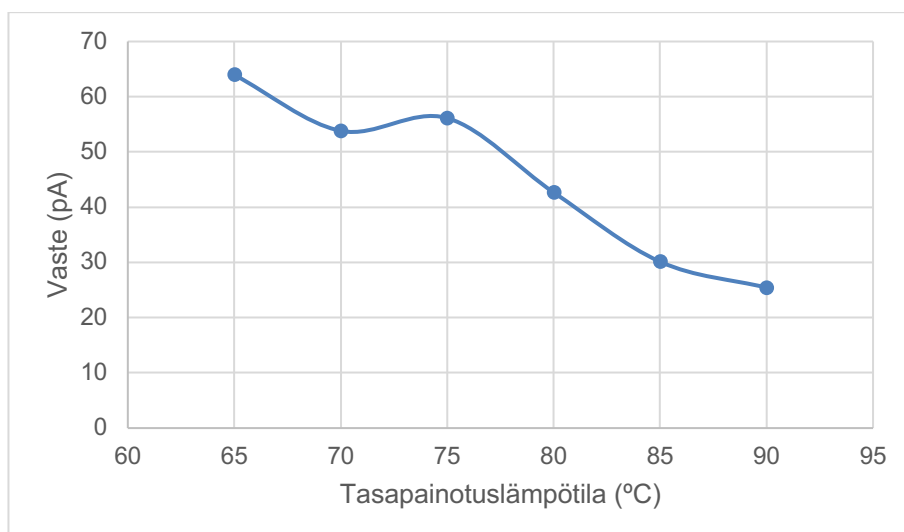
Tasapainotusaika optimoitiin tiheämmillä aikaväleillä kahdessa eri lämpötilassa, jotka olivat 70 °C ja 80 °C. Testeissä käytettiin suolana kaliumkarbonaattia 20 m-%. Yhden pitoisuustason kalibroitiliuoksen vasteet testattiin tasapainotusajoilla 30–70 min, kasvatamalla aina tasapainotusaikaa 5 minuutilla näytteiden välillä. Jokaisella tasapainotusajalla määritettiin kolmen rinnakkaisnäytteen vasteet, joiden keskiarvoista muodostettiin kuvaajat (liite 4). Kuvaajat esittävät analyttien vasteen tasapainottumisajan funktiona. Tasapainottumisajan katsotaan olevan optimaalinen, kun käyrä tasoittuu. Kuvaajien perusteella analyttien pitoisuuksien tasapainottuminen faasien välille ehti tapahtua 50 min:ssa. Kalibroitiliuoksen pitoisuudet, analyttien vasteet ja kuvaajat on esitetty liitteessä 4.

Liitteessä 5 on analyttien vasteet ja kuvaajat tasapainotusajoille 80 °C:ssa. Tolueenin ja heptaanin vasteet laskivat melko nopeasti ajan pidentyessä eivätkä vakioituneet lainkaan. Ero vasteen vakioitumisessa kahden lämpötilan välillä on selkeä, mikä vahvistaa sopivan tasapainotuslämpötilan olevan poolittomille yhdisteille 70 °C. Etanolin vaste on 80 °C:ssa melko tasainen, mutta huomattavasti suurempi kuin 70 °C:ssa.

8.3.4 Tasapainotuslämpötila

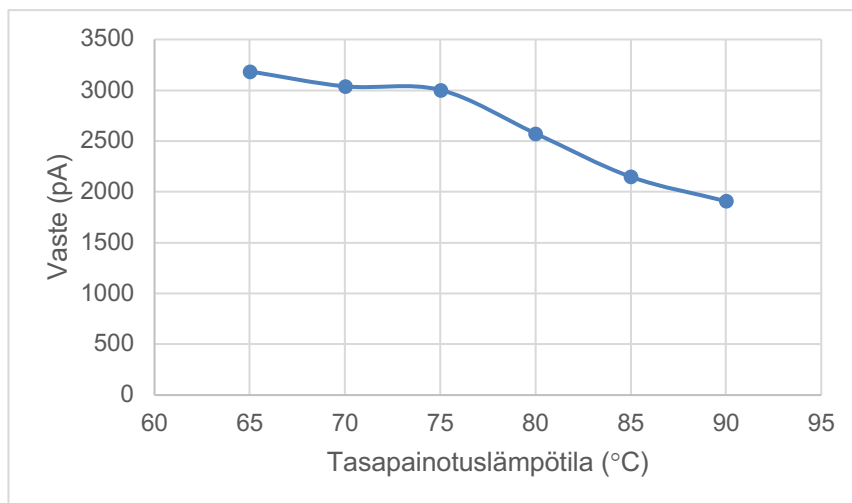
Tasapainotuslämpötila vaikuttaa erityisesti etanolin haihtumiseen, sillä lämpötilaa nostamalla voidaan merkittävästi alentaa etanolin jakaantumiskerrointa (K). Veden kiehumispiste on 100 °C, mikä asettaa lämpötilan ylärajan 90 °C:seen. Suosituksena on pysyä 10 °C alle näytematriisin kiehumispisteen, ettei vesi höyrysty ja kulkeudu näytteen mukana GC:lle [26, s. 18].

Lämpötila optimoitiin vastaavalla tavalla kuin tasapainotusaika. Yhden pitoisuustason kalibrointiluoksen vasteet määritettiin lämpötiloissa 65–90 °C, nostamalla aina lämpötilaa 5 °C:lla näytteiden välissä. Näytteisiin lisättiin kaliumkarbonaattia (20 m-%) ja tasapainotettiin 50 min. Kuvaajat esittävät analyytin vasteen lämpötilan funktiona, joiden perusteella arvioitiin kaikille analyytille optimaalinen tasapainotuslämpötila. Heptaanin vaste (kuva 5) tasaantui 70 °C:n kohdalla.



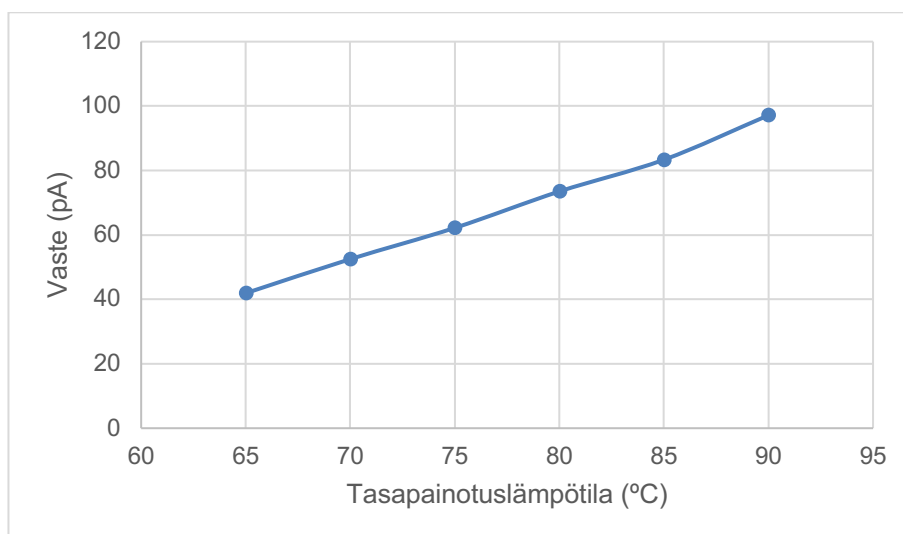
Kuva 5. Heptaanin vaste eri tasapainotuslämpötiloissa.

Tolupeenin vaste (kuva 6) tasaantui myös 70 °C:ssa. Molemmille poolittomille analyytille optimi tasapainotuslämpötila oli 70 °C.



Kuva 6. Tolueenin vaste eri tasapainotuslämpötiloissa.

Etanolin vaste (kuva 7) kasvaa eksponentiaalisesti lämpötilan kasvaessa. Optimaalista lämpötilaa ei voitu määrittää kuvaajan tasoittumiskohdasta, kuten tolueenille ja heptaanille määritettiin. Korkeampi lämpötila alentaisi etanolin jakaantumiskerrointa, mikä edistäisi etanolin haihtumista vesimatriisista ja suurentaisi vastetta.



Kuva 7. Etanolin kuvaaja eri tasapainotuslämpötiloissa.

Heptaanin ja tolueenin vasteen vakioitumisen perusteella tasapainotuslämpötilaksi määritettiin 70 °C:sta, jossa etanolin vaste on määritettävissä, joskaan ei suurin mahdollinen. Kalibrointiliuoksen pitoisuudet ja analyttien vasteet ovat liitteessä 6.

8.3.5 HS:n ajo-olosuhteet

Menetelmän HS:n ajo-olosuhteet on esitetty taulukossa 11.

Taulukko 11. Kehitetyn menetelmän olosuhteet HS:lle.

Tasapainotuslämpötila uunissa (°C)	70
Näytesilmukan lämpötila (°C)	125
Siirtolinjan lämpötila (°C)	130
Näytepullon tasapainotusaika (min)	50
Näytepullon täyttöpaine (psi)	20
Injektointitilavuus (µl)	1000
Injektointiaika (min)	1,0
Silmukan täyttönopeus (psi/min)	20
Silmukan loppupaine (psi)	15
Silmukan tasapainotusaika (min)	0,05
GC-syklin pituus (min)	46
Suolan määrä (g)	2

Tasapainotusaika asetettiin 50 min:iin (alun perin 60 min) ja GC-syklin pituutta pidennettiin 46 min:iin (alun perin 40 min), kun GC:n uuniohjelman viimeistä lämpötilagradienttia pidennettiin 5 min:illa. Parametrien optimoinnin yhteydessä laitteen injektointiaikaa pidennettiin niin, että koko näytemäärä ehtii edetä kolonnille [26, s. 25]. Laitteen injektointiaika nostettiin 1 min:iin (alun perin 0,4 min).

9 Menetelmän validoinnin toteutus ja tulokset

Validoinnilla tutkittiin menetelmän ja laitteen antamien tulosten luotettavuutta sekä määritettiin menetelmän ja laitteen suorituskykyä. Validointi kattoi uuden ajo-ohjelman, laitteen ja laitteen kalibroinnin (faktorit), kaikki analyytit (etanoli, tolueeni, heptaani) ja näytematriisin. Validoinnissa tarkasteltavia parametreja olivat menetelmän lineaarisuus, toteamis- ja määrittämissuorat, tarkkuus ja selektiivisyys. Parametreille asetettiin seuraavat tavoitearvot. Regressiosuoran korrelaatiokertoimen (r) tuli olla $\geq 0,995$, tuloksen poikkeaman ($bias$) $\leq 10\%$ ja suhteellisen keskihajonnan (RSD) $\leq 5\%$.

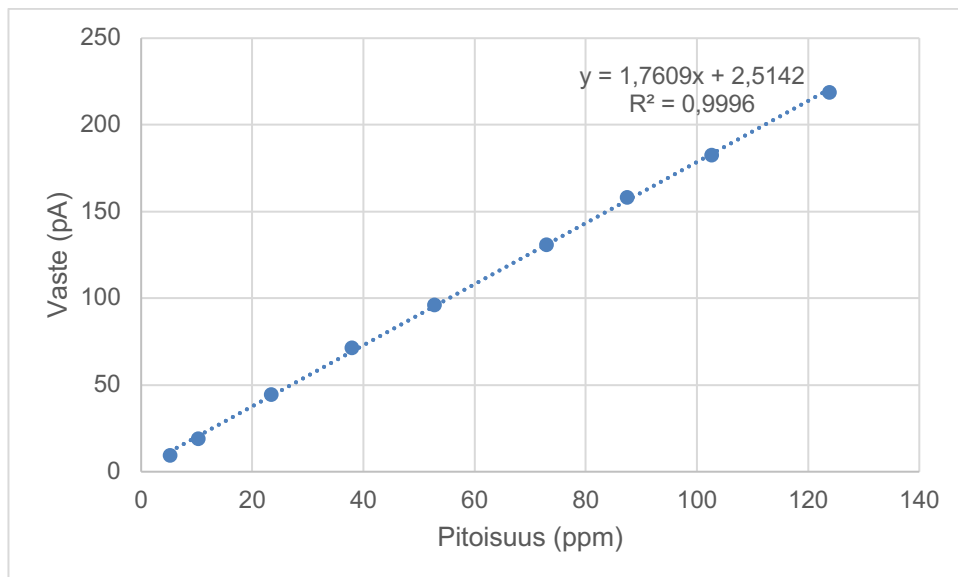
Analyyttien pitoisuudet prosessivesi- ja saantonäytteistä määritettiin faktorin avulla, joka laskettiin kaikille analyyteille yhden pisteen kalibroinnin perusteella. Analyytin faktori eli

vaste kuvaa GC:n ja vertailtavan referenssimateriaalin sekä systeemistä saadun ulostulosignaalin ja referenssin pitoisuuden matemaattista yhteyttä. Kun analyysin retentioaika ja faktori tunnettiin, näytteestä voitiin tehdä kvantitatiivinen määrittely. [29, s. 3.] Analyysien vasteet, faktorit ja kaavat on esitetty liitteessä 7.

