



LAHDEN AMMATTIKORKEAKOULU
Lahti University of Applied Sciences

PAH- JA PCB-YHDISTEIDEN MÄÄRITTÄMINEN MAANÄYTTEISTÄ QUECHERS-MENETELMÄLLÄ

Menetelmän testaus

LAHDEN
AMMATTIKORKEAKOULU
Tekniikan ala
Ympäristötekniikan koulutusohjelma
Ympäristöbiotekniikka
Opinnäytetyö
Kevät 2013
Suvi-Hannele Huhta

Lahden ammattikorkeakoulu
Ympäristötekniikan koulutusohjelma

HUHTA, SUVI-HANNELE:

PAH- ja PCB-yhdisteiden määrittäminen
maanäytteistä Quechers-menetelmällä
Menetelmän testaus

Ympäristöbiotekniikan opinnäytetyö, 47 sivua

Kevät 2013

TIIVISTELMÄ

PAH- ja PCB-yhdisteet ovat orgaanisia kemiallisia yhdisteitä, joista voi olla haittaa ympäristölle ja terveydelle jo pieninä pitoisuuksina. Yhdisteet sitoutuvat mielellään orgaaniseen ainekseen ja hajoavat hitaasti luonnossa. PAH- ja PCB-yhdisteiden pitoisuuksia maaperässä valvotaan valtioneuvoston säätämällä PIMA-asetuksella.

PAH- ja PCB-yhdisteiden analysointi maa-aineksesta on haastavaa sekä yhdisteiden että maa-ainesten ominaisuuksien johdosta. Maanäyte sisältää tyypillisesti valtavat määrät erilaisia epäorgaanisia ja orgaanisia yhdisteitä. Näiden yhdisteiden joukosta tulisi erottaa juuri tietyt orgaaniset yhdisteet, oikeassa muodossaan ja jo hyvin pieninä pitoisuuksina.

Monet orgaanisten yhdisteiden määrittämisessä käytetyt analyysitekniikat voivat olla monimutkaisia, työläitä ja hitaita toteuttaa. Alun perin torjunta-aineiden määrittämiseen kehitetty Quechers-menetelmä pyrkii vastaamaan näihin haasteisiin. Tässä opinnäytetyössä tutkittiin, voisiko Quechers-menetelmää soveltaa maanäytteiden PAH- ja PCB-yhdisteiden määrittämiseen GC-MS-tekniikalla. Työ toteutettiin Ramboll Analytysin orgaanisen kemian osastolla syksyllä 2012.

PCB-yhdisteiden osalta saatiin lupaavia tuloksia saantoprosenttien liikkua 85-123 välillä. PAH-yhdisteiden saantoprosenteissa lupaavimmat tulokset saatiin keskiraskaiden yhdisteiden osalta. Kevyin naftaleeni ja raskaimmat yhdisteet antoivat kuitenkin ristiriitaisia tuloksia. Menetelmän oikean sovellustavan löytäminen vaatii näin ollen edelleen lisätarkastuksia.

Asiasanat: Quechers, PAH-yhdisteet, PCB-yhdisteet, maanäyte, orgaaniset yhdisteet

Lahti University of Applied Sciences
Degree Programme in Environmental Technology

HUHTA, SUVI-HANNELE: Testing of the Quechers method for the
determination of PAH and PCB residues
in soil matrix

Bachelor's Thesis in Environmental Biotechnology, 47 pages

Spring 2013

ABSTRACT

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) are hydrophobic organic contaminants with potential adverse effects on human health and the environment. These pollutants can be harmful at very low concentrations and have a high tendency to bind to natural organic matter.

The determination of PAH and PCB residues in soil matrix is challenging for several reasons. Firstly, soil contains numerous inorganic and organic compounds. Secondly, the concentrations of PAH and PCB compounds can be relatively low. As a result, the pollutants can be difficult to detect. Furthermore, the determination of PAHs and PCBs may be limited by the physical characteristics of soils and the pollutants themselves.

Many multiresidue methods used in organic analytics may be complicated, laborious and time-consuming, so it is essential to find and test more efficient applications. The Quechers method was originally developed for the analysis of multiple pesticide residues in plant material. In recent years the applicability of the method has expanded to concern other fields too.

In this study the Quechers method was tested for the analysis of PAH and PCB residues in soil using the GC-MS technique. The experiment was conducted at Ramboll Analytics in Lahti, at the Laboratory of Organic Chemistry. The main aim was to find the right procedure of the Quechers method to achieve reliable results. Consequently, the more efficient Quechers method would replace the current method.

The analysis was performed 9 times with different variables. The analyte recoveries ranged from 85 to 123 % with PCBs, which means that the method could be applicable for routine analysis of soil samples. The PAH analyte recoveries were highest with the medium molecular weight compounds. Results of the most lightweight naphthalene and the compounds of heavier molecular weight were inconclusive. In conclusion, the Quechers method requires additional analysis for more reliable results.

Key words: Quechers, PAH compounds, PCB compounds, soil sample, organic compounds

SISÄLLYS

1	JOHDANTO	1
2	PAH- JA PCB-YHDISTEET	2
2.1	PAH-yhdisteet	2
2.2	PCB-yhdisteet	3
2.3	PAH- ja PCB-yhdisteet PIMA-asetuksessa	4
3	ORGAANISTEN YHDISTEIDEN ANALYSOINTI	6
3.1	Orgaanisten yhdisteiden esikäsittely	6
3.2	Orgaanisten yhdisteiden analysointi maanäytteestä	6
3.3	Orgaanisten yhdisteiden uuttuminen maa-aineksesta	8
3.4	PAH -yhdisteet maaperässä	9
4	QUECHERS-MENETELMÄ	11
4.1	Menetelmän kuvaus	11
4.2	Menetelmän soveltaminen maanäytteiden PAH-yhdisteiden määrittämiseen	12
4.2.1	Analyysimenetelmän vaikutus esikäsittelytekniikan valintaan	12
4.2.2	Neste-nesteuutto (LLE)	13
4.2.3	Sisäisen standardin käyttö (ISTD)	14
4.2.4	Dispersiivinen kiinteäfaasiuutto (d-SPE)	14
4.3	Menetelmän kehittäminen	15
4.4	Virhelähteiden huomiointi	16
5	TYÖN SUORITUS	18
5.1	Maanäytteet ja referenssimaa	18
5.2	Käytetyt reagenssit, referenssiluokset ja mittalaitteet	18
5.3	Standardien valmistus	20
5.3.1	Sisäiset standardit	20
5.3.2	Kalibrointistandardit	21
5.4	Työvaiheet	21
5.4.1	Asetonitriiliuutto	22
5.4.2	Dispersiivinen kiinteäfaasiuutto (dSPE)	24
5.4.3	Asetonitriilin vaihtaminen	25
5.4.4	Rikkihappopuhdistus	27

5.5	Kaasukromatografia-massaspektrometria	27
6	TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU	29
6.1	PAH-yhdisteet	29
6.1.1	Referenssimaiden saanto	29
6.1.2	Saannon vertailu nykyisen ja Quechers-menetelmän välillä	31
6.1.3	Rinnakkaismääritysten vertailu	38
6.2	PCB-yhdisteet	39
7	YHTEENVETO TESTAUKSISTA	43
7.1	PAH-yhdisteet	43
7.2	PCB-yhdisteet	45
8	JOHTOPÄÄTÖKSET	46
	LÄHTEET	47

LYHENTEITÄ JA MÄÄRITELMIA

Adsorptio	Aineen, kuten kaasun tai nesteen, kiinnittyminen kiinteään aineen pintaan.
Aromaattinen yhdiste	Kemiallinen yhdiste, jossa erittäin pysyvä rengasrakenne, jonka rikkoutuminen vaatii energiaa.
Derivatisointi	Johdoksenmuodostustekniikka, jolla kemiallisesta yhdisteestä tehdään alkuperäisen yhdisteen kaltaisen kemiallisen rakenteen omaava johdos.
Desorptio	Adsorption vastakohta, aineen irtoaminen pinnasta.
GC-MS	<i>Gas chromatography–mass spectrometry.</i> Kaasukromatografia-massaspektrometria.
HPLC-FLD	<i>High-performance liquid chromatography-fluorescence detector.</i> Korkean erotuskyvyn nestekromatografia-fluoresenssi-detektori.

1 JOHDANTO

Ympäristön tilaa seurataan yhä tarkemmin tiedon lisääntyessä ja tutkimusmenetelmien kehittyessä. Tiukentuneen lainsäädännön myötä tarve selvittää erilaisten haitta-aineiden määrää ympäristössämme on kasvanut.

Ympäristönsuojelulaissa ja PIMA-asetuksessa käsitellään maaperän pilaantuneisuuteen ja puhdistustarpeeseen liittyviä seikkoja. Jälkimmäisessä on annettu tarkat määrät tiettyjen haitta-aineiden sallituille pitoisuuksille maaperässä. Polysykliset aromaattiset hiilivedyt (PAH-yhdisteet) ja polyklooratut bifenyylit (PCB-yhdisteet) ovat näiden haitta-aineiden joukossa. Yhdisteiden pitoisuudet voivat olla määrältään hyvin pieniä, mikä asettaa omat haasteensa laboratorioiden käytössä oleville analyysitekniikoille. Lisäksi maaperän ominaisuudet näytematriisina tuovat lisähaastetta luotettavien tulosten saavuttamiseksi.

Laatumääritysten ja analyysitarpeiden lisääntyessä analyysiin liittyvät kontrollimääritykset ovat kasvaneet. Tyypillisen analyysimenetelmän työvaiheista näytteen esikäsittely vie suurimman osan työajasta, jolloin sen kehittämiseen on tarvetta. Myös liuotinvapaat tai vähän liuottimia kuluttavat menetelmät vaikuttavat osaltaan kustannuksiin sekä vähentävät ympäristön kuormitusta.

Tämän työn tarkoituksena oli selvittää, voidaanko uudehkoa Quechers-menetelmää soveltaa maaperän PAH- ja PCB-yhdisteiden määrittämiseen. Työn toimeksiantaja on Ramboll Analytics, ja työ on osa laboratorion analyysimenetelmien kehitystyötä.

Quechers-menetelmällä maanäytteiden esikäsittelyä voitaisiin nopeuttaa ja liuotinkulutusta mahdollisesti vähentää. Quechers-menetelmän etuina ovat toiminnan tehostuminen ja sitä kautta kustannussäästöt. Menetelmää testattiin eri koejärjestelyin syksyllä 2012 ja menetelmällä saatuja tuloksia verrattiin Ramboll Analyticsilla käytössä olleella menetelmällä saatuihin tuloksiin.

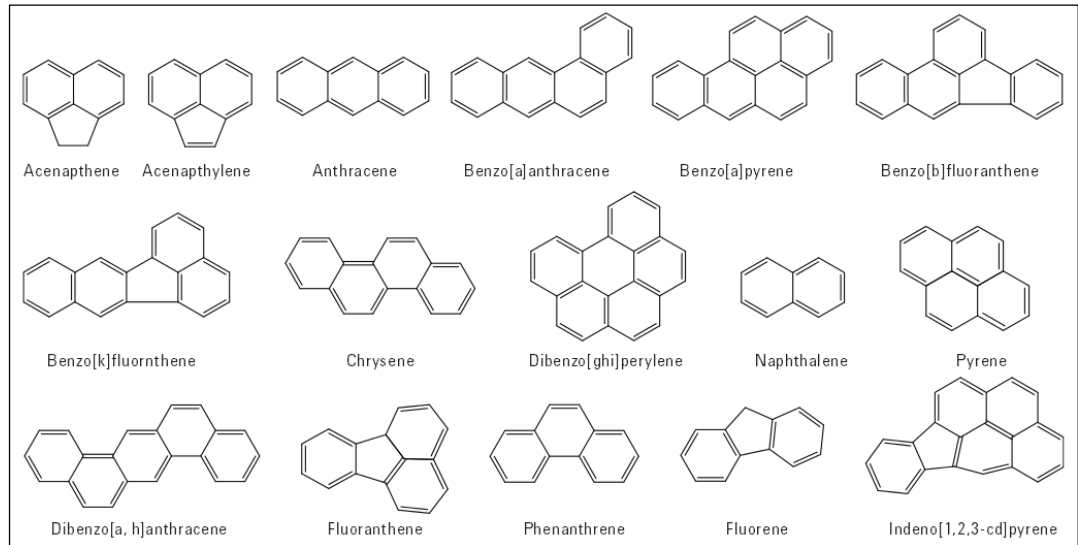
2 PAH- JA PCB-YHDISTEET

PAH- ja PCB-yhdisteet ovat orgaanisia kemiallisia haitta-aineita, joiden esiintyvyyttä ympäristössä tutkitaan sekä Suomessa että kansainvälisesti.

2.1 PAH-yhdisteet

Polysykliset aromaattiset hiilivedyt eli PAH-yhdisteet muodostuvat kahdesta tai useammasta yhteen fuusioituneesta bentseenirenkaasta (Wright 2003, 339 - 340). Tarkemmat molekyyliarakenteet tärkeimmistä PAH-yhdisteistä löytyvät kuviosta 1.

PAH-yhdisteet luokitellaan pysyviksi orgaanisiksi haitta-aineiksi, koska ne eivät hajoa helposti eli niillä on erittäin pitkä puoliintumisaika. Kuten kaikista pysyvistä orgaanisista haitta-aineista, myös PAH-yhdisteistä löytyy jäämiä kaikkialta ympäristöstä. (Wright 2003, 339 - 340.) Ne ovat lipofiilisiä eli rasvahakuisia yhdisteitä, jotka kiinnittyvät helposti orgaaniseen aineeseen (Khan, Troquet & Vachelard 2005, 275). Lisäksi ne ovat toksisia ja kerääntyvät kasveihin ja eläimiin. USEPA (US Environmental Protection Agency) on tunnistanut 16 yhdistettä lukuisien PAH-yhdisteiden joukosta, jotka tulisi ottaa lähempään tarkasteluun ympäristöntutkimuksessa. Näitä ovat naftaleeni, asenaftyleeni, asenafteeni, fluoreeni, fenantreeni, antraseeni, fluoranteeni, pyreeni, bentso[a]antraseeni, kryseeni, bentso[b]fluoranteeni, bentso[k]fluoranteeni, bentso[a]pyreeni, indeno[1,2,3-cd]pyreeni, dibentso[a,h]antraseeni ja bentso[ghi]peryleeni. Osan näistä yhdisteistä on todettu aiheuttavan syöpää. (Wright 2003, 339 - 340.)



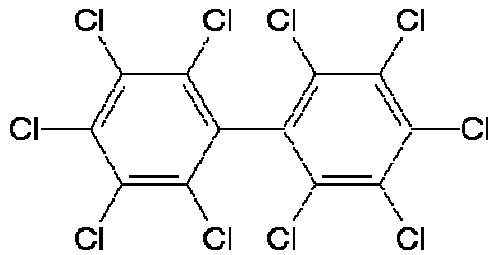
KUVIO 1. Tärkeimmät PAH-yhdisteet (Pule, Mmualefe & Torto 2012, 2)

PAH-yhdisteitä syntyy epätäydellisen palamisen seurauksena (Wright 2003, 339 - 340). Niitä löytyy esimerkiksi kivihiilipiestä ja kivihiilitervasta, tervasta, kreosoottiöljystä ja muista kivihiiliperäisistä öljyistä, dieselöljyistä, käytetystä moottoriöljystä, noesta, asfaltista, bitumista ja pakokaasuista (Työterveyslaitos 2010).

