



Rosa Niiranen

Maalien vesipitoisuuden määrittäminen kaasukromatografisesti

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Laboratorioanalyttikko (AMK)

Laboratorioanalytiikka

Opinnäytetyö

7.11.2024

Tiivistelmä

Tekijä:	Rosa Niiranen
Otsikko:	Maalien vesipitoisuuden määrittäminen kaasukromatografisesti
Sivumäärä:	41 sivua + 5 liitettä
Aika:	7.11.2024
Tutkinto:	Laboratorioanalytiikka (AMK)
Tutkinto-ohjelma:	Laboratorioanalytiikka
Ohjaajat:	Tutkija Leea Kuusimäki Lehtori Miika Kuivikko

Tämä opinnäytetyö käsittelee maalien vesipitoisuuden määrittämistä kaasukromatografisesti. Opinnäytetyö toteutettiin Tikkurila Oyj / PPG Tikkurilan analyttisessä laboratoriossa. Työn tavoitteena oli ottaa käyttöön ja validoida ISO 23168 -standardi Agilent Technologiesin 7820A-kaasukromatografille, jossa on lämmönjohtokykyyn perustuva detektori.

Tutkittavina näytteinä työssä käytettiin kolmea vesiohenteista maalia, joista kaksi olivat akrylaattimaaleja ja yksi silikonipohjainen pohjusteaine. Maalit valittiin niin, että ne sisältäisivät eri määrät vettä. Vesiohenteisten maalien osalta haluttiin tutkia, onko menetelmällä mahdollista saada luotettavia ja toistettavia tuloksia. Näiden lisäksi valittiin kaksi liuotinohenteistä maalia, jotka molemmat olivat alkydimaaleja. Liuotinohenteisissä maaleissa haluttiin selvittää, voidaanko niistä määrittää vesi kvalitatiivisesti.

Työssä tutkittiin validointiparametreinä tarkkuutta, toistettavuutta, toteamis- ja määrittämissrajaa, herkkyyttä sekä mittausepävarmuutta. Näitä parametrejä tutkittiin tekemällä maalinäytteistä rinnakkaismääryksiä sekä saantokokeita. Maalinäytteiden lisäksi työn aikana seurattiin vastenäyteen retentioaikaa sekä valmistettiin nollanäytteitä varmistamaan laitteiston toimivuutta.

Menetelmän toiminta- ja määrittämissrajaksi saatiin grammaa kohden $2,0 \cdot 10^{-4}$ m-% ja 0,06 m-%. Pitoisuudet ovat erittäin pienet ja kertovat menetelmän herkkyydestä. Saantokokeista saatiin kaikille vesiohenteisille maaleille hyvät tulokset, jotka olivat noin 98–99 %. Saannon lisäksi suhteellinen keskihajonta oli vesiohenteisten maalien rinnakkaisnäytteillä alle 1 %. Liuotinohenteisten maalien osalta tulokset olivat huomattavasti huonompia, kuin vesiohenteisten maalien. Maali D ei saavuttanut saantokokeessa hyväksyttäviä rajoja, kun taas maali E saavutti ≥ 85 %. Suhteelliset keskihajonnat olivat myös suurempia ja osittain sallituissa rajoissa < 5 %. Validointia voidaan pitää onnistuneena, koska sillä saatiin tarkkoja ja toistettavia tuloksia.

Avainsanat: kaasukromatografia, maalit, vesipitoisuus

Tämän opinnäytetyön alkuperä on tarkastettu Turnitin Originality Check -ohjelmalla.

Abstract

Author: Rosa Niiranen
Title: Determination of Water Content in Paints
Number of Pages: 41 pages + 5 appendices
Date: 7 November 2024

Degree: Bachelor of Laboratory Services
Degree Programme: Laboratory Sciences
Professional Major: Laboratory Sciences
Supervisors: Leea Kuusimäki, Researcher
Miika Kuivikko, Senior Lecturer

This thesis concerns the determination of the water content of paints by gas chromatography. The thesis work was made in the analytical laboratory of Tikkurila Oyj/ PPG Tikkurila. The goal was to introduce and validate the ISO 23168 standard for the Agilent Technologies 7820A gas chromatograph with thermal conductivity detector.

Three water-based paints were used as test samples, two of which were acrylate paints, and one was a silicone-based primer. The paints were chosen to contain different amounts of water. For the water-based paints, the aim was to examine if it is possible to achieve reliable and repeatable results with this method. In addition, two solvent-based paints were selected, each of them being an alkyd paint. For solvent-based paints, the aim was to examine if the water could be determined qualitatively.

The validation parameters examined were accuracy, repeatability, detection and quantification limits, sensitivity and measurement uncertainty. These parameters were examined by making duplicate analyses of paint samples and by recovery tests. In addition to the paint samples, the response factor retention time was followed during the examination, and blank samples were prepared to ensure the proper functioning of the equipment

The detection and quantification limits of the method were determined to be $2.0 \cdot 10^{-4}$ m-% and 0.06 m-% per gram. These very low limits indicate the high sensitivity of the method. Recovery tests gave good results for all water-based paints, between 98 % and 99 %. Additionally, the relative standard deviation for the duplicate samples of water-based paints was less than 1 %. For solvent-based paints, the results were significantly poorer compared to the water-based paints, as paint D did not meet the acceptable limits for the recovery test, while paint E achieved ≥ 85 %. Standard deviations were also higher, although partially within the acceptable limits of < 5 %. Overall, the validation can be considered successful as it produced accurate and repeatable results.

Keywords: gas Chromatography, paints, water content

Sisällys

Lyhenteet

1	Johdanto	1
2	Näytteet	3
2.1	Vesiohenteiset maalit	3
2.2	Liuotinhenteinen maali	4
2.3	Tutkittavat maalit	4
3	Menetelmät	5
3.1	Kaasukromatografia	5
3.1.1	Perusteet	5
3.1.2	Laitteiston toimintaperiaate	6
3.1.3	CP-Volamine-kolonne	7
3.1.4	Lämmönjohtokykydetektori	8
3.2	Sisäinen standardi	9
3.3	Tulosten käsittely	10
4	Validointi	11
4.1	Toteamis- ja määrittäysraja	12
4.2	Saantokoe	13
4.3	Toistettavuus	13
4.4	Mittausepävarmuus	14
4.5	F- ja T-testi	15
5	Reagenssit ja laitetiedot	16
5.1	Reagenssit	16
5.1.1	Stabilointi	16
5.1.2	Molekyyliseula	17
5.2	Laite- ja ajotiedot	18
6	Näytteiden esikäsittely	19
7	Tulokset	22
7.1	Kromatogrammit	22

7.2	Standardisuurien valmistuksen testaus	23
7.3	Säilyvyys	26
7.4	Toteamis- ja määritysraja	27
7.5	Toistettavuus	28
	7.5.1 Rinnakkaisnäytteet	28
	7.5.2 Injektoiden välinen toistettavuus	30
7.6	Saantokoe	31
7.7	Injektio menetelmien tilastollinen vertailu	33
7.8	Vastenäytteen seuranta	34
7.9	Mittausepävarmuus	37
8	Yhteenveto	37
	Lähteet	39
	Liitteet	
	Liite 1: Saantokokeiden tulokset	
	Liite 2: Maalien kromatogrammit	
	Liite 3: Toteamis- ja määritysrajatulokset	
	Liite 4: Maalinäytteiden tuloksia	
	Liite 5: MUKIT-raportti	

Lyhenteet

BHT:	Butyylihydroksytolueeni. Synteettinen antioksidantti.
GC:	Gas chromatography. Kaasukromatografia.
ISO:	International Organization for standardization. Kansainvälinen standardisoimisjärjestö.
ISTD:	Internal standard. Sisäinen standardi.
LOD:	Limit of detection. Toteamisraja.
LOQ:	Limit of quantitation. Määritysraja.
MUKit:	Measurement Uncertainty Kit. Mittausepävarmuusohjelmisto.
RSD:	Relative Standard Deviation. Suhteellinen keskihajonta.
SD:	Standard Deviation. Otoskeskihajonta.
SVOC:	Semi volatile organic compound. Puolihaihtuva orgaaninen yhdiste.
THF:	Tetrahydrofuraani. Orgaaninen liuotin.
TCD:	Thermal conductivity detector. Lämmönjohtokykydetektori.
UP-VESI:	Ultrapuhdas vesi.
VOC:	Volatile organic compound. Haihtuva orgaaninen yhdiste.

1 Johdanto

Tämä opinnäytetyö on toteutettu Tikkurila Oyj / PPG Tikkurilan analyttisessä laboratoriossa ja sen aiheena on maalien vesipitoisuuden määrittäminen kaasukromatografisesti. Työhön sisältyy uuden menetelmän ja laitteiston käyttöönotto sekä validointi. Määrittäminen perustuu ISO 23168 (International Organization for standardization) -standardiin. Analyysilaitteistona on käytetty Agilent Technologiesin 7820A-kaasukromatografia, jossa on lämmönjohtokykyyn perustuva TCD-detektori (thermal conductivity detector).

Työn tavoitteena on ottaa käyttöön ja validoida ISO 23168 -standardin mukainen menetelmä sekä GC-TCD (gas chromatography), joka ei ole ollut aiemmin käytössä laboratoriossa. Keskeinen osa tutkimuksesta on selvittää, voiko tällä laitteistolla ja menetelmällä saada luotettavia ja toistettavia tuloksia. Lisäksi tutkitaan, miten hyvin valittu kolonni soveltuu vesipitoisuuden määrittämiseen, sillä kolonni on alun perin suunniteltu pääasiassa amiinien analysointia varten.

Perinteinen vedenmäärittäminen Karl Fischer -titraus perustuu ISO 760 -standardiin, joka on sopiva laboratorioihin, joissa vedenmäärittäminen tehdään säännöllisesti. Menetelmä on erittäin tarkka, mutta sen käyttö vaatii laitteiston säännöllistä puhdistusta ja ylläpitoa, joten sen huoltotarve on suurempi kuin esimerkiksi kaasukromatografilla. Tästä syystä ISO 23168 -standardin mukainen kaasukromatografinen menetelmä olisi parempi valinta satunnaisiin tai harvemmin tehtäviin vedenmäärittämiin, sillä se vaatii vähemmän ylläpitoa ja on helpommin käytettävämpi epäsäännöllisessä käytössä.

Laboratoriossa on aiemmin käytetty suuntaa antavaa tapaa arvioida maalien vesipitoisuutta, mutta siitä saatavat tulokset eivät ole tarkkoja. Vesipitoisuuden määrittäminen on tärkeää esimerkiksi ongelmatilanteiden selvittämisessä, kun halutaan esimerkiksi tietää, onko maalissa liian paljon tai liian vähän vettä. On myös tilanteita, joissa maalissa ei saisi olla vettä lainkaan. Vedenpitoisuus maalissa voi vaikuttaa merkittävästi maalin koostumukseen ja ominaisuuksiin, joten

pitoisuuden määrittäminen voi olla olennainen osa tutkimista. Tämän lisäksi vesipitoisuuden määrittäystä voidaan hyödyntää tuoteselosteissa VOC-yhdisteiden (Volatile organic compounds) määrittämisessä.

VOC-yhdisteet ovat sisäilmassa esiintyviä kaasuja, jotka ovat peräisin luonnollisista lähteistä tai ihmisen toiminnasta, kuten rakennus- ja sisustusmateriaaleista, pesuaineista sekä joskus mikrobikasvustoista. Rakennusmateriaaleiksi luetaan mukaan maalit, joissa VOC-pitoisuus on peräisin liuottimista. [1.]

VOC-yhdisteiden päästöt aiheuttavat kemiallisten reaktioiden kautta alailmakehässä otsonin muodostumista. Suurina pitoisuuksina se voi olla haitallista ihmisille, eläimille ja kasveille. [1.] VOC-yhdisteet aiheuttavat silmien ja limakalvojen ärsytystä sekä päänsärkyä [2].

Tiukentuneiden ympäristölainsäädäntöjen vuoksi VOC-yhdisteiden pitoisuuksien tarkka määrittäminen on tullut yhä tärkeämmäksi. Useat kansalliset sekä kansainväliset merkit, kuten Joutsenmerkki ja EU Ecolabel, edellyttävät VOC-yhdisteiden pitoisuuksien ilmoittamista. Esimerkiksi Joutsenmerkityissä tuotteissa VOC- sekä SVOC-yhdisteiden (semi volatile organic compounds) pitoisuus voidaan ilmoittaa niin sanottuna ”vähennettynä VOC-pitoisuutena”, mikä tarkoittaa vesipitoisuuden vähentämistä VOC-pitoisuuden laskennassa [3, s. 21]. Tämä VOC-pitoisuus voidaan määrittää ISO 11890-2 -standardin mukaisella määrittämisellä, jossa osa laskukaavoista edellyttää tuotteen vesipitoisuuden määrittämistä massaprosenteina [4, s. 19–20].

Maalien vesipitoisuuden määrittäminen antaisi siis arvokasta tietoa laboratorioille maalien koostumuksen kannalta. Menetelmän avulla maalien vesipitoisuutta voitaisiin tutkia niin kvantitatiivisesti kuin kvalitatiivisesti. Lisäksi vesipitoisuutta tarvitaan osassa VOC-yhdisteiden pitoisuuden määrittämisen laskentakaavoja.

2 Näytteet

2.1 Vesiohenteiset maalit

Vesiohenteiset maalit muodostuvat useista eri komponenteista. Pääkomponentteja ovat sideaineet, liuottimet, pigmentit, täyteaineet, paksuntajat ja lisäaineet. Kaikista näistä tärkein on sideaine, joka voi olla esimerkiksi akrylaattia, alkydia, tai polyuretaania. [5.] Sideaineen tehtävä on varmistaa, että maalikalvo pysyy yhtenäisenä ja tarttuu maalattavaan pintaan. Se voi sisältää yhden tai useamman aineosan ja kovettua eri mekanismeilla. Maalin tärkeimmät ominaisuudet, kuten kuivumisaika, tarttuvuus, kestävyys ja mekaaninen lujuus, riippuvat pääasiassa sideaineesta. Tästä syystä maalityypit luokitellaan ja nimetään usein juuri niiden sisältämän sideaineen perusteella. [6.]

Toinen olennainen komponentti on liuotin, joka vaikuttaa maalin viskositeettiin. Liuotin voi olla joko perinteinen liuotinaine tai vesi. Vesiohenteisten maalien liuottimena toimii vesi, mutta täysin liuotteettomia ne eivät ole. Vesiohenteisiin maaleihin voidaan lisätä liuottimia esimerkiksi tuomaan työstöaikaa, jolloin maalin kalvo pysyy pidemmän aikaa auki. Lisäksi osa raaka-aineista voi tuoda liuottimia vesiohenteisiin maaleihin. Maalin levittämisen ja kuivumisen aikana liuotin haihtuu, jättäen muut maalin ainesosat kiinni maalattavaan pintaan. Vesiohenteisistä maaleista haihtuu pääosin vettä. [5.]

Maalien muut komponentit, kuten pigmentit, antavan maalille värin ja peittokyvyn. Täyteaineiden avulla voidaan taas säädellä maalin paksuutta, kiiltoa sekä tekstuuria. [6.] Paksuntajia puolestaan käytetään estämään maalin valumista maalausprosessin aikana [7].