9.1 Lineaarisuus ja mittausalue

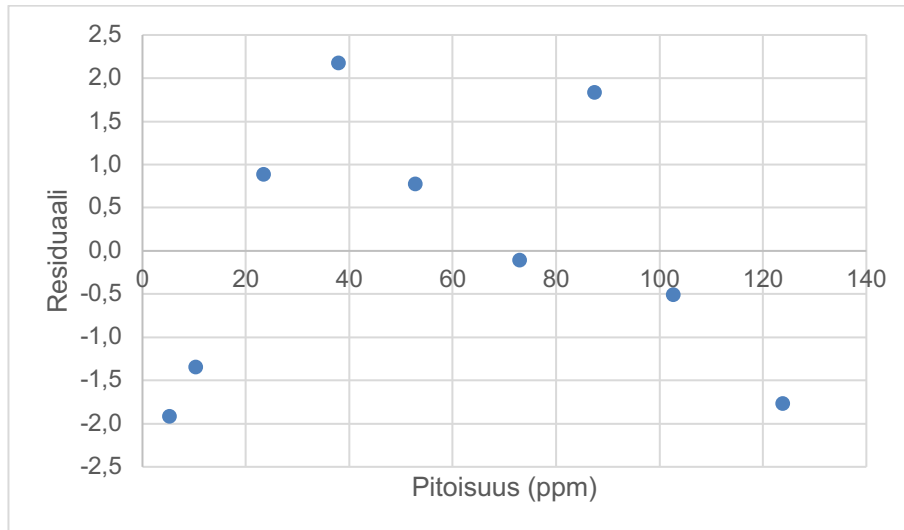
Lineaarisuuden tarkastelua varten valmistettiin yhdeksän pitoisuustason kalibrintiliuosta, joiden kantaliuos valmistettiin metanoliin. Seitsemän kalibrintiliuosta valmistettiin tavoitellulle mittausalueelle 10–100 ppm ja kaksi mittausalueen ulkopuolelle (5 ja 120 ppm). Kalibrintiliuoksista analysoitiin kuusi rinnakkaisnäytettä, joiden vasteiden keskiarvoista muodostettiin kalibrintisuorat. Menetelmän lineaarisuutta arvioitiin kalibrintisuorien ja residuaalikuvaajien perusteella. Korrelaatiokertoimen tavoitearvoksi asetettiin $\geq 0,995$. Kalibrintiliuosten tarkat pitoisuudet ja vasteet on esitetty liitteessä 8.

Etanolin kalibrintisuora näytti visuaalisesti tarkasteltuna lineaariselta pitoisuusvälillä 5–120 ppm (kuva 8).



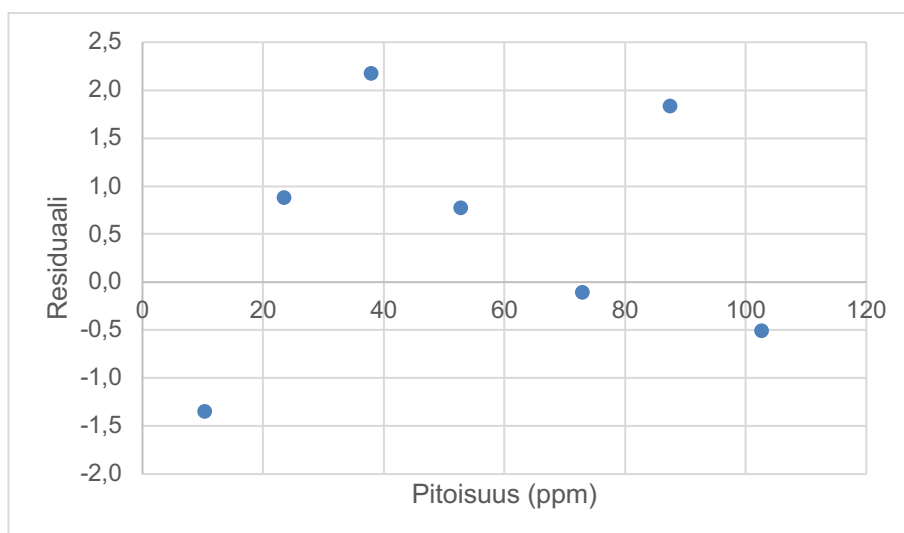
Kuva 8. Etanolin kalibrintisuora pitoisuuksille 5–120 ppm.

Suoran korrelaatiokerroin (r) oli 0,9998, mikä ylitti tavoitteen ($> 0,995$). Residuaalit laskettiin y-vasteen mitattujen ja regressiosuoralta laskettujen arvojen erotuksena ja muodostettiin residuaalikuvaaja (kuva 9).



Kuva 9. Etanolin residuaalikuvaaja pitoisuuksille 5–120 ppm.

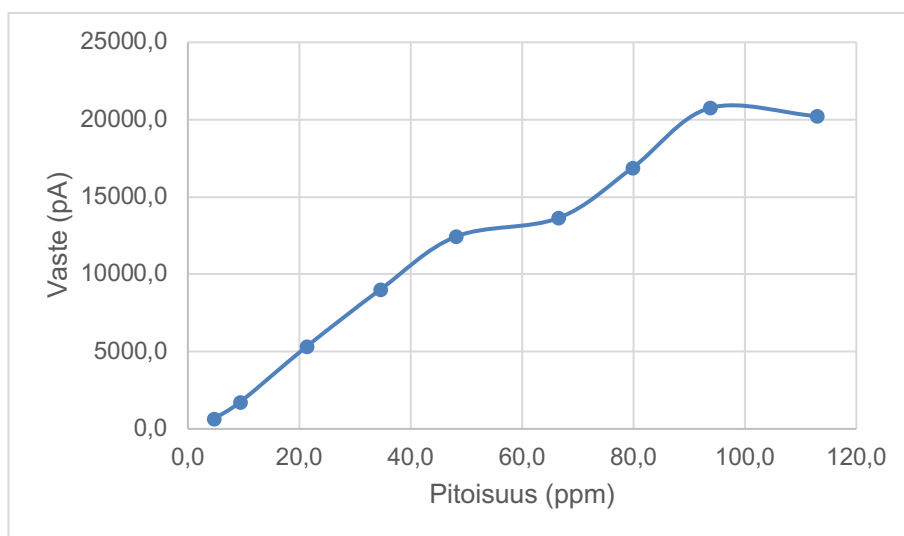
Mittapisteet kerääntyivät nollatason alapuolelle kuvaajan alku- ja loppupäässä viitaten siihen, että mittausalue on mahdollisesti liian laaja. Residuaalikuvaajan pitoisuusalue supistettiin välille 10–100 ppm, joka on esitetty kuvassa 10.



Kuva 10. Etanolin residuaalikuvaaja pitoisuuksille 10–100 ppm.

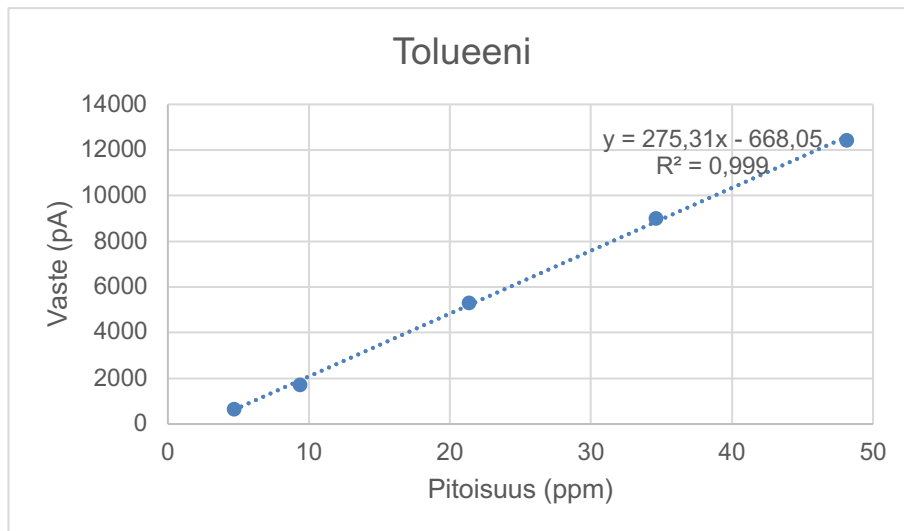
Kuvassa 10 residuaalikuvaajan alkupäässä oli havaittavissa käyrämäisyyttä, sillä ideaalitulanteessa kuvaajan kolmas piste olisi myös nollatason alapuolella. Kuvaajan käyrämäisyys voi viitata menetelmän epälineaarisuuteen tai johtua mittapisteiden vähyydestä.

Tolueenin kalibrintisuora kaartui 50 ppm:n jälkeen (kuva 11), joten mittausaluetta supistettiin 50 ppm:ään. Visuaalisesti tarkasteltuna lineaarinen alue mahdollisesti jatkuu myös suuremmilla pitoisuuksilla suoran kaareutumisen jälkeen. Mittausalue vaikuttaisi olevan liian laaja yhdelle suoralle tolueenin osalta. Mikäli mittausaluetta on jatkossa tarvetta suurentaa, voidaan muodostaa kaksi erillistä kalibrintisuoraa kattamaan laajempi mittausalue [26, s. 41].



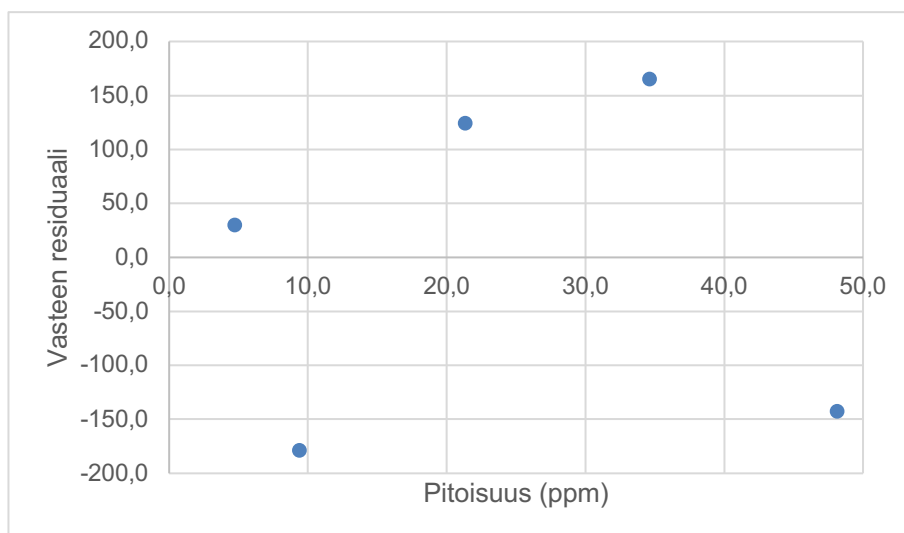
Kuva 11. Tolueeni kalibrintisuora pitoisuuksille 5–120 ppm.