2.2 PCB-yhdisteet

Polyklooratut bifenyylit eli PCB-yhdisteet ovat pysyviä orgaanisia haitta-aineita kuten PAH-yhdisteet. Niitä on olemassa 209 eri kongeneeria. Nämä kongeneerit ovat keskenään samantyyppisiä yhdisteitä, mutta niissä voi olla esimerkiksi eri määrä klooria (ks. kuvio 2). Yhdisteet voivat haihtua jossain määrin ilmaan vedestä ja hiekkamaasta, mutta suurimmaksi osaksi ne sitoutuvat hiukkasiin. Mitä enemmän klooria yhdisteet sisältävät, sitä pysyvämpiä ne ovat. PCB-yhdisteet eivät liukene juurikaan veteen. Sen sijaan rasvaliukoisina yhdisteinä ne kertyvät elimistön rasvakudoksiin. Yhdisteet ovat terveydelle haitallisia. Niiden epäillään aiheuttavan ihmisellä mm. syöpää ja hedelmällisyyden alenemista. Terveysvaikutukset vaihtelevat kongeneerien mukaan. (Syke 2011.)

PCB-yhdisteiden korkean resistanssin johdosta niitä on pääasiallisesti käytetty eristeaineena kondensaattoreissa ja muuntajissa, mutta myös esimerkiksi saumausmassoissa. Suomessa PCB-yhdisteiden ja niitä sisältävien tuotteiden valmistus, maahantuonti, myynti ja luovutus kiellettiin vuonna 1990. (Syke 2011.)



KUVIO 2. Esimerkki PCB-yhdisteen rakenteesta (UNEP 2013)

2.3 PAH- ja PCB-yhdisteet PIMA-asetuksessa

PAH- ja PCB-yhdisteet ovat useiden muiden haitta-aineiden joukossa arvioitaessa maaperän pilaantuneisuutta ja puhdistustarvetta. Arvioinnissa noudatetaan valtioneuvoston asetusta 214/2007 (PIMA-asetus). Arviointi tulee tehdä, mikäli yhden tai useamman haitallisen aineen pitoisuus maaperässä ylittää asetuksen liitteessä säädetyn kynnysarvon (ks. taulukko 1). Jos alueen taustapitoisuus on korkeampi kuin kynnysarvo, pidetään taustapitoisuutta kynnysarvona. (PIMA-asetus 214/2007, 3 §.)

Maaperää voidaan pitää pilaantuneena tietyin poikkeuksin, mikäli asetuksen liitteessä määritelty alempi (esim. asuin- ja virkistysalueilla) tai ylempi ohjearvo (esim. teollisuus-, varasto- ja liikennealueilla) ylittyy (PIMA-asetus 214/2007, 4 §). Lähtökohtana pilaantuneisuuden arvioinnille on edustava näytteenotto ja analyysit, joiden tulee perustua standardoituihin tai niitä luotettavuudeltaan vastaaviin menetelmiin (PIMA-asetus 214/2007, 5 §).

TAULUKKO 1. Maaperän PAH- ja PCB-yhdisteiden pitoisuuksien kynnys- ja ohjearvot (PIMA-asetus, liite)

Aine (symboli)	Kynnysarvo mg/kg	Alempi ohjearvo mg/kg	Ylempi ohjearvo mg/kg
Polyaromaattiset hiilivedyt			
Antraseeni	1	5 (e)	15 (e)
Bentso(a)antraseeni	1	5 (e)	15 (e)
Bentso(a)pyreeni	0,2	2 (t)	15 (e)
Bentso(k)fluoranteeni	1	5 (e)	15 (e)
Fenantreeni	1	5 (e)	15 (e)
Fluoranteeni	1	5 (e)	15 (e)
Naftaleeni	1	5 (e)	15 (e)
PAH*	15	30 (e)	100 (e)
Polyklooratut bifenyylit (PCB)			
PCB**	0,1	0,5 (t)	5 (e)

(e) ekologinen riski, (t) terveydellinen riski

* PAH- yhdisteiden summapitoisuus sisältäen seuraavat yhdisteet: antraseeni, asenaftteeni, asenaftyleeni, bentso(a)antraseeni, bentso(a)pyreeni, bentso(b)fluoranteeni, bentso(g,h,i)peryleeni, bentso(k)fluoranteeni, dibentso(a,h)antraseeni, fenantreeni, fluoranteeni, fluoreeni, indeno(1,2,3-c,d)pyreeni, kryseeni, naftaleeni ja pyreeni.

** Summapitoisuus sisältäen PCB-kongeneerit 28, 52, 101, 118, 138, 153, 180.

3 ORGAANISTEN YHDISTEIDEN ANALYSOINTI

PAH- ja PCB-yhdisteet ovat orgaanisia yhdisteitä, jolloin niiden analysoinnissa tulee huomioida orgaanisten yhdisteiden tutkimiseen liittyviä erityispiirteitä. Erityisesti maanäytteiden esikäsittely orgaanisten yhdisteiden kohdalla on haastavaa ja asettaa erityisvaatimuksia luotettavien tulosten saamiseksi.

3.1 Orgaanisten yhdisteiden esikäsittely

Näytteenkäsittely ja varsinainen mittaaminen ovat useimmiten erillisiä toimenpiteitä, jolloin esikäsittelymenetelmää kehitettäessä on huomioitava näytteenkäsittelyn soveltuvuus valittuun analyysitekniikkaan. Monet tutkittavat näytteet ovat kiinteässä olomuodossa, jolloin käytettävästä analyysitekniikasta riippuen näytteestä määritettävät aineet voidaan a) tutkia suoraan tai b) saattaa liuosfaasiin ennen mittausta. (Sirén, Perämäki & Laiho 2009, 27.)

Orgaanisessa analytiikassa kiinteiden näytteiden suoraa mittausta on mahdollista käyttää lähinnä yhdisteen tai yhdisteryhmän tunnistamiseen tutkittavasta näytteestä. Sen sijaan orgaanisten yhdisteiden kvantitatiivinen määrittäminen suoraan kiinteästä näytteestä on useimmissa tapauksissa mahdotonta, erityisesti alhaisten pitoisuuksien kohdalla. Näin ollen kvantitatiivinen määrittäminen tehdään useimmiten liuosmuodossa olevasta näytteestä. Tavoitteena liuosfaasiin saattamisella on, että lopputulokseksi saadaan hajotus/uuttovaiheen jälkeen kirkas näyteliuos, joka sisältää tutkittavat yhdisteet liuenneina, tasalaatuisesti jakautuneina ja oikeassa absoluuttisessa määrässä. Myös jatkokäsittely esimerkiksi puhdistus- tai konsentroititekniikalla voi olla helpompaa liuosmuotoisille näytteille. (Sirén ym. 2009, 27 - 28.)

3.2 Orgaanisten yhdisteiden analysointi maanäytteestä

Orgaanisten yhdisteiden erottaminen ja puhdistaminen maa- ja sedimenttinäytteistä on vaikeampaa verrattuna esimerkiksi vesinäytteisiin, koska ensin mainitut sisältävät valtavat määrät erilaisia epäorgaanisia ja orgaanisia aineita. (Pierzynski, Sims & Vance 2000, 304 - 305; Sirén ym. 2009, 187.)

Oikean esikäsitteilytekniikan valinta on erityisen vaikeaa tilanteissa, joissa näytteessä on satoja ominaisuuksiltaan erilaisia aineita, jotka halutaan erottaa toisistaan. Niinpä esikäsitteilytekniikat ovat usein monivaiheisia ja on tavanomaista, että yhdestä näytteestä etsitään samanaikaisesti useita eri yhdisteryhmiä, esimerkiksi PCB-yhdisteitä, fenoleita ja öljyhiilivetyjä. (Pierzynski ym. 2000, 304 - 305; Sirén ym. 2009, 187.)

Orgaanisten yhdisteiden analysointi maanäytteestä vaatii yleensä uuton. Koska uuttomenetelmät ovat pääasiassa epäselektiivisiä, vaatii näyte edelleen puhdistustoimenpiteitä analyysiä häiritsevien yhdisteiden poistamiseksi. Näitä häiritseviä yhdisteitä voivat olla tutkittavassa näytteessä luonnostaan esiintyvät yhdisteet, mutta myös tutkimuksen kohteena olevien yhdisteiden eri spesieksit, kuten hajoamistuotteet. Lisäksi konsentroidi on usein tarpeellinen, jotta alhaiset yhdistepitoisuudet saadaan näkyviin. Tämä vaatii analyysimenetelmiltä herkkyyttä, joten valittujen analyysitekniikoiden tulee perustua parhaaseen mahdolliseen erotuskykyyn (kromatografia) ja selektiivisiin detektoreihin (ilmaisimiin). Orgaanisten yhdisteiden analysointi voidaan jakaa seuraaviin päävaiheisiin, joista kohdat 2 - 5 kuvaavat yksinkertaistettuna esikäsitteilyn etenemistä orgaanisessa analytiikassa:

1. Näytteenotto
2. Analysoitavien yhdisteiden erotus näytematriisista
3. Puhdistus
4. Konsentroidi
5. Mahdollinen derivatisointi
6. Analyysi.

(Pierzynski ym. 2000, 304 - 305; Sirén ym. 2009, 186 - 187.)

Näytteenkäsitteilymenetelmät tulee valita niin, etteivät tutkittavien yhdisteiden kemialliset muodot muutu näytteenkäsitteilyn aikana. Uuttomenetelmien selektiivisyys ja tehokkuus on riippuvainen monista tekijöistä: mm. liuottimen, apuaineiden ja uuttotekniikan oikealla valinnalla voidaan vaikuttaa näihin seikkoihin. (Sirén ym. 2009, 29.)

3.3 Orgaanisten yhdisteiden uuttuminen maa-aineksesta

Orgaanisten haitta-aineiden uuttuminen maa-aineksesta riippuu yhdisteiden fysiokemiallisista ominaisuuksista, kuten hydrofobisuudesta ja rasvaliukoisuudesta. Lisäksi maa-aineksen ominaisuudet vaikuttavat uuttumiskykyyn. Mineraalipitoisessa maaperässä uuttuminen tapahtuu pääsääntöisesti fysikaalisten adsorptio- ja desorptioprosessien kautta. Maaperän orgaanisessa aineksessa haitta-aineet voivat olla sitoutuneet sekä adsorption että erilaisten kemiallisten sidoksien avulla. (Lehnik-Habrink, Hein, Win, Bremser & Nehls 2010, 1488.) Näitä ovat esimerkiksi kovalenttinen sidos, vetysidos, kemisorptio eli kemiallinen adsorptio sekä elektronin-luovuttaja-vastaanottaja -vuorovaikutus (Ziechmann 1972, Stevenson 1976, Doll & Frimmel 1999, Lehnik-Habrinkin ym. 2010, 1488 mukaan). Syynä sidostyyppien laajaan valikoimaan ovat orgaanisen aineksen epätavallisen monimutkaiset rakenteet, jotka koostuvat humuksen makromolekyyleistä ja alifaattisista yhdisteistä ja ovat sitoutuneet aromaattisten ryhmien väliin. Lisäksi monimutkainen seos sisältää aromaattisiin renkaisiin sattumanvaraisesti levittyneitä vapaita ja sitoutuneita fenolisia hydroksyyliyhmiä, kinoneita, siltana toimivia tyyppeä ja happea sekä karboksyyliyhmiä. (Kickuth 1972, Haworth 1971, Ziechmann 1996, Schulten 1995, Lehnik-Habrinkin ym. 2010, 1488 mukaan.) Kemialliset vuorovaikutussuhteet humusaineiden ja orgaanisten haitta-aineiden välillä voivat johtaa uuttumattomien jäännösten syntyyn (Roberts 1984, Lehnik-Habrinkin ym. 2010, 1488 mukaan).

Maanäytteiden eli kiinteiden näytteiden kohdalla materiaalin hiukkaskoolla on ratkaiseva merkitys näytteen edustavuuteen. Mitä hienojakoisempi näyte on, sitä suurempi on sen reaktiivinen pinta-ala. Näytteen esikäsittelyn kannalta tämä on toivottavaa, koska näyte reagoi nopeammin. Toisaalta esimerkiksi säilytyksen aikana näytteen koostumus voi muuttua herkemmin verrattuna suuremman hiukkaskoon näytteeseen. Näytteessä olevat orgaaniset yhdisteet voivat hapettua tai näyte voi absorboida ilmasta vesihöyryä tai hiilidioksidia. (Sirén ym. 2009, 18 - 21.)

Mitä heterogeenisempi materiaali on kyseessä, sitä suurempi näytemäärän eli hiukkasten lukumäärän tulee olla. Heterogeenisellä materiaalilla tarkoitetaan, että hiukkaskokojakauma ja/tai yksittäisten hiukkasten kemiallinen koostumus vaihtelee materiaalissa. Homogeeniselle ja hienojakoiselle referenssimateriaalille riittävä näytemäärä on suuruusluokaltaan satoja milligrammoja. (Sirén ym. 2009, 18 - 21.)

3.4 PAH -yhdisteet maaperässä

Alhaisemman molekyylipainon PAH-yhdisteillä eli naftaleenilla, asenaftaleenilla, asenaftenilla ja fluoreenilla on alhaisin oktanoli-vesi jakaantumiskerroin eli K_{ow} -arvo. Toisin sanoen ne liukenevat paremmin veteen ja ovat lisäksi helpommin haihtuvia ja biohajoavampia kuin korkeamman molekyylipainon omaavat PAH-yhdisteet. (Simpson, Chefetz, Deshmukha & Hatcher 2005, 157 - 159.) Voidaan siis olettaa, että yhdisteiden uuttaminen erityisesti raskaimpien yhdisteiden kohdalla vaatii voimakkaampia toimenpiteitä kevyempiin yhdisteisiin verrattuna. Toisaalta kevyet yhdisteet voivat hävitä helpommin näytteen kuljetuksen, säilytyksen ja käsittelyn aikana.

Orgaanisen aineksen aromaattisen osuuden uskotaan olevan päätekijä, joka pidättää PAH-yhdisteet maaperässä ja sedimenteissä (Luthy, Aiken, Brusseau, Cunningham, Gschwend, Pignatello, Reinhard, Traina, Weber, & Westall 1997, Simpsonin ym. mukaan 2005, 160). On myös epäilty, että pääasiassa levistä ja kasvien vahamaisista jäänteistä syntyvillä parafiinisillä hiilivedyillä voi olla vielä suurempi rooli PAH-yhdisteiden pidättämisessä (Chefetz, Deshmukh, Guthrie, & Hatcher, 2000; Mao, Hundal, Thompson, & Schmidt-Rohr, 2002; Salloum, Chefetz, & Hatcher, 2002, Simpsonin ym. mukaan 2005, 160).

Useissa tutkimuksissa on osoitettu PAH-yhdisteiden konsentroituvan suurempiin maapartikkeleihin (Li, Chen, Wu & Piao 2010, 729). Maruyan, Risebroughin ja Hornen tutkimuksessa maa-aineksen partikkelikoolla näytti olevan suurempi merkitys yhdisteiden kiinnittymiseen kuin orgaanisen aineksen osuudella (Maruya, Risebrough & Horne 1996, Lin ym. mukaan 2010, 730).

Näiden tutkimusten osalta voidaan todeta, että PAH-yhdisteiden kiinnittymisellä maa-ainekseen vaikuttaisi olevan tiettyjä syy-seuraus-suhteita. Sopivan uuttamistekniikan löytäminen edellyttää, että yhdisteet saadaan uutettua erityyppisistä maa-aineksista yhtä tehokkaasti.