Vesiohenteisten maalien suosio on kasvanut merkittävästi niiden ympäristöystävällisyyden ja turvallisuuden ansiosta. Maalien valinta perustuu usein kestävän kehityksen edistämiseen, sillä ne tukevat tiukentuvien ympäristöstandardien noudattamista ja auttavat yrityksiä osoittamaan sitoutumisensa ekologisiin tavoitteisiin. Tämä parantaa yritysten imagoa ympäristötietoisten asiakkaiden silmissä. Lisäksi vesiohenteiset maalit kuivuvat nopeasti, ovat lähes hajuttomia ja

tekevät maalausprosessista turvallisemman. Näillä maaleilla saavutetaan pitkä huoltomaalausväli ja ne kestävät erityisen hyvin auringonvaloa, mikä lisää niiden käyttöikä. Kaiken kaikkiaan vesiohenteiset maalit tarjoavat ympäristöystävällisen ja käytännöllisen vaihtoehdon liuotinohenteisille maaleille. [5.]

2.2 Liuotinohenteinen maali

Liuotinohenteiset maalit tarjoavat merkittäviä etuja erityisesti teollisessa maalauksessa. Näiden maalien keskeinen vahvuus verrattuna vesiohenteisiin vaihtoehtoihin on niiden erinomainen tarttuvuus erilaisiin pintoihin sekä kyky kestää haastavia olosuhteita. [8.] Liuotinohenteiset maalit luovat kestävän ja kulutusta sietävän pinnan, mikä tekee niistä erinomaisen valinnan kohteisiin, jotka altistuvat voimakkaalle mekaaniselle tai kemialliselle rasitukselle. Näiden maalien kyky kestää kosteutta ja alhaisia lämpötiloja tekee niistä erityisen soveltuvia ulkona käytettäviin projekteihin sekä vaativiin sääolosuhteisiin. Liuotinohenteisten maalien ominaisuudet tarjoavat lisää suojaa ja pitkäikäisyyttä erilaisissa ympäristöissä, mikä on tärkeää teollisessa käytössä. [5.]

Liuotinohenteisten maalien huono puoli on se, että ne tuottavat enemmän haihtuvia orgaanisia yhdisteitä. Tämän takia maalien käyttö edellyttää yleensä hyvää ilmanvaihtoa ja erityistä huolellisuutta työskentelyolosuhteiden turvallisuuden varmistamiseksi. [8.] Erot vesiohenteisten ja liuotinohenteisten maalien välillä liittyvät muun muassa niiden kuivumisaikaan, käyttömukavuuteen sekä ympäristöystävällisyyteen. Liuotinohenteisten maalien valintaan vaikuttavat usein myös pintakäsittelyn tekniset vaatimukset ja olosuhteet. [5.]

2.3 Tutkittavat maalit

Tässä opinnäytetyössä tutkittavia maaleja on ollut yhteensä viisi kappaletta. Vesiohenteisiä maaleja on ollut kolme kappaletta ja liuotinohenteisiä kaksi. Taulukossa 1 on esitetty työssä käytetyt maalit ja niiden tiedot kootusti.

Taulukko 1. Tutkittavat näytteet.

Maalinäytteet	Maali A	Maali B	Maali C	Maali D	Maali E
Liutotin	Vesi	Vesi	Vesi	Liutotin	Liutotin
Veden m-%	57,6	49,2	~20	-	-

Maali A ja B ovat akrylaattimaaleja, kun taas Maali C on silikonipitoinen pohjusteaine. Vesiohenteisiksi maaleiksi valittiin näytteet, jotka sisältäisivät vettä eri määrät. Maali D ja E ovat molemmat alkydimaaleja, jotka eivät oletettavasti sisällä vettä.

3 Menetelmät

3.1 Kaasukromatografia

3.1.1 Perusteet

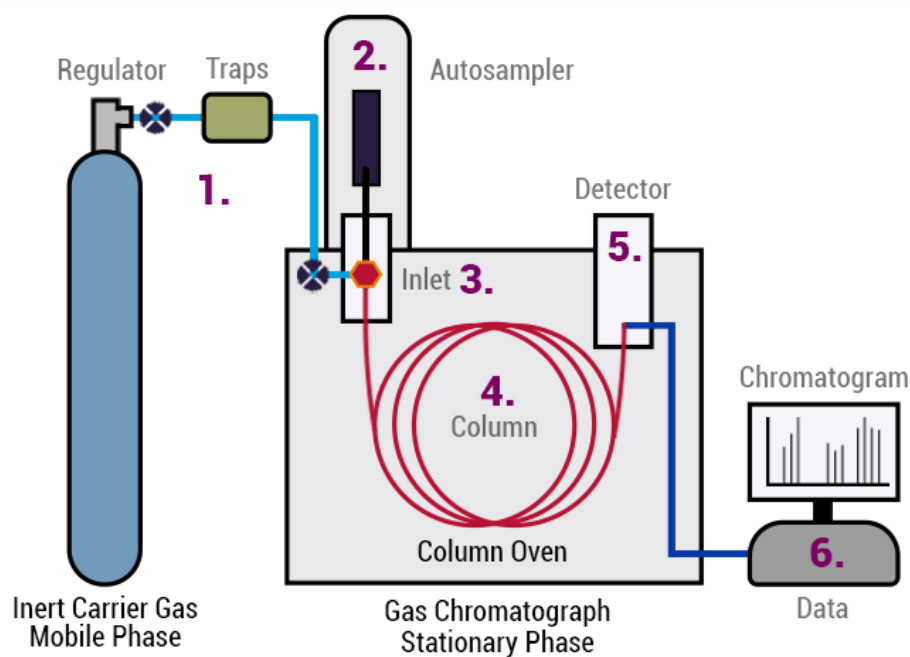
Kromatografia on erotusmenetelmä, joka perustuu tasapainoihin kahden toisiinsa liukenemattomien faasien välillä. Tutkittavat yhdisteet tarttuvat ”paikallaan pysyvään” stationäärifaasiin ja irtoavat tästä liikkuvaan faasiin. Yhdisteiden liikkumiseen vaikuttaa niiden tarttuminen stationäärifaasiin. Jos yhdiste tarttuu heikosti stationäärifaasiin, se viettää suurimman osan ajastaan liikkuvassa faasissa ja etenee nopeasti. Voimakkaasti tarttuvat yhdisteet puolestaan liikkuvat eteenpäin hitaammin. Tämän avulla yhdisteet saadaan eroteltua toisistaan. Tasapainoon faasien välillä vaikuttaa moni asia esimerkiksi poolisuus. [9, s. 140.]

Kaasukromatografiassa komponenttien erottumiseen vaikuttaa yhdisteiden erilaiset höyrynpaineet, liukeneminen stationäärifaasiin sekä höyrystyminen liikkuvaan faasiin. Keskeinen tekijä kaasukromatografiassa yhdisteiden erottumiseen on kolonnin lämpötilalla, joka vaikuttaa yhdisteiden höyrystymiseen ja täten tasapainoon stationäärifaasin ja liikkuvan faasin välillä. [9, s. 183.]

Stationäärifaasi on neste tai aine, joka ei liukene tai haihdu liikkuvaan faasiin. Kaasukromatografiassa stationäärifaasi sijaitsee kolonnin sisäpinnalla. Kolonnin läpi liikkuvana faasina virtaa inerttikaasu, joka ei saa reagoida tutkittavan yhdisteen kanssa. [9, s. 183.] Kaasukromatografiassa tutkittavien näytteiden tulee olla haihtuvia eivätkä ne saa hajota alle 400 °C:ssa. Yhdisteiden eluotumisjärjestykseen vaikuttaa yhdisteiden kiehumispisteet [10, s. 143].

3.1.2 Laitteiston toimintaperiaate

Kaasukromatografilaitteisto koostuu kaasujärjestelmästä, injektorista, kolonniuunista, kolonnista, detektorista sekä datan käsittely ohjelmistosta. Kuvassa 1 on esitetty kaasukromatografia laitteiston rakenne.



Kuva 1. Kaasukromatografian rakenne [11].

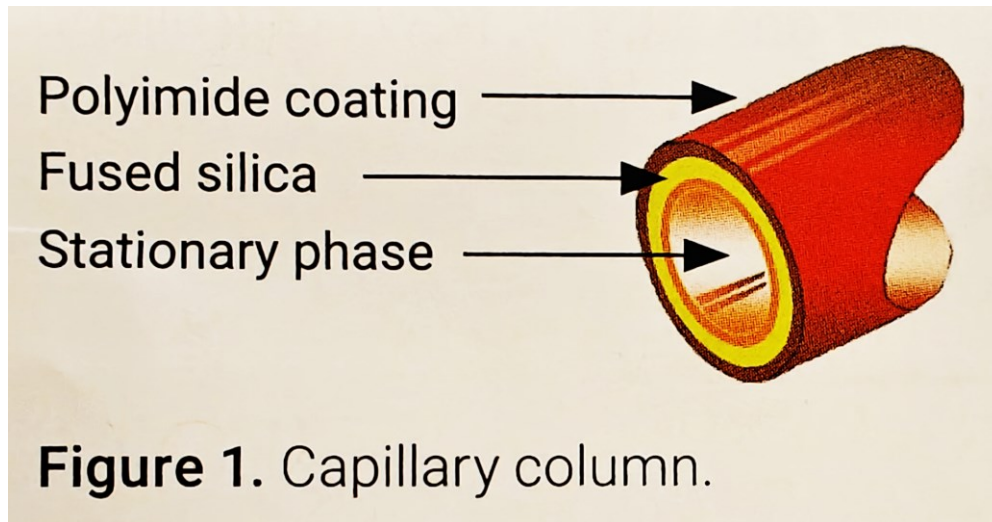
Kaasukromatografisessa ajossa näyte injektoidaan septumin läpi injektiokammiin. Yleisimpiä injektiotekniikoita ovat jakoinjektio ”split-injektio”, suorainjektio ja

kolonniin injektoiminen. Tässä työssä on käytetty jakoinjektiota. Jotta näytteet höyrystyvät nopeasti kaasufaasiin, injektorin lämpötilan on oltava korkea. Hyvä lämpötila injektorille on yleensä korkeimman kiehumispisteen omaavan näytteen lähellä. Liian matalassa lämpötilassa injektoriin muodostuu aerosolia ja liian korkeassa näytteet voivat hajota. Jakoinjektiossa jakoventtiilillä ohjataan osa kaasuvirrasta kolonnin pään ohi, jolloin vain osa kaasuvirtauksesta kulkeutuu kolonnille. Kolonniin menevän kaasun ja ohi menevän kaasun suhdetta voidaan vaihdella halutuksi. Injektiomenetelmä sopii hyvin suurille pitoisuuksille. [9, s. 186–187.]

Injektorikammioista näyte kulkeutuu kohti kolonnia, joka sijaitsee kolonniuunissa, jossa sen lämpötilaa voidaan kontrolloida ajon aikana. Kun lämpötilaa nostetaan ajon aikana lämpötilaohjelman mukaisesti, on kyseessä gradienttiaojo. Kolonnissa näyte kulkeutuu kohti detektoria. Tutkittavat yhdisteet havaitaan detektorilla ja ne nähdään kromatogrammissa piikkeinä.

3.1.3 CP-Volamine-kolonne

Projektin laitteiston kolonnina käytetään Agilent Technologiesin CP-Volamine-kappilaarikolonnia. Se on erityisesti tarkoitettu haihtuvien amiinien analysointiin, vaikka näyte sisältäisi vettä [12]. Projektissa tutkitaan vettä, mutta samalla kolonnilla voidaan tulevaisuudessa tutkia myös amiineja. Kuvassa 2 on esitetty kappilaarikolonnin rakenne.

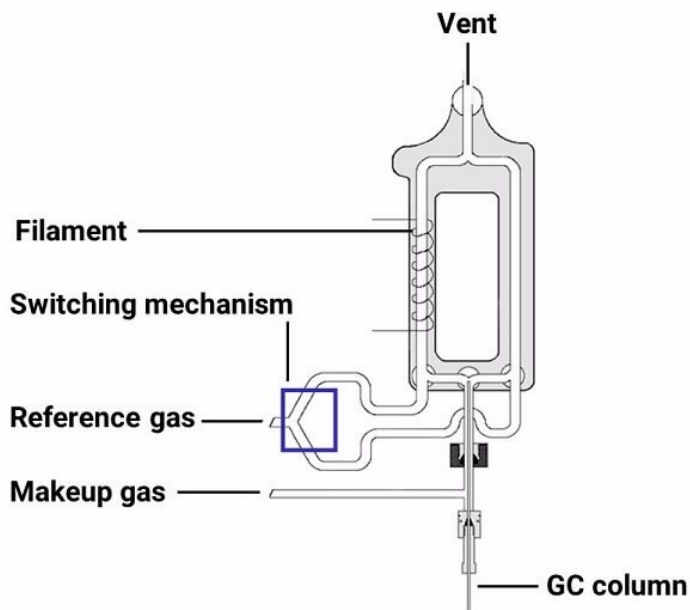


Kuva 2. Kapillaarikolonnin rakenne [13].

Kolonnissa silikakerroksen sisäpinta on pinnoitettu stationäärifaasilla, joka on usein silikapohjaista polymeeriä, polyetyleeniglykolia tai kiinteää adsorbenttia. Stationäärifaasi on tässä kolonnissa polaariton [13.] Stationäärifaasin poolittomuus voi muuttaa eluutusjärjestystä [9, s. 183].

3.1.4 Lämmönjohtokykydetektori

Detektorina projektissa on käytetty TCD-detektoria. Sen toimintaperiaate perustuu kahden kaasuvirran vertailuun. Toinen kaasuvirta on niin sanottu referenssivirtaus, joka on puhdasta kantokaasua, ja toinen kolonnilta tulevaa kantokaasua, joka sisältää näytteen. Kuvassa 3 on esitetty TCD-detektorin rakenne.



Kuva 3. TCD-detektorin rakenne [14].

Detektorin filamentti lämmitetään kuumemmaksi kuin detektorin muu rakenne, ja sen lämpötila pidetään vakiona mittausten aikana. Kun kolonnilta tuleva kaasuvirtaus kulkee filamentin läpi, referenssivirtaus ohjataan eri reittiä venttiilille. Näytettä sisältävä kaasuvirtauksen kulkiessa filamentin läpi sen lämmittämiseen tarvittava energiaa muuttuu. Energia muutos mitataan vaihtamalla referenssivirtauksen ja näytettä sisältävän virtauksen välillä viisi kertaa sekunnissa. Referenssivirtausta mitattaessa kolonnilta tuleva virtaus pakotetaan pois filamentilta, jolloin referenssivirtaus pääsee kulkemaan filamentin läpi. Laitteisto mittaa energian eron referenssi- ja näytevirtauksen välillä, mikä näkyy piikkinä kromatogrammissa. Detektorin voi halutessaan liittää osaksi detektorisarjaa, koska detektointivaiheessa TCD-detektori ei tuhoa näytettä. [15, s. 71.]