Tolueenin kalibrintisuora rajatulle mittausalueelle on esitetty kuvassa 12, jossa suoran korrelaatiokerroin oli 0,9995, mikä on tavoitteen mukainen.



Kuva 12. Tolueenin kalibrointisuora pitoisuuksille 5–50 ppm.

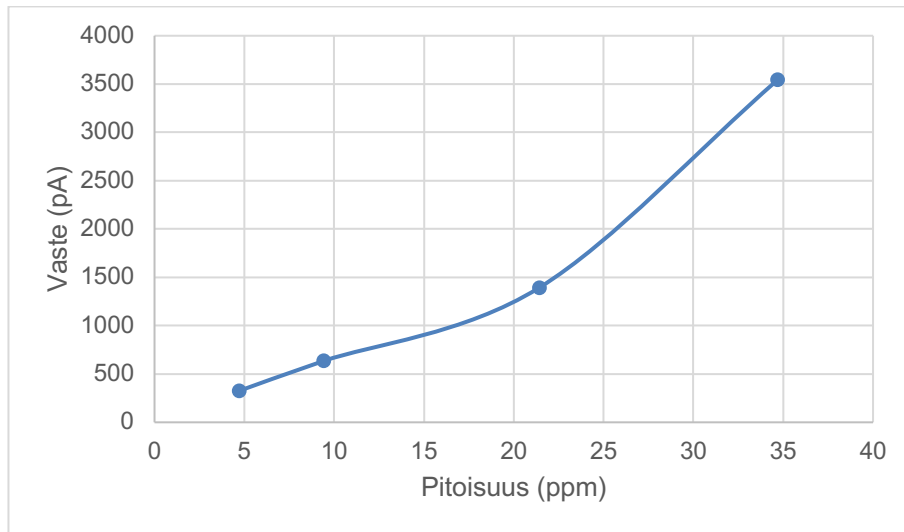
Kuvassa 13 on tolueenin residuaalikuvaaja pitoisuusvälillä 5–50 ppm.



Kuva 13. Tolueenin residuaalikuvaaja pitoisuuksille 5–50 ppm.

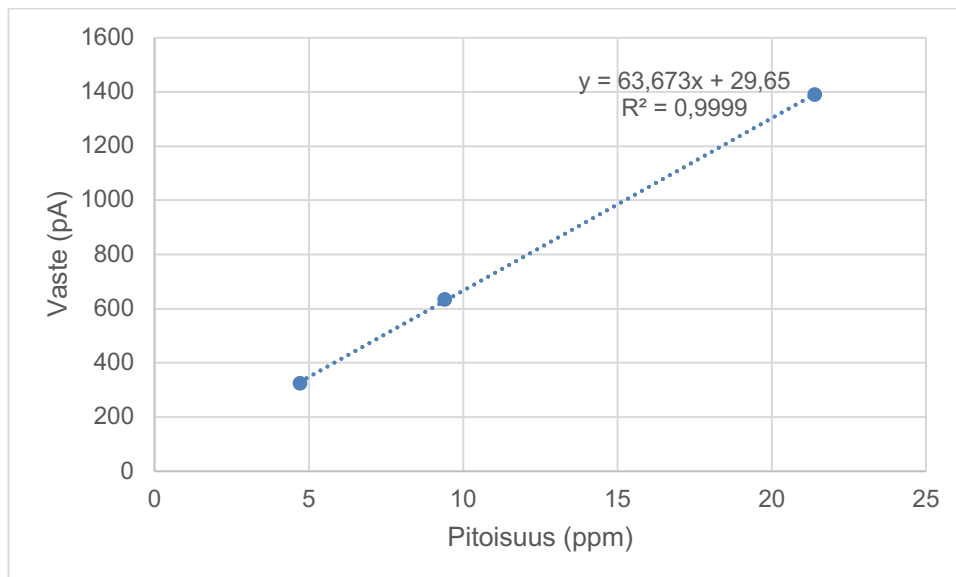
Tolueenin residuaalikuvaajassa näyttäisi olevan käyrämäisyyttä, kuten etanolinkin. Jatkotutkimuksissa voisi valmistaa useampia kalibrointiliukuksia tiheimmillä pitoisuusväleillä ja tutkia residuaalien jakautumista suhteessa nollassa, jotta voidaan poissulkea mittapisteiden vähäisyydestä johtuva käyrämäisyys.

Heptaanin kalibrintisuora kaartui jo 20 ppm:n jälkeen (kuva 14).



Kuva 14. Heptaanin kalibrintisuora.

Heptaanin mittausalue rajattiin 20 ppm:ään (kuva 15).



Kuva 15. Heptaanin kalibrintisuora pitoisuusvälille 5–20 ppm.

Heptaanin osalta residuaalikuvaajaa ei muodostettu, koska suoralla oli vain kolme mitätistettä, mikä on liian vähän lineaarisuuden tutkimiseen.

9.2 Toteamis- ja määrittäysrajat

Menetelmän toteamis- ja määrittäysraja laskettiin kalibrointisuorien y-akselin leikkauspisteiden keskihajonnan ja kalibrointisuorien kulmakertoimien perusteella.

Toteamisraja (LOD) laskettiin kaavalla 4 [23, s. 24]:

$$LOD = \frac{3 \cdot S_b}{m} \quad (4)$$

S_b = vasteen keskihajonta

m = suoran kulmakerroin

Määrittäysraja (LOQ) laskettiin samalla periaatteella kaavalla 5 [23, s. 24]:

$$LOQ = \frac{10 \cdot S_b}{m} \quad (5)$$

Taulukossa 12 on esitetty etanolin toteamis- ja määrittäysrajojen laskemiseen käytetyt arvot ja laskutulokset.

Taulukko 12. Etanolin toteamis- ja määrittäysrajat kalibrointisuorien perusteella.

Leikkauspiste b	S_b	Kulmakerroin m	LOD	LOQ
2,9728	0,838	1,7343	1,45	4,83
2,8303		1,7584	1,43	4,76
1,9952		1,7758	1,42	4,72
0,6501		1,8035	1,39	4,64
2,2988		1,7821	1,41	4,70
2,4457		1,7673	1,42	4,74

KA 1,42 4,73 ppm

Taulukossa 13 on esitetty tolueenin toteamis- ja määrittäysrajojen laskemiseen käytetyt arvot ja laskutulokset.

Taulukko 13. Tolueenin toteamis- ja määrittäysrajat kalibrointisuorien perusteella.

Leikkauspiste b	S _b	Kulmakerroin m	LOD	LOQ
-471,48	210,845	271,80	2,33	7,76
-503,32		269,14	2,35	7,83
-930,88		300,90	2,10	7,01
-476,66		257,43	2,46	8,19
-879,24		280,31	2,26	7,52
-746,74		272,26	2,32	7,74

KA 2,30 7,68 ppm

Heptaanin toteamis- ja määrittäysrajoja ei laskettu puutteellisten kalibrointisuorien vuoksi. Menetelmän määrittäysraja laskujen perusteella olisi etanolille 5 ppm ja tolueenille 8 ppm. Määrittäysrajaa arvioitiin lisäksi menetelmän lineaarisuuden ja tarkkuuden perusteella, jotka huomioiden molempien analyyttien määrittäysraja asetettiin tässä vaiheessa 10 ppm:ään.

9.3 Tarkkuus

Menetelmän oikeellisuutta (*bias*, %) arvioitiin prosessivesinäytteeseen valmistettujen saantokokeiden perusteella ja vertaamalla kalibrointiliuosten teoreettisia pitoisuuksia ja suoran yhtälöstä laskettuja pitoisuuksia. Toistettavuutta (RSD, %) arvioitiin saantokokeista, kalibrointiliuoksista ja prosessivesinäytteen rinnakkaismäärittäyksistä. Tavoitearvo oikeellisuudelle on poikkeama ≤ 10 % ja toistettavuudelle RSD ≤ 5 %. Prosessivesinäytteen ja saantokokeiden pitoisuudet laskettiin analyttikohtaisilla faktoreilla, joiden vasteet ja laskukaavat on esitetty liitteessä 7.

Saannot (%) laskettiin kaavalla 6 [22, s. 34]:

$$Saanto - \% = \frac{(S-U)}{C} * 100 \% \quad (6)$$

S = lisäyksen sisältävän näytteen pitoisuus (mitattu)

U = näytteen alkuperäinen pitoisuus (mitattu)

C = lisätyn kalibrointiliuoksen pitoisuus (tunnettu)

Mittauksen oikeellisuutta arvioitiin laskemalla mittausten suhteellinen poikkeama (*bias*, %) vertailuarvosta kaavalla 7 [17, s. 34]:

$$E = \frac{(\bar{x} - \mu)}{\mu} * 100 \% \quad (7)$$

μ = todellinen (laskettu) arvo

\bar{x} = määritetty keskiarvo

Suhteellinen keskihajonta (RSD, %) laskettiin kaavalla 8 [17, s. 32]:

$$RSD = \frac{s}{\bar{x}} * 100 \% \quad (8)$$

s = keskihajonta

\bar{x} = keskiarvo

9.3.1 Saantokokeet

Prosessivesinäytteeseen valmistettiin kaksi eri pitoisuustason (7 ja 15 ppm) lisäysnäytettä, joihin käytettiin tislattuun veteen valmistettua kalibrintiliuosta. Molemmista pitoisuustasoista mitattiin kahdeksan rinnakkaisnäytettä. Lisätyt pitoisuudet pidettiin suhteellisen pieninä, jotta veteen niukkaliukoisemmat analyytit liukenisivat näytematriisiin. Lisätyjen pitoisuuksien tuli kuitenkin olla menetelmän mitta-alueella. Prosessivesinäyte ei sisältänyt menetelmällä määritettävissä olevia pitoisuuksia etanolia tai heptania. Tolupeen pitoisuus näytteessä (noin 1 ppm) oli reilusti alle menetelmän määrittämissä rajoissa, mikä tuo määrittämiseen epävarmuutta. Näyte ei siis ollut ideaali saantokokeeseen. Kaikille analyyteille saatiin lisäyksillä vasteet, joiden perusteella saannot laskettiin. Lisäysnäytteiden vasteet, saannot ja esimerkki kromatogrammista on esitetty liitteessä 9. Saantokokeiden tulokset on esitetty taulukossa 14.

Taulukko 14. Saantoprosenttien keskiarvo, keskihajonta, suhteellinen keskihajonta (RSD, %) ja poikkeama (*bias*, %) molemmilla lisätyillä pitoisuuksilla.

Lisäystaso	Analyytti	Keskiarvo (%)	Keskihajonta (%)	RSD-%	Bias (%)
7 ppm	Etanoli	100,1	2,5	2,5	0,06
	Heptaani	25,7	10,5	40,8	-74,3
	Tolueeni	66,5	8,8	13,2	-33,5
15 ppm	Etanoli	99,5	3,5	3,6	-0,55
	Heptaani	23,9	8,8	36,9	-76,1
	Tolueeni	79,5	9,8	12,3	-20,5

Etanolin saantokokeiden tulokset olivat erinomaiset, sillä tulosten keskiarvot molemmilla pitoisuustasoilla pyörivät 100 %:iin ja toistotarkkuus (RSD, %) oli hyväksyttävä. Tuloksen poikkeama (*bias*, %) oli molemmilla lisäystasolla pieni (< 1 %). Matriisin mahdolliset epäpuhtaudet eivät häirinneet etanolin pitoisuuksien määrittämistä näytteistä. Saannot sijoituivat satunnaisesti 100 %:n molemmiin puolin (liite 9), joten systemaattista virhettä ei tulosten perusteella havaittu.

Tolueenin ja heptaanin tulokset olivat kaikki reilusti alle 100 % viitaten systemaattiseen virheeseen näytteen esikäsittelyssä ja/tai mittauksen aikana, kuten matriisivaikutukseen. Heptaanin saannot olivat keskimäärin vain noin 25 % ja suhteellinen keskihajonta noin 40 %. Tuloksista ei voi päätellä, johtuvatko alhaiset saantoprosentit osittain matriisivaikutuksesta vai ainoastaan heptaanin liukenemattomuudesta vesimatriisiin. Heptaanin tulokset hylättiin ja saantokokeiden uusimista apuliuottimen avulla tulisi harkita.