4 QUECHERS-MENETELMÄ

Näytteiden esikäsittely ja analysointi on erityisen haastavaa tutkittaessa määrältään vähäisiä yhdisteitä hankalista matriiseista. Steven J. Lehotay ja Michelangelo Anastassiades esittelivät Quechers-menetelmän vuonna 2003 vastatakseen torjunta-ainejäämien esikäsittelyyn ja analysointiin liittyviin haasteisiin. Menetelmällä pystytään eristämään tietyt torjunta-ainejäämät vihanneksista ja hedelmistä yksinkertaisesti ja tehokkaasti. Menetelmä onkin saanut nimensä sitä kuvaavista sanoista (QUick, Easy, CHEap, Effective, Rugged ja Safe). Vuosien varrella Quechers-menetelmä on saavuttanut niin paljon suosiota, että siitä on tulossa hedelmien ja vihannesten torjunta-ainejäämien vakioesikäsittelytekniikka valtaosassa laboratorioita eri puolilla maailmaa. Lisäksi menetelmää sovelletaan yhä laajemmin muihin matriiseihin (esim. elintarvikkeet, maa-aines) ja haitta-aineisiin (esim. antibiootit ja lääkkeet). (Lehotay, Anastassiades & Majors 2010, 504.)

4.1 Menetelmän kuvaus

Quechers-menetelmä sisältää yksinkertaisia esikäsittelyvaiheita, joten sen toteutus kuvaillaan nopeaksi, helpoksi ja häiriövarmaksi. Quechersin käytön luvataan antavan korkeat saannot laajalle skaalalle erilaisia torjunta-aineita sekä mahdollistavan useamman eri tavan lopullisen analyysitekniikan valinnalle uutossa käytetyn asetonitriilin ansioista. (Quechers 2011.)

Quechers-menetelmässä esikäsittely voidaan jakaa kahteen vaiheeseen. Ensin kiinteää näytettä uutetaan ulossuolauksen avulla vesi-asetonitriililiuoksessa. Tätä seuraa dispersiivinen kiinteäfaasiuutto (d-SPE), jonka avulla saadaan poistettua suurin osa analyysiä häiritsevistä tekijöistä. Lopuksi näyte analysoidaan yhdellä tai useammalla "tandem-tekniikalla" kuten GC-MS- tai LC-MS-tekniikalla. (Lehotay ym. 2010, 504.)

Lyhyesti menetelmä sisältää seuraavat vaiheet:

- Punnitaan 10 g näytettä.
- Lisätään 10 ml asetonitriiliä ja sisäinen standardi (ISTD).
- Ravistellaan voimakkaasti.
- Lisätään natriumkloridia, magnesiumsulfaattia ja puskuroivia suoloja faasien erottelua ja pH:n säätöä varten.
- Ravistellaan voimakkaasti ja sentrifugoidaan => raakauute.
- Otetaan ylempi faasi talteen ja tehdään sille d-SPE-puhdistus yhdistämällä nesteeseen magnesiumsulfaattia ja sorbenttia (esim. PSA) veden ja ei-toivottujen aineiden poistamiseksi.
- Ravistellaan hetki ja sentrifugoidaan => lopullinen uute.
- Analysoidaan suoraan GC- ja / tai LC-tekniikoilla. (Quechers 2011.)

Ohjeen mukaisesti toteutettuna menetelmä mahdollistaa kahdeksan näytteen käsittelyn 45 minuutissa 1-3 €:n kustannuksilla (Quechers 2011).

4.2 Menetelmän soveltaminen maanäytteiden PAH-yhdisteiden määrittämiseen

Agilent Technologies on julkaissut Quechers-menetelmää soveltavan ohjeen Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil with Agilent Bond Elut HPLC-FLD (Pule ym. 2012) maanäytteiden PAH-yhdisteiden määrittämiseen. Seuraavissa luvuissa on perehdytty tarkemmin menetelmässä käytettyihin tekniikoihin.

4.2.1 Analyysimenetelmän vaikutus esikäsittelytekniikan valintaan

Quechers-menetelmässä näyte voidaan analysoida esimerkiksi kaasukromatografisesti (GC) tai nestekromatografisesti (LC). GC-menetelmää käytettäessä näyte on lähes aina esipuhdistettava tai johdettava helpommin haihtuvaan (alle 300 °C) tai stabiilimpaan muotoon. (Sirén ym. 2009, 188.)

LC-menetelmällä analysointi voidaan suorittaa vähemmällä esikäsitellyllä, mutta tämä edellyttää, että yhdisteet ovat detektorilla tunnistettavissa. Käytännössä LC-analyysin käyttö edellyttää ainakin erotustehokkuutta parantavaa esikäsitelyä, koska menetelmässä käytetyn erotuskolonin lyhyys huonontaa kyseistä ominaisuutta. (Sirén ym. 2009, 188.)

4.2.2 Neste-nesteutto (LLE)

Neste-nesteutto (engl. liquid-liquid extraction, LLE) on yksinkertainen ja nopea esikäsitelymenetelmä, joka voidaan toteuttaa erotussuppilossa tai koeputkessa ilman monimutkaisia laitteistoja. Menetelmässä päämääränä on siirtää tutkittavat yhdisteet näytteestä uuttoliuokseen niin, että analyyttisaanto olisi mahdollisimman suuri. Edellytyksenä tälle on, että uutuvien häiritsevien yhdisteiden määrä saadaan pidettyä mahdollisimman pienenä. (Sirén ym. 2009, 258 - 259.)

Quechers-menetelmässä näytematriisiliuottimena toimii vesi ja uuttoliuoksena veteen sekoittuva orgaaninen liuotin, asetonitriili (Lehotey ym. 2010, 504; Pierzynski ym. 2000, 304 - 305).

Uuttoliuoksen valinnassa pätee yleissääntö ”samanlainen liuottaa samanlaista” (Sirén ym. 2009, 136). pH:ltaan neutraalit ja varaukseltaan poolittomat yhdisteet, kuten PAH-yhdisteet, uutuvat helposti orgaanisiin liuottimiin. Pooliset yhdisteet sen sijaan siirtyvät mielellään vesiliuokseen. (Sirén ym. 2009, 260, 264.)

Yhdisteiden rasvaliukoisuus estää myös veteen liukenemistä. Veteen sekoittuvan liuottimen (kuten asetonitriilin) käyttö voi soveltua parhaiten maa- ja sedimenttinäytteiden uuttoon, koska tutkimuksen kohteena olevat orgaaniset yhdisteet voidaan erottaa kyseisestä liuottimesta veteen sekoittumattomalla liuottimella (Pierzynski ym. 2000, 304 - 305).

Neste-nesteuton onnistumisen edellytys on, että uuttoliuotin ja näytematriisiliuotin erottuvat toisistaan hyvin (Sirén ym. 2009, 258). Asetonitriili sekoittuu kuitenkin helposti veteen (Pierzynski ym. 2000, 304 - 305), mikä tehostaa uutumista, mutta vaikeuttaa faasien erottumista toisistaan. Tämä on ratkaistu kyllästäväällä vesifaasi epäorgaanisilla suoloilla ja sentrifugoimalla.

Suolojen lisäys pakottaa yhdisteet siirtymään orgaaniseen liuottimeen ja poistaa veden orgaanisesta uuttofaasista käynnistäen neste-nestepartition. Lisäksi uuton yhteydessä mahdollisesti tapahtuvaa näytosaantoja vähentävää emulsion muodostumista voidaan estää suolojen lisäyksellä ja sentrifugoimalla.

Suoloilla saadaan säädettyä tarvittaessa myös pH optimaaliseksi. (Pule ym. 2012, 2; Sirén ym. 2009, 259 - 260, 265.)

4.2.3 Sisäisen standardin käyttö (ISTD)

Neste-nesteuutossa on useita virhelähteitä, jolloin sisäisen standardin (engl. internal standard, ISTD) käyttö on ehdotonta. Sisäinen standardi lisätään ennen esikäsitteilyn aloittamista näytteeseen, jolloin sen avulla voidaan korjata esikäsitteilyn ja analyysin aikana tapahtuvia toimintavirheitä tai muutoksia. Kun sisäisen standardin pitoisuus alkuperäisessä näytteessä tunnetaan, analyysitulokset saadaan laskettua suhteessa sisäiseen standardiin, jolloin esimerkiksi liuottimen haihtumisen vaikutus ei vääristä lopputulosta. On tärkeää, että sisäinen standardi on fysikaalisilta ja kemiallisilta ominaisuuksiltaan mahdollisimman samankaltainen kuin tutkittavat yhdisteet, mutta ei esiinny luontaisesti itse näytteessä. Sisäisen standardin retentoituminen kromatografiolla tulisi tapahtua tutkittavien yhdisteiden kaltaisesti ja kuvaajassa piikin sijainnin tulisi asettua kromatogrammin keskivaiheille. (Sirén ym. 2009, 193, 265.)

4.2.4 Dispersiivinen kiinteäfaasiuutto (d-SPE)

Myös kiinteäfaasiuutto (engl. solid phase extraction, SPE) on menetelmänä nopea, yksinkertainen ja toteutettavissa pienessä mittakaavassa. Perinteinen kiinteäfaasiuutto perustuu yhdisteiden adsorptoitumiseen eli sitoutumiseen kiinteään faasiin, sorbenttiin, josta ne uuton avulla vapautetaan sopivaan liuottimeen (Sirén ym. 2009, 271). Dispersiivisessä kiinteäfaasiuutossa ekstraktissa olevat häiriötekijät kiinnittyvät sorbenttiin ja jäljelle jää puhdistettu näyteliuos. D-SPE on siis vielä nopeampi toteuttaa kuin perinteinen SPE. Agilentin menetelmäohjeessa dispersiivinen kiinteäfaasiuutto toteutetaan kaupallisen d-SPE-patruunan avulla.

Patruuna sisältää PSA-sorbenttia (engl. Primary Secondary Amine), magnesiumsulfaattia ja C18-materiaalia (oktadekyyli). PSA poistaa orgaanisia happoja ja magnesiumsulfaatin avulla liuokseen mahdollisesti jäänyt vesijäämä saadaan hävitettyä. C18-sorbentin lisäyksellä mahdolliset rasvat ja vahat saadaan puhdistettua ekstraktista. (Pule ym. 2012, 2.)

4.3 Menetelmän kehittäminen

Menetelmän kehittämisessä ja testaamisessa voidaan hyödyntää validointiin liittyviä menetelmän suorituskykyä ilmaisevia parametrejä (Ehder (toim.) 2005, 26).

Saanto kertoo, kuinka hyvin menetelmällä voidaan havaita tutkittavan analyytin kokonaismäärä. Menetelmän saantoa voidaan mitata esimerkiksi vertaamalla testauksen alla olevalla menetelmällä saatuja tuloksia tunnetun menetelmän tuloksiin ja/tai vertaamalla sertifioitua matriisipohjaista vertailumateriaalia (referenssimateriaalia) saatuihin tuloksiin. Saanto ilmaistaan tyypillisesti prosenttina tunnetun lisäyksen laskennallisesta arvosta:

$$\text{Saanto (\%)} R = \left[\frac{C_1 - C_2}{C_3} \right] \times 100 \quad (1)$$

missä

C_1 = useampien tunnetuilla lisäyksillä tehtyjen mittausten keskiarvo

C_2 = mittaustulos näytteestä ilman tunnettua lisäystä

C_3 = tunnetun lisäyksen laskennallinen arvo. (Ehder (toim.) 2005, 32 - 33.)

Menetelmän **selektiivisyys** kertoo menetelmän kyvystä määrittää tutkittava analyytti silloin, kun näytematriisissa esiintyy muita komponentteja.

Spesifisydellä ilmaistaan menetelmän kykyä mitata ainoastaan tutkittavaa analyyttiä. Vain harvat menetelmät ovat täysin spesifisiä. Selektiivisyyttä voidaan tutkia tarkastelemalla analyytin saantoja ja kartoittamalla häiritseviä tekijöitä sekä vertailemalla menetelmää muihin selektiivisyydeltään tunnettuihin menetelmiin.

Kaasukromatografia-massaspektrometria on hyvin selektiivinen menetelmä. (Ehder (toim.) 2005, 27.)

Menetelmän *toistettavuus* kuvaa peräkkäisten mittaustulosten paikkansapitävyyttä, kun mittaukset suoritetaan samoissa mittausolosuhteissa lyhyellä aikavälillä. Toistettavuus selvitetään tekemällä useita rinnakkaismäärittäyksiä erityyppisistä näytteistä eri pitoisuuksilla. (Ehder (toim.) 2005, 37.)

4.4 Virhelähteiden huomiointi

Näytteen analysoinnissa voi tapahtua monenlaisia virheitä. Erityisesti esikäsitteilyvaihe on altis virheiden muodostumiselle, mutta myös laitteesta tai menetelmästä johtuvia virheitä esiintyy. (Sirén ym. 2009, 192.)

Tulosten luotettavuutta arvioitaessa voidaan pohtia, onko tutkittava näyte *edustava*, toisin sanoen edustaako se hyvin tutkittavaa kohdetta. Näytteestä tehtävät rinnakkaismäärittäykset ja niissä mahdollisesti esiintyvät eroavaisuudet voivat kertoa huonosta edustavuudesta. Näytteen *muuntuminen* tutkimusketjun aikana esimerkiksi konsentroitumalla, laimenemalla tai hajoamalla voidaan ratkaista sisäisen standardin menetelmällä. (Sirén ym. 2009, 192 – 193.)

Näytteen *kontaminoituminen* voi tapahtua monella eri tavalla: matriisi voi sisältää häiritseviä yhdisteitä, kontaminoituminen voi tapahtua jo näytteenoton yhteydessä tai käytössä olevien välineiden ja astioiden, näytteen käsittelijän tai reagenssien kautta. Kontaminoitumista voidaan estää esimerkiksi näytteen puhdistuksella ja suunnittelemalla näytteen esikäsitteily niin pienitöisesti kuin mahdollista. (Sirén ym. 2009, 193 – 194.)

Näyte voi *adsorptoitua* lasitavaroiden pintaan aiheuttaen hävikkiä erityisesti silloin, kun tutkittavien yhdisteiden pitoisuudet ovat hyvin pieniä. Adsorptiota voidaan ehkäistä esimerkiksi huolehtimalla, että käytetyt lasitavarat ovat sisäpinnaltaan naarmuuntumattomia ja uuttovaiheessa uuttoliuottimena käytetään sekä poolista että poolitonta liuotinta. (Sirén ym. 2009, 194 – 195.)

Näytteessä voi tapahtua *kemiallisia muutoksia* vielä esikäsitteilyn jälkeenkin eli näytteet tulee analysoida mahdollisimman pian tai esimerkiksi pakastaa säilyvyyden takaamiseksi. *Analyysilaitteistossa esiintyvät virhelähteet* voivat johtua esimerkiksi näytteensyötöstä, integroinnista, kolonnista tai kromatografiasta. (Sirén ym. 2009, 192, 195.)

5 TYÖN SUORITUS

5.1 Maanäytteet ja referenssimaa

Näytematriiseiksi valittiin kaupallinen referenssimaa sekä erilaisia asiakasnäytteitä, jotka oli jo aiemmin analysoitu Ramboll Analyticsillä käytössä olevalla menetelmällä. Maanäytteiksi pyrittiin valitsemaan näytteitä, joista tiedettiin löytyvän tutkittavia yhdisteitä. Maanäytteet eivät sisältäneet sedimenttinäytteitä, mutta mukana oli yksi betoninäyte.