3.2 Sisäinen standardi

Sisäisen standardin eli ISTD:n (Internal standard) käyttö kromatografisessa analyysissä tarkoittaa, että näytteeseen lisätään tunnettu määrä yhdistettä, joka on kemiallisesti vakaa ja selkeästi erotettavissa analyytistä. ISTD:n on oltava riittävän samankaltainen, jotta matriisin vaikutukset kohdistuvat molempiin

samalla tavalla. Analyytin ja standardin signaaleja vertaamalla voidaan määrittää analyytin pitoisuus. Sisäisen standardin käyttäminen auttaa korjaamaan virheitä, jotka voivat johtua esimerkiksi näytteen käsittelyssä, matriisihäiriöistä tai laitteiston ongelmista. Koska nämä virheet vaikuttavat sekä standardiin että analyytin signaaliin samalla tavalla, niiden vaikutukset voidaan tasoittaa. [16, s. 109.]

Sisäinen standardi on erityisen hyödyllinen tilanteissa, joissa näytteen määrä tai instrumentin vaste vaihtelee eri ajojen välillä, tai kun näyte saattaa menettää osan aineesta valmistelun aikana. Tunnetun standardin käyttö auttaa tasapainottamaan nämä muutokset, jolloin detektorin vaste pysyy vakaana sekä analyytin että standardin osalta ja mahdollistaa tarkemman analyysin. [16, s. 109.]

3.3 Tulosten käsittely

ISO 23168 -standardissa tulosten laskeminen tapahtuu vastekertoimen avulla. Standardin mukaisesti vastenäyte valmistetaan punnitsemalla 0,4 g vettä, 0,4 g ISTD:tä eli 2-propanolia ja lisäämällä 10 ml THF:ä eli tetrahydrofuraania. [17, s. 4.] Standardista poikettiin puolittamalla näytemäärät, joten näytteet valmistettiin punnitsemalla 0,2 g UP- eli ultrapuhdasta vettä, 0,2 g IPA ja 5 ml THF. Jokaista mittausta kertaa valmistettiin tuore vastenäyte ja sitä injektoitiin kahdesti. Kaavassa 1 esitetään vastekertoimen laskeminen [17, s. 4].

$$r_w = \frac{(mc_w + m_{ds} \times P) \times A_{is}}{m_{is} \times A_{c_w}} \quad (1)$$

r_w , veden vaste

P , THF – laimennusliuottimen vesipitoisuus (g/g)

m_{ds} , THF – laimennusliuottimen massa (g)

m_{is} , ISTD:n massa (g) kalibrointiliuoksessa

mc_w , kalibrointiliuoksessa lisätyn veden massa (g)

A_{is} , ISTD:n piikin pinta – ala

A_c , vesipiikin pinta – ala

Rinnakkaisinjektioiden lasketuista vastekertoimista otettiin keskiarvo, jota käytettiin maalin vesipitoisuuden määrittämiseen. Kaavassa 2 esitetään, kuinka näytteen vesipitoisuus lasketaan [17, s. 5].

$$w_{sw} = \bar{r}_w * \frac{m_{is} * A_{sw}}{m_s * A_{is}} * 100\% \quad (2)$$

w_{sw} , vesimäärä massaprosentteina

\bar{r}_w , kahden kalibraatiopisteen keskiarvo

m_{is} , sisäisen standardin massa (g)

m_s , näytteen massa (g)

A_{is} , sisäisen standardin piikin pinta – ala

A_{sw} , veden piikin pinta – ala

Tulosten käsittelyn helpottamiseksi vastenäytteitä käytetään kalibrointinäytteinä OpenLab-ohjelmistossa, jossa sovelletaan yhden pisteen kalibrointia. Ohjelmistoon syötetään ISTD:n ja veden tarkka punnitusmäärä, jolloin kalibrointi ja näytteiden käsittely tehdään saman ajokerran vastenäytteellä. Tällöin standardin mukaista laskemista ei tarvitse.

Yhden pisteen kalibroinnissa käytetään vain yhtä kalibrointipistettä, jonka avulla muodostuu origon kautta kulkeva kalibrointisuora. Vaikka yhden pisteen kalibrointi on nopea ja helppokäyttöinen, se on vähemmän tarkka verrattuna monipistekalibrointiin. Tämä johtuu siitä, että menetelmässä oletetaan instrumentin vasteen olevan suoraan verrannollinen analyytin pitoisuuteen. [18.]

4 Validointi

Validointi tarkoittaa tutkimusmenetelmän testaamista, jotta voidaan varmistaa sen tieteellinen pätevyys suunnitelluissa käyttöolosuhteissa. Prosessissa arvioidaan menetelmän suorituskykyä sekä sen soveltuvuutta tiettyyn mittaustarkoitukseen. Kemiällisen mittausten menetelmän validointi on erityisen tärkeää, sillä se vaikuttaa suoraan kemiallisten analyysien tulosten luotettavuuteen. Validoinnin

yhteydessä on tarpeen arvioida mittausmenetelmän epävarmuutta, mutta lisäksi vaaditaan muita tutkimuksia, joilla varmistetaan, että menetelmän käyttö on ymmärretty oikein ja että se on tieteellisesti pätevä käytettävissä olevissa olosuhteissa. [19, s. 24.]

Validointia tarvitaan erityisesti, kun kehitetään uusia menetelmiä tai parannetaan olemassa olevia, laajennettaessa niiden käyttöaluetta tai havaittaessa muutoksia laadunvarmistuksessa. Validointi on myös tarpeen silloin, kun validoitu menetelmä siirtyy toiseen laboratorioon, käytetään uutta mittalaitetta tai koulutetaan uutta laboratoriohenkilöä. Validoinnin laajuus määräytyy sen mukaan, millaisia muutoksia on tapahtunut menetelmässä, olipa kyse laitteistosta tai henkilöstöstä. Vaikka kansainväliset standardoidut menetelmät ovat usein validoituja, laboratoriossa on aina suositeltavaa tehdä oma validointi tai tarkistaa menetelmän soveltuvuus käytettävissä olevissa olosuhteissa [19, s. 26.]

Tässä työssä tarkoituksena oli ottaa käyttöön ISO 23168 -standardi laitteistolle, jossa kolonni on tarkoitettu pääsääntöisesti amiinien tutkimiselle. Validointiparametreina tutkittiin tarkkuutta, toistettavuutta, toteamis- ja määrittysrajaa, herkkyttä sekä mittausepävarmuutta.

4.1 Toteamis- ja määrittysraja

Toteamisraja eli LOD (limit of detection) tarkoittaa analysoitavan aineen pienintä määritettävää pitoisuutta, jonka signaali voidaan luotettavasti havaita, ja se eroaa merkittävästi nollanäytteen arvosta [9, s. 13]. LOD:n avulla voidaan arvioida mittauslaitteiston herkkyttä tunnistaa pieniä pitoisuuksia sekä sen kykyä erottaa tutkittava analytti taustakohinasta. Toteamisraja voidaan määrittää rinnakkaismääritysten avulla, joissa on joko vain vähäisiä määriä tutkittavaa analyttia tai ei ollenkaan. [20.] LOD lasketaan kaavalla 3:

$$LOD = 3 * SD \quad (3)$$

Määritysraja eli LOQ (limit of quantitation) on taustaa vasten pienin pitoisuustaso, jolle voidaan tehdä kvantitatiivinen mittaus tietyllä luottamustasolla [9, s. 13.] Määritysrajan tulee olla sellainen, että tulokset ovat luotettavia ja toistettavia. LOQ voidaan määrittää samankaltaisilla rinnakkasnäytteillä, kuin LOD. Laskelmia varten olisi hyvä käyttää noin 6–10 rinnakkaismäärittystä [19, s.13]. Mikäli tulokset jäävät LOD:n ja LOQ:n väliin, voidaan todeta, että näyte sisältää tutkittavaa analyyttiä, mutta sen pitoisuus on alle määritysrajan [9, s. 13]. LOQ lasketaan kaavalla 4:

$$LOQ = 10 * SD \quad (4)$$

4.2 Saantokoe

Saantokokeella mitataan analyysimenetelmän tehoa havaita tutkittavan analyysin kokonaismäärä. Määrittäessä tutkittavaa ainetta voi ennen mittausta tehtävää esikäsittelyä häiritä moni tekijä. Tämän vuoksi on tärkeää määrittää menetelmäkohtaisesti tutkittavan analyysin saanto. Saantoa voidaan tutkia esimerkiksi lisäämällä eli niin sanotusti ”spiikkamalla” näytteisiin tunnettu määrä tutkittavaa analyyttiä. [19, s. 16.] Saanto laskettiin kaavalla 5:

$$\frac{\text{Rinnakkaisnäytteiden keskiarvo } m-\%}{\text{Teoreettinen } m-\%} * 100\% \quad (5)$$

Saantokoe tarjoaa arvokasta tietoa menetelmän herkkyydestä, joka kertoo kyvystä havaita pienet muutokset testausolosuhteissa. Herkkyyden lisäksi saannolla voidaan tutkia, antaako menetelmä todenmukaisia tuloksia, eikä näytettä esimerkiksi katoa analyysin aikana. Saantokokeiden tulosten rajaksi asetettiin $\geq 85 \%$.

4.3 Toistettavuus

Toistettavuus tarkoittaa täsmällisyyttä, kun määrittys suoritetaan samanlaisissa olosuhteissa lyhyessä ajassa. Tätä tutkitaan tekemällä useita rinnakkaismäärittäyksiä erilaisista näytteistä useammalla eri pitoisuudella. Analysoinnissa

voidaan tutkia näytteiden sisäistä sekä välistä hajontaa. [19, s. 19.] Tässä työssä tärkein tutkittava parametri on suhteellinen keskihajonta eli RSD % (relative standard deviation). RSD kertoo hajonnan prosentuaalisen arvon verrattessa keskiarvoon. RSD:n laskukaavaa varten on laskettava rinnakkaisnäytteiden välinen otoskeskihajonta kaavalla 6:

$$s = \sum_{i=1}^n \frac{(x_i - \bar{x})^2}{n-1} \quad (6)$$

Keskihajonnan lisäksi on laskettava rinnakkaismääritysten keskiarvo, jota tarvitaan RSD:n laskemiseen kaavassa 7.

$$RSD\% = \frac{s}{\bar{x}} * 100\% \quad (7)$$

Toistettavuutta tarkastellaan rinnakkaisnäytteillä erilaisilla injektio menetelmillä. Lisäksi tarkastellaan injektio ja saantokokeiden tulosten toistettavuutta. Tulosten suhteelliselle keskihajonnalle rajaksi asetettiin $RSD \leq 5\%$.

4.4 Mittausepävarmuus

Mittausepävarmuus tarkoittaa arvioita, kuinka paljon mitattu arvo voi erota todellisesta arvosta. Se auttaa arvioimaan, kuinka luotettavia mittaustulokset ovat. Mittausepävarmuuteen vaikuttavat monet asiat, kuten mittalaitteen tarkkuus, käytetty mittausmenetelmä, näytteen laatu, mittaajan taito ja ympäristön olosuhteet. Kaikki nämä epävarmuustekijät yhdistetään ja tulos ilmoitetaan yhdessä mittaustuloksen kanssa, jotta saadaan kokonaiskuva mittauksen tarkkuudesta. [21, s. 6.] Mittausepävarmuutta tutkittiin tässä työssä Suomen ympäristökeskuksen (SYKE) laboratoriolle kehittämällä mittausepävarmuusohjelmalla nimeltään MUKIT (Measurement Uncertainty Kit). Tässä ohjelmassa laskenta perustuu Nordtest TR 537 -raporttiin. Mittausepävarmuuden tunteminen on tärkeää, jotta analyysitulokset ovat vertailukelpoisia sekä jäljitettäviä. Mittausepävarmuutta voidaan arvioida hyödyntämällä kontrollinäytteitä, rutiininäytteiden rinnakaistuloksia, vertailutestejä ja saantokokeita. [22.]

4.5 F- ja T-testi

Kahden injektiomenetelmän rinnakkaisnäytteiden tulosten eroavaisuutta haluttiin tutkia tilastollisesti. Testiksi valittiin kahden otoksen t-testi, mutta ennen sen suorittamista on varmistettava, eroavatko tutkittavien tulosten keskihajonnat toisistaan. Tämä voidaan arvioida käyttämällä F-testiä, joka voidaan suorittaa Excelin avulla. Alla on esitetty F-testin hypoteesit sekä laskelmat. [23, s. 44.]

Hypoteesi:

$$H_0: (\sigma_1)^2 = (\sigma_2)^2$$

$$H_1: (\sigma_1)^2 \neq (\sigma_2)^2$$

Testisuure:

$$F_{lask} = \frac{(s_1)^2}{(s_2)^2}$$

$$F_{krit} = F.KÄÄNT(todennäköisyys; vapausasteet1; vapausasteet2)$$

Johtopäätökset yleisesti:

$$F_{lask} > F_{krit}, H_0 \text{ hylätään}$$

$$F_{lask} \leq F_{krit}, H_0 \text{ ei hylätä}$$

Jos H_0 hylätään, keskihajonnat eroavat tilastollisesti merkitsevästi; jos H_0 :aa ei hylätä, keskihajonnat eivät eroa tilastollisesti merkitsevästi. F-testistä saadun tuloksen perusteella voidaan valita oikea t-testi. Alla esitetään t-testin hypoteesit sekä johtopäätökset. [23, s. 37.]

Hypoteesit:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$$

Testisuure:

$$p_{arvo} = T.TESTI(matriisi1; matriisi2; suunta; laji)$$

Johtopäätökset yleisesti:

$$p_{arvo} < \alpha, H_0 \text{ hylätään}$$

$$p_{arvo} \geq \alpha, H_0 \text{ ei hylätä}$$

Hypoteesien perusteella, jos H_0 hylätään, tulokset eroavat tilastollisesti merkittävästi; jos H_0 :aa ei hylätä, keskihajonnat eivät eroa tilastollisesti merkittävästi. F- ja T-testit suoritettiin luottamustasolla 95 %.

5 Reagenssit ja laitetiedot

5.1 Reagenssit

Alla olevassa luettelossa on esitetty työssä käytetyt reagenssit:

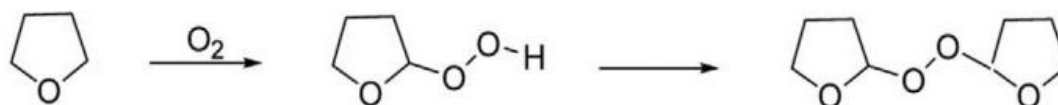
- tetrahydrafuraani, VWR Chemical 28551.321, LOT 23I254008.
- 2-Propanoli, SupraSolc, Supleco 1.00998, LOT I1317998 406.
- 2,6 Di-tert-butyyl-4-metyylifenoli, Sigma-Aldrich 8.22021.0100, LOT S7673421 112.
- molekyyliseula 3Å, VWR Chemicals 28468.230, LOT 23H214118.

5.1.1 Stabilointi

Laboratoriossa käytettävissä liuottimissa, kuten tetrahydrafuraanissa, voi pitkäaikaisessa varastoinnissa muodostua erittäin vaarallisia peroksiedeja [25]. Peroksidit ovat kemiallisia yhdisteitä, joiden rakenteessa on kaksi happea, jotka ovat liittyneet toisiinsa kovalenttisella sidoksella [24].