Tolueenin saannot vaihtelivat välillä 50 ... 85 %. Alhaisemmalla pitoisuustasolla saannot olivat matalampia, tosin lisätty pitoisuus (7 ppm) oli alle menetelmän määritysrajan. Alkuperäisen näytteen pitoisuus (1 ppm) oli myös alle määritysrajan, mikä lisää saantokokeiden epävarmuutta. Tulokset olivat riittämättömiä johtopäätösten tekemiseen menetelmän systemaattisen virheen laadusta.

9.3.2 Kalibrintiliuokset

Kalibrintiliuoksista analysoitiin kuusi rinnakkaisnäytettä, lukuun ottamatta 120 ppm:n liuosta, josta analysoitiin kolme rinnakkaisnäytettä. Näytteiden määritetyt pitoisuudet laskettiin kalibrintisuoran yhtälön perusteella ja tulosta verrattiin laskettuun (teoreettiseen)

pitoisuuteen. Etanolin kalibrointiliuosten tarkkuuden tulokset on esitetty taulukoissa 15 ja 16.

Taulukko 15. Etanolin tarkkuuden tulokset kalibrointiliuksille pitoisuusvälillä 5–40 ppm.

Pitoisuudet (ppm)				
Laskettu	5,1	10,3	23,4	37,9
Määritetty 1	4,0	9,3	24,3	38,8
Määritetty 2	4,2	9,8	24,5	38,3
Määritetty 3	4,1	9,2	23,0	40,5
Määritetty 4	4,0	9,3	23,9	39,1
Määritetty 5	4,1	9,7	23,5	39,4
Määritetty 6	3,8	9,6	24,0	38,7
KA	4,0	9,5	23,9	39,1
s	0,1	0,3	0,6	0,8
RSD-%	3,0	2,8	2,3	2,0
Bias (%)	-21,2	-7,4	2,1	3,3

Etanolin poikkeama (*bias*, %) oli hyväksyttävä pitoisuustasoille 10–120 ppm ja toistotarkkuus (RSD, %) oli hyväksyttävä kaikilla pitoisuustasoilla. Etanolin määritetty pitoisuus 5 ja 10 ppm:n kalibrointiliuksissa oli systemaattisesti alle lasketun pitoisuuden. Muissa liuksissa määritetyt pitoisuudet olivat satunnaisesti lasketun pitoisuuden molemmin puolin.

Taulukko 16. Etanolin tarkkuuden tulokset kalibrointiliuksille pitoisuusvälillä 50–120 ppm.

Pitoisuudet (ppm)					
Laskettu	52,7	72,9	87,4	102,6	123,7
Määritetty 1	52,5	70,7	90,4	99,8	120,7
Määritetty 2	52,7	74,0	90,5	98,7	124,1
Määritetty 3	53,8	69,9	90,3	103,5	123,4
Määritetty 4	52,1	70,3	89,0	105,7	-
Määritetty 5	54,4	76,2	83,9	104,7	-
Määritetty 6	53,4	75,7	86,4	101,6	-
KA	53,1	72,8	88,4	102,3	122,7
s	0,9	2,9	2,7	2,7	1,8
RSD-%	1,7	3,9	3,0	2,7	1,4
Bias (%)	0,8	-0,1	1,2	-0,3	-0,8

Tolueenin kalibrointiliuosten tarkkuuden tulokset on esitetty taulukossa 17. Tolueenin poikkeama (*bias*, %) oli hyväksyttävä kaikilla pitoisuustasoilla. Toisessa kalibrointiliuksessa (10 ppm) poikkeama oli selkeästi suurempi kuin muissa. Tolueenin toistotarkkuus (RSD, %) ylitti validoinnissa asetetun hyväksymisrajan ($\leq 5\%$) muilla kalibrointiliuksilla, paitsi 20 ppm:n liuksessa.

Taulukko 17. Tolueenin tarkkuuden tulokset kalibrointiliuksille pitoisuusvälillä 5–50 ppm.

Pitoisuudet (ppm)					
Laskettu	4,7	9,4	21,3	34,6	48,1
Määritetty 1	4,9	8,5	23,3	37,4	46,0
Määritetty 2	5,3	9,5	22,2	33,3	48,1
Määritetty 3	4,9	8,9	21,6	37,0	51,8
Määritetty 4	4,7	8,6	21,0	36,0	43,6
Määritetty 5	4,6	8,4	20,6	34,0	48,7
Määritetty 6	4,5	8,3	22,0	33,3	47,3
KA	4,8	8,7	21,8	35,2	47,6
s	0,3	0,5	1,0	1,9	2,8
RSD-%	5,9	5,2	4,4	5,3	5,8
Bias (%)	2,5	-6,9	2,3	1,7	-1,1

Heptaanin kalibrointiliuosten tarkkuuden tulokset on esitetty taulukossa 18. Tulosten poikkeama oli riittävän pieni (noin 1 %), mutta suhteellinen keskihajonta liian suuri. Heptaanin pitoisuudet pienenevät systemaattisesti mittausjärjestyksessä. Metanolista huolimatta heptaanin ei vaikuttaisi liukenevan tasaisesti veteen edes mittausalueen pienimmillä pitoisuuksilla, sillä ensimmäisen rinnakkaismäärityksen pitoisuus ylittää tavoitearvon kaikissa kalibrointiliuksissa. Rinnakkaismääritysten pitoisuudet jakaantuvat keskiarvon molemmiin puolin, mikä selittää suuren suhteellisen keskihajonnan, mutta silti pienen poikkeaman.

Taulukko 18. Heptaanin tarkkuuden tulokset kalibrintiliuksille pitoisuusvälillä 5–20 ppm.

Pitoisuudet (ppm)			
Laskettu	4,7	9,4	21,4
Määritetty 1	5,6	11,0	26,0
Määritetty 2	5,6	11,1	24,2
Määritetty 3	4,9	9,8	21,6
Määritetty 4	4,2	9,1	20,8
Määritetty 5	4,0	8,4	18,2
Määritetty 6	3,4	7,5	17,4
KA	4,6	9,5	21,4
s	0,9	1,4	3,3
RSD-%	19,3	15,1	15,6
Bias (%)	-1,0	1,2	-0,1

9.3.3 Prosessivesinäyte

Menetelmän toistettavuutta arvioitiin prosessivesinäytteestä, josta tehtiin 16 rinnakkaismäärittystä, kahden henkilön valmistamana. Taulukossa 19 on esitetty prosessivesinäytteen lasketut pitoisuudet ja tulosten hajonnat. Näyte ei sisältänyt menetelmällä määritettävissä olevaa pitoisuutta heptaania ja tolueenin pitoisuus oli alle menetelmän määrittysrajan.

Taulukko 19. Etanolin ja tolueenin pitoisuudet prosessivesinäytteessä ja tulosten keskiarvo (ka), hajonta (s) ja suhteellinen keskihajonta (RSD, %).

	Etanolin pitoisuus (ppm)	Tolueenin pitoisuus (ppm)
	11,87	4,31
	11,84	4,18
	12,07	4,05
	12,10	4,04
	11,72	3,59
	12,68	3,81
	12,42	3,53
	11,27	3,11
	12,83	2,98
	13,06	4,07
	12,90	3,89
	12,90	3,86
	12,12	3,48
	12,76	3,72
	12,67	3,73
	12,50	3,63
KA	12,36	3,75
s	0,51	0,36
RSD (%)	4,2	9,7

Etanolin suhteellinen keskihajonta oli 4,2 %, mikä oli hyväksyttävä tulos. Tolueenin RSD oli 9,7 %, mikä ylitti tavoitteen. Tulosta ei huomioida tolueenin tarkkuuden arvioinnissa, sillä tolueenin pitoisuus näytteessä oli alle menetelmän määrittäjärajan.

9.4 Selektiivisyys

Menetelmän selektiivisyyttä arvioitiin tarkastelemalla saantokokeiden kromatogrammeja, joista laskettiin piikkien resoluutio (R_s), erotustekijä (α) ja epäsymmetrisyys, mikä kuvaa piikkien häntimistä.

Erotustekijä on kahden aineen todellisten retentioaikojen suhde, jonka tulee olla yli yksi, että aineiden välillä tapahtuu erottumista. Erotustekijä (α) laskettiin kaavalla 9 [17, s. 145]:

$$\alpha = \frac{t'_{r,2}}{t'_{r,1}} = \frac{t_{r,2} - t_M}{t_{r,1} - t_M} \quad (9)$$

$t'_{r,2}$ = todellinen retentioaika jälkimmäinen piikki

$t'_{r,1}$ = todellinen retentioaika ensimmäinen piikki

$t_{r,2}$ = retentioaika jälkimmäinen piikki

$t_{r,1}$ = retentioaika ensimmäinen piikki

t_M = viiveaika

Resoluutio (R_s) kuvaa kromatogrammin piikkien erottumista ja laskettiin kaavalla 10 [17, s. 147]:

$$R_s = \frac{t_{r,2} - t_{r,1}}{\frac{1}{2}(W_{b,1} + W_{b,2})} \quad (10)$$

$t_{r,2}$ = retentioaika jälkimmäinen piikki

$t_{r,1}$ = retentioaika ensimmäinen piikki

$W_{b,2}$ = jälkimmäisen piikin leveys pohjaviivasta mitattuna

$W_{b,1}$ = ensimmäisen piikin leveys pohjaviivasta mitattuna

Piikkien epäsymmetrisyys, joka kuvaa piikkien häntimistä laskettiin kaavalla 11 [17, s. 147]:

$$AS = \frac{b}{a} \quad (11)$$

AS = piikin epäsymmetrisyys

b = piikin vasemman puolen leveys 10 %:n korkeudelta mitattuna

a = piikin oikean puolen leveys 10 %:n korkeudelta mitattuna

Saantokokeissa ei käytetty metanolia, joten taulukon 20 arvot on laskettu ilman metanolipiikkiä. Esimerkki kromatogrammista on esitetty liitteessä 9.

Taulukko 20. Analyyttien kromatografiset parametrit menetelmän selektiivisyyden arvioimiseksi.

	Heptaani	Etanoli	Tolueeni
Retentioaika (min)	6,85	15,30	19,24
Resoluutio (R)	-	33,8	15,6
Erotustekijä (α)	-	2,7	1,3
Epäsymmetrisyys (A_s)	1,10	1,18	1,05

Kehitetty menetelmä on selektiivinen, sillä analyytit erottuivat samasta näytteestä ja antoivat selkeän ja tunnistettavan vasteen. Resoluutio ja erotustekijä olivat riittävän suuria analyyttien piikkien erottumiseen ja piikkien epäsymmetrisyys hyväksyttävän pieni.

10 Johtopäätökset

Opinnäytetyön tavoitteena oli kehittää ja validoida etanolin, tolueenin ja heptaanin pituuksien määrittämiseen standardiin ISO 11423-1:1997 pohjautuva analyysimenetelmä. Erilaisten analyyttien määrittäminen samalla menetelmällä osoittautui haasteelliseksi, sillä optimaaliset olosuhteet olivat erityyppisille analyyteille paikoin keskenään päinvas-taiset. Erityisesti tasapainotusajan optimointi kaikille analyyteille yhteisesti osoittautui haastavaksi. Tarkemmin ajatellen alustavat tasapainotusaikatestit olivat liian suppea pe-ruste rajata tiheämmin aikaväleihin toteutetut testit alkamaan 30 minuutista. Tiheämpi tes-taus olisi pitänyt toteuttaa aikavälillä 15–70 min, jotta analyyttien vasteen vakioituminen ennen 30 minuuttia olisi voitu yksiselitteisesti poissulkea. Näytemäärän vaikutusta ana-lyyttien vasteisiin olisi voinut tarkastella useammalla eri näytemäärällä. Poolittomien ana-lyyttien vaste voi tasapainottua pienemmällä näytemäärällä kuin 10 ml, ja tarpeettoman suuri näytemäärä lähinnä alentaa menetelmän herkkyyttä.