Työssä käytetyt referenssimaat olivat seuraavat:

- PAH-yhdisteille: ERM-CC013a, Federal Institute for Materials Research and Testing (BAM)
- PCB-yhdisteille: PCB Congeners – Loamy Sand (Sigma-Aldrich).

5.2 Käytetyt reagenssit, referenssiliuokset ja mittalaitteet

Koejärjestelyissä käytetyt reagenssit ja liuottimet on esitetty taulukossa 2. GC-MS-laitteiston tiedot löytyvät taulukosta 3.

Käytetyt referenssiliuokset olivat seuraavat:

- PAH-Mix 9, 100 ng/μl asetonissa (Dr. Ehrenstorfer)
- PCB-Mix 20, 10 ng/μl iso-oktaanissa (Dr. Ehrenstorfer).

TAULUKKO 2. Työssä käytetyt reagenssit ja liuottimet

Nimi	Kaava	Valmistaja
Asetoni	C ₃ H ₆ O	Lab-Scan
Asetonitriili	CH ₃ CN	VWR
C18EC		Agilent Technologies
Magnesiumsulfaatti	MgSO ₄	Agilent Technologies
Natriumasetaatti	NaOAc	Agilent Technologies
<i>n</i> -heksaani	C ₆ H ₁₄	VWR
<i>n</i> -nonaani	C ₉ H ₂₀	Acros Organics
Natriumpyrofosfaatti	Na ₄ P ₂ O ₇	VWR
Puhdistettu vesi	H ₂ O	ELGA
Primary secondary amine	PSA	Agilent Technologies
Tolueeni	C ₆ H ₅ CH ₃ / C ₇ H ₈	Fisher Chemicals
Väkevä rikkihappo	H ₂ SO ₄	VWR

TAULUKKO 3. GC-MS-laitteistojen tiedot

GC-MS-laitteiston osat	Merkki ja malli	
	PAH-yhdisteet	PCB-yhdisteet
Kaasukromatografi	Hewlett Packard HP6890 Series GC System	Agilent Technologies 6890N Network GC System
Massaselektiivinen detektori	Hewlett Packard 5973 Mass Selective Detector	Agilent 5973 Network Mass Selective Detector
Kolonni	Phenomenex ZB-5MS	
Injektori/näytteesyötin	Agilent 7683 Series Injector	Hewlett Packard 7683 Series Injector
Ohjelmisto	Enhanced Chemstation G 1701DA ver. D.03.00.611	Enhanced Chemstation G 1701DA ver. D.00.01.27

5.3 Standardien valmistus

5.3.1 Sisäiset standardit

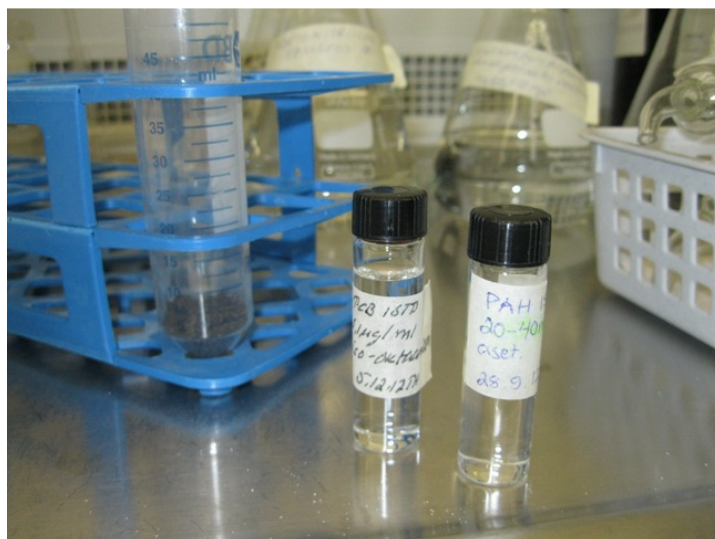
Sisäiset standardit olivat samoja käyttöliuoksia, jotka oli jo aiemmin valmistettu käytössä olevaa menetelmää varten.

PAH-yhdisteiden ISTD-käyttöliuos valmistettiin lyhyesti kuvailtuna punnaamalla seitsemää eri kaupallisesta PAH-yhdistettä (valmistaja Dr. Ehrenstorfer) asetoniin. Yhdisteet olivat naftaleeni D8, asenafteeni D10, fenantreeni D10, antraseeni D10, dibentso[a,h]antraseeni D14, bentso[a]pyreeni D12 ja pyreeni D10.

PCB-yhdisteille valmistettiin ensin ISTD-kantaliuos iso-oktaaniin, johon pipetoitiin PCB-kongeneeriä No. 52 C13 sekä PCB-kongeneeriä No. 153 C13 (valmistaja molemmilla Dr. Ehrenstorfer). Tästä kantaliuoksesta tehtiin ISTD-käyttöliuos, joka muodostui 5,0 ml:sta kantaliuosta ja 45 ml:sta iso-oktaania.

Käyttöliuoksien (ks. kuvio 3) pitoisuudet olivat seuraavat:

- PAH ISTD 20-40 mg/l asetonissa
- PCB ISTD 0,1 mg/l iso-oktaanissa



KUVIO 3. Sisäiset standardiliuokset

5.3.2 Kalibrointistandardit

PAH-kalibrointistandardit tehtiin standardin työliuoksesta (pitoisuus 5 mg/l tolueenissa), joka oli sama kuin käytössä olevan menetelmän standardeilla. Standardin työliuos valmistettiin 16 kaupallisesta PAH-yhdisteestä (valmistaja Dr. Ehrenstorfen) tehdystä liuoksesta. Standardeihin lisättiin myös sisäisen standardin ISTD-käyttöliuosta näytteisiin nähden oikeassa suhteessa. PCB-standardit valmistettiin suoraan kaupallisesta Dr. Ehrenstorfen PCB-Mix 3 -valmisteesta (pitoisuus 10 mg/l asetonissa) eli myös samalla tavoin kuin käytössä olleella menetelmällä. Standardit tehtiin ISTD-käyttöliuokseen. PCB-Mix 3 -valmiste sisältää tunnetut määrät PIMA-asetuksessa määritellyjä PCB-kongeneerejä. Koejärjestelyjä varten valmistetut kalibrointistandardit esikäsiteltiin, mutta näytteet analysoitiin myös käytössä olevan menetelmän standardeja vastaan vertailun vuoksi.

5.4 Työvaiheet

Koejärjestelyt toteutettiin soveltaen Agilent Technologiesin menetelmäohjetta Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil with Agilent Bond Elut HPLC-FLD (Pule ym. 2012). Merkittävin ero menetelmäohjeen ja koejärjestelyjen välillä oli näytteiden analysointimenetelmä. Agilentin ohjeessa näytteet analysoitiin korkean erotuskyvyn nestekromatografia-fluoresenssi-detektorilla (HPLC-FLD), kun taas tämän työn kohdalla näytteet määritettiin kaasukromatografisesti käyttäen MS-detektoria (GC-MS). Näin toimittiin, koska käytössä olevassa menetelmässä analysointi toteutetaan GC-MS-tekniikalla. Tässä opinnäytetyössä tutkittiin myös menetelmän soveltuvuutta PCB-yhdisteisiin, mitä Agilentin menetelmäohjeessa ei käyty läpi. Muita poikkeavuuksia tämän työn ja Agilentin ohjeen välillä oli maanäytteiden esivalmistelu: ohjeessa maanäytteet ilmakuivattiin ja siivilöitiin homogeenisuuden lisäämiseksi, mitä tässä työssä ei nähty tarpeellisena. Myös standardi- ja muiden liuosten valmistuksessa ja pipetointimäärissä oli eroavaisuuksia.

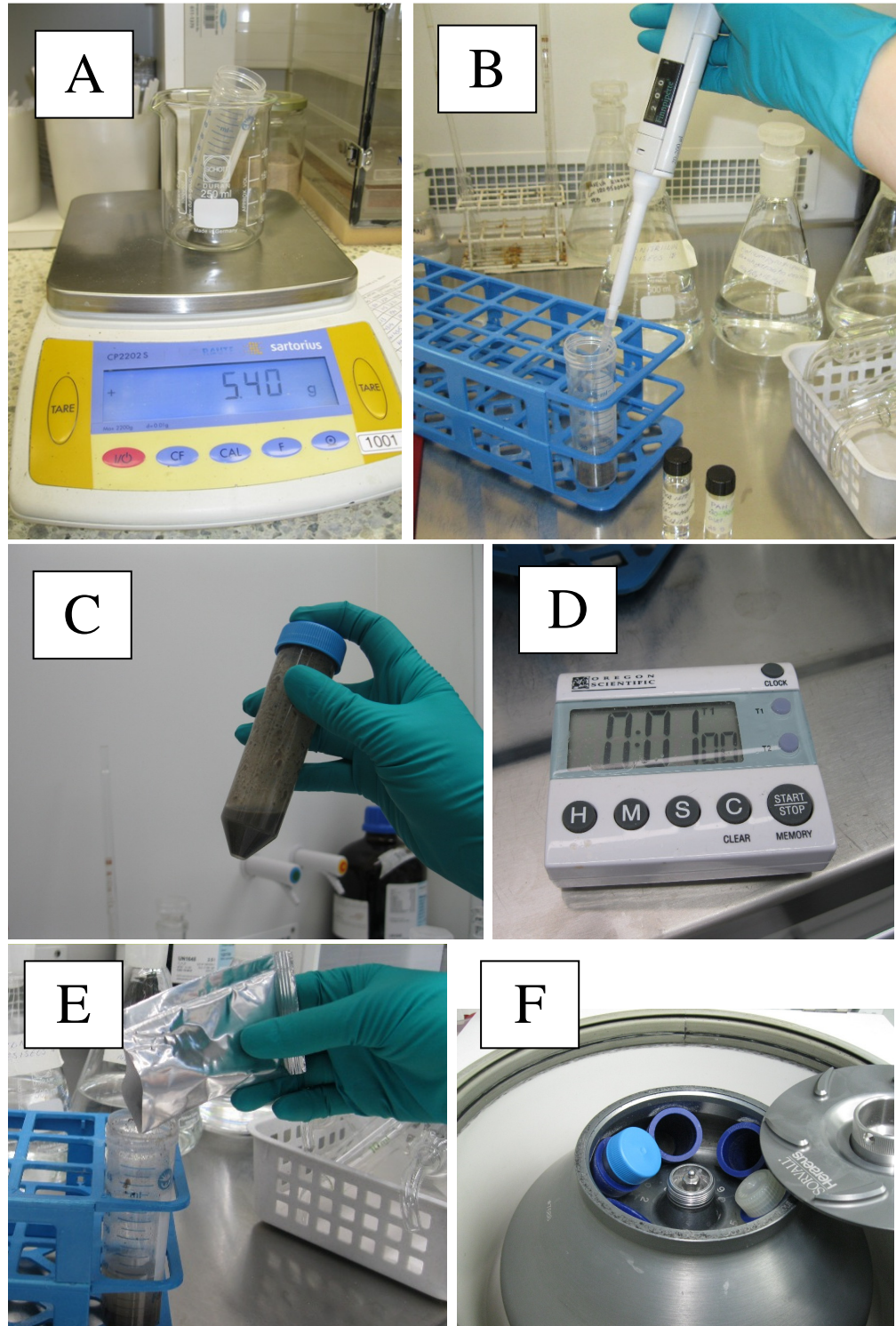
Koejärjestelyt suoritettiin eri variaatioin 9 kertaa.

5.4.1 Asetonitriliuutto

Maanäytteitä punnittiin noin 5 g Agilent Bond Elut Buffered QuEChERS AOAC Extraction kitin näyteputkiin (kuvio 4:A). Referenssimaata punnittiin vähemmän, noin 0,5-1 g. Lisäksi otettiin nollanäyte ja joillain testauskerroilla punnittiin myös hiekkänäytteitä (5 g), PAH- ja PCB-referenssilisäyksellä sekä ilman lisäystä. Tutkittaessa PAH-yhdisteitä näyteputkiin pipetoitiin PAH ISTD-käyttöliuosta. PCB-yhdisteiden kohdalla näytteisiin lisättiin PCB ISTD-käyttöliuosta. Käytännössä maanäytteistä tutkittiin usealla testauskerralla molempia yhdisteitä, jolloin niihin lisättiin sekä PAH- että PCB ISTD-käyttöliuosta (kuvio 4:B). Putkiin lisättiin vielä 5 ml laboratorion jälkipuhdistusyksikön tuottamaa vettä, jonka jälkeen putkia ravisteltiin voimakkaasti käsin tai koeputkiravistelijassa yhden minuutin ajan. Tämän jälkeen näytteisiin lisättiin 10 ml asetonitriliä ja putkia ravisteltiin yhden minuutin ajan voimakkaasti käsin tai koeputkiravistelijassa (kuvio 4:C,4:D).

Lopuksi jokaiseen putkeen lisättiin Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC extraction -suolapaketti, joka sisälsi 6 g vedetöntä magnesiumsulfaattia ($MgSO_4$) ja 4,5 g vedetöntä natriumasetaattia ($NaOAc$) (kuvio 4:E). Putket ravisteltiin jälleen voimakkaasti käsin yhden minuutin ajan.

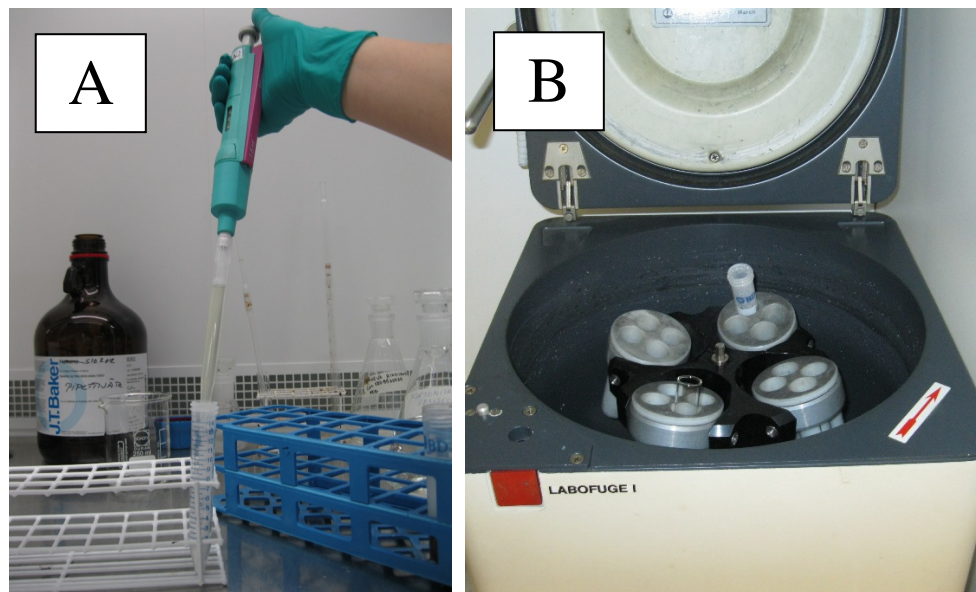
Koeputkiravistelijan käyttö oli ongelmallista suolapaketin lisäyksen jälkeen huonon sekoittuvuuden takia, joten tästä luovuttiin jo alkuvaiheessa. Lopuksi näyteputkia sentrifugoitiin 5 minuutin ajan kierrosnopeudella 8500 rpm (kuvio 4:F).