Peroksidit voivat esimerkiksi toimia räjähdysten reaktiotuotteina ja ne ovat erittäin herkkiä rajulle hajoamiselle, jonka voi aiheuttaa mekaaninen isku, lämpökitka, katalyytit tai promoottorit. [24.]

Peroksidien muodostumiselle altistaa THF:n molekyyli rakenne, jossa happimolekyylille pääsee reagoimaan renkaan hapen kanssa [25]. Kuvassa 4 on esitetty THF:n hapettuminen peroksidiksi.



Kuva 4. Tetrahydrofuraanin hapettuminen hydroperoksidiksi ja peroksidiksi vasemmalta oikealle [26].

Peroksidien muodostumisen ehkäisemiseksi THF voidaan stabiloida BHT:llä (butyylihydroksytolueeni) eli 2,6 Di-tert-butyyli-4-metyylifenolilla. BHT toimii inhibiittorina, joka estää radikaalien toiminnan, joita tarvitaan peroksidien muodostumiseen. THF stabiloitiin BHT:llä työpaikan ohjeistuksen mukaisesti, punnitsemalla 555 mg BHT:ä 2,5 l:n THF-pulloon.

5.1.2 Molekyyliseula

Molekyyliseula on materiaali, jota käytetään eri kokoisten molekyylien erottamista varten. Molekyyliseula sisältää erittäin huokoisia kiteistä materiaalia, jossa on tarkkoja tietyn kokoisia huokosia. Tarkan huokoskoon ansioista haluttuja molekyyliä saadaan absorboitua selektiivisesti. [27, s.8.] Työssä käytettiin molekyyliseulaa 3Å veden poistamiseen THF:stä. Kyseinen molekyyliseula käy hyvin vesimolekyylien absorbointiin, koska vesimolekyylin koko on noin 2,8 Å [28].

Riittäväksi määräksi todettiin noin 7 g molekyyliseulaa 200 ml THF:ää kohden. Ensimmäisessä kokeilussa molekyyliseulaa lisättiin 200 ml THF:ää kohden 3,9

g molekyyliseulaa, joka oli aktivoitu vakuumiunissa noin 2–3 h 65 °C:ssa 500 mbar:ssa [29]. Pullon annettiin seisoa 12 h pimeässä kaapissa lisäyksen jälkeen. Ensimmäisen pullon vesipiikin oli kuitenkin liian suuri, joten valmistettuun pulloon lisättiin 3,0 g aktivoitua molekyyliseulaa lisää. Pullon annettiin seistä jälleen 12 h, jonka jälkeen vesipiikki oli huomattavasti pienempi ja hyväksyttävä. Samaa punnitusmäärää käytettiin koko projektin ajan, ja veden määrä on ollut tarpeeksi alhainen.

5.2 Laite- ja ajotiedot

Laitteena työssä on käytetty Agilent Technologiesin 7820A-kaasukromatografia. Taulukossa 2 on esitetty laite- sekä ajotiedot.

Taulukko 2. Laite- ja ajotiedot.

Detektori	Agilent Technologies TCD-detektori, G4332A
Kolonni	Agilent Technologies, CP-Volamine 30 m x 320 µm x 0 µm
Injektorin lämpötila	230 °C
Detektorin lämpötila	280 °C
Uunin ohjelma	<ul style="list-style-type: none"> • Lähtölämpötila: 40 °C, pitoaika 10 min, ajoaika 10 min • Lämpötilan nosto 250 °C, 20 °C/min, pitoaika 1 min, ajoaika 21,5 • Jälkiajo: 250 °C 1 min
Kantokaasu	Helium
Virtaus kolonnissa	1,5 ml/min
Injektio-tilavuus	1 µl, 0,5 µl
Jakosuhte	20:1, 40:1, 5:1

Käytetyt injektioimetodit on kerrottu tarkemmin tutkimuksissa näytekohtaisesti luvussa 7. Kuvassa 5 on esitetty 7820A GC (gas chromatography) -laite.



Kuva 5. Agilent Technology 7820A GC.

Lisäksi työssä on käytetty vorteksia sekä Sartoriuksen 3K30-sentrifuugia.

6 Näytteiden esikäsittely

Näytteiden valmistuksessa noudatettiin ISO 23168 -standardia. Standardista poikettiin puolittamalla näytemäärät. Näytteen punnitusmäärä riippuu tutkittavan maalin oletettavasta vesipitoisuudesta massaprosentteina. Taulukossa 3 on esitetty maalien punnitusmäärä vesipitoisuuden mukaan.

Taulukko 3. Maalin punnitusmäärä vedenpitoisuuden mukaan [17, s. 5].

Maalin oletettu vesipitoisuus m-%	Punnittava määrä g
$15 \leq w \leq 30$	1,0
$30 < w \leq 50$	0,5
$50 < w \leq 70$	0,35
$70 < w \leq 90$	0,25

Näytettä punnittiin riippuen maalin massaprosentista taulukon mukaisesti koeputkeen, jonka jälkeen päälle pipetoitiin 250 µl ISTD:tä. Näytteen käsittelyn sujuvoittamiseksi ISTD:lle laskettiin pipetoitava määrä, jotta paino olisi noin 0,2 g. Kaavassa 8 on laskettu tarvittava ISTD:n määrä mikrolitroina.

(8)

$$V_{ISTD} = \frac{m}{\rho_{ISTD}}$$

$$V_{ISTD} = \frac{0,20 \text{ g}}{0,79 \text{ g/ml}}$$

$$V_{ISTD} = 0,25 \text{ ml}$$

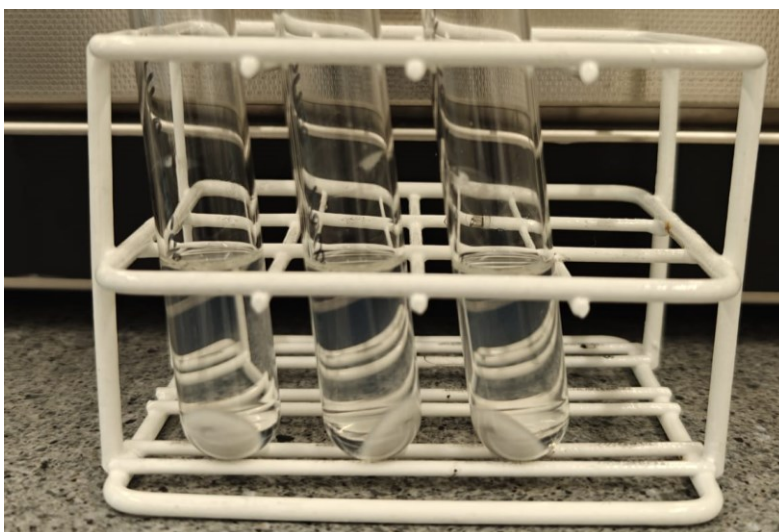
$$V_{ISTD} = 250 \text{ }\mu\text{l}$$

Maalin sekä ISTD:n tarkka punnitusmäärä otettiin ylös. Tämän jälkeen näytteenseen lisättiin 5 ml kuivattua THF:ää ja se vorteksoitiin. Kuvassa 6 on esitetty Maali A:n näytteet punnitusten jälkeen.



Kuva 6. Maali A -näytteet ennen sentrifugointia.

Näytteet sentrifugoitiin alle 3 G:n nopeudella 10–20 minuuttia, jotta tutkittavasta faasista saadaan eroteltua partikkelit. Kuvassa 7. on esitetty näytteet fuugauksen jälkeen.



Kuva 7. Maali A -näytteet sentrifugoinnin jälkeen.

Kirkas faasi pipetoitiin kaasukromatografian näytepulloihin. Näytteiden lisäksi jokaiseen aioon valmistettiin vastenäyte sekä nollanäyte, joka valmistettiin pipetoimalla 250 μ l ISTD:tä ja lisäämällä päälle 5 ml THF:ää.

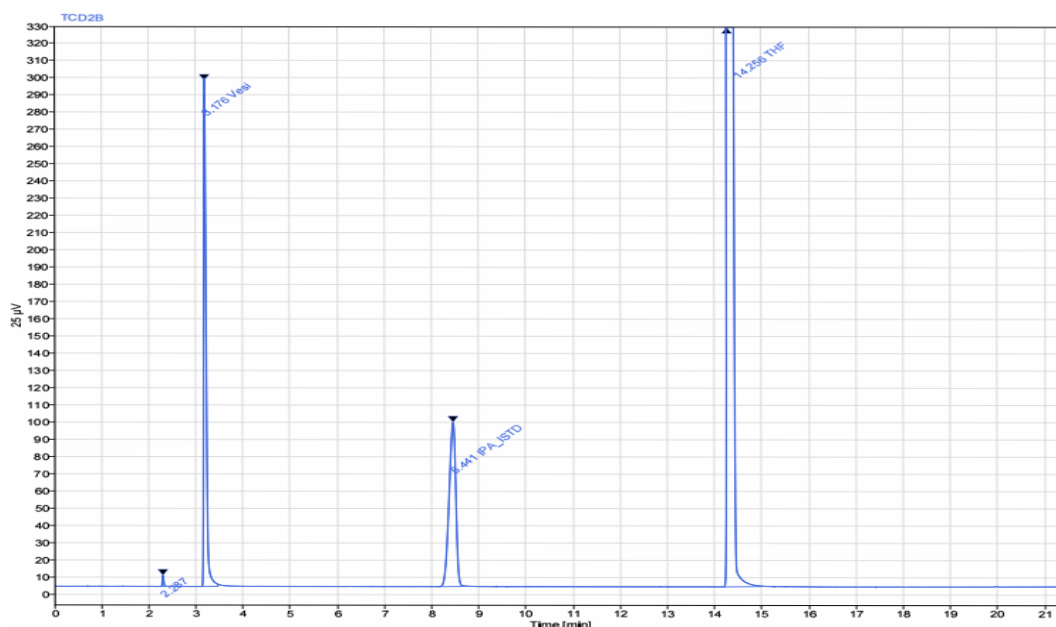
Saantokoenäytteet

Saantokoetta varten maaleista valmistettiin kolmella eri vesimäärällä spiikattua näytettä työpaikan ohjeistuksen mukaisesti. Muovipulloon punnittiin 5 tai 10 g maalinäytettä ja vettä lisättiin näytteisiin pipetillä laskettu määrä. Pipetoidut vesimäärät punnittiin. Punnitusten jälkeen näytteitä vorteksoitiin hetken aikaa. Näytteiden annettiin seistä 10–30 min, jonka jälkeen näytteitä vorteksoitiin uudelleen. Tarkemmat tiedot saantokokeiden vesilisäyksistä on liitteessä 1.

7 Tulokset

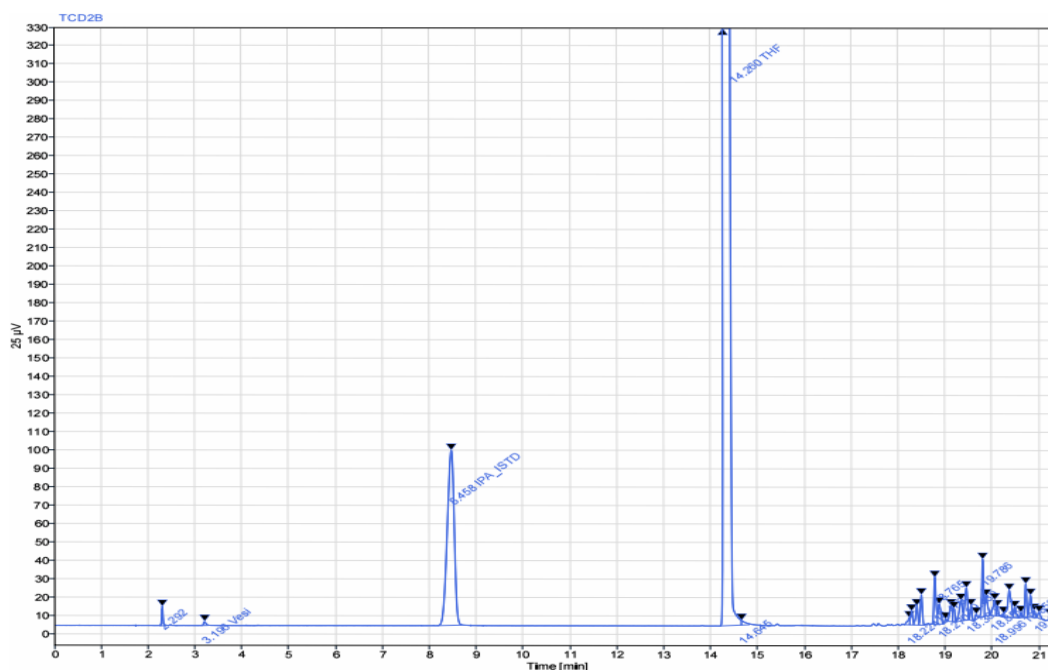
7.1 Kromatogrammit

Veden, ISTD:n sekä THF:n retentioajat selvitettiin ajamalla ensin pelkkä THF laitteella. Tämän jälkeen valmistettiin näytteet, jossa toisessa oli vesi-THF ja toisessa ISTD-THF. Veden retentioaika on 3,17 min, ISTD:n 8,4 min ja THF:n 14,3 min. Alla olevassa kuvassa 8 on esitetty vesiohenteisen maalin A kromatogrammi.



Kuva 8. Maali A:n kromatogrammi;
Vesi 3,176 min, ISTD 8,441 min ja THF 14,256 min.

Maalilla A piikit erottuvat erittäin selkeästi pohjaviivasta eikä taustaa näyttäisi häiritsevän mikään. Kaikilla vesiohenteisilla maaleilla kromatogrammit olivat samannäköisiä. Kuvassa 9 on esitetty liuotinohenteisen maalin D kromatogrammi.



Kuva 9. Maali D:n kromatogrammi; vesi 3,196 min, ISTD 8,458 min, THF 14,645 min ja loppupäässä ylimääräisiä piikkejä.

Maalin D kohdalla ei nähdä vesipiikkiä, koska kyseessä on liuotinohenteinen maali. Ajon loppupäässä voidaan nähdä paljon kohinaa, mikä viittaisi siihen, että silloin tulee ulos liuottimet. Tässä kuitenkin tutkittavien piikkien alueet ovat siistit. Maalien B, C ja E kromatogrammit löytyvät liitteestä 2.