Menetelmän validoinnin tulokset olivat alustavia ja paikoin liian suppeita pätevien johto-päätösten tekemiseen. Analyyttien mittausalueiden lineaarisuuden varmistamiseksi tulisi valmistaa useampia kalibrointiliuoksia, joita analysoidaan eri päivinä ja tutkitaan residu-aalien jakautumista toistuvien ilmiöiden havaitsemiksi. Yhden kalibrointisuoran perus-teella menetelmän mahdollisia ongelmakohtia oli vaikea tunnistaa, mutta se antoi lisä-tietoa analyyttikohtaisten mittausalueiden laajuudesta, mikä on hyödyllistä tulevissa mit-

tauksissa. Menetelmän määrittäjärajaksi asetettiin validoinnin tulosten perusteella tolueenille ja etanolille 10 ppm, mutta toteamis- ja määrittäjärajat tulisi tarkistaa tulevien mittausten perusteella.

Menetelmä oli validointitulosten perusteella riittävän tarkka ja toistettava etanolille mitta-alueella 10–100 ppm. Määritetyt pitoisuudet 5 ja 10 ppm:n kalibrintiliuoksissa olivat systemaattisesti alle lasketun pitoisuuden ja tulosten poikkeama selkeästi suurempi kuin muissa kalibrintiliuoksissa. Saantokokeiden perusteella menetelmä olisi kuitenkin tarkka myös pienemmillä pitoisuustasoilla. Menetelmän kehityksen alussa vertailtiin kalibrintiliuosten vasteita metanolilisäyksen kanssa ja ilman (luku 8.1), jolloin huomattiin, että metanolin lisääminen kalibrintiliuokseen mahdollisesti pienensi etanolin vastetta. Ilmiö selittäisi kalibrintiliuosten pienten pitoisuuksien systemaattista epätarkkuutta, mutta syynä voi olla myös virhe kalibrintiliuosten valmistuksessa. Kalibrintiliuosten valmistus pelkkään veteen varmistaisi etanolin tarkkuutta mitta-alueen alkupäässä. Mikäli menetelmän määrittäjäraja ei ole riittävän alhainen jatkokäyttöä ajatellen, näytepullon tasapainotuslämpötilaa tulee nostaa etanolin vasteen kasvattamiseksi.

Tolueenin saantokokeiden tulokset olivat systemaattisesti alle 100 %, mutta suoritettavat validointimittaukset olivat riittämättömiä virhelähteen tunnistamiseen. Virhe voi johtua matriisivaikutuksesta tai näytteen käsittelyn aiheuttamasta epätarkkuudesta. Standardinlisäyssi suora antaisi lisätietoa tolueenin vasteen muutoksesta eri pitoisuustasoilla ja analyysin käyttäytymisestä näytematriisissa. Kalibrintiliuosten tulosten perusteella menetelmän oikeellisuus oli tavoitteen ($bias \leq 10\%$) mukainen, mutta toistotarkkuus puutteellinen suhteellisen keskihajonnan ollessa hieman yli 5 %. Tulosten perusteella epäiltiin, että näytteen valmistustapa ei ole riittävän tarkka helposti haihtuville analyyteille, joilla on korkea jakaantumiskerroin, kuten tolueenille. Näytteensiirtoa suositellaan käyttäen ruiskua tai sen tapaista välinettä ja varoen kaasun muodostumista. Pipetointi ei ole suositeltava tapa näytteen siirtämiseksi. Standardissa ISO 11423-1:1997, laboratorioiden välisissä vertailukokeissa tolueenin suhteellinen keskihajonta jätevesissä oli noin 10 %. Nykyisen tavoitteen ($RSD \leq 5\%$) soveltuvuutta näytematriisille voisi jatkossa harkita.

Kehitetty menetelmä ei tuottanut lainkaan hyväksyttäviä validointituloksia heptaanille. Määritetyt pitoisuudet pienenevät systemaattisesti mittaussarjajärjestyksessä, kun liuottimena

oli metanoli tai vesi. Analyytti mahdollisesti haihtuu näytteenkäsittelyn aikana, adsorboituu lasisen mittapullon tai näytepullon seinämiin tai häviää systeemissä ennen detektoria. Kalibroitiliuosten tarkkuuden tulokset osoittivat, että heptaani ei liennut metanolin avulla tasaisesti veteen edes pienimmillä pitoisuustasoilla. Suuremman pitoisuustason kalibroitiliuokset muuttuivat kantaliuoksen lisäyksen jälkeen sameaksi, mikä viittaa analyytin liukenemattomuuteen matriisiin, jolloin se pääsi mahdollisesti haihtumaan jo näytteenkäsittelyn aikana. Heptaanin liuottamista veteen voisi kokeilla jollain toisella liuottimella tai heptaanin pitoisuudet tulee jatkossa määrittää kokonaan toisella menetelmällä.

Opinnäytetyön tulosten perusteella menetelmän kehitystä jatketaan tolueenin ja heptaanin pitoisuuksien määrittämiseksi katalyyttikoetehtaan prosessivesistä. Etanolin validoinnin tuloksia voidaan käyttää osana laajempaa validointia ennen menetelmän käyttöönottoa, mikäli menetelmän määrittämisraja on riittävän alhainen.

Lähteet

- 1 Päätös Nro 21/2011/1. 2011. Etelä-Suomen Aluehallintavirasto.
- 2 ISO 11423-1:1997. Water quality – Determination of benzene and some derivatives. 1997. Kansainvälinen standardoimisjärjestö.
- 3 Haihtuvat orgaaniset yhdisteet (NMVOC). 2014. Verkkoaineisto. Ympäristöhallinnon yhteinen verkkopalvelu. <<https://www.ymparisto.fi/nmvoc>>. Päivitetty 14.5.2019. Luettu 7.9.2019.
- 4 Liuottimien käyttö ja esiintyminen työssä. Verkkoaineisto. Työterveyslaitos. <<https://www.ttl.fi/kemikaalit-ja-tyo/orgaaniset-liuottimet/>>. Luettu 27.9.2019.
- 5 Antson, Heli; Hakala, Irina; Karjalainen, Anneli; Koivula, Krister; Gyllenberg, Pirjo; Hirvikallio, Hilikka; Lahti, Jarmo; Soljamo, Kari; Silvo, Kimmo; Silander, Sirpa; Tikkanen, Seppo & Villikka, Jaana. 2008. Paras käytettävissä oleva tekniikka (BAT) liuottimia käyttävässä pintakäsittelyssä. Raportti. Suomen Ympäristökeskus. Suomen Ympäristö 23/2008. Helsinki: Edita Prima Oy.
- 6 Ympäristönsuojelulaki. 2014. 527/27.6.2014.
- 7 Paras käyttökelpoinen tekniikka. 2016. Verkkoaineisto. Ympäristöhallinnon yhteinen verkkopalvelu. <<https://www.ymparisto.fi/bat>>. Päivitetty 31.10.2018. Luettu 7.9.2019.
- 8 Tietojen vaihdon organisointi. 2013. Verkkoaineisto. Ympäristöhallinnon yhteinen verkkopalvelu. <https://www.ymparisto.fi/fi-FI/Kulutus_ja_tuotanto/Paras_tekniikka_BAT/Tietojenvaihdon_organisointi>. Päivitetty 18.9.2018. Luettu 27.9.2019.
- 9 Jätevesiin liittyvien lyhyen aikavälin päästöraja-arvojen soveltaminen ympäristöluvuissa. 2018. Muistio. Helsinki: Ympäristöministeriö.
- 10 Vertailuasiakirjat eli BREFit aikatauluineen. 2013. Verkkoaineisto. Ympäristöhallinnon yhteinen verkkopalvelu. <https://www.ymparisto.fi/fi-FI/Kulutus_ja_tuotanto/Paras_tekniikka_BAT/Vertailuasiakirjat>. Päivitetty 19.9.2019. Luettu 27.9.2019.
- 11 Turpeenoja, Leena & Lehtiniemi, Kalle. 2016. Mooli 2 – KE2 Ihmisen ja elinympäristön kemiaa. 1. painos. Keuruu: Otava Kirjapaino Oy.
- 12 Rumble, John R. (toim.). 2019. CRC Handbook of Chemistry and Physics. 100th ed. USA: CRC Press.

- 13 A Technical Guide for Static Headspace Analysis Using GC. Verkkoaineisto. Restek. <<https://www.restek.com/pdfs/59895B.pdf>>. Luettu 15.9.2019.
- 14 Kolb, Bruno & Ettre, Leslie S. 1997. Static Headspace-Gas Chromatography – Theory and Practice. 1st ed. USA: Wiley-VCH.
- 15 Headspace: How it works. Verkkoaineisto. VUV Analytics. <<https://i.ytimg.com/vi/ik2GLhKkKel/maxresdefault.jpg>>. Luettu 15.9.2019.
- 16 Tipler, Andrew. An Introduction to Headspace Sampling in Gas Chromatography. Verkkoaineisto. PerkinElmer. <https://www.perkinelmer.com/PDFs/downloads/GDE_Intro_to_Headspace.pdf>. Luettu 15.9.2019.
- 17 Niiranen, Jukka & Jaarinen, Soili. 2008. Laboratorion analyysitekniikka. 5. painos. Helsinki: Edita Prima Oy.
- 18 Nollet, Leo M. L. & De Gelder, Leen S. P. 2014. Handbook of Water Analysis. 3rd ed. USA: CRC Press.
- 19 Ehder, Tapio (toim.). 2005. Kemian metrologian opas. Julkaisu J6/2005. Helsinki: MIKES.
- 20 Hägg, Margareta (toim.). 2016. Validoinnin suunnittelun opas. Espoo: Teknologian tutkimuskeskus VTT Oy.
- 21 Regressioanalyysi: useita selittäviä muuttujia. Verkkoaineisto. <<http://wwwedu.oulu.fi/homepage/jpeltone/tilasto/LUKU72/Luku72.htm>>. Luettu 22.10.2019.
- 22 Mäkinen, Irma; Suortti, Anna-Mari; Saares, Riitta & Niemi, Ritva. 1996. Ohjeita ympäristönäytteiden kemiallisten analyysimenetelmien validointiin. Helsinki: Suomen Ympäristökeskus.
- 23 Shrivastata, Alankar & Gupta, Vipin G. 2011. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. Chronicles of young scientists. Vol. 2, s. 21–25.
- 24 Agilent 7697A Headspace sampler. Verkkoaineisto. Agilent Technologies. <<https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/Public/G4556-90016.pdf>>. Luettu 27.9.2019.

- 25 Experience the Zebtron Difference – Premiere GC Column Selection Guide. 2016. Verkkoaineisto. Phenomenex. <<https://phenomenex.blob.core.windows.net/documents/4a270272-080f-42f0-b6c9-8a37614ddf6a.pdf>>. Luettu 28.9.2019.
- 26 Rautsola, Iiro. 2016. BTEX-yhdisteiden analysointi tehtaan jätevedestä HS-GC-FID-menetelmällä – Menetelmän kehitys ja validointi. Opinnäytetyö. Metropolia Ammattikorkeakoulu. Theseus-tietokanta.
- 27 GC troubleshooting guide. 2014. Phenomenex. Valmistajan ohjekirja.
- 28 Tilastojen ABC. Verkkoaineisto. Tilastokeskus. <https://tilastokoulu.stat.fi/verkkokoulu_v2.xql?course_id=tkoulu_tlkt&lesson_id=4&subject_id=3&page_type=sisalto>. Luettu 26.9.2019.
- 29 Osasto-ohje LAB-5007. 2017. Yrityksen sisäinen dokumentti. Borealis Polymers Oy.

Liite 1 Näytemäärätestit

Ajo 20.9.2019. Taulukossa 21 on esitetty näytemäärätestien vasteet. Näyte ei sisältänyt menetelmällä määritettävissä olevaa pitoisuutta heptaania, joten se on jätetty tarkastelun ulkopuolelle.

Taulukko 21. Analyyttien piikkien pinta-alat (A) kahdella näytemäärällä kahdesta eri prosessivesinäytteestä.