KUVIO 4. Asetonitriliuuton työvaiheita

5.4.2 Dispersiivinen kiinteäfaasiuutto (dSPE)

Asetonitriiliuuton jälkeen 5 ml liuosta (asetonitriilifaasi) pipetoitiin 15 ml Bond Elut QuEChERS AOAC Dispersive SPE -putkiin (kuvio 5:A). SPE-putket sisälsivät 400 mg PSA:ta (primary secondary amine), 400 mg C18EC:tä ja 1200 mg vedetöntä magnesiumsulfaattia. Jälleen putkia ravisteltiin 1 minuutin ajan koeputkiravistelijassa ja tämän jälkeen siirrettiin 3-5 minuutiksi sentrifugiin (8500 rpm) (kuvio 5:B). Testauskerroilla 1-2 1 ml liuosta suodatettiin ruiskusuodattimen läpi 10 ml Exilo-putkiin. Myöhemmillä kerroilla tämä vaihe jätettiin pois, koska suodatusta ei koettu tarpeelliseksi liuoksen kirkkauden johdosta. Agilentin menetelmäohjeessa seuraava vaihe oli näytteen pipetoiminen vial-putkeen ja analysointi nestekromatografia-fluoresenssi-detektorilla. Koska tässä työssä näytteet analysoitiin GC-MS-tekniikalla, asetonitriili piti korvata laitteistoon soveltuvalla liuoksella.



KUVIO 5. D-SPE-uuton työvaiheita

5.4.3 Asetonitriilin vaihtaminen

Asetonitriilin vaihtaminen toteutettiin työssä kahdella eri tavalla. Ensimmäinen tapa perustui eri liuosten erilaisiin kiehumislämpötiloihin. Asetonitriilin kiehumislämpötila on 82,0 °C (OVA-ohje 2011). Heksaanin (*n*-heksaani) kiehumislämpötila on 69,0 °C, tolueenin 110,6 °C ja *n*-nonaanin 150,8 °C (Schwarzenbach ym. 1993, 618 - 619). Asetonitriililiuokseen lisättiin tietty määrä kiehumispisteeltään korkeampaa liuosta. Näyte haihdutettiin samaan tilavuuteen kuin lisätyn liuoksen määrä, jolloin asetoniitriili saatiin haihdutettua alhaisemman kiehumispisteensä johdosta pois. Koska heksaanin kiehumispiste on alhaisempi kuin asetoniitriilin, heksaania ei voitu suoraan lisätä vaan ns. keeperinä käytettiin nonaania, johon heksaani lisättiin vasta haihdutuksen jälkeen. PAH- ja PCB-yhdisteiden korkeammat kiehumislämpötilat estivät teoriassa sen, että tutkittavat yhdisteet eivät hävinneet haihdutuksen aikana.

Toinen asetoniitriilin vaihtotapa perustui neste-nesteeutttoon. Tässä tarkoituksena oli siirtää poolittomat analyytit poolittomaan faasiin (heksaaniin tai tolueeniin) eli pois poolisesta vesi/asetoniitriilifaasista.

Taulukossa 4 on lueteltu eri testauskerroilla käytetty toteutustapa.

TAULUKKO 4. Asetonitriilin vaihto

Testaus-kerta	Toteutus-tapa	Kuvaus
1 & 2	Haihdutus	Lisätään tolueenia 500 µl keeperiksi, haihdutetaan 500 µl:aan, lisätään tolueenia 1 ml:ksi asti, pipetoidaan 100 µl näytettä vial-putkeen.
3	Haihdutus	Lisätään nonaania 200 µl keeperiksi, haihdutetaan 200 µl:aan, lisätään heksaania 3 ml:ksi asti, pipetoidaan 100 µl näytettä vial-putkeen.
4	Haihdutus	Lisätään nonaania 200 µl keeperiksi, haihdutetaan 200 µl:aan, lisätään heksaania 1,5 ml:ksi asti, pipetoidaan 100 µl näytettä vial-putkeen.
5	Neste-nesteuutto	Lisätään 1,5 ml H ₂ O ja 1,5 ml heksaania, käännellään Exilo-putkea, odotetaan kerrosten erottumista, pipetoidaan 100 µL näytettä vial-putkeen.
6-8	Neste-nesteuutto	Siirretään näyte suurempaan Exilo-putkeen. Lisätään 3,0 ml H ₂ O ja 1,5 ml tolueenia sekä 12 ml natriumpyrofosfaattidekahydraattiliuosta, ravistellaan putkea, odotetaan kerrosten erottumista, pipetoidaan 100 µl (6) / 1 ml (7,8) näytettä vial-putkeen.
9	Neste-nesteuutto	Siirretään näyte suurempaan Exilo-putkeen. Lisätään 1,5 ml H ₂ O ja 1,5 ml tolueenia sekä 12 ml natriumpyrofosfaattidekahydraattiliuosta, ravistellaan putkea, odotetaan kerrosten erottumista, pipetoidaan 1 ml näytettä vial-putkeen.

Asetonitriilin vaihdon myötä vial-putkeen pipetoitu näyte oli valmis GC-MS-ajoon ja analysointiin. Jäljelle jääneen näyteliuoksen esikäsittelyä kuitenkin vielä jatkettiin rikkihappopuhdistuksella PCB-yhdisteiden analysointia varten.

5.4.4 Rikkihappopuhdistus

Koska koejärjestelyillä haluttiin selvittää myös menetelmän soveltuvuus PCB-yhdisteiden tunnistamiseen, esikäsittelyä jatkettiin rikkihappopuhdistuksella. Rikkihappopuhdistus on tehokas häiritsevien yhdisteiden poistaja, joka soveltuu hyvin PCB-yhdisteille. PAH-yhdisteet sen sijaan hajoavat rikkihapossa, joten niille sitä ei voi tehdä. Rikkihappopuhdistus toteutettiin jokaisella testauskerralla samalla periaatteella: heksaania ja rikkihappoa pipetoitiin yhtä suuri määrä Exilo-putkeen. Lisäksi testauskerroilla 2 ja 5 liuokseen lisättiin nonaania. Menetelminä käytettiin haihdutusta ja neste-nesteuuttoa. Aivan kaikilla testauskerroilla PCB-yhdisteitä ei tutkittu näytteistä, koska sitä ei enää koettu tarpeelliseksi lupaavien saantoprosenttien johdosta.

5.5 Kaasukromatografia-massaspektrometria

Esikäsittelyvaihetta seurasi yhdisteiden ajo kaasukromatografia-massaspektrometria -laitteistolla.

Massaspektrometrinen tekniikka perustuu tutkittavan yhdisteen massajakaumaan. Massaspektrometrillä saadaan tutkittavan yhdisteen massaspektri, joka kuvaa molekyylin rakennetta ja jonka avulla yhdiste voidaan tunnistaa. Tunnistus suoritetaan vertaamalla mitattua spektriä kirjastospektriin tai mittaamalla vertailuaineen spektri samalla laitteella, jolla näyte on analysoitu. (Jaarinen & Niiranen, 122.) Tässä työssä käytettiin jälkimmäistä vaihtoehtoa.

Massaspektrometrin tuottama signaali on verrannollinen ionien määrään, joten sen avulla voidaan selvittää tutkittavan yhdisteen määrä näytteessä. Yhdisteen eri komponenttien spektrit voidaan laskea yhteen, jolloin saadun summaspektrin kerroin kuvaa kyseisen yhdisteen osuutta näytteessä. (Jaarinen & Niiranen, 122.)

Käytössä olleiden massaspektrometrioiden ionisointimenetelmät perustuivat elektronipommitukseen. Massa-analysaattorina oli kvadrupolianalysaattori.

Kaasukromatografia soveltuu hajoamatta höyrystyvien yhdisteiden analytiikkaan (Jaarinen & Niiranen, 183). Tekniikka perustuu kahden toisiinsa liukenemattoman faasin vuorovaikutukseen näytemolekyylien kanssa. Näytemolekyylit tarttuvat toistuvasti stationäärifaasiin irrotten siitä jälleen liikkuvaan faasiin niin, että dynaaminen tasapaino faasien välillä säilyy. Voimakkaasti sitoutuvat yhdisteet etenevät hitaasti liikkuvan faasin mukana, kun taas heikosti stationäärifaasiin tarttuvat yhdisteet kulkeutuvat nopeammin eteenpäin. Molekyylien erottaminen ja tunnistaminen perustuu näin ollen niiden liikkumisnopeuteen. (Jaarinen & Niiranen, 140.) Kaasukromatografiassa erotukset ovat tehokkaita ja kromatogrammin piikit kapeampia kuin muissa kromatografian menetelmissä, mikä mahdollistaa kymmenien eri yhdisteiden analysoinnin yhdestä näytteestä (Jaarinen & Niiranen, 183).

Yhdistämällä kaasukromatografi ja massaspektrometri saatiin sekä tunnistettua yhdisteet tarkasti että laskettua niiden määrä näytteissä. Sisäisen standardin avulla saatiin korjattua esikäsitteilyn ja analyysin aikana tapahtuvia toimintavirheitä ja muutoksia. Sen avulla voitiin laskea suhteellisia retentioaikoja, suhteellisia pinta-aloja sekä korkeuksia.

6 TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU

6.1 PAH-yhdisteet

6.1.1 Referenssimaiden saanto

Ensimmäinen Quechers-menetelmän testaus toteutettiin jo keväällä 2012 Ramboll Analytysin kemistin Salla Partion suorittamana. Testauksessa saadut referenssimaan saantoprosentit vaikuttivat lupaavilta, jolloin menetelmän testaamista päätettiin jatkaa.

Alla olevassa taulukossa 5 on esitetty referenssimaan saantoprosentit eri testauskerroilla. Asenaftyleenista, asenaftenista ja dibentso(a,h)antraseenista ei ole tuloksia, koska näitä yhdisteitä ei ole käytetyssä referenssimaaassa. Jos taulukossa on arvo *ref ka*, niin silloin referenssimaaasta on otettu kaksi rinnakkaisnäytettä, joiden keskiarvoa on käytetty saantoprosentin laskussa. Tulokset on laskettu sekä verraten esikäsiteltyihin että käsittelemättömiin standardeihin. Punaiset, lihavoidut fontit osoittavat, että saantoprosentin arvo on $\leq 80\%$ ja punaiset, kursivoidut fontit kertovat arvon olevan $\geq 120\%$.

TAULUKKO 5. Referenssimaan saantoprosentti testauskerroilla 1-9

Testauskerta	1*	2*	2	3*	3	4*	4	5*	5	6*	7*	7	8	9
	ref	ref ka.	ref ka.	ref ka.	ref ka.	ref ka.	ref ka.	ref	ref	ref	ref ka.	ref ka.	ref	uusi ref
Naftaleeni	73	69	67	69	66	73	70	77	70	71	68	63	68	66
Asenaftyleeni	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Asenafteni	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fluoreeni	105	110	111	111	110	120	119	92	101	103	107	101	103	93
Fenantreeni	94	110	109	104	103	112	112	120	115	100	100	93	93	115
Antraseeni	95	108	116	113	110	123	120	131	116	126	107	102	100	99
Fluoranteeni	92	120	119	109	105	120	116	113	108	101	102	88	92	92
Pyreeni	95	113	117	107	107	115	114	118	109	100	100	96	102	101
Bentso(a)antraseeni	104	117	130	96	105	120	132	90	119	96	87	92	93	109
Kryseeni	89	97	109	91	100	108	119	92	109	86	83	88	90	102
Bentso(b)fluoranteeni	81	105	109	119	100	138	116	145	98	102	88	81	93	64
Bentso(k)fluoranteeni	67	91	102	110	95	112	97	144	92	98	77	76	92	64
Bentso(a)pyreeni	80	90	132	104	103	117	115	123	109	85	73	80	93	72
Indeno(1,2,3-cd)pyreeni	73	75	111	87	82	86	81	105	91	72	65	74	84	88
Dibentso(a,h)antraseeni	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bentso(g,h,i)peryleeni	71	84	111	84	90	81	87	125	87	71	72	75	85	84

*Standardeja ei ole esikäsitelty Quechers-menetelmällä

Naftaleenin määrittämisessä referenssimäärästä saantoprosentit sijoittuivat 60-77 % välille. Naftaleenin saannon nostaminen oli tavoitteena menetelmän optimoinnissa, mutta siihen ei löydetty sopivaa metodologiaa. Parhaimpiin tuloksiin päästiin, kun laskennassa käytettiin esikäsittelemättömiä kalibrointistandardeja. Tulokset ovat kuitenkin luotettavimpia, kun niitä verrataan esikäsiteltyihin standardeihin. Esikäsitellyt kalibrointistandardit ovat käyneet samat vaiheet kuin varsinaiset näytteet, jolloin mahdolliset esikäsitelystä aiheutuneet muutokset ovat vaikuttaneet myös niihin.

Koska naftaleenin saantoprosentti oli jatkuvasti alakanttiin, epäiltiin, että yhdiste olisi haihtunut referenssimäärästä. Viimeisellä testauskerralla (9.) referenssimäärää vaihdettiin uuteen, mutta edelleen saantoprosentti jäi samalle tasolle kuin vanhemmalla referenssimäärällä. Raskaimpien yhdisteiden kohdalla matalampia saantoprosentteja esiintyi erityisesti testauskerroilla 6-9, kun siirryttiin käyttämään natriumpyrofosfaattidekahydraattiliuosta asetonitriilin vaihdossa. Kohtalaisen suurien saantoprosentteja (>120 %) esiintyi enemmän esikäsittelemättömillä standardeilla.

Koska jokaisella testauskerralla menetelmän kulussa tapahtui muutoksia, referenssimäärän saantojen keskiarvon laskeminen ei kerro koko totuutta. Keskiarvojen avulla on kuitenkin mahdollista nähdä suuntaa antavasti, mitkä yhdisteet uutuivat parhaiten Quechers-menetelmällä. Seuraavalla sivulla olevassa kuvaajassa (kuvio 6) on esitetty kunkin yhdisteen keskiarvo sekä suhteellinen keskihajonta (RSD %), jolloin voidaan nähdä myös eri yhdisteiden antamien saantojen vaihteluväli prosentteina eri testauskerroilla.



KUVIO 6. Referenssimaan keskiarvosaanto ja suhteellinen keskihajonta (RSD %) testauskerroilla 2-9

Kuten kuvaajasta voi nähdä, vaihteluväli pysyi tasaisempana kevyemmillä yhdisteillä verrattuna raskaisiin yhdisteisiin. Erityisesti bentso(a)pyreenin kohdalla tuloksissa esiintyi vaihtelua.

Saantoprosenttia tarkasteltaessa voidaan todeta, että erityisesti kevyimmän naftaleenin, mutta myös raskaimpien yhdisteiden kohdalla jäädyään kauimmaksi 100 prosentin saannosta.

6.1.2 Saannon vertailu nykyisen ja Quechers-menetelmän välillä

Quechers-menetelmällä saatuja tuloksia verrattiin nykyisellä menetelmällä saatuihin tuloksiin sekä esikäsiteltyjä että esikäsittelemättömiä standardeja vasten. Ensimmäiset varsinaiset maanäytteet ajettiin 4. testauskerralla.

Eroa esikäsiteltyjen ja esikäsittelemättömien standardien välillä ei juuri ollut. Taulukossa 6 on esitetty kolmesta tutkitusta maanäytteestä saadut arvot Quechers- ja nykyisellä menetelmällä.