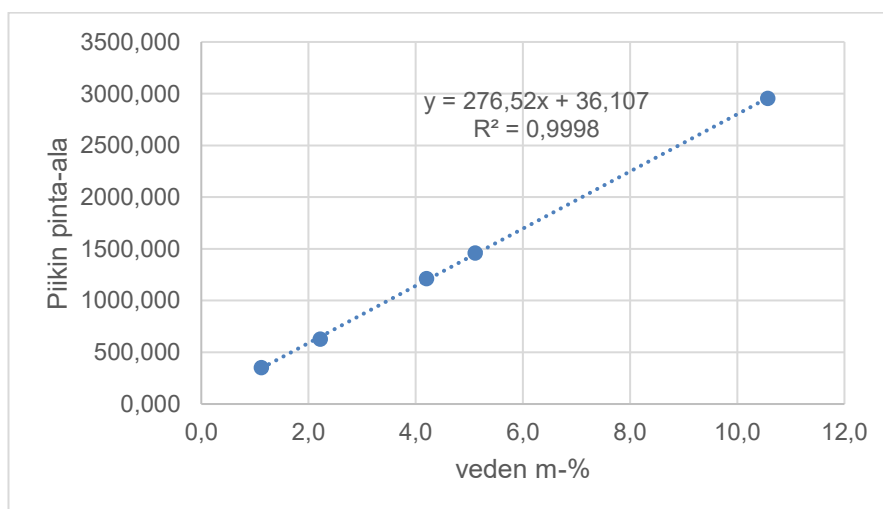
7.2 Standardisuorien valmistuksen testaus

ISO 23168 -standardissa kalibrointi suoritettiin vastenäytteillä. Työssä haluttiin kuitenkin tutkia, onko standardisuorien valmistus mahdollista. Standardiliuoksia valmistettiin yhteensä seitsemän kahdella eri tavalla. Testissä 1 näytteet valmistettiin laskemalla, kuinka paljon vettä on punnittava, jotta vedelle saadaan haluttu massaprosentti näytteessä, kun ISTD:tä punnitaan 0,2 g ja THF:ää lisätään 5 ml. Taulukossa 4. on esitetty valmistetut näytteet testille 1.

Taulukko 4. Testi 1 veden punnitusmäärät ja teoreettiset massaprocentit.

Standardi	Veden punnitus g	Teoreettinen m-% vesi
STD 1	0,05	1,12
STD 2	0,11	2,22
STD 3	0,21	4,20
STD 4	0,25	5,11
STD 5	0,56	10,57
STD 6	1,31	21,75
STD 7	3,21	40,51

Näytteet valmistettiin punnitsemalla taulukon mukaisesti UP-vettä koeputkeen, jonka päälle pipetoitiin 0,2 g ISTD:tä ja 5 ml THF:ää. Näytteet ajettiin jakosuhteella 20:1 ja 1 µl:n injeksiolla. Tuloksista muodostettiin kuvaaja, joka on esitetty kuvassa 10.



Kuva 10. Testi 1. kalibrointisuora vedelle: piikin pinta-ala veden massaprocentin funktiona.

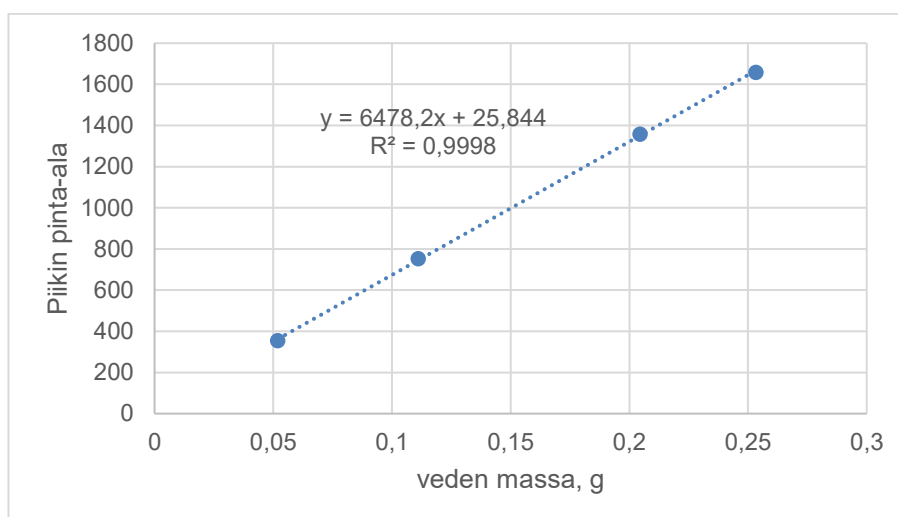
Kuvaajasta saatiin hyvä, mutta siitä jouduttiin jättämään kokonaan pois pisteet 6 ja 7, koska niiden piikit olivat ylisaturoituneet.

Testissä 2 näytteet valmistettiin punnitsemalla tunnettu määrä vettä 5 ml mittapulloon, joka täytettiin merkkiin asti 40 mg/ml ISTD-THF-liuoksella. ISTD-THF-liuos valmistettiin punnitsemalla 8,0028 g ISTD:tä 200 ml:n mittapulloon ja se täytettiin merkkiin asti kuivatulla THF:llä. Taulukossa 5 on esitetty punnitut vesimäärät standardeille.

Taulukko 5. Testi 2 veden punnitusmäärät.

STD 1	STD 2	STD 3	STD 4	STD 5	STD 6	STD 7	STD 8
0,052	0,111	0,205	0,253	0,557	1,304	3,202	4,512

Näytteet ajettiin jakosuhteella 20:1 ja 1 µl:n injektiolla. Tuloksista muodostettiin kuvaaja, joka on esitetty kuvassa 11.



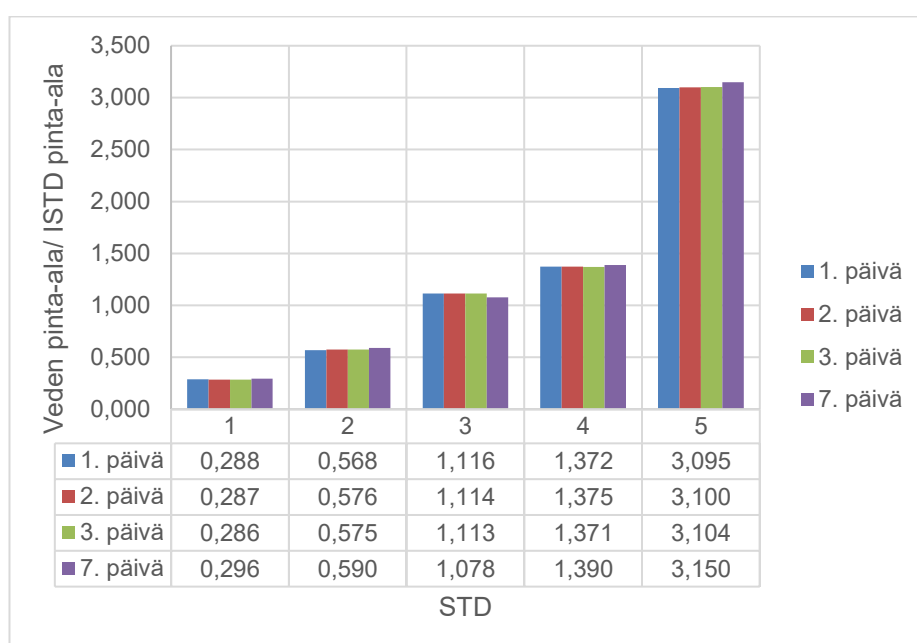
Kuva 11. Testi 2. kalibrointisuora vedelle; piikin pinta-ala veden massan funktiona.

Tämän testin osalta pisteet 5–7 jouduttiin jättämään pois, koska piikit olivat ylisaturoituneita. Kummankin testin avulla voitiin kuitenkin todeta, että suorien valmistaminen ei onnistu suurilla pitoisuuksilla. Todennäköisin ongelma suurissa pitoisuuksissa on se, että näytettä injektoitaessa injektiokammion muodostunut kaasun tilavuus on liian suuri, mikä voi johtaa laitteiston ylikuormittumiseen.

Pienemmissä pitoisuuksissa standardisuoran valmistus näyttää olevan vielä mahdollista.

7.3 Säilyvyys

Standardiliuosten säilyvyyden tutkimiseen käytettiin testin 1 standardiliuoksia 1–5. Näytteitä ajettiin 1., 2., 3. ja 7. päivänä. Näytteitä säilytettiin jääkaapissa pimeässä. Kuvassa 12 on esitetty standardiliuosten piikkien pinta-alaat kunakin päivänä.



Kuva 12. Testi 1. standardiliuosten säilyvyydestä 1, 2, 3 ja 7 päivää.

Taulukossa nähdään veden ja ISTD:n suhdeluku ja eri päivien osalta kullekin standardille. Useammassa standardissa voidaan huomata vertaamalla 1. päivän ja 7. päivän tuloksia, että suhdeluku on muuttunut erittäin vähän, mikä tarkoittaa, että veden määrä standardeissa on lähes vakio. Tällä menetelmällä ei kuitenkaan ole syytä säilyttää valmistettuja näytteitä pidemmän aikaa, ellei esimerkiksi laitteessa ilmene ongelmia, minkä vuoksi edellisen päivän näytteet joudutaan ajamaan uudestaan.

Pidemmän säilyvyyden lisäksi haluttiin myös testata muovisen ja lasisen putken eroa säilyvyyden kannalta. Muoviseen ja lasiseen koeputkeen valmistettiin vastenäytteet, jotka ajettiin valmistuspäivänä sekä 5. päivänä uudelleen jakosuhteella 20:1 1 µl:n injeksiolla. Näytteitä säilytettiin jääkaapissa pimeässä. Taulukossa 6 on esitetty lasiseen ja muoviseen koeputkeen valmistettujen näytteiden tulokset.

Taulukko 6. Muovisen ja lasisen koeputken vastenäytteet.

Astia	Päivä	ISTD pinta-ala	Veden pinta-ala	Veden pinta-ala / ISTD pinta-ala
Lasi	1. päivä	1265	1488	1,1767
Lasi	5. päivä	1554	1828	1,1764
Muovi	1. päivä	1232	1436	1,1658
Muovi	5. päivä	1741	1508	0,8661

Kun tarkastellaan veden ja ISTD:n suhdelukuja voidaan havaita, että lasisessa koeputkessa suhdeluku pysyy melko vakiona. Sen sijaan muovisessa koeputkessa suhdeluku näyttää pienenevän kaksinkertaisesti, mikä viittaa siihen, että vesimäärä näytteessä on vähentynyt. Lisäksi ISTD:n piikin pinta-ala on kasvanut, mikä voi viitata esimerkiksi THF:n haihtumiseen, jolloin näyte on saattanut konsentroitua. Vaikka tarkkaa syytä suhdeluvun pienenemiseen ei voida määrittää, näiden havaintojen perusteella voidaan päätellä, että näytteet ovat suosittelavaa valmistaa lasisiin koeputkiin.

7.4 Toteamis- ja määrittämissrajat

Toteamis- ja määrittämissrajan tutkimista varten valmistettiin näyte, jossa veden määrä haluttiin olevan 0,02 g. Koska tämä on erittäin pieni määrä punnittavaksi, päätettiin näytemäärä kaksinkertaistaa, jolloin pitoisuus vedelle, ISTD:lle ja tetrahydrofuraanille THF:lle säilyisi muuttumattomana. Näyte valmistettiin erlenmeyeriin punnitsemalla 0,0419 g vettä, 0,3823 g ISTD:tä ja lisäämällä 10 ml THF:ää. Valmistuksen jälkeen näyte vorteksoitiin, minkä jälkeen se siirrettiin

koeputkeen. Tämän jälkeen näyte sentrifugoitiin, ja lopuksi se pipetoitiin seitsemään kaasukromatografi näytepulloihin. Näytteet analysoitiin 20:1 jakosuhteella 1 µl -injektiolla. Taulukossa 7 on esitetty saadut tulokset.

Taulukko 7. Toteamis- ja määrittämissrajat tulokset yhtä grammaa maalia kohden.

Keskiarvo m-%	SD	RSD %	LOD m-%	LOQ m-%
2,1	$2,0 * 10^{-4}$	1,0	0,06	0,2

Saaduista tuloksista havaitaan, että hajonta näytteiden välillä on erittäin pientä, koska RSD on alle 5 %. Tämä viittaa siihen, että menetelmä on toistettava myös alhaisilla pitoisuuksilla. LOD:ksi 0,06 m-%, mikä tarkoittaa, että tämä on pienin vesipitoisuus, joka voidaan havaita menetelmällä. LOQ puolestaan on 0,2 m-%, jolloin tämän rajan ylittävissä pitoisuuksissa vesipitoisuus voidaan määrittää kvantitatiivisesti. Kaiken kaikkiaan tulokset osoittavat, että menetelmä antaa luotettavia ja toistettavia tuloksia pienissä pitoisuuksissa ja ne ovat kvantitoidavissa. Tarkemmat tulokset löytyvät liitteestä 3.

7.5 Toistettavuus

7.5.1 Rinnakkaisnäytteet

Rinnakkaisnäytteitä tutkittaessa vertailtiin eri injektio menetelmien vaikutusta tulosten toistettavuuteen. Tulokset arvioitiin käyttämällä keskiarvoja, keskihajontoja ja suhteellista keskihajontaa, joka on keskeinen mittari tulosten tarkkuudelle. Toistettavuutta tutkittiin neljällä eri injektio menetelmällä, joissa jakosuhteen ja injektio tilavuudet vaihtelivat: 20:1; 1 µl, 20:1; 0,5 µl, 40:1; 1 µl ja 5:1; 0,5 µl. Tulokset on laskettu kuuden rinnakkaisnäytteen ensimmäisistä injektioista. Taulukossa 8 on esitetty maalin A toistettavuuden tulokset.

Taulukko 8. Maali A:n toistettavuuden tulokset kolmella eri jakosuhteella ja 1 µl:n sekä 0,5 µl:n injektioilavuuksilla.

Injektiomenetelmä	Split 20:1 1 µl		Split 20:1 0,5 µl	Split 40:1 1 µl
	21.8.2024	3.9.2024	3.9.2024	21.8.2024
Ajopäivä	21.8.2024	3.9.2024	3.9.2024	21.8.2024
Keskiarvo (m-%)	58,0	57,6	56,9	57,6
SD	0,32	0,26	0,40	0,45
RSD %	0,56	0,45	0,71	0,77

Tuloksesta voidaan nähdä, että kaikilla menetelmillä on saatu erittäin hyviä tuloksia. RSD-tavoitteeksi asetettiin alle 5 %, joka täyttyy kaikilla menetelmillä. Tuloksissa voidaan kuitenkin nähdä eroavaisuuksia. Keskiarvo näyttäisi olevan jakosuhteella 20:1 1 µl:n injektioilla kaikista suurin ja RSD on myös pienin eli hajonta on todella vähäinen näytteiden välillä. Tämän vuoksi todettiin, että paras menetelmä tälle maalille voisi olla 20:1 jakosuhte 1 µl injektioilla. Seuraavassa taulukossa 9 on esitetty maalin B tulokset.

Taulukko 9. Maalin B:n toistettavuuden tulokset kolmella eri jakosuhteella ja 1 µl:n sekä 0,5 µl:n injektioilavuuksilla.

Injektiomenetelmä	Split 20: 1µl		Split 20:1 0,5 µl		Split 40:1 1µl
	26.8.2024	3.9.2024	26.8.2024	3.9.2024	26.8.2024
Ajopäivä	26.8.2024	3.9.2024	26.8.2024	3.9.2024	26.8.2024
Keskiarvo (m-%)	49,5	49,8	49,0	49,6	49,5
SD	0,3	0,2	0,2	0,3	0,3
RSD %	0,5	0,4	0,4	0,5	0,6

Maalilla B voidaan myös huomata, että RSD-arvot ovat tavoitelluissa rajoissa alle 5 %. Pienimmät RSD:n arvot on saatu tällä maalilla jakosuhteella 20:1 0,5 µl:n injektioilla. Erot menetelmien välillä on kuitenkin erittäin pieniä. Jakosuhteella 20:1 1 µl:n injektioilla on kuitenkin saatu tälläkin maalilla korkein keskiarvo. Taulukossa 10 on esitetty maalin C tulokset.