Näyte	Etanoli (A)	Tolueeni (A)
Näyte 1, 5 ml	16,483	29,989
	13,857	18,337
Näyte 2, 5 ml	14,317	22,462
	15,155	20,558
Näyte 1, 10 ml	15,076	39,375
	14,603	36,909
	14,986	39,683
Näyte 2, 10 ml	14,973	37,233
	14,456	42,502
	16,704	48,851

Liite 2 Suolan lisäytestit

Ajot 13.9. ja 8.10.2019. Taulukoissa 22 ja 23 on esitetty analyyttien pitoisuudet ja vasteet suolan lisäyksen kanssa ja ilman.

Taulukko 22. Analyyttien pitoisuudet ja piikkien pinta-alat (A) ilman suolan lisäystä.

Etanoli (ppm)	Etanoli (A)	Heptaani (ppm)	Heptaani (A)	Tolueeni (ppm)	Tolueeni (A)
6,69	4,664	6,42	228,928	5,96	779,887
13,4	11,606	12,8	296,037	11,9	1586,234
29,1	23,327	28,0	2767,885	26,0	4329,517
35,7	47,357	34,3	3645,920	31,9	6115,886
60,9	40,912	58,4	8427,500	54,3	7157,038
68,0	51,305	65,2	12870,466	60,6	10265,068

Taulukko 23. Analyyttien pitoisuudet ja piikkien pinta-alat (A) suolan lisäyksen (NaCl) kanssa.

Etanoli (ppm)	Etanoli (A)	Heptaani (ppm)	Heptaani (A)	Tolueeni (ppm)	Tolueeni (A)
6,69	10,011	6,42	258,628	5,96	1262,639
13,4	18,251	12,8	421,989	11,9	2116,622
29,1	33,026	28,0	2340,401	26,0	4998,128
35,7	27,720	34,3	5096,208	31,9	4881,605
60,9	60,950	58,4	9210,848	54,3	7925,690
68,0	75,382	65,2	13792,116	60,6	8681,808

Suolamäärätestin kalibrointiliuoksen pitoisuudet olivat etanoli 31 ppm, heptaani 38 ppm ja tolueeni 36 ppm. Taulukossa 24 on esitetty analyyttien vasteet eri suolamäärillä.

Taulukko 24. Suolamäärätestien analyyttien piikkien pinta-alat (A).

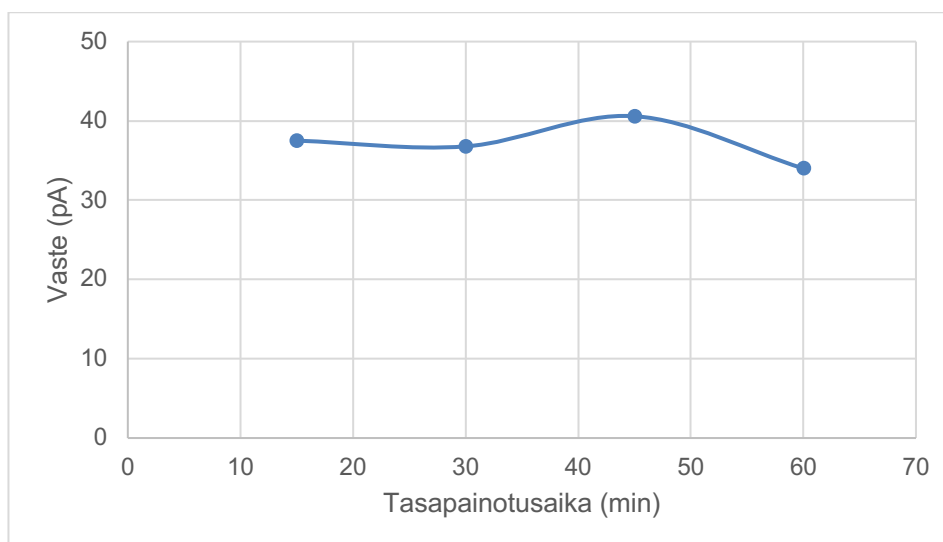
Suolan määrä (g)	Etanoli (A)	Heptaani (A)	Tolueeni (A)
0,5	23,403	7,172	1595,165
	21,445	4,570	1186,092
	27,167	6,221	1555,265
1,0	31,573	6,376	1802,386
	32,488	6,015	1621,495
	27,346	3,104	1069,257
1,5	48,675	1,936	1217,799
	35,010	4,499	1064,112
	38,274	2,990	1382,585
2,0	40,642	4,142	1645,783
	52,726	2,065	1465,856
	51,764	1,776	1301,006

Liite 3. Alustavat tasapainotusaikatestit 70 °C:ssa

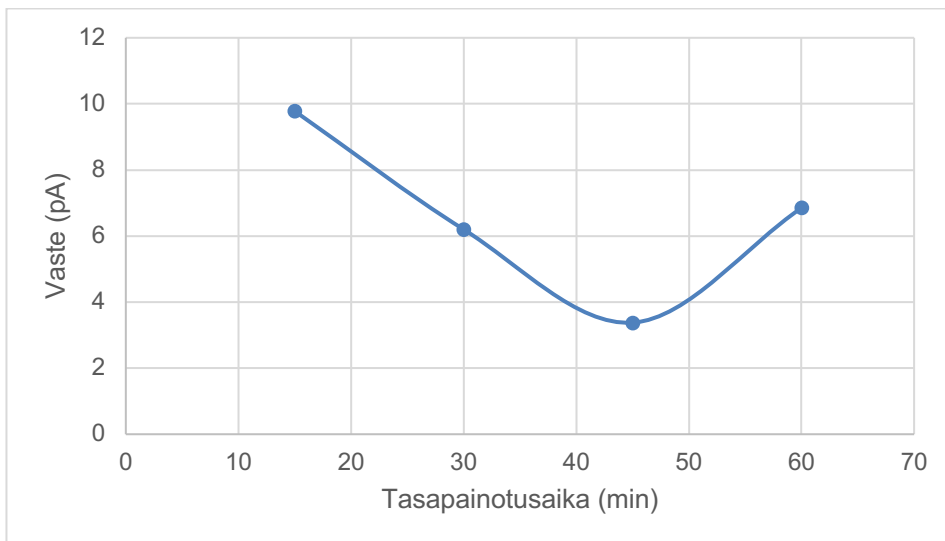
Ajo 25.9.2019. Kalibroitiliuoksen pitoisuus kaikille analyyteille oli 30 ppm ja suolana NaCl 20 m-%. Analyyttien vasteet ovat taulukossa 25 ja kuvaajat kuvissa 16–18.

Taulukko 25. Analyyttien piikkien pinta-alat (A) eri tasapainotusajoilla 70 °C:ssa.

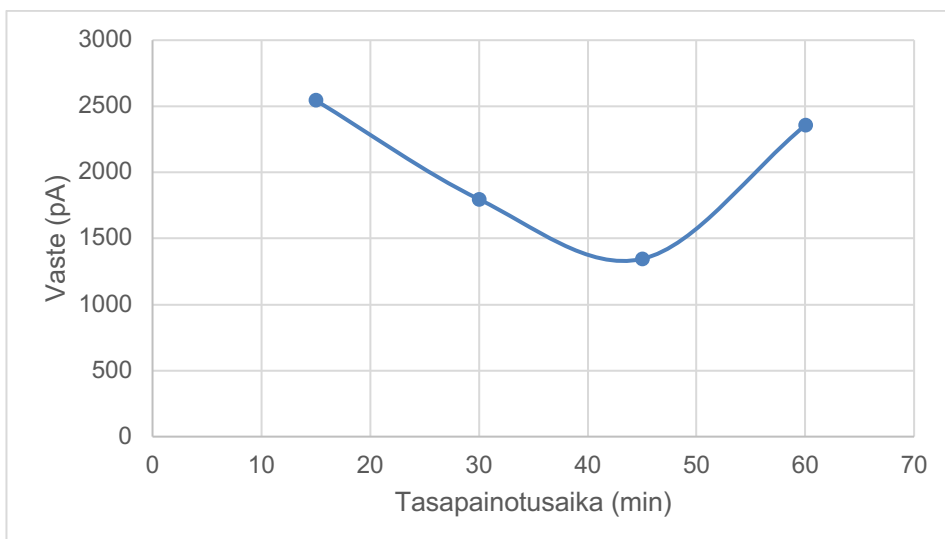
Tasapainotusaika (min)	Heptaani (A)	Etanoli (A)	Tolueeni (A)
15	11,991	41,286	3190,497
	8,511	37,862	2190,050
	8,851	33,383	2254,119
30	8,761	39,005	2332,821
	4,746	36,238	1486,158
	5,091	35,083	1571,097
45	4,971	38,794	1706,776
	3,105	39,447	1270,302
	2,061	43,539	1057,624
60	6,419	32,060	2310,008
	6,235	34,937	2339,267
	7,884	34,995	2417,982



Kuva 16. Etanolin kuvaaja eri tasapainotusajoilla 70 °C:ssa.



Kuva 17. Heptaanin kuvaaja eri tasapainotusajoilla 70 °C:ssa.



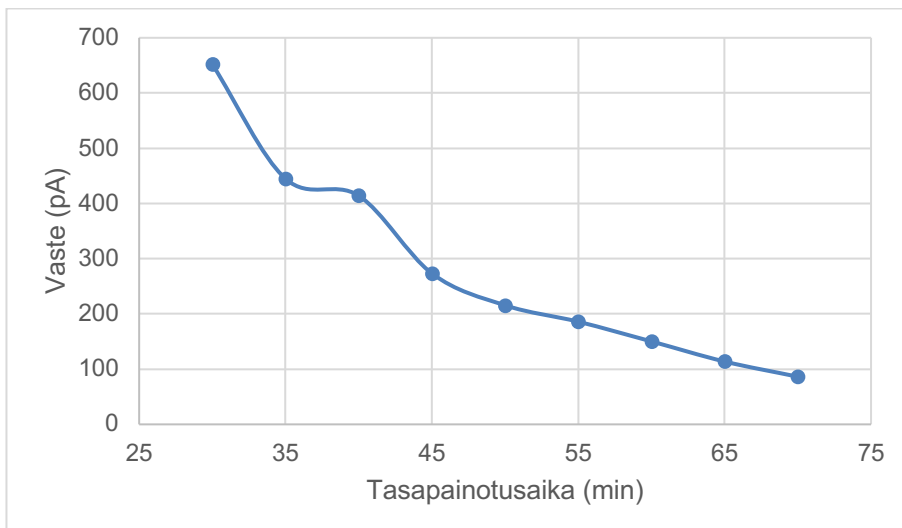
Kuva 18. Tolueenin kuvaaja eri tasapainotusajoilla 70 °C:ssa.

Liite 4 Tasapainotusaikatestit 70 °C:ssa

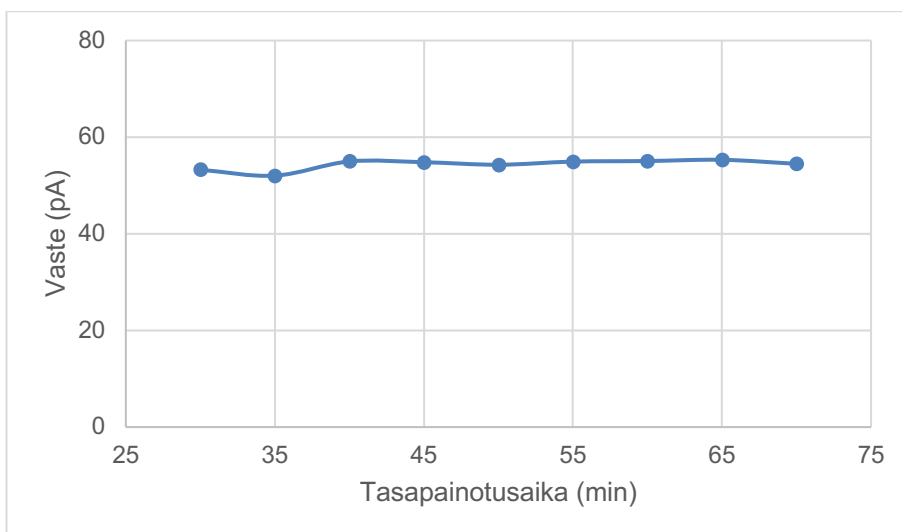
Ajo 4.10.2019. Liuoksen pitoisuudet olivat heptaani 38 ppm, etanoli 30 ppm ja tolueeni 37 ppm. Aikaparametreilla 50 ja 55 min on kaksi rinnakkaisnäytettä. Analyyttien vasteet ovat taulukossa 26 ja kuvaajat kuvissa 19–21.