TAULUKKO 6. Menetelmien vertailu, 4. testaus (esikäsitellyt standardit)

Testauskerta	4					
Ajopvm	28.8.2012	8.8.2012	28.8.2012	8.8.2012	28.8.2012	22.8.2012
Menetelmä	Quechers	Nykyinen	Quechers	Nykyinen	Quechers	Nykyinen
(tulos, mg/kg ka)	Näyte 1	Näyte 1	Näyte 2	Näyte 2	Näyte 3	Näyte 3
Naftaleeni	<0,01	0,02	<0,01	<0,01	0,15	0,44
Asenaftyleeni	<0,01	0,01	<0,01	<0,01	0,02	0,04
Asenafteeni	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Fluoreeni	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,01
Fenantreeni	0,05	0,10	0,02	0,01	0,12	0,23
Antraseeni	<0,01	0,02	<0,01	<0,01	0,01	0,02
Fluoranteeni	0,13	0,21	0,03	0,03	0,16	0,26
Pyreeni	0,12	0,17	0,02	0,02	0,13	0,19
Bentso(a)antraseeni	0,08	0,08	0,01	0,01	0,05	0,08
Kryseeni	0,11	0,09	0,02	0,01	0,07	0,10
Bentso(b)fluoranteeni	0,17	0,12	0,02	0,01	0,12	0,11
Bentso(k)fluoranteeni	0,08	0,05	<0,01	<0,01	0,04	0,04
Bentso(a)pyreeni	0,13	0,08	0,01	0,01	0,05	0,05
Indeno(1,2,3-cd)pyreeni	0,40	0,10	0,01	0,01	0,05	0,09
Dibentso(a,h)antraseeni	0,06	0,01	<0,01	<0,01	0,01	0,01
Bentso(g,h,i)peryleeni	0,63	0,11	0,02	0,01	0,05	0,09
PAH- yhdisteet yhteensä:	2,00	1,20	<0,2	<0,2	1,00	1,80

Näiden tulosten pohjalta ei voitu vielä tehdä oikeastaan muuta päätelmää kuin, että pienien pitoisuuksien kohdalla menetelmien välille ei syntynyt merkittäviä eroja. Referenssimaan kohdalla esiintynyt naftaleenin alhainen saanto ei tullut varsinaisissa maanäytteissä muuten esille kuin Näyte 3:sen kohdalla hieman alhaisempana arvona. Toisaalta pitoisuudet muissa näytteissä ovat hyvin pienet. Tässä vaiheessa huomattiin myös, että nonaani ei liennut täysin asetonitriliin eli lopulliseen 100 µl:n näytetilavuuteen jäi asetonitriliin, nonaanin ja heksaanin seos. Näin epäiltiin käyneen myös 3. testauskerralla.

5. testauskerralla haihdutuksesta siirryttiin neste-nesteuuttoon, koska naftaleenin epäiltiin hajoavan haihduttaessa pois liuoksesta. Lisäksi näin voitiin ratkaista myös edellisellä testauskerralla esiintynyt asetonitriilijäämään liittyvä ongelma. Tuloksista (taulukko 7) voi kuitenkin havaita, että suurimman haitta-ainepitoisuuden kohdalla (Näyte 4) erot nykyisen ja Quechers-menetelmän välillä kasvavat. Tosin betoninäytteen kohdalla (Näyte 8), tulokset ovat päinvastaiset.

TAULUKKO 7. Menetelmien vertailu, 5. testaus (esikäsitellyt standardit)

Testauskerta	5									
Ajopvm	5.9.2012	28.8.2012	5.9.2012	5.9.2012	5.9.2012	5.9.2012	5.9.2012	5.9.2012	5.9.2012	5.9.2012
Menetelmä	Quechers	Nykyinen	Quechers	Nykyinen	Quechers	Nykyinen	Quechers	Nykyinen	Quechers	Nykyinen
(tulos, mg/kg ka)	Näyte 4	Näyte 4	Näyte 5	Näyte 5	Näyte 6	Näyte 6	Näyte 7	Näyte 7	Näyte 8 (betoni)	Näyte 8 (betoni)
Naftaleeni	3,50	6,20	0,04	0,03	0,01	0,02	0,01	0,03	0,01	<0,01
Asenaftyleeni	0,09	<0,2	<0,01	<0,01	0,05	0,09	0,03	0,04	<0,01	<0,01
Asenaftteeni	0,96	<2	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,05	0,04
Fluoreeni	0,77	1,00	<0,01	<0,01	0,03	0,03	0,03	0,03	0,02	<0,01
Fenantreeni	1,80	2,80	0,02	0,01	0,41	0,45	0,34	0,27	0,20	0,08
Antraseeni	1,20	1,50	<0,01	<0,01	0,08	0,11	0,06	0,04	0,04	0,02
Fluoranteeni	0,42	0,70	<0,01	<0,01	0,79	0,94	0,49	0,42	0,30	0,17
Pyreeni	2,00	3,70	0,06	0,03	0,61	0,73	0,36	0,30	0,21	0,12
Bentso(a)antraseeni	0,25	0,50	<0,01	<0,01	0,40	0,42	0,19	0,15	0,10	0,05
Kryseeni	0,26	0,40	<0,01	<0,01	0,37	0,42	0,19	0,15	0,09	0,04
Bentso(b)fluoranteeni	0,16	0,30	0,01	<0,01	0,44	0,53	0,30	0,28	0,10	0,04
Bentso(k)fluoranteeni	0,04	<0,2	<0,01	<0,01	0,19	0,24	0,11	0,11	0,04	0,02
Bentso(a)pyreeni	0,13	0,30	0,02	<0,01	0,39	0,48	0,24	0,22	0,07	0,04
Indeno(1,2,3-cd)pyreeni	0,14	0,30	0,01	<0,01	0,29	0,38	0,17	0,20	0,05	0,03
Dibentso(a,h)antraseeni	0,04	<0,2	<0,01	<0,01	0,05	0,05	0,03	0,03	<0,01	<0,01
Bentso(g,h,i)peryleeni	0,30	0,70	0,01	<0,01	0,24	0,38	0,16	0,25	0,04	0,03
PAH- yhdisteet yhteensä:	12,00	20,00	<0,2	<0,2	4,40	5,30	2,70	2,50	1,30	0,70

6. testauskerralla (taulukko 8) haluttiin vertailla 5. testauskerran ACN:H₂O Heksaani -liuoksen käyttöä ACN:H₂O:Napyrofosf Tolueeni -liuokseen. Saannot olivat huomattavasti paremmat jälkimmäisellä vaihtoehdolla ja jopa ylittivät nykyisellä menetelmällä saadut määrät.

TAULUKKO 8. Menetelmien vertailu, 6. testaus (esikäsitellyt standardit)

Testauskerta	6					
Ajopvm	5.9.2012	11.9.2012	5.9.2012	5.9.2012	11.9.2012	5.9.2012
Menetelmä	Quechers	Quechers*	Nykyinen	Quechers	Quechers*	Nykyinen
(tulos, mg/kg ka)	Näyte 6 (ACN:H2O: Heksaani)	Näyte 6 (ACN:H2O: Napyfosf Tolueeni)	Näyte 6	Näyte 7 (ACN:H2O: Heksaani)	Näyte 7 (ACN:H2O: Napyfosf Tolueeni)	Näyte 7
Naftaleeni	0,01	0,03	0,02	0,01	0,23	0,03
Ase-naftyleeni	0,05	0,06	0,09	0,03	0,12	0,04
Ase-nafteeni	<0,01	0,01	<0,01	<0,01	0,02	<0,01
Fluoreeni	0,03	0,06	0,03	0,03	0,27	0,03
Fenantreeni	0,41	0,55	0,45	0,34	1,8	0,27
Antraseeni	0,08	0,1	0,11	0,06	0,14	0,04
Fluoranteeni	0,79	1,2	0,94	0,49	1,5	0,42
Pyreeni	0,61	0,91	0,73	0,36	0,92	0,3
Bentso(a)antraseeni	0,4	0,67	0,42	0,19	0,36	0,15
Kryseeni	0,37	0,64	0,42	0,19	0,37	0,15
Bentso(b)fluoranteeni	0,44	0,78	0,53	0,30	0,48	0,28
Bentso(k)fluoranteeni	0,19	0,32	0,24	0,11	0,2	0,11
Bentso(a)pyreeni	0,39	0,58	0,48	0,24	0,32	0,22
Indeno(1,2,3-cd)pyreeni	0,29	0,33	0,38	0,17	0,22	0,2
Dibentso(a,h)antraseeni	0,05	0,07	0,05	0,03	0,04	0,03
Bentso(g,h,i)peryleeni	0,24	0,28	0,38	0,16	0,17	0,25
PAH- yhdisteet yhteensä:	4,4	6,6	5,30	2,70	7,1	2,5

*Standardeja ei ole esikäsitelty Quechers-menetelmällä

7. testauskerralla jäätiin maanäytteen kohdalla jälleen paljon alhaisempiin määriin ACN:H2O:Napyfosf Tolueeni -liuoksella (ks. taulukko 9), jolloin 8. testauskerralla päätettiin kokeilla hieman pidempää (5 minuutin) uuttoa (ks. taulukko 10).

TAULUKKO 9. Menetelmien vertailu, 7. testaus (esikäsitellyt standardit)

Testauskerta	7					
Ajopvm	19.9.2012	19.9.2012	aeimmin	19.9.2012	19.9.2012	aeimmin
Menetelmä	Quechers	Quechers	Nykyinen	Quechers	Quechers	Nykyinen
(tulos, mg/kg ka)	Näyte 9	Näyte 9 (rinn.)	Näyte 9	Näyte 10	Näyte 10 (rinn.)	Näyte 10
Naftaleeni	0,11	0,10	0,44	<0,01	0,01	0,07
Asenaftyleeni	0,06	0,06	0,17	0,03	0,03	0,14
Asenafteeni	0,03	0,03	0,06	<0,01	<0,01	<0,01
Fluoreeni	0,08	0,08	0,17	0,03	0,02	0,06
Fenantreeni	0,68	0,74	1,30	0,32	0,30	0,66
Antraseeni	0,12	0,12	0,19	0,07	0,05	0,15
Fluoranteeni	1,30	1,20	2,00	0,67	0,63	1,70
Pyreeni	1,10	1,10	1,60	0,52	0,49	1,10
Bentso(a)antraseeni	0,47	0,47	0,62	0,34	0,34	0,91
Kryseeni	0,49	0,48	0,63	0,31	0,30	0,68
Bentso(b)fluoranteeni	0,51	0,47	0,61	0,25	0,26	0,56
Bentso(k)fluoranteeni	0,23	0,22	0,24	0,11	0,11	0,24
Bentso(a)pyreeni	0,42	0,39	0,75	0,21	0,21	0,72
Indeno(1,2,3-cd)pyreeni	0,32	0,30	0,55	0,14	0,16	0,46
Dibentso(a,h)antraseeni	0,06	0,05	0,07	0,03	0,03	0,07
Bentso(g,h,i)peryleeni	0,29	0,27	0,53	0,13	0,14	0,40
PAH- yhdisteet yhteensä:	6,20	6,10	10,00	3,10	3,10	8,00

*Standardeja ei ole esikäsitelty Quechers-menetelmällä

TAULUKKO 10. Menetelmien vertailu, 8. testaus (esikäsitellyt standardit)

Testauskerta	8											
Ajopvm	27.9.2012	27.9.2012	27.9.2012	27.9.2012	aeimmin	27.9.2012	27.9.2012	27.9.2012	aeimmin	27.9.2012	27.9.2012	aeimmin
Menetelmä	Quechers	Quechers	Nykyinen	Quechers	Nykyinen	Quechers	Quechers	Quechers	Nykyinen	Quechers	Quechers	Nykyinen
(tulos, mg/kg ka)	Näyte 9	Näyte 9 (rinn. 5 min. uutto)	Näyte 9	Näyte 11	Näyte 11	Näyte 12	Näyte 12 (rinn. 5 min. uutto)	Näyte 12 (rinn.)	Näyte 12	Näyte 13	Näyte 13 (rinn. 5 min. uutto)	Näyte 13
Naftaleeni	0,09	0,08	0,36	0,01	0,02	0,01	0,02	0,02	0,03	2,70	2,80	1,00
Asenaftyleeni	0,06	0,06	0,14	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,29	0,30	0,17
Asenafteeni	0,01	0,02	0,03	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,09	0,07	<0,05
Fluoreeni	0,05	0,06	0,09	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,25	0,27	0,12
Fenantreeni	0,58	0,59	0,91	0,03	0,02	0,02	0,03	0,02	0,05	0,84	0,92	0,54
Antraseeni	0,10	0,10	0,15	<0,01	0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,02	0,14	0,18	0,11
Fluoranteeni	1,20	1,20	1,70	0,05	0,05	0,04	0,06	0,05	0,09	0,20	0,24	0,13
Pyreeni	1,10	1,10	1,30	0,04	0,04	0,07	0,09	0,07	0,12	0,41	0,48	0,24
Bentso(a)antraseeni	0,45	0,44	0,46	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,09	0,10	0,06
Kryseeni	0,47	0,46	0,54	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,04	0,10	0,12	0,06
Bentso(b)fluoranteeni	0,61	0,56	0,51	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,04	0,06	0,07	<0,05
Bentso(k)fluoranteeni	0,25	0,24	0,24	0,01	<0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,03	0,04	<0,05
Bentso(a)pyreeni	0,44	0,43	0,53	0,01	0,03	0,01	0,02	0,02	0,03	0,10	0,12	0,06
Indeno(1,2,3-cd)pyreeni	0,33	0,34	0,47	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01	0,03	0,03	0,04	<0,05
Dibentso(a,h)antraseeni	0,06	0,05	0,05	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,01	<0,05
Bentso(g,h,i)peryleeni	0,30	0,30	0,47	0,01	0,05	0,01	0,02	0,02	0,04	0,04	0,05	<0,05
PAH- yhdisteet yhteensä:	6,20	6,10	7,90	0,26	0,30	0,26	0,38	0,29	0,50	5,40	5,80	2,50

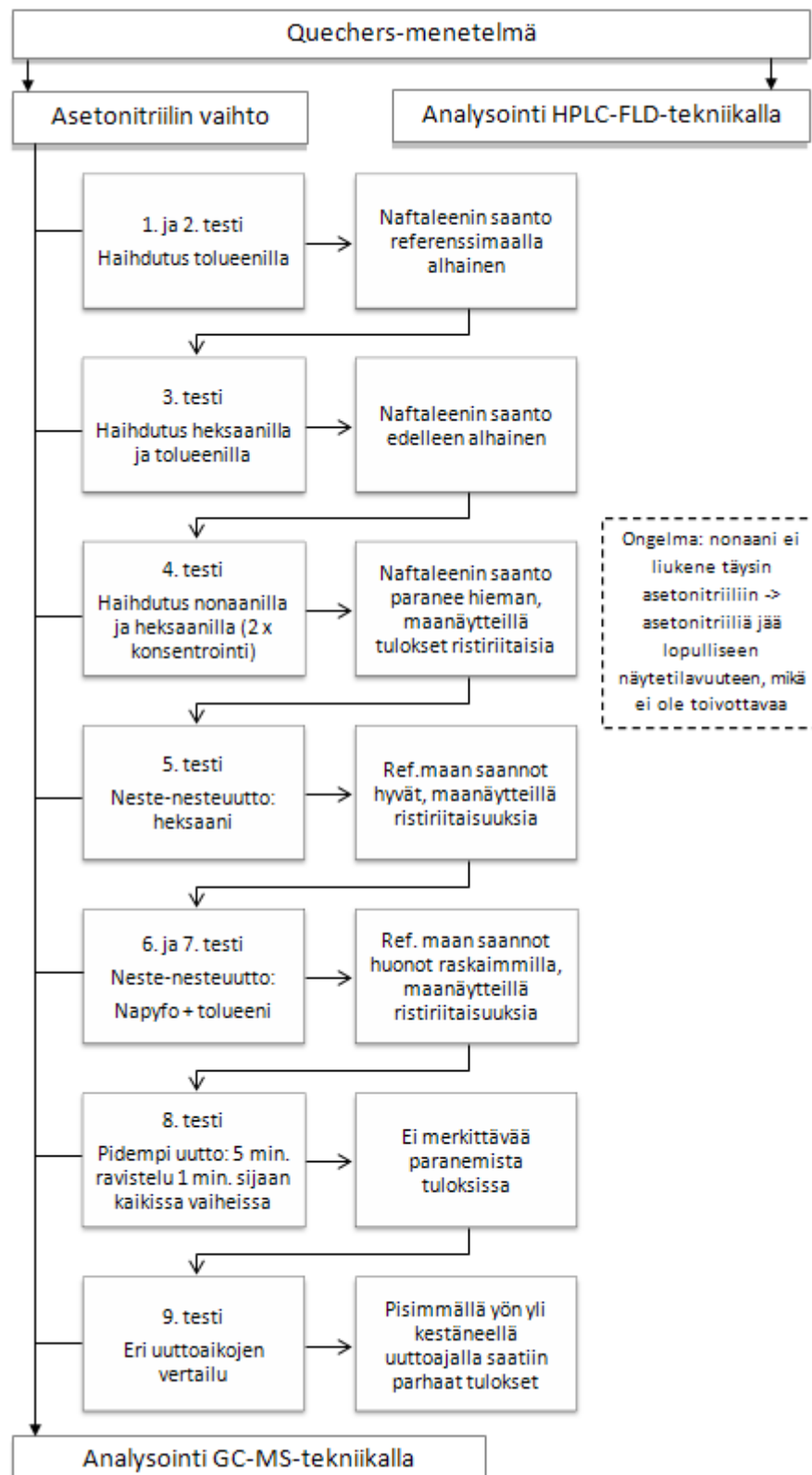
*Standardeja ei ole esikäsitelty Quechers-menetelmällä