Taulukko 10. Maalin C toistettavuuden tulokset kolmella eri jakosuhteella ja 1 µl:n sekä 0,5 µl:n injektioilavuuksilla.

Injektio menetelmä	Split 20:1 1µl		Split 20:1 0.5µl		Split 5:1 1µl
	29.8.2024	11.9.2024	29.8.2024	29.8.2024	11.9.2024
Ajopäivä	29.8.2024	11.9.2024	29.8.2024	29.8.2024	11.9.2024
Keskiarvo (m-%)	19,4	19,1	19,2	19,3	19,3
SD	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
RSD %	1,2	0,9	0,9	0,9	1,1

Parhaat toistettavuustulokset saavutettiin Maalin C kohdalla jakosuhteella 5:1 0,5 µl:n injektioilla, jossa RSD oli 0,88 %. Kaikilla menetelmillä RSD on kuitenkin hyväksyttävissä rajoissa eivätkä keskiarvot eroa menetelmien välillä huomattavasti. Voidaan kuitenkin huomata, että myös jakosuhteella 20:1 1 µl:n injektioilla on saatu toisella ajokerralla erittäin hyvä tulos.

Injektio menetelmä jakosuhteella 20:1 1 µl:n injektioilla, on osoittautunut tarkaksi ja toistettavaksi kaikilla tutkituilla maaleilla, erityisesti Maalin A osalta. Vaikka Maalin C ja Maalin B osalta on olemassa muita menetelmiä, jotka tuottavat hie- man parempia tuloksia, erot ovat pieniä. Näin ollen voitaisiin todeta, että injek- tiomenetelmää jakosuhteella 20:1 1 µl:n injektioilla voi käyttää jatkossa, sillä se tuottaa luotettavia ja toistettavia tuloksia, kun tarvitaan menetelmää kaikille maalille. Tarkemmat toistettavuuden tulokset on esitetty liitteessä 4.

7.5.2 Injektioiden välinen toistettavuus

Injektion välistä toistettavuutta tutkittaessa maaleista valmistettiin yhdet näyt- teet, jota injektioitiin 10 kertaa. Tulokset on esitetty taulukossa 11.

Taulukko 11. Injektioiden välisten toistettavuuksien tulokset jakosuhteella 20:1 1 µl:n injektioilavuudella.

Injektiomenetelmä	Split 20:1 1 µl		
Ajopäivä	11.10.2024		
Näyte	Maali A	Maali B	Maali C
Keskiarvo (m-%)	57,6	49,2	19,5
SD	0,4	0,3	0,1
RSD %	0,6	0,7	0,5

Kaikilla maaleilla RSD:n arvot ovat alle 5 %, eli tulokset pysyvät hyväksyttävissä rajoissa. Lisäksi kaikkien maaleiden keskiarvot vastaavat teoreettisia arvoja. Tämän perusteella voidaan todeta, että injektiot ovat erittäin toistettavia, mikä vahvistaa menetelmän luotettavuutta. Tarkemmat tulokset on esitetty liitteessä 4.

7.6 Saantokoe

Tässä analyysissä tutkittiin maalien A, B ja C saantoja kahdella eri menetelmällä: 20:1;1 µl ja 20:1; 0,5 µl sekä kolmella veden lisäysmäärällä ~0,5 m-%, ~1 m-% ja ~2 m-%. Analyysin tavoitteena oli selvittää, antaako menetelmä tarkkoja ja luotettavia tuloksia. Tämän lisäksi voitiin tutkia, kuinka herkkä menetelmä on havaitsemaan pieniä vesimäärän muutoksia. Kaikilla lisäyksillä valmistettiin kolme rinnakkaisnäytettä. Tarkemmat pipetointi- ja punnitusmäärät löytyvät liitteestä 2, ja saadut tulokset on esitetty taulukossa 12.

Taulukko 12. Saantokokeiden tulokset

Injektiomenetelmä	Split 20:1 1 µl			Split 20:1 0,5 µl		
	0,5	1,0	2,0	0,5	1,0	2,0
Veden lisäys ~ m-%						
Maali A saanto	99,8	99,0	98,3	99,7	98,8	98,6
Maali B saanto	99,2	98,5	98,7	98,5	97,9	97,2
Maali C saanto	99,1	99,0	98,3	99,3	99,3	99,0

Tuloksista havaittiin, että kaikilla maaleilla kummallakin menetelmällä on saatu erittäin hyvät tulokset. Saannon tavoitteeksi asetettiin $\geq 85\%$, ja se täyttyy kaikilla maaleilla. Tarkemmin tuloksia tutkiessa voidaan myös huomata, että veden lisäyksen myötä saanto näyttäisi hieman laskevan kaikilla maaleilla, mutta ei merkittävästi. Maalin A ja maalin B kohdalla injektiomenetelmä jakosuhteella 20:1 1 µl:n injektiolla, näyttäisi antavan hieman suuremman saannon, kuin jakosuhteella 20:1 0,5 µl:n injektiolla, joka antaa taas maalille C suuremman saannon.

Vesiohenteisten maalien lisäksi haluttiin tutkia, onko liuotinohenteisistä maaleista mahdollista havaita vesilisäyksiä. Näytteet valmistettiin samalla tavalla ja niitä oli yhtä monta, kuin vesiohenteisella maalilla. Taulukossa 13 on esitetty liuotinohenteisen maalin saantokokeen tulokset.

Taulukko 13. Maalien D ja E saanto-% ja RSD tulokset.

Menetelmä	Split 20:1 1 µl	Split 20:1 1 µl	Split 20:1 1 µl
Veden lisäys ~ m-%	0,5	1,0	2,0
Maali D saanto ± RSD %	74,3 ± 7,8	85,5 ± 3,0	86,6 ± 5,2
Maali E saanto ± RSD %	89,6 ± 5,3	91,7 ± 1,9	94,3 ± 3,7

Maalin D saantokokeen tulokset ovat huomattavasti huonompia verrattuna vesiohenteisten maalien tuloksiin. Kuitenkin 1 %:n ja 2 %:n lisäyksessä saannot ovat sallittavissa rajoissa. Hajonta näytteiden välillä on kuitenkin todella suuri, mikä voi johtua siitä, että vesi ei sekoitu maaliin tasaisesti vaan saattaa faasiutua maaliin. Tämän vuoksi voisi olla suositeltavaa tutkittaessa liuotinohenteisiä maaleja, että maalista otetaan useampi otos. Maalille D on puolestaan saatu todella hyvät saannot ja hajonta on melko vähäistä 1 %:n ja 2 %:n lisäyksessä. 0,5 %:n vesilisäyksessä hajonta on suurin. Veden lisäys voi vaikuttaa maaleihin eri tavalla, koska niissä on käytetty erilaisia raaka-aineita. Tärkein havainto tutkimuksessa kuitenkin oli, että liuotinohenteisestä maalista voidaan tarpeen tullen tehdä ainakin kvalitatiivinen analyysi, mutta myös kvantitatiivinen analysointi olisi mahdollista.

7.7 Injektiomenetelmien tilastollinen vertailu

Toistettavuuden ja saantojen tulosten perusteella injektiomenetelmä jakosuhteella 20:1 1 µl:n injeksiolla osoittautui yleispäteväksi menetelmäksi eri veden pitoisuusalueilla. Injektiomenetelmien jakosuhteella 20:1 1 µl:n injeksiolla ja jakosuhteella 20:1 0,5 µl:n injeksiolla saaduista tuloksista haluttiin tehdä tilastollinen vertailu, jotta voidaan nähdä, onko eri menetelmien välisissä tuloksissa tilastollista eroavaisuutta. Testi tehtiin f- ja t-testin avulla. Taulukossa 14 on esitetty t- ja f-testien tulokset.

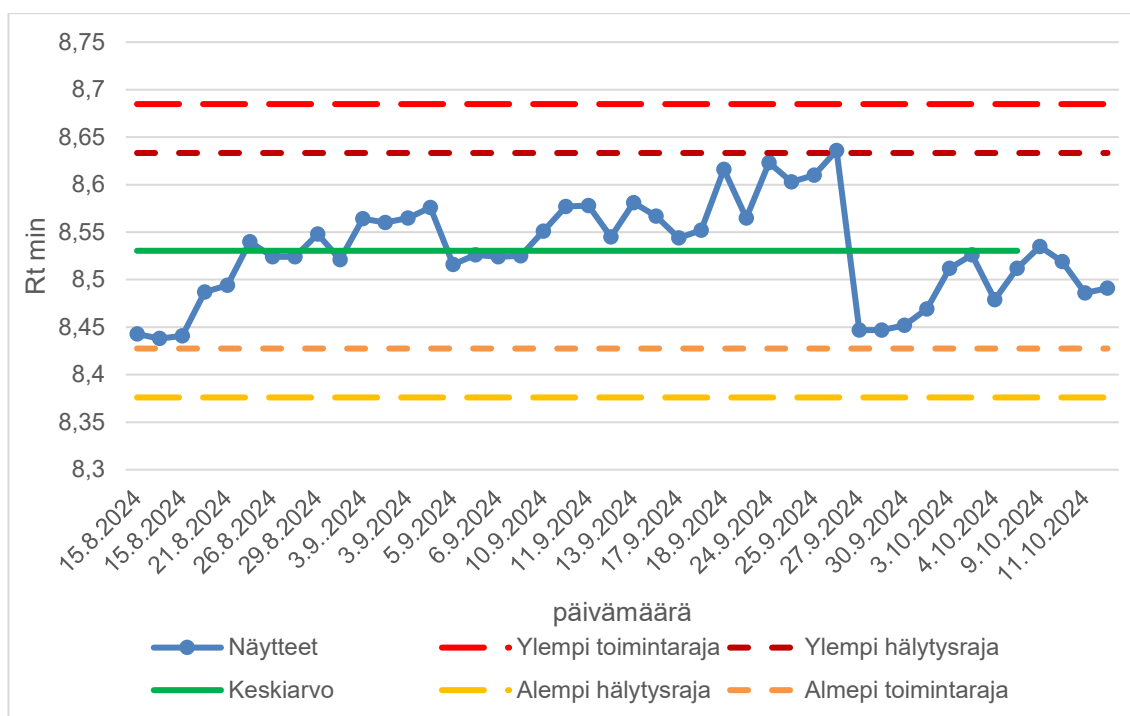
Taulukko 14. F- ja t-testin tulokset.

Näyte	Maali A	Maali B	Maali C
Ajopäivä	3.9.2024	3.9.204	11.9.2024
Kaksisuuntainen F-testi (F_{lask} , F_{krit})	$2,392 \leq 7,146$	$1,133 \leq 7,146$	$1,010 \leq 7,146$
F-testi johtopäätös (luottamustasolla 95 %)	Otoskeskihajon- nat eivät eroa tilastollisesti merkitsevästi	Otoskeskihajon- nat eivät eroa tilastollisesti merkitsevästi	Otoskeskihajon- nat eivät eroa tilastollisesti merkitsevästi
Kaksisuuntainen T-testi (P_{arvo} , α)	$0,008 < 0,05$	$0,059 \geq 0,05$	$0,171 \geq 0,05$
T-testi johtopäätös (luottamustasolla 95 %)	Tulokset eroavat tilastollisesti merkitsevästi	Tulokset eivät eroa tilastollisesti merkitsevästi	Tulokset eivät eroa tilastollisesti merkitsevästi

Maalin B ja C menetelmien tulokset eivät eroa tilastollisesti merkitsevästi luottamustasolla 95 %. Sen sijaan maalilla A tulokset eroavat toisistaan. Maalin A kohdalla parempana menetelmänä pidettiin jakosuhdetta 20:1 1 µl:n injeksiolla. Maalille B ja C sen sijaan kävisi kumpi vain menetelmä. Tämän perusteella voidaan siis todeta, että yleispäteväksi menetelmäksi kannattaa valita jakosuhte 20:1 1 µl:n injeksiolla. Tulokset on laskettu liitteen 4 arvoista.

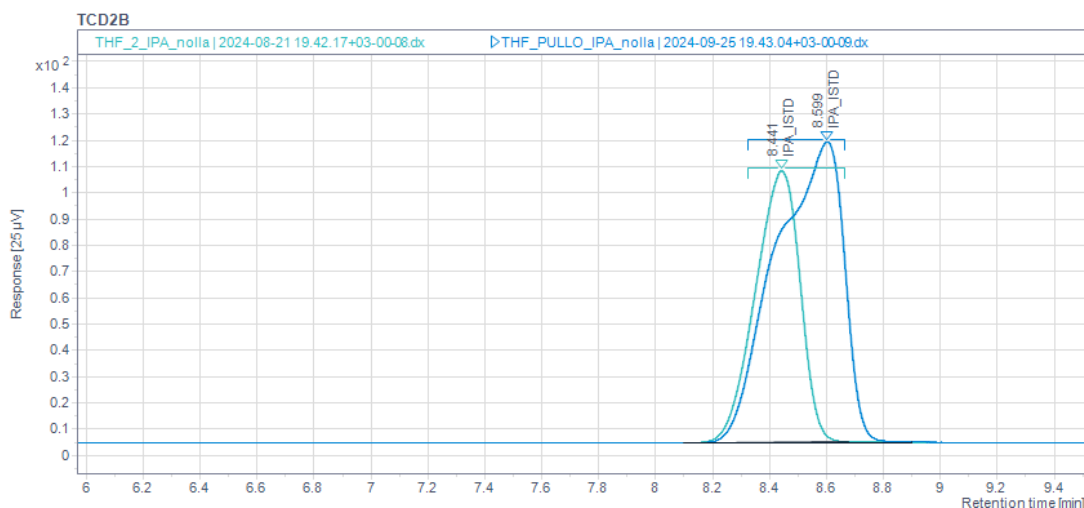
7.8 Vastenäytteen seuranta

Opinnäytetyön aloituksesta lähtien on seurattu vastenäytteen ISTD:n retentioaika. Kuvassa 13. on esitetty vastenäytteen x-kortti.



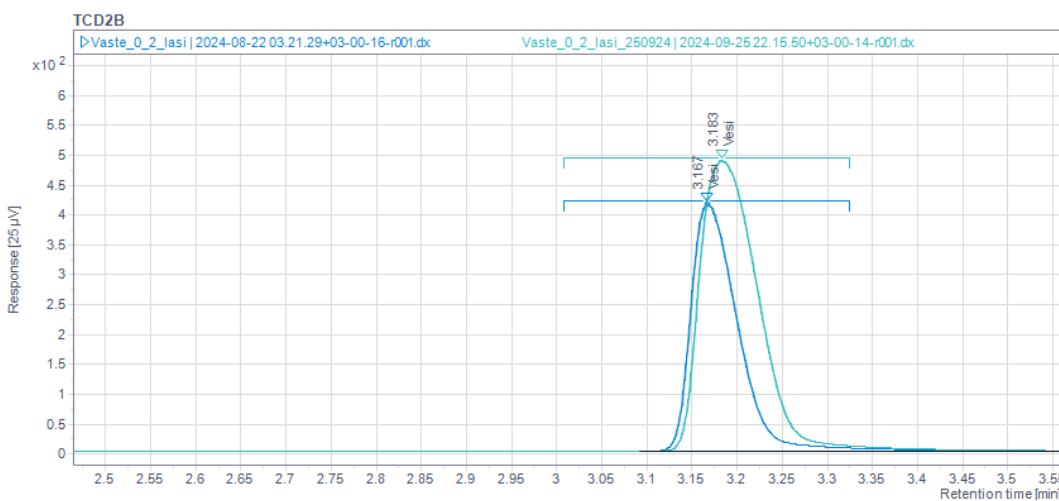
Kuva 13. Vastenäytteen ISTD:n retentioaikojen seurantakuvaaja.