Taulukko 26. Analyyttien piikkien pinta-alat (A) eri tasapainotusajoille 70 °C:ssa.

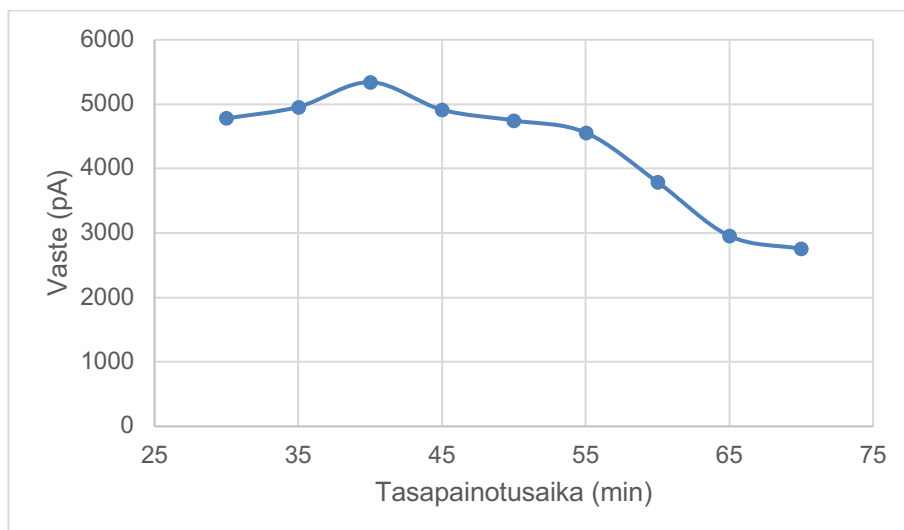
Tasapainotusaika (min)	Heptaani (A)	Etanoli (A)	Tolueeni (A)
30	688,822	55,066	4847,274
	658,578	52,910	4694,711
	608,271	51,793	4796,304
35	389,899	46,727	4060,111
	478,798	53,911	5037,033
	465,764	55,480	5775,707
40	421,389	54,990	5446,619
	435,585	53,516	5269,754
	385,081	56,418	5309,983
45	306,142	54,858	5088,233
	269,790	54,258	4886,135
	244,011	55,333	4768,823
50	210,110	54,215	4655,905
	221,011	54,378	4840,632
55	181,024	53,835	4613,741
	190,775	56,053	4504,572
60	175,220	54,854	4078,621
	135,765	54,934	3587,304
	139,562	55,403	3712,251
65	118,591	55,991	2936,539
	110,047	54,078	2826,285
	112,639	55,876	3107,069
70	111,02	55,391	3319,818
	78,904	54,867	3105,851
	68,947	53,209	1840,378



Kuva 19. Heptanin kuvaaja eri tasapainotusajoille 70 °C:ssa.



Kuva 20. Etanolin kuvaaja eri tasapainotusajoille 70 °C:ssa.



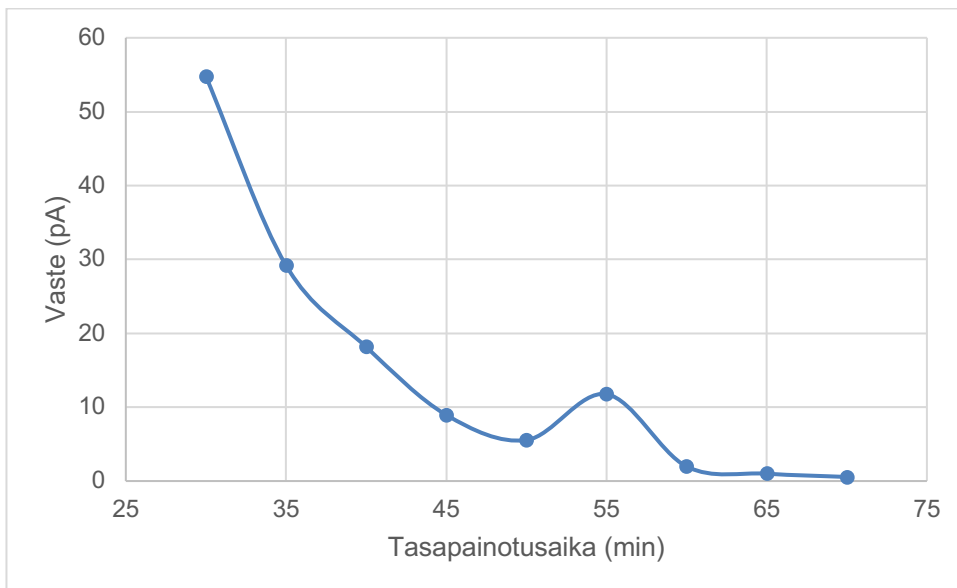
Kuva 21. Tolueenin kuvaaja eri tasapainotusajoille 70 °C:ssa.

Liite 5 Tasapainotusaikatestit 80 °C:ssa

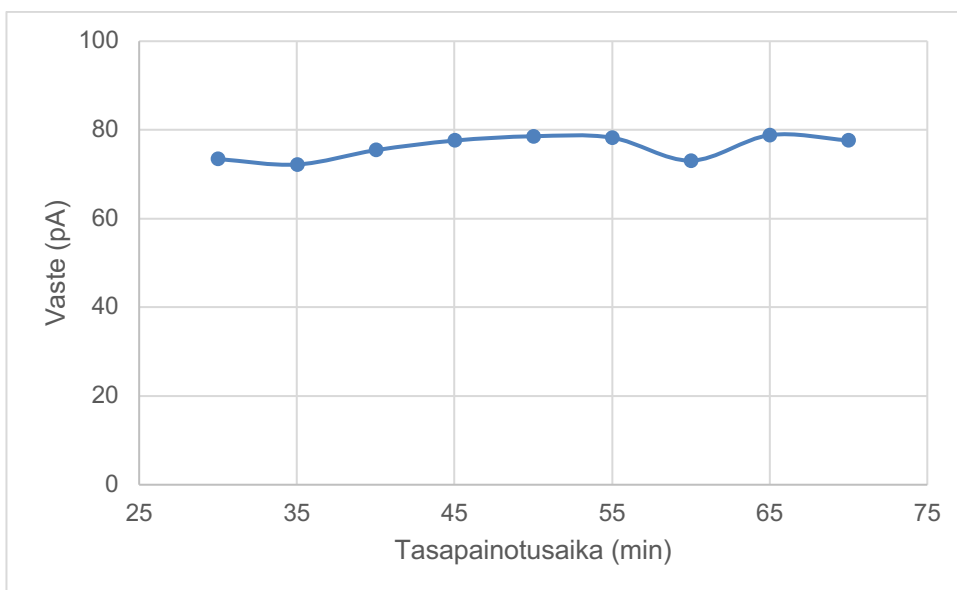
Ajo 4.10.2019. Liuoksen pitoisuudet olivat heptaani 38 ppm, etanoli 30 ppm ja tolueeni 37 ppm. Aikaparametreilla 65 ja 70 min oli kaksi rinnakkaisnäytettä. Analyyttien vasteet ovat taulukossa 27 ja kuvaajat kuvissa 22–24.

Taulukko 27. Analyyttien piikkien pinta-alat (A) eri tasapainotusajoille 80 °C:ssa.

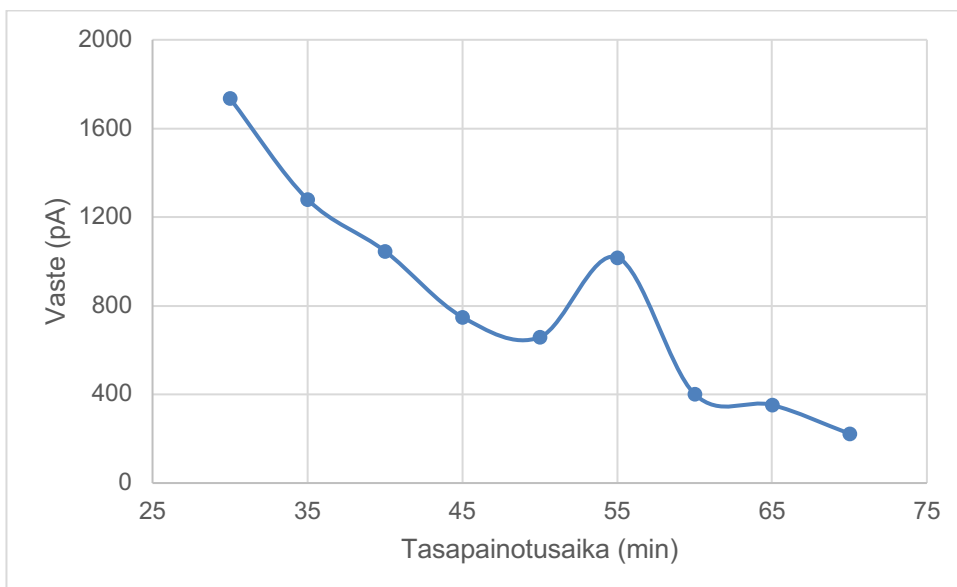
Tasapainotusaika (min)	Heptaani (A)	Etanoli (A)	Tolueeni (A)
30	63,059	73,825	1947,290
	46,990	71,260	1425,350
	54,266	75,216	1835,290
35	30,900	72,533	1251,271
	26,350	66,583	1142,179
	30,306	77,477	1448,421
40	26,489	77,427	1375,820
	17,324	76,546	1074,661
	10,664	72,301	690,683
45	9,569	77,073	736,388
	8,408	77,563	720,042
	8,878	78,140	791,178
50	7,427	78,304	735,976
	5,009	78,780	695,496
	4,198	78,623	542,914
55	14,232	79,044	1187,920
	8,021	77,930	821,673
	13,018	77,778	1044,880
60	2,246	77,068	434,552
	2,411	77,049	482,928
	1,271	65,135	287,264
65	1,040	79,333	386,678
	0,954	78,313	318,115
70	0,599	77,978	223,264
	0,506	77,303	222,324



Kuva 22. Heptaanin kuvaaja eri tasapainotusajoille 80 °C:ssa.



Kuva 23. Etanolin kuvaaja eri tasapainotusajoille 80 °C:ssa.



Kuva 24. Tolueenin kuvaaja eri tasapainotusajoille 80 °C:ssa.

Liite 6 Tasapainotuslämpötilatestit

Ajo 7.10.2019. Liuoksen pitoisuudet olivat heptaani 38 ppm, etanoli 30 ppm ja tolueni 37 ppm. Analyyttien vasteet eri tasapainotuslämpötiloissa on esitetty taulukossa 28.

Taulukko 28. Analyyttien piikkien pinta-alat (A) tasapainotuslämpötiloissa 65–90 °C.

Tasapainotuslämpötila (°C)	Heptaani (A)	Etanoli (A)	Tolueni (A)
65	69,394	39,835	2769,688
	67,601	42,862	3251,227
	54,893	43,042	3535,959
70	45,564	51,676	2710,594
	62,320	54,349	3505,389
	53,576	51,441	2899,570
75	61,526	60,263	2894,352
	58,428	63,916	3239,616
	48,431	62,387	2876,436
80	35,846	73,519	2183,553
	40,193	73,020	2551,341
	51,987	73,965	2990,825
85	35,712	80,613	2077,373
	26,894	86,070	2204,807
	27,764	83,349	2163,300
90	27,290	97,205	1860,282
	30,610	97,336	2374,275
	18,406	96,889	1489,821

Liite 7 Faktorit ja kaavat

Ajo 11.10.2019. Kalibrointiliuoksen pitoisuudet olivat etanoli 17 ppm, heptaani 15 ppm ja tolueeni 15 ppm. Vasteet ovat taulukossa 29, lasketut analyttikohtaiset faktorit taulukossa 30 sekä laskujen kaavat 12 ja 13.