Tulokset paranivat vain hiukan, joten 9. eli viimeisellä testauskerralla näytteiden uuttoaikoja päätettiin pidentää lisää. Näin nähtäisiin, oliko uuttoaika lopulta kynnyskysymys PAH-yhdisteiden saantiin. Taulukosta 11 on havaittavissa, että uuttoaajalla näyttäisi olevan merkitystä. Tosin tässäkin on vaihtelua riippuen siitä, missä vaiheessa suolapaketti lisätään näytteeseen. Parhaimpaan tulokseen päästiin uuttamalla maanäytettä yön yli ja lisäämällä suolapaketti vasta uuton jälkeen. Kyseisellä toimintatavalla päästiin erittäin lähelle käytössä olevalla menetelmällä saatuja tuloksia. Referenssimaa kuitenkin testattiin tässä normaaliin tapaan eli sitä ei uutettu 1 h tai yön yli. Odotetusti naftaleenin saanto referenssimaaalla jäi edelleen matalaksi.

TAULUKKO 11. Uuttoaikojen vertailu, 9. testauskerta.

Testauskerta	9									
Ajopvm	4.10.2012	4.10.2012	4.10.2012	4.10.2012	27.9.2012	27.9.2012	19.9.2012	19.9.2012	aiemmin	27.9.2012
Menetelmä	Quechers	Quechers	Quechers	Quechers	Quechers	Quechers	Quechers	Quechers	Nykyinen	Nykyinen
Tarkempi kuv. (tulos, mg/kg ka)	Uutto 1 h -> suolapkt	Suolapkt > uutto 1h	Uutto yön yli -> suolapkt	Suolapkt > uutto yön yli	Norm. uutto 1 min	Uutto 5 min	Norm. uutto 1 min	Norm. uutto 1 min		
	Näyte 9 (uutto-testi I)	Näyte 9 (uutto-testi II)	Näyte 9 (uutto-testi III)	Näyte 9 (uutto-testi IV)	Näyte 9	Näyte 9 (rinn.)	Näyte 9	Näyte 9 (rinn.)	Näyte 9	Näyte 9
Naftaleeni	0,11	0,09	0,31	0,16	0,09	0,08	0,11	0,10	0,44	0,36
Asenaftyleeni	0,05	0,06	0,07	0,08	0,06	0,06	0,06	0,06	0,17	0,14
Asenaftteeni	0,01	0,02	0,03	0,02	0,01	0,02	0,03	0,03	0,06	0,03
Fluoreeni	0,04	0,05	0,09	0,06	0,05	0,06	0,08	0,08	0,17	0,09
Fenantreeni	0,58	0,72	1,20	0,86	0,58	0,59	0,68	0,74	1,30	0,91
Antraseeni	0,07	0,08	0,15	0,10	0,10	0,10	0,12	0,12	0,19	0,15
Fluoranteeni	1,09	1,20	1,80	1,40	1,20	1,20	1,30	1,20	2,00	1,70
Pyreeni	1,07	1,20	1,70	1,30	1,10	1,10	1,10	1,10	1,60	1,30
Bentso(a)antraseeni	0,50	0,63	0,88	0,59	0,45	0,44	0,47	0,47	0,62	0,46
Kryseeni	0,49	0,55	0,73	0,53	0,47	0,46	0,49	0,48	0,63	0,54
Bentso(b)fluoranteeni	0,34	0,39	0,54	0,43	0,61	0,56	0,51	0,47	0,61	0,51
Bentso(k)fluoranteeni	0,14	0,17	0,22	0,19	0,25	0,24	0,23	0,22	0,24	0,24
Bentso(a)pyreeni	0,34	0,40	0,51	0,45	0,44	0,43	0,42	0,39	0,75	0,53
Indeno(1,2,3-cd)pyreeni	0,32	0,41	0,52	0,45	0,33	0,34	0,32	0,30	0,55	0,47
Dibentso(a,h)antraseeni	0,04	0,06	0,06	0,06	0,06	0,05	0,06	0,05	0,07	0,05
Bentso(g,h,i)peryleeni	0,29	0,37	0,42	0,40	0,30	0,30	0,29	0,27	0,53	0,47
PAH- yhdisteet yhteensä:	5,50	6,50	9,20	7,10	6,20	6,10	6,20	6,10	10,00	7,90

Yhteenveto koejärjestelyjen kulusta on esitetty prosessikaaviona kuviossa 7.



KUVIO 7. Testauksen kulku

6.1.3 Rinnakkaismääritysten vertailu

Referenssimaan kohdalla testauskerroilla 2-4 ja 7 näytteestä tehtiin rinnakkaismääritykset. Alla olevasta taulukosta 12 voidaan todeta, että pääsääntöisesti rinnakkaisnäytteiden saannoissa ei ollut merkittäviä eroavaisuuksia. 7. testauskerralla esikäsiteltyjen standardien kohdalla rinnakkaismäärityksissä on hieman suurempaa suhteellista keskihajontaa, mutta edelleen erot ovat pääosin alle 10 % luokkaa.

TAULUKKO 12. Referenssimaan rinnakkaismääritysten saantojen suhteellinen keskihajonta eri testauskerroilla

%RSD > 4,9	%RSD (n=2)							
Testauskerta	2*	2	3*	3	4*	4	7*	7
Naftaleeni	2,2	2,2	2,5	2,5	1,4	1,4	2,8	5,3
Fluoreeni	2,6	2,6	0,8	0,8	1,5	1,5	4,5	7,1
Fenantreeni	2,7	2,7	0,1	0,1	0,2	0,2	3,1	5,7
Antraseeni	5,0	5,0	1,9	1,9	3,4	3,4	2,0	0,5
Fluoranteeni	2,3	2,3	0,0	0,0	1,3	1,3	3,2	5,8
Pyreeni	2,4	2,4	1,3	1,3	2,2	2,2	3,2	5,8
Bentso(a)antraseeni	5,1	5,1	0,3	0,3	6,0	6,0	4,1	6,7
Kryseeni	5,1	5,1	4,4	4,4	5,1	5,1	2,0	4,6
Bentso(b)fluoranteeni	5,6	5,6	1,5	1,5	0,2	0,2	5,1	7,7
Bentso(k)fluoranteeni	1,1	1,1	0,7	0,7	0,8	0,8	2,6	5,1
Bentso(a)pyreeni	3,8	3,8	0,2	0,2	1,5	1,5	2,5	5,1
Indeno(1,2,3-cd)pyreeni	0,1	0,1	0,6	0,6	3,8	3,8	8,5	11,1
Bentso(g,h,i)peryleeni	2,7	2,7	0,6	0,6	5,7	5,7	4,2	6,7

*Standardeja ei ole esikäsitelty

Voidaankin todeta, että Quechers-menetelmällä saa varsin tarkkoja rinnakkaismäärityksiä. Maanäytteistä tehdyt rinnakkaismääritykset tukevat myös tätä väitettä. Taulukossa 13 on esitetty neljä näytettä, joista jokaisesta on tehty täsmälleen samalla tavoin esikäsitelty ja analysoitu rinnakkaismääritys. Sekä PAH-yhdisteiden kokonaismäärät että suhteelliset keskihajonnat ovat lähellä toisiaan.

TAULUKKO 13. Maanäytteiden rinnakkaismääritysten saantojen suhteellinen keskihajonta

Ajopvm	19.9.2012	19.9.2012	19.9.2012	19.9.2012	27.9.2012	27.9.2012	27.9.2012	27.9.2012
Menetelmä	Quechers	Quechers	Quechers	Quechers	Quechers	Quechers	Quechers	Quechers
Punnittu määrä	5,11	5,1	5,24	5,2	10,16	5,63	0,99	1,12
Kuiva-ainepit. (%)	86	86	92	92	68	68	86	86
	Näyte 9	Näyte 9 (rinn.)	Näyte 10	Näyte 10 (rinn.)	Näyte 12	Näyte 12 (rinn.)	Näyte 13	Näyte 13 (rinn.)
Naftaleeni	0,11	0,10	<0,01	0,01	0,01	0,02	2,70	2,80
Asenaftyleeni	0,06	0,06	0,03	0,03	<0,01	<0,01	0,29	0,30
Asenaftteeni	0,03	0,03	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,09	0,07
Fluoreeni	0,08	0,08	0,03	0,02	<0,01	<0,01	0,25	0,27
Fenantreeni	0,68	0,74	0,32	0,30	0,02	0,02	0,84	0,92
Antraseeni	0,12	0,12	0,07	0,05	<0,01	<0,01	0,14	0,18
Fluoranteeni	1,30	1,20	0,67	0,63	0,04	0,05	0,20	0,24
Pyreeni	1,10	1,10	0,52	0,49	0,07	0,07	0,41	0,48
Bentso(a)antraseeni	0,47	0,47	0,34	0,34	0,02	0,02	0,09	0,10
Kryseeni	0,49	0,48	0,31	0,30	0,02	0,02	0,10	0,12
Bentso(b)fluoranteeni	0,51	0,47	0,25	0,26	0,03	0,03	0,06	0,07
Bentso(k)fluoranteeni	0,23	0,22	0,11	0,11	0,01	0,01	0,03	0,04
Bentso(a)pyreeni	0,42	0,39	0,21	0,21	0,01	0,02	0,10	0,12
Indeno(1,2,3-cd)pyreeni	0,32	0,30	0,14	0,16	0,01	0,01	0,03	0,04
Dibentso(a,h)antraseeni	0,06	0,05	0,03	0,03	<0,01	<0,01	<0,01	0,01
Bentso(g,h,i)peryleeni	0,29	0,27	0,13	0,14	0,01	0,02	0,04	0,05
PAH- yhdisteet yhteensä:	6,20	6,10	3,10	3,10	0,26	0,29	5,40	5,80
PAH- yhdisteet yhteensä (RSD%):	33	34	62	62	45	38	52	56

6.2 PCB-yhdisteet

PCB-yhdisteitä analysoitiin neljällä eri testauskerralla (2.-5. testauskerrat).

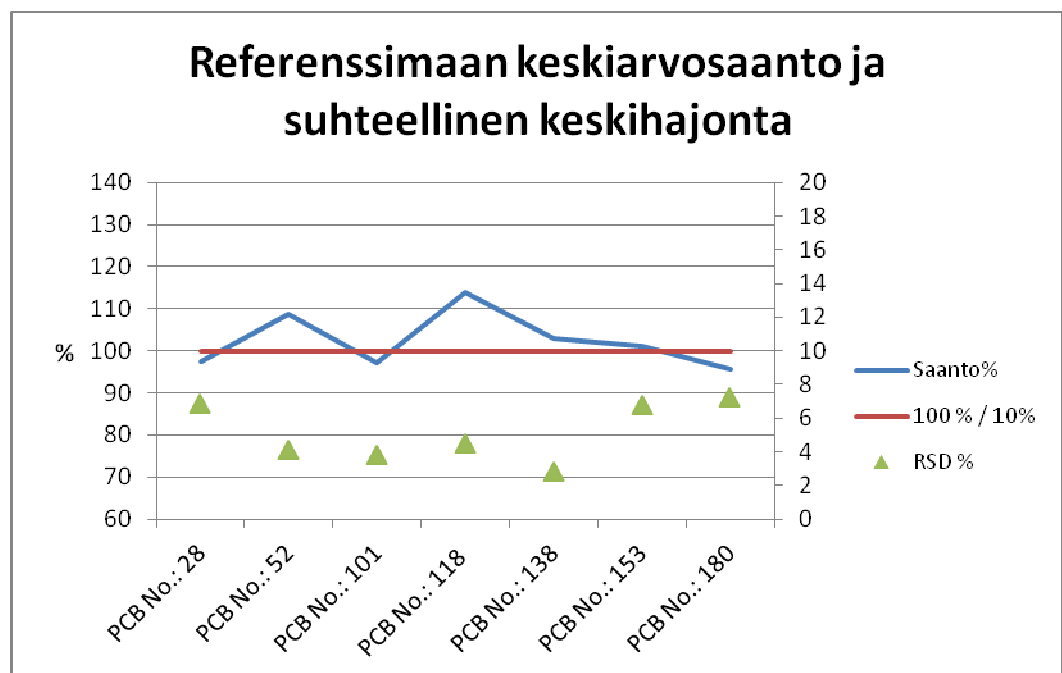
Jokaisella testauskerralla PCB-referenssimaan saantoprosentit olivat 85:n ja 123:n välillä (ks. taulukko 14).

TAULUKKO 14. Referenssimaan saantoprosentti testauskerroilla 2-5

Testauskerta	2*	2	3	3	4*	4*	5*	5*
	ref ka	ref ka	ref ka	ref hiekka	ref ka	ref hiekka	ref ka	ref hiekka ka
PCB No.: 28	95	89	92	102	97	108	97	107
PCB No.: 52	109	110	113	104	112	103	110	103
PCB No.: 101	100	96	92	99	95	102	95	101
PCB No.: 118	114	111	116	105	123	111	116	111
PCB No.: 138	100	101	102	104	104	106	102	108
PCB No.: 153	94	97	99	109	98	108	99	113
PCB No.: 180	90	100	93	101	88	96	96	103

*Standardeja ei ole esikäsitelty Quechers-menetelmällä

Kuviossa 8 on havainnollistettu referenssimaan keskiarvosaanto sekä suhteellinen keskihajonta. Kuten suhteellisesta keskihajonnasta näkee, arvot ovat varsin matalia, alle 8 % luokkaa. Myös referenssimaan keskiarvosaannot liikkuvat lähellä tavoiteltua 100 % rajaa.