Vastenäytteen retentioaika on pysynyt kohtalaisen hyvin keskiarvon ylä- ja alapuolella. Näytteistä voidaan kuitenkin huomata, että 15.8.–25.9. retentioaika näyttäisi kasvavan. Aloituspäivänä retentioaika on ollut noin 8,45 min kohdilla, kun taas 25.9. se on ollut ylempien hälytysrajan tienoilla 8,65 minuutin paikkeilla. Näiden huomioiden jälkeen haluttiin verrata 21.8. ja 15.8. nollanäytteiden ISTD piikkejä keskenään. Kuvassa 14 on esitetty kromatogrammi, jossa on edellä mainittujen päivien ISTD-piikit.



Kuva 14. 21.8. ja 25.9. nollanäytteiden ISTD-piikit.

Vaalean sininen piikki on näyte 21.8. ja tumman sininen näyte 25.9. 25.9. päivän näytteen piikki on epäsymmetrinen ja sen huippu on eri kohdassa verrattuna 21.8. päivään. ISTD-piikin lisäksi veden piikkejä verrattiin toisiinsa samojen päivien vastenäytteillä. Veden retentioajan huomattiin myös myöhästyneen. Veden kromatogrammi on esitetty kuvassa 15.



Kuva 15. 21.8. ja 25.8. vastenäytteiden vesi piikit.

Syyksi ISTD:n ja veden retentioajoille pohdittiin olevan joko kontaminaatio tai injektorin sisäputken epäpuhtaus. Injektorin sisäputki päätettiin vaihtaa, minkä

jälkeen piikit palautuivat normaaleiksi. Tämän vaihto voidaan myös huomata kuvassa 13, jolloin retentioaika palasi noin 8,45 minuuttiin 27.9.

7.9 Mittausepävarmuus

Mittausepävarmuutta tarkasteltiin MUKit-ohjelmiston avulla maalien A, B ja C rinnakkaismäärittämisistä 20:1 jakosuhteella 1 µl injeksiolla. Kontrollinäytteenä käytettiin vastekerroinnäytteitä.

Injektiomenetelmän laajennetuksi mittausepävarmuudeksi saatiin 95 %:n luottamustasolla 3 %.

Vaikka saatu tulos on erittäin hyvä, on otettava huomioon, että vastenäytteiden oletettu vesipitoisuus on 100 %, jolloin vesipitoisuus on mittausalueen ääripäässä. Tämän vuoksi tätä mittausepävarmuutta voidaan pitää vain suunta-antavana. Olisi kuitenkin suositeltavaa valmistaa kontrollinäytteitä, olisivat mittausalueen alku/loppupäässä, jotta mittausepävarmuudesta saadaan tarkempi. Liitteessä 5 on esitetty MUKitin antama raportti.

8 Yhteenveto

ISO 23168 -standardin mukainen menetelmä sekä GC-TCD laitteisto saatiin onnistuneesti otettua käyttöön sekä validoitua. Testien jälkeen yleispäteväksi menetelmäksi kaikille maaleille valittiin injeksiomenetelmä jakosuhteella 20:1 1 µl:n injeksiolla. Vesiohenteisten maalien kohdalla tulokset oli erittäin toistettavissa niin näytteiden kuin injektoiden välillä, sillä RSD oli kaikissa mittauksissa alle 5 %. Myös saannoista saatiin kaikille vesiohenteisille maaleille yli 98 % pienilläkin lisäyksillä. Saantojen perusteella voidaan todeta menetelmän antavan luotettavia ja toistettavia tuloksia sekä olevan herkkä havaitsemaan pienetkin vesipitoisuuden muutokset.

Validoinnin yhteydessä tehty mittausepävarmuuden arviointi tulisi kuitenkin uusia, sillä siinä käytettiin vastenäytteitä, jotka edustavat mittausalueen yläpäättä.

Tämän vuoksi mittausepävarmuuden tutkimiseksi mittausaluetta jouduttiin laajentamaan, vaikka suurin vesipitoisuus standardin mukaan on 90 %. Mittausepävarmuutta tutkiessa olisi hyvä käyttää kontrollinäytteitä, mitkä olisivat pitoisuudeltaan mittausalueen ala- tai yläpäässä.

Liutinohenteisten maalien kohdalla tavoitteena oli tutkia, voidaanko niistä tutkia vesipitoisuutta kvalitatiivisesti. Tähän tavoitteisiin päästiin ja lisäksi voitiin huomata, että myös kvantitatiivinen määrittäminen olisi mahdollista. Tämä vaatisi kuitenkin vielä lisätutkimuksia. Maalille D saatiin melko huonoja tuloksia saannon kannalta, kun taas maalille E tulokset olivat jo hyväksyttävissä rajoissa ≥ 85 %. Erot tuloksissa kahden maalin välillä voi selittyä sillä, että niissä on käytetty erialaisia raaka-aineita, mikä voi osaltaan vaikuttaa tuloksiin. Maaleilla huomattiin myös olevan suurempi hajonta, kuin vesiohenteisilla maaleilla, mikä voi kertoa siitä, että vesi on voinut faasiutua. Tämän vuoksi liutinohenteista maalia tutkittaessa maali on hyvä sekoittaa huolella ja ottaa useampi otos.

Kaiken kaikkiaan tuloksiin oltiin erittäin tyytyväisiä, vaikka joissain kohdissa tarvitaan vielä lisätutkimusta. Menetelmää voidaan alkaa käyttää osana laboratorion analyysijä.

Lähteet

- 1 Maaleja haihtuu taivaan tuuliin. 14.6.2019. Verkkoaineisto. Joutsenmerkki. <<https://joutsenmerkki.fi/maaleja-haihtuu-taivaan-tuuliin/>>. Luettu 17.10.2024.
- 2 Sisäilman epäpuhtaudet ja hajut. Verkkoaineisto. Hengitysliitto. <<https://www.hengitysliitto.fi/>>. Luettu 17.10.2024.
- 3 Nordic Ecolabelling for Paints and Varnishes, Versio 4.3. 24.9.2024. Verkkoaineisto. Nordic Swan Ecolabel. <<https://www.nordic-swan-ecolabel.org/criteria/paints-and-varnishes-096/>>. Luettu 17.10.2024.
- 4 ISO 11890-2:2018. Paints and varnishes — Determination of volatile organic compounds (VOC) and/or semi volatile organic compounds (SVOC) content. 4/2018. ISO - International Organization for Standardization. Luettu 17.10.2024
- 5 Vesiohenteinen vs. liuotinohenteinen maali teollisissa maalaussovelluksissa. Verkkoaineisto. Tikkurila. <<https://tikkurila.fi/teollisuus/ideat/vesiohenteinen-vs-liuotinohenteinen-maali-teollisissa-maalaussovelluksissa>>. Luettu 17.10.2024.
- 6 Maalialan sanasto. Verkkoaineisto. Tikkurila. <<https://tikkurila.fi/ohjeet/maalialan-sanasto>>. Luettu 17.10.2024.
- 7 Apuaineet. Verkkoaineisto. Tikkurila. <<https://tikkurila.fi/pro/artikkeli/apuaineet>>. Luettu 17.10.2024.
- 8 Vesiohenteinen vai liuoteohenteinen maali. Verkkoaineisto. Tikkurila. <<https://tikkurila.fi/pro/kampanja/vesiohenteinen-vai-liuoteohenteinen-maali>>. Luettu 17.10.2024.
- 9 Jaarinen Soili & Niiranen, Jukka. 2008. Laboratorion analyysitekniikka. 5.–6. painos. Helsinki: Edita.
- 10 Lehtonen, Pekka o. & Sivonen, Marja-Liisa. 2009. Laboratorioalan analyytinen kemia. 1.–2. painos. Helsinki, Edita.
- 11 Gas chromatography explained: What it is and how it works. 6.10.2022. Verkkoaineisto. PerkinElmer. <<https://blog.perkinelmer.com/posts/gas-chromatography-explained-what-it-is-and-how-it-works>>. Luettu 17.10.2024.

- 12 Agilent Technologies. 2024. CP-Volamine, GC Columns. Tuotesivu. <<https://www.agilent.com/en/product/gc-columns/application-specific-gc-columns/cp-volamine-columns>> Luettu 17.10.2024
- 13 Agilent J&W Capillary GC Column Installation Guide. 2019. Ohjekirja. Agilent Technologies. USA.
- 14 Thermal conductivity detector. 2024. Verkkoaineisto. Agilent Technologies. <<https://www.agilent.com/en/product/gas-chromatography/gc-detectors/thermal-conductivity-detector#howitworks>> Luettu 17.10.2024
- 15 Agilent 7820A Gas Chromatograph Advanced User's Manual. 5. painos. 2016. Ohjekirja. Agilent Technologies. Kiina.
- 16 Harris, Daniel C. 2016. Quantative Chemical Analysis. 9. painos. New York: W.H. Freeman and Company.
- 17 ISO 23168, Paints and varnishes — Determination of water content — Gas-chromatographic method. 2019. ISO - International Organization for Standardization.
- 18 Single Point vs Multipoint Calibrations. 28.6.2021. Verkkoaineisto. Crawford Scientific. <<https://www.crawfordscientific.com/chromatography-blog/post/single-point-versus-multipoint-calibration>> Luettu 17.10.2024.
- 19 Hiltunen, Erkki; Linko, Linnéa; Hemminki, Sari; Hägg, Margareta; Järvenpää, Eila; Saarinen, Pertti; Simonen, Seppo & Kärhä, Petri. 2011. Laadukkaan mittauksen perusteet. Vantaa, Multiprint.
- 20 Ruismäki, Mia. 2023. Analyysimenetelmän validointi. Opintomateriaali. Metropolia Ammattikorkeakoulu.
- 21 Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories. 4. painos. 2017. Verkkoaineisto. NORDTEST.
- 22 Mittausepävarmuusohjelma (MUKit). 12.4.2021. Verkkoaineisto. Suomen Ympäristökeskus. <https://www.syke.fi/fi-fi/palvelut/laatu_ja_laboratoriopalvelut/kalibrointipalvelut_ja_sopimuslaboratorio/mukit_mittausepavarmuusohjelma>. Päivitetty 8.11.2023. Luettu 17.10.2024.
- 23 Ellison, Stephen; Barwick, Vicki & Duigui Farrant, Trevor. 2009. Practical Statics for the Analytical Scientist. 2. Painos. The Royal Society of Chemistry.

- 24 Clark, Donald. 1.9.2001. Peroxides and peroxide-forming compounds. Verkkoaineisto. ACS Chemical Health & Safety. <<https://pubs.acs.org/doi/10.1016/S1074-9098%2801%2900247-7>>. Luettu 17.10.2024.
- 25 Peroxide Forming Solvents. 2024. Verkkoaineisto. Sigma-Aldrich. <<https://sigmaaldrich.com/chemistry/solvents/peroxide-forming-solvents.html>>. Luettu 17.10.2024.
- 26 Chemical reactivity of tetrahydrofuran. 25.1.2022. Verkkoaineisto. Chemical Book. <<https://www.chemicalbook.com/article/chemical-reactivity-of-tetrahydrofuran.htm>>. Luettu 17.10.2024.
- 27 Avantor. 2022. VWR for drying and filtration. Tuote-esite. <https://fi.vwr.com/assetsvc/asset/fi_Fl/id/41603801/contents/vwr-for-drying-and-filtration.pdf> Luettu 17.10.2024.
- 28 D'Arrigo, J. S. 1978. Screening of membrane surface charges by divalent cations: an atomic representation. Verkkoaineisto. <<https://journals.physiology.org/doi/pdf/10.1152/ajpcell.1978.235.3.C109>>. Luettu 17.10.2024.
- 29 Jalon Zeolite. 2022. A Complete Guide on How to Activate Molecular Sieve. Verkkoaineisto. <<https://www.jalonzeolite.com/a-complete-guide-on-how-to-activate-molecular-sieve/>>. Luettu 17.10.2024.

Liite 1. Saantokokeiden tulokset

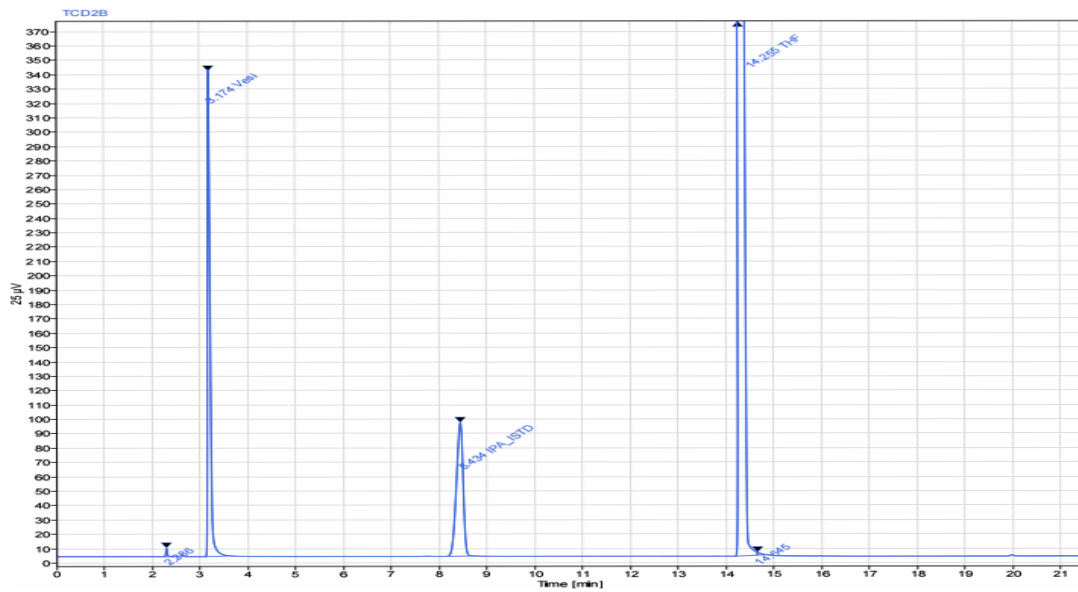
Taulukko 1. Vesiohenteisten maalien saantokokeet.