Taulukko 29. Yhden pisteen kalibroinnin tuottamat piikkien pinta-alat (A) kaikki analyteille.

	Etanoli (A)	Heptaani (A)	Tolueeni (A)
	26,098	127,641	2137,115
	28,198	131,399	2321,523
	27,289	126,287	2396,697
	27,051	118,218	2051,185
	27,091	104,223	2148,512
	28,161	99,595	2242,754
KA	27,31	117,89	2216,30
s	0,79	13,19	128,41
RSD-%	2,9	11,2	5,8

Taulukko 30. Yhden pisteen kalibroinnin perusteella lasketut analyttikohtaiset faktorit (f).

	Etanoli (f)	Heptaani (f)	Tolueeni (f)
	0,638	0,118	0,0072
	0,590	0,114	0,0066
	0,610	0,119	0,0064
	0,615	0,127	0,0075
	0,614	0,144	0,0072
	0,591	0,151	0,0069
KA	0,610	0,129	0,0070
s	0,018	0,015	0,0004
RSD-%	2,9	11,8	5,8

Kaava 12 on faktorin laskemiseen analyytin piikin pinta-alan ja kalibroitiliuoksen pitoisuuden perusteella [29, s. 3]:

$$f = \frac{C}{A} \quad (12)$$

f = faktori

C = yhdisteen tunnettu pitoisuus

A = analyytin piikin pinta-ala

Kaava 13 on näytteen pitoisuuden laskemiseen analyyttikohtaisen faktorin ja piikin pinta-alan perusteella [29, s. 3]:

$$C = f * A \quad (13)$$

Liite 8 Kalibrointiliuosten pitoisuudet ja vasteet

Ajo 8.10.2019. Kalibrointiliuosten pitoisuudet ja vasteet kaikille analyyteille ovat taulukoissa 31–33.

Taulukko 31. Kalibrointiliuosten analyyttien pitoisuudet.

Kalibrointiliuos	Etanoli (ppm)	Heptaani (ppm)	Tolueeni (ppm)
1	5,1	4,7	4,7
2	10,3	9,4	9,4
3	23,4	21,4	21,3
4	37,9	34,7	34,6
5	52,7	48,3	48,1
6	72,9	66,7	66,5
7	87,4	80,0	79,8
8	102,6	94,0	93,7
9	123,7	113,3	113,0

Taulukko 32. Kalibrointiliuosten 1–3 analyyttien pinta-alat (A), 6 rinnakkaista näytettä / pitoisuustaso.

Liuos	Heptaani (A)	Etanoli (A)	Tolueeni (A)
1	385,829	9,559	667,263
	387,904	9,875	786,159
	342,769	9,784	674,697
	299,571	9,563	613,416
	284,915	9,734	610,754
	247,099	9,284	560,690
2	727,510	18,969	1685,645
	736,617	19,857	1954,028
	656,479	18,685	1793,421
	611,072	18,880	1712,322
	562,925	19,588	1649,530
	507,577	19,460	1603,379
3	1686,480	45,232	5754,980
	1571,872	45,710	5430,405
	1404,887	42,972	5283,021
	1352,034	44,563	5111,655
	1186,437	43,951	5010,334
	1139,959	44,832	5385,632

Taulukko 33. Kalibrointiliuosten 4–9 analyttien pinta-alat (A), 6 rinnakkaista näytettä / pitoisuustaso.

Liuos	Heptaani (A)	Etanoli (A)	Tolueeni (A)
4	3735,024	70,763	9624,923
	3567,270	69,902	8513,487
	3766,386	73,810	9520,546
	3570,026	71,283	9242,666
	3416,069	71,847	8702,059
	3198,049	70,707	8496,653
5	7333,188	94,956	12002,825
	7496,748	95,293	12577,998
	7406,773	97,175	13602,250
	6995,751	94,184	11333,009
	7160,494	98,361	12728,537
	6904,273	96,562	12367,218
6	6154,495	126,954	14381,974
	6480,743	132,898	14225,905
	6358,896	125,688	13316,63
	6152,386	126,363	13461,462
	6299,415	136,781	13831,048
	5896,833	135,880	12619,093
7	8913,449	161,762	22323,396
	9004,108	161,854	16718,827
	8914,715	161,584	16055,107
	8172,421	159,195	17060,924
	6717,074	150,341	12632,998
	8317,734	154,720	16455,904
8	7200,476	178,334	19436,262
	7270,023	176,366	19832,333
	7225,774	184,799	22279,806
	7203,003	188,580	23020,971
	6694,210	186,834	20796,858
	6316,827	181,409	19128,982
9	5666,838	215,115	22121,624
	4952,519	221,029	17531,993
	5232,970	219,762	21018,161

Liite 9 Saantokokeiden tulokset ja esimerkki kromatogrammista

Ajo 11.10.2019. Alkuperäisen näytteen pitoisuudet on esitetty ainoastaan tolueenille (taulukko 34), sillä näyte ei sisältänyt menetelmällä määritettävissä olevia pitoisuuksia heptaania tai etanolia.

Taulukko 34. Alkuperäisen näytteen vasteet (A) ja pitoisuudet (ppm) tolueenille.

Tolueeni (A)	Tolueeni (ppm)
160,787	1,12
164,904	1,15
158,260	1,11
163,290	1,14

Taulukoissa 35 ja 36 ovat prosessivesinäytteeseen valmistettujen saantokokeiden vasteet ja faktorilla lasketut pitoisuudet.

Taulukko 35. Ensimmäisen saantokokeen lisätyt pitoisuudet: etanoli 7,9 ppm, heptaanii 7,1 ppm ja tolueeni 7,3 ppm. Analyyttien vasteet (A) ja faktorilla lasketut pitoisuudet (ppm).

Etanoli (A)	Etanoli (ppm)	Heptaanii (A)	Heptaanii (ppm)	Tolueeni (A)	Tolueeni (ppm)
12,621	7,7	22,298	2,9	932,990	6,5
12,522	7,6	20,308	2,6	990,564	6,9
13,038	8,0	18,274	2,4	878,866	6,1
13,131	8,0	14,689	1,9	794,285	5,5
12,741	7,8	13,273	1,7	854,652	6,0
13,082	8,0	10,522	1,4	742,849	5,2
13,519	8,2	8,316	1,1	735,244	5,1
13,055	8,0	6,040	0,78	694,187	4,8

Taulukko 36. Toisen saantokokeen lisätyt pitoisuudet: etanoli 16,5 ppm, heptaani 14,9 ppm ja tolueeni 15,3 ppm. Taulukossa analyttien vasteet (A) ja faktorilla lasketut pitoisuudet (ppm).

Etanoli (A)	Etanoli (ppm)	Heptaani (A)	Heptaani (ppm)	Tolueeni (A)	Tolueeni (ppm)
26,209	16,0	41,402	5,3	2016,723	14,1
27,303	16,7	36,889	4,8	1817,420	12,7
26,622	16,2	35,624	4,6	1970,002	13,8
25,991	15,8	29,837	3,8	1751,073	12,2
26,380	16,1	25,450	3,3	1676,320	11,7
28,846	17,6	23,503	3,0	1830,273	12,8
26,427	16,1	15,478	2,0	1457,201	10,2
27,697	16,9	12,939	1,7	1435,083	10,0

Taulukoissa 37 ja 38 ovat saantokokeiden tulokset kahdelle eri pitoisuustasolle.

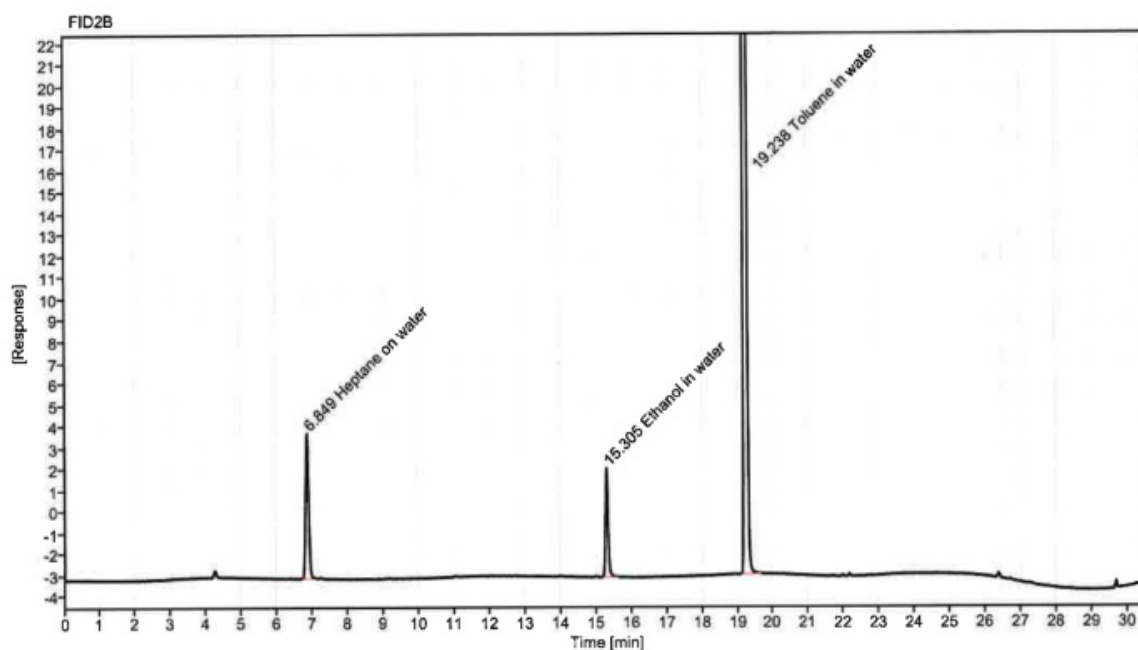
Taulukko 37. Ensimmäisen lisäyastian (7 ppm) saannot (%) kaikille analyteille.

	Saanto Etanoli (%)	Saanto Heptaani (%)	Saanto Tolueeni (%)
	97,4	40,3	73,5
	96,7	36,7	79,0
	100,6	33,0	68,4
	101,4	26,5	60,3
	98,3	24,0	66,0
	101,0	19,0	55,4
	104,4	15,0	54,7
	100,8	10,9	50,8
KA (%)	100,1	25,7	63,5
s (%)	2,5	10,5	9,9
RSD %	2,5	40,8	15,6

Taulukko 38. Toisen lisäystason (15 ppm) saannot kaikille analyyteille.

	Saanto Etanoli (%)	Saanto Heptaani (%)	Saanto Tolueneeni (%)
	96,8	35,8	84,6
	100,8	31,9	75,5
	98,3	30,8	82,5
	96,0	25,8	72,5
	97,4	22,0	69,1
	106,5	20,3	76,1
	97,6	13,4	59,1
	102,3	11,2	58,1
KA (%)	99,5	23,9	72,2
s (%)	3,5	8,8	9,8
RSD %	3,6	36,9	13,5

Kuvassa 25 on esimerkki saantokokeen kromatogrammista.



Kuva 25. Esimerkki kromatogrammista toisen lisäystason saantokokeesta (15 ppm).

Liite 10 Prosessivesinäytteen vasteet

Ajo 16.10.2019. Taulukossa 39 on prosessivesinäytteen vasteet, 16 toistoa, 2 henkilön valmistamat näytteet.

Taulukko 39. Prosessivesinäytteen analyyttien pinta-alat (A).

Etanoli (A)	Tolueeni (A)
19,462	616,715
19,414	599,065
19,798	579,767
19,836	577,752
19,212	513,719
20,789	545,666
20,359	505,868
18,488	445,709
21,032	426,009
21,410	582,213
21,160	556,825
21,153	553,219
19,869	498,628
20,916	531,981
20,769	533,731
20,496	520,061