Vesiohenteiset maalit	Maali A						Maali B						Maali C						
	Split 20:1, 1µl			Split 20:1, 0.5µl			Split 20:1, 1µl			Split 20:1, 0.5µl			Split 20:1, 1µl			Split 20:1, 0.5µl			
Ajopäivä	6.9.2024			6.9.2024			6.9.2024			6.9.2024			5.9.2024		6.9.2024		5.9.2024		6.9.2024
Maalin vesipitoisuus, analysoitu	57,5			57,1			49,8			49,6			19,4			19,2			
Vesilisäys, g	0,0246	0,0494	0,0992	0,0246	0,0494	0,0992	0,0241	0,0494	0,0987	0,0241	0,0494	0,0987	0,0493	0,0998	0,1994	0,0493	0,0998	0,1994	
Vesilisäys, m-%	0,49	0,99	1,97	0,49	0,99	1,97	0,48	0,99	1,97	0,48	0,99	1,97	0,492	0,995	1,990	0,492	0,995	1,990	
Teoreettinen vesipitoisuus spiikatussa maalissa, p-%	58,03	58,53	59,52	57,57	58,07	59,06	50,27	50,77	51,75	50,04	50,55	51,53	19,90	20,40	21,40	19,72	20,22	21,22	
Rinnakkaisnäytteet	pitoisuus, p-%			pitoisuus, p-%			pitoisuus, p-%			pitoisuus, p-%			pitoisuus, p-%			pitoisuus, p-%			
1	57,98	57,89	58,64	57,89	57,31	58,22	49,48	50,02	51,08	49,22	49,73	50,74	19,86	20,26	21,10	19,57	19,95	20,91	
2	57,98		58,46	57,40		58,19	50,10	50,30	50,96	49,59	49,64	49,86	19,68	20,11	21,23	19,52	20,09	20,97	
3	57,72	58,03	58,47	56,99	57,47	58,21	50,04	49,75	51,26	49,08	49,16	49,71	19,61	20,27	21,06	19,65	19,98	21,12	
4													19,65	20,26	21,07	19,51	20,24	21,05	
5													19,68	20,11	20,84	19,65	20,02	21,02	
6													19,84	20,21	20,92	19,61	20,18	20,93	
Keskiarvo, p-%	57,89	57,96	58,52	57,43	57,39	58,21	49,88	50,02	51,10	49,30	49,51	50,10	19,72	20,20	21,04	19,59	20,08	21,00	
SD	0,15	0,10	0,10	0,45	0,12	0,02	0,34	0,27	0,15	0,26	0,30	0,56	0,10	0,08	0,14	0,06	0,11	0,08	
RSD %	0,25	0,17	0,17	0,78	0,20	0,03	0,68	0,55	0,30	0,53	0,61	1,12	0,52	0,37	0,66	0,31	0,57	0,37	
Saanto %	99,8	99,03	98,3	99,7	98,83	98,6	99,2	98,5	98,7	98,5	97,9	97,2	99,1	99,0	98,3	99,3	99,3	99,0	

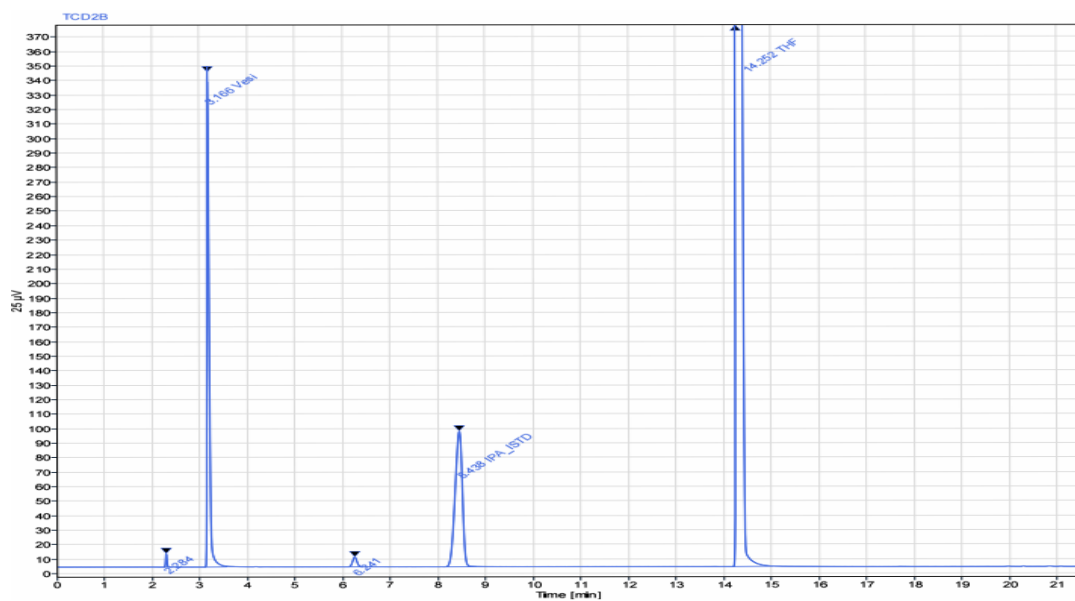
Taulukko 2. Liuotinhenteisten maalien saantokokeet.

Liuotinhenteiset maalit	Maali D			Maali E		
Injektio menetelmä	Split 20:1, 1µl			Split 20:1, 1µl		
Ajopäivä	3.10.2024			9.10.2024		
Veden analysoity pitoisuus maalissa, g	0,0013			0,0020		
Vesilisäys maaliin, g	0,0446	0,0944	0,1874	0,0447	0,0937	0,1889
Vesilisäys maaliin, m-%	0,4459	0,9432	1,8732	0,4463	0,9369	1,8877
Teoreettinen vesipitoisuus spiikatussa maalissa, p-%	0,58	1,07	2,00	0,65	1,14	2,09
Rinnakkaisnäytteet	pitoisuus, p-%			pitoisuus, p-%		
1	0,47	0,89	1,69	0,614	1,048	1,884
2	0,41	0,94	1,84	0,568	1,020	2,006
3	0,41	0,92	1,68	0,556	1,058	2,017
Keskiarvo, p-%	0,43	0,92	1,73	0,58	1,05	1,97
SD	0,03	0,03	0,09	0,03	0,01	0,07
RSD %	7,78	3,03	5,16	5,28	0,67	3,75
Saanto %	74,3	85,54	86,6	89,6	92,62	94,3

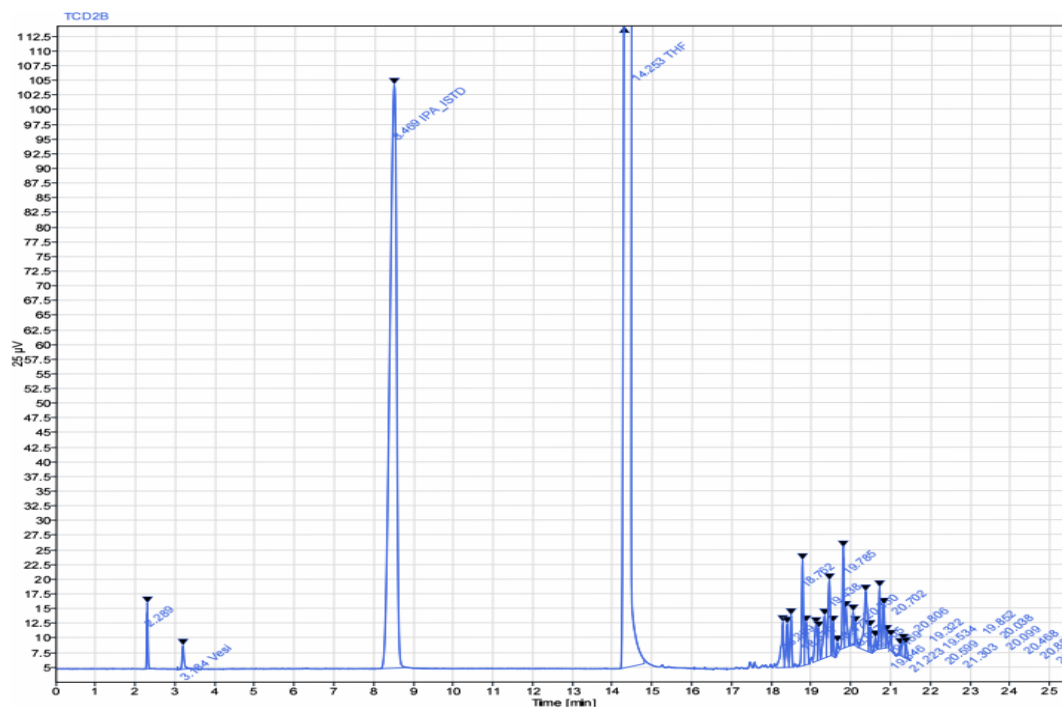
Liite 2. Maalien kromatogrammit



Kuva 1. Maali B:n kromatogrammi.



Kuva 2. Maali C:n kromatogrammi.



Kuva 3. Maali E:n kromatogrammi.

Liite 3. Toteamis- ja määritysrajatulokset

Taulukko 1. Toteamis- ja määritysrajatulokset.

Injektiomenetelmä	Split 20:1 1µl						
Ajopäivä	4.10.2024						
Rinnakkaisnäytteet	1	2	3	4	5	6	7
Veden massa, g	0,0211	0,0212	0,0211	0,0217	0,0214	0,0213	0,0213
Keskiarvo	0,0213						
SD	0,0002						
RSD %	0,9773						
LOD	0,0006						
LOQ	0,0021						

Liite 4. Maalinäytteiden tuloksia

Taulukko 1. Vesiohenteisten maalien tuloksia.

Näyte	Menetelmä	Ajopäivä	1	2	3	4	5	6	Kaavassa veden m-%	Keskiarvo	SD	RSD %
Maali A	Split 20:1 1µl	21.8.2024	58,05	57,71	58,10	57,69	58,58	58,09	57,6	58,0	0,325	0,56
	Split 20:1 1µl	3.9.2024	57,31	57,92	57,57	57,81	57,26	57,61		57,6	0,262	0,45
	Split 20:1 0,5µl	3.9.2025	56,94	56,73	57,18	57,59	56,62	56,49		56,9	0,405	0,71
	Split 40:1 1µl	21.8.2024	58,21	57,07	57,84	57,23	57,84	57,31		57,6	0,446	0,77
Maali B	Split 20:1 1µl	26.8.2024	49,21	49,26	49,33	49,69	49,84	49,52	49,2	49,5	0,254	0,51
	Split 20:1 1µl	3.9.2025	49,60	49,80	49,92	49,73	50,23	49,76		49,8	0,216	0,43
	Split 40:1 1µl	26.8.2024	49,23	49,52	49,12	49,74	49,81	49,36		49,5	0,277	0,56
	Split 20:1 0,5µl	26.8.2024	48,94	49,25	48,93	49,06	49,21	48,81		49,0	0,172	0,35
	Split 20:1 0,5µl	3.9.2025	49,87	49,19	49,36	49,76	49,57	49,57		49,6	0,249	0,50
Maali C	Split 20:1 1µl	29.8.2024	19,38	19,33	19,60	19,68	19,50	19,05	~20	19,4	0,224	1,15
	Split 20:1 1µl	11.9.2024	19,17	18,93	19,32	19,02	19,08	19,36		19,1	0,171	0,89
	Split 5:1 0,5µl	29.8.2024	19,42	19,15	19,56	19,51	19,23	19,03		19,3	0,211	1,09
	Split 20:1 0,5µl	29.8.2024	19,15	19,15	19,53	19,30	19,25	19,01		19,2	0,175	0,91
	Split 20:1 0,5µl	11.9.2024	19,27	19,13	19,50	19,13	19,22	19,50		19,3	0,170	0,88

Taulukko 2. Injektionvälisten toistettavuuksien tulokset.

Injektionmenetelmä	Split 20:1 1µl		
	11.10.2024		
Ajopäivä			
Näyte	Maali A	Maali B	Maali C
1	57,57	49,57	19,49
2	57,56	48,93	19,40
3	57,67	48,86	19,56
4	57,62	49,48	19,54
5	57,94	49,04	19,54
6	56,99	49,83	19,53
7	57,87	49,16	19,48
8	57,84	49,15	19,42
9	57,20	48,87	19,48
10	58,18	49,38	19,25
Keskiarvo	57,6	49,2	19,5
SD	0,35	0,33	0,09
RSD %	0,60	0,67	0,48

Liite 5. MUKit-raportti

MEASUREMENT UNCERTAINTY ESTIMATION

Step	Action	Maalin vesipitoisuus	10/14/2024																				
1	Specify Measurand	Concentration range: 15-100 %																					
2	Quantify within-laboratory reproducibility, $u(R_w)$ A: Control sample B: Possible steps not covered by control sample	<p>A: Control samples Number of control samples: 41 Average concentration: 100.1429 % Standard deviation, S_{Rw} : 0.62 %</p> <p>B: Routine replicate samples Number of routine replicate series: 21 Number of parallel measurements: 3 Concentration range: 19.14067-58.12133 % Pooled standard deviation, S_r : 0.92 %</p> $u(R_w) = \sqrt{S_{Rw}^2 + S_r^2} : 1.11 \%$																					
3	Quantify method and laboratory bias, $u(bias)$	<p>Method and laboratory bias from certified reference material Different certified reference materials count, $N : 1$</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>i</th> <th>1</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Certified concentration, $c_{ref\ i}$</td> <td>100 %</td> </tr> <tr> <td>Standard uncertainty of certified concentration, $u(c_{ref\ i})$</td> <td>0.50 %</td> </tr> <tr> <td>Measured concentration, c_i</td> <td>100.1429 %</td> </tr> <tr> <td>Standard deviation of measured concentration, S_{bias}</td> <td>0.62 %</td> </tr> <tr> <td>Number of Measurements, n_i</td> <td>41</td> </tr> <tr> <td>$bias_i = \frac{c_i - c_{ref\ i}}{c_{ref\ i}} \cdot 100\%$</td> <td>0.14 %</td> </tr> <tr> <td>Period of measurements</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Sample Type (Matrix)</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Additional information</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> $u(bias) = \sqrt{bias_1^2 + \left(\frac{S_{bias_1}}{\sqrt{n_1}}\right)^2 + u(c_{ref_1})^2} : 0.53 \%$		i	1	Certified concentration, $c_{ref\ i}$	100 %	Standard uncertainty of certified concentration, $u(c_{ref\ i})$	0.50 %	Measured concentration, c_i	100.1429 %	Standard deviation of measured concentration, S_{bias}	0.62 %	Number of Measurements, n_i	41	$bias_i = \frac{c_i - c_{ref\ i}}{c_{ref\ i}} \cdot 100\%$	0.14 %	Period of measurements		Sample Type (Matrix)		Additional information	
i	1																						
Certified concentration, $c_{ref\ i}$	100 %																						
Standard uncertainty of certified concentration, $u(c_{ref\ i})$	0.50 %																						
Measured concentration, c_i	100.1429 %																						
Standard deviation of measured concentration, S_{bias}	0.62 %																						
Number of Measurements, n_i	41																						
$bias_i = \frac{c_i - c_{ref\ i}}{c_{ref\ i}} \cdot 100\%$	0.14 %																						
Period of measurements																							
Sample Type (Matrix)																							
Additional information																							
4	Convert components to standard uncertainty	$u(R_w) = 1.11 \%$ $u(bias) = 0.53 \%$																					
5	Calculate combined standard uncertainty, u_c	$u_c = \sqrt{u(R_w)^2 + u(bias)^2} = 1.23 \%$																					
6	Calculate expanded uncertainty, U	$U = 2 \cdot u_c = 2.47 \%$																					

Kuva 1. MUKit-raportti.