KUVIO 8. Referenssimaan keskiarvosaanto ja suhteellinen keskihajonta (RSD %) testauskerroilla 2-5

Testauskerroilla 4 ja 5 testattiin varsinaisia maanäytteitä. Quechers-menetelmän mukaisesti esikäsiteltyjen ja esikäsittelemättömien maanäytteiden välillä ei ollut juurikaan eroa. Quechers-menetelmällä esikäsitellyt näytteet antoivat lähes poikkeuksetta hieman suuremmat haitta-ainepitoisuudet Näyte 2 lukuun ottamatta. Arvot löytyvät taulukoista 15 ja 16.

TAULUKKO 15. Menetelmien vertailu, 4. testaus

Testauskerta 4						
Ajopvm	29.8.2012	29.8.2012	15.8.2012	29.8.2012	29.8.2012	15.8.2012
Menetelmä	Quechers	Quechers*	Nykyinen	Quechers	Quechers*	Nykyinen
(tulos, mg/kg ka)						
	Näyte 1	Näyte 1	Näyte 1	Näyte 2	Näyte 2	Näyte 2
PCB No.: 28	0,001	0,001	0,001	<0,001	<0,001	<0,001
PCB No.: 52	0,009	0,009	0,003	<0,001	<0,001	<0,001
PCB No.: 101	0,061	0,063	0,021	0,002	0,002	0,004
PCB No.: 118	0,018	0,019	0,005	<0,001	<0,001	0,001
PCB No.: 138	0,1	0,1	0,026	0,003	0,003	0,009
PCB No.: 153	0,12	0,12	0,030	0,004	0,004	0,009
PCB No.: 180	0,083	0,078	0,020	0,003	0,003	0,01
Yhteensä	0,4	0,4	0,106	0,012	0,012	0,033

*Standardeja ei ole esikäsitelty Quechers-menetelmällä

TAULUKKO 16. Menetelmien vertailu, 5. testaus

Testauskerta 5									
Ajopvm	11.9.2012	11.9.2012	5.9.2012	11.9.2012	11.9.2012	5.9.2012	11.9.2012	11.9.2012	5.9.2012
Menetelmä	Quechers	Quechers*	Nykyinen	Quechers	Quechers*	Nykyinen	Quechers	Quechers*	Nykyinen
(tulos, mg/kg ka)									
	Näyte 6	Näyte 6	Näyte 6	Näyte 7	Näyte 7	Näyte 7	Näyte 8	Näyte 8	Näyte 8
	(ACN:H2O: Heksaani)	(ACN:H2O: Heksaani)	(ACN:H2O: Heksaani)	(ACN:H2O: Heksaani)	(ACN:H2O: Heksaani)	(ACN:H2O: Heksaani)	(betoni)	(betoni)	(betoni)
PCB No.: 28	0,001	0,001	0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
PCB No.: 52	0,01	0,01	0,007	0,001	0,001	<0,001	0,001	0,001	<0,001
PCB No.: 101	0,067	0,066	0,044	0,007	0,007	0,004	0,008	0,008	0,003
PCB No.: 118	0,018	0,017	0,012	0,002	0,002	0,001	0,002	0,002	<0,001
PCB No.: 138	0,1	0,1	0,066	0,014	0,016	0,006	0,017	0,017	0,003
PCB No.: 153	0,13	0,12	0,08	0,016	0,015	0,008	0,024	0,023	0,004
PCB No.: 180	0,087	0,076	0,054	0,012	0,011	0,005	0,02	0,018	0,003
Yhteensä	0,42	0,39	0,26	0,05	0,05	0,02	0,07	0,07	0,01

*Standardeja ei ole esikäsitelty Quechers-menetelmällä

Koska jokaisella neljällä testauskerralla liuottimesta riippumatta päästiin hyviin tuloksiin, PCB-yhdisteiden testaus päätettiin jo melko aikaisessa vaiheessa ja jatkossa testaus keskittyi vain PAH-yhdisteisiin.

7 YHTEENVETO TESTAUKSISTA

7.1 PAH-yhdisteet

Naftaleenin saantoprosentti referenssimaassa pysyi verraten alhaisena jokaisella testauskerralla. Koska naftaleeni on PAH-yhdisteistä kevyin ja helposti haihtuvin (Simpson ym. 2005, 158 - 159), epäiltiin haihduttamisella (testauskerrat 1-4) olevan vaikutusta tuloksiin. Haihduttamisvaihe ei kuitenkaan toistunut kaikissa koejärjestelyissä, jolloin tämä johtopäätös ei ole täysin aukoton.

Quechers-menetelmä sisältää kuitenkin erään vaiheen, jossa lämmön synnyttämää haihtumista on voinut tapahtua. Asetonitriiliuuton aikana näytteeseen lisätty vedetön $MgSO_4$ synnyttää lämpöä, mikä nopeuttaa ja tehostaa uuttumista. Lämmön kohoaminen voi johtaa helposti hajoavien yhdisteiden saannon pienentymiseen (Lehotey ym. 2010, 513). Ehkäpä näin tapahtui juuri naftaleenin kohdalla, koska myös niissä koejärjestelyissä, joissa haihdutusvaihetta ei ollut, naftaleenin saantoprosentti referenssimaassa jäi verraten alhaiseksi.

Varsinaisissa maanäytteissä naftaleenin alhainen saanto ei ollut yhtä silmiinpistävää kuin referenssimaan kohdalla. Kuitenkin esimerkiksi viimeisellä testauskerralla yön yli kestäneessä uutossa, jossa suolapaketti lisättiin uuton jälkeen, naftaleenin määrässä päästiin melko lähelle käytössä olevan menetelmän tulosta. Kun suolapaketti lisättiin ennen uuttoa ja näytettä uutettiin yön yli, naftaleenin määrä oli vain puolet siitä, mitä uuton jälkeen lisätyllä suolapaketilla saatiin tulokseksi. Molemmissa tapauksissa syntyi lämpöä, joten voidaankin pohtia, miksi suolapaketin lisäys uuton jälkeen vähentäisi naftaleenin haihtumista. Voidaankin pohtia, johtuuko tämä siitä, että asetonitriilillä ja vedellä on enemmän tilaa uuttua ennen suolapaketin lisäystä eli ravistelu on tehokkaampaa. Toinen vaihtoehto voisi olla, että yhdisteet eivät ehdi siirtyä asetonitriilifaasiin, kun suola lisätään nopeasti, koska sen lisäys tehostaa faasien erottumista. Kevyimmät PAH-yhdisteet liukenevat paremmin veteen verrattuna raskaampiin yhdisteisiin (Simpson ym. 2005, 158 - 159). Tämä tukee ajatusta siitä, että osa kevyimmistä yhdisteistä jää lyhyellä uuttoaajalla asetonitriili/vesifaasiin. Varmaa johtopäätöstä ei voida kuitenkaan tehdä yksittäisen tuloksen perusteella.

Referenssimaalille ei myöskään tehty pitkiä uuttokokeita, jolloin uuton ja suolalisäyksen merkitystä naftaleenin saantoon ei voida sen pohjalta vahvistaa.

Naftaleenin alhaisen saannon epäiltiin johtuvan myös itse referenssimasta. Viimeisellä testauskerralla referenssimaa vaihdettiin saman valmistajan uuteen, vielä avaamattomaan, referenssimahaan. Arvot jäivät edelleen mataliksi. Myöhemmin kuitenkin havaittiin, että naftaleenin saanto on jäänyt matalaksi myös käytössä olleella menetelmällä, jolloin referenssimaa on todennäköisesti vaikuttanut epäedullisesti naftaleenin saantoon.

Referenssimaan kohdalla tulokset naftaleenia ja joitain yksittäisiä poikkeuksia lukuun ottamatta olivat kuitenkin lupaavat. Raskaimpien yhdisteiden saannot jäivät osalla testauskerroista verrattain alhaisiksi, mikä voi johtua niiden voimakkaammasta sitoutumisesta maa-ainekseen.

Varsinaisten maanäytteiden esikäsittely menetelmällä antoi ristiriitaisia tuloksia. Maanäytteiden kohdalla on monta tekijää, jotka aiheuttavat pohdintaa menetelmän kyvystä tuottaa luotettavia tuloksia. Quechers-menetelmällä maanäytettä otettiin näyteputken koosta ja Agilentin menetelmäohjeesta johtuen käsittelyyn vain 5 g, kun käytössä olevalla menetelmällä tyypillinen esikäsittelymäärä on 20 g. Myös noin 1g ja 10 g näytepainoja kokeiltiin Quechers-menetelmällä, mutta mitään johdonmukaisuutta näytteen painon merkityksestä tulosten luotettavuuteen ei voida löytää.

Yksittäisen maanäytteen heterogeenisyys ja sen negatiivinen vaikutus tuloksiin voidaan ainakin osittain kumota poislukien materiaalin ominaisuuden aiheuttama perusvirhe (Sirén ym. 2009, 18), koska Quechers-menetelmällä samana päivinä tehdyistä rinnakkaismäärittämisistä saatiin samanlaisia tuloksia. Näiden tulosten pohjalta voidaan todeta, että haitta-aineet ovat jakautuneet näytemäärässä tasaisesti. Sen sijaan maanäytteiden erilaisuus toisiinsa nähden voi olla syynä vaihteleviin tuloksiin. Toisin sanoen osa maanäytteistä on ominaisuuksiltaan sellaisia, että haitta-aineet uuttuvat niistä helpommin, kun taas osassa yhdisteet ovat sitoutuneet maapartikkeleihin tiukemmin.

Myös Quechers-menetelmän kehittäjät ovat olleet skeptisiä menetelmän soveltuvuudesta maanäytteiden analysointiin. Heidän mukaansa menetelmälle ominainen nopea ravistelu ei välttämättä riitä maanäytteille tyypillisten voimakkaiden sidostyyppien rikkomiseen. (Lehotey ym. 2010, 510.)

7.2 PCB-yhdisteet

PCB-yhdisteiden kohdalla tulokset vaikuttivat lupaavilta. Koska PAH- ja PCB-yhdisteet tutkitaan samalla menetelmällä, Quechers-aplikaation soveltaminen PCB-yhdisteiden määrittämiseen on ajankohtaista vasta sitten, kun PAH-yhdisteistä saadaan yhtä lupaavia tuloksia.

8 JOHTOPÄÄTÖKSET

Tässä testauskokonaisuudessa saatujen tuloksien perusteella Quechers-menetelmän soveltaminen Agilentin ohjeen mukaisesti ei välttämättä takaa, että PAH- yhdisteet saadaan määritettyä erityyppisistä maanäytteistä tarpeeksi luotettavasti. Verrattain lyhyt uuttoaika ei ehkä riitä kaikkien maa-ainestyyppien uuttamiseen vaan tiukimmin maapartikkeleihin sitoutuneet PAH-yhdisteet tarvitsevat todennäköisesti pidemmän uuttoaajan tai mahdollisesti järeämpiä apukeinoja uuton tehostamiseksi. Toisaalta tässä työssä saadut tulokset eivät poissulje, ettei Quechers-menetelmää voitaisi soveltaa maanäytteiden analysointiin erityisesti PCB-yhdisteiden osalta. PAH-yhdisteiden kohdalla sopivan toimintatavan löytäminen vaatii vielä lukuisia testauksia käytössä olevan menetelmän rinnalla. Ideaalitulanteessa menetelmän kulku myös nopeutuisi huomattavasti, jos asetonitriiliä ei tarvitsisi vaihtaa vaan GC-MS-tekniikan sijaan analyysi voitaisiin toteuttaa esimerkiksi HPLC-FLD-tekniikalla.

LÄHTEET

Ehder, T. (toim.) 2005. Kemia metrologian opas. Julkaisu J6/2005. MIKES.

Metrologian neuvottelukunta [viitattu 31.3.2013]. Saatavissa:

http://www.mikes.fi/documents/upload/j6_05_b5_nettiin.pdf

Jaarinen, S. & Niiranen, J. 2008. Laboratorion analyysitekniikka. Helsinki: Edita Prima Oy.

Khan, Z., Troquet, J. & Vachelard, C. 2005. Sample preparation and analytical techniques for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils. *International Journal of Environmental Science and Technology*. Vol. 2, N:o 3, p. 275-286 [viitattu 31.3.2013]. Saatavissa:

http://www.ijest.org/jufile?c2hvd1BERj03OQ==&ob=7484d611c90b406f242500c275a0df2e&fileName=full_text.pdf

Lehnik-Habrink, P., Hein, S., Win, T., Bremser, W. & Nehls, I. 2010. Multi-residue analysis of PAH, PCB, and OCP optimized for organic matter of forest soil. *Soils Sediments*. Vol. 10, p. 1487-1498 [viitattu 30.11.2012]. Saatavissa: <http://link.springer.com/article/10.1007/s11368-010-0241-3>

Lehotay, S. J., Anastassiades, M. & Majors, R.E. 2010. QuEChERS, a Sample Preparation Technique that Is "Catching On": An Up-to-Date Interview with the Inventors. *LC-GC North America*. Vol. 28, N:o. 7, p. 504-516 [viitattu 30.11.2012]. Saatavissa: <http://wyndmoor.arserrc.gov/Page/D8200/8226-a.pdf>

Li, H., Chen, J., Wu, W. & Piao, X. 2010. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in different size fractions of soil from a coke oven plant and its relationship to organic carbon content. *Journal of Hazardous Materials*. Vol. 176, p. 729-734. [viitattu 17.4.2013]. Saatavissa ScienceDirect-tietokannassa: <http://www.sciencedirect.com/aineistot.phkk.fi/science/article/pii/S0304389409018949>

OVA-ohje. 2011. OVA-ohje: Asetonitriili. Työterveyslaitos [viitattu 24.1.2013]. Saatavissa: <http://www.ttl.fi/ova/asetonit.html>

Pierzynski, G. M., Sims, J. T. & Vance, G. F. 2000. Soils and environmental quality. Boca Raton: CRC Press LLC.

PIMA-asetus 214/2007. Valtioneuvoston asetus maaperän pilaantuneisuuden ja puhdistustarpeen arvioinnista. Saatavissa:

<http://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2007/20070214>

Pule, B., Mmualefe, L. & Torto, N. 2012. Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil with Agilent Bond Elut HPLC-FLD. Agilent Technologies, Inc [viitattu 3.9.2012]. Saatavissa:

<http://www.chem.agilent.com/Library/applications/5990-5452EN.pdf>

Quechers. 2011. Quechers home. CVUA Stuttgart [viitattu 12.1.2013]. Saatavissa:

<http://quechers.cvua-stuttgart.de/index.php?nav1o=1&nav2o=0&nav3o=0>

Schwarzenbach, R. P., Gschwend, P. M. & Imboden D. M. 1993. Environmental Organic Chemistry. New York: John Wiley & Sons, Inc.

Simpson, M. J., Chefetz, B., Deshmukha, A. P. & Hatcher, P. G. 2005.

Comparison of polycyclic aromatic hydrocarbon distributions and sedimentary organic matter characteristics in contaminated, coastal sediments from Pensacola Bay, Florida. Marine Environmental Research. Vol. 59, Iss. 2, p. 139–163 [viitattu 17.4.2013]. Saatavissa:

<http://www.sciencedirect.com.aineistot.phkk.fi/science/article/pii/S0141113604001576>

Sirén, H., Perämäki, P. & Laiho, J. 2009. Esikäsittelyn käsikirja. Ohjeita vesi-, ympäristö- ja prosessitekniikan sekä lääketeollisuuden laboratorioille. Ylöjärvi: Painohäme Oy.

SYKE. 2011. PCB-yhdisteet. Suomen ympäristökeskus [viitattu 5.1.2013].

Saatavissa: <http://www.ymparisto.fi/default.asp?node=2548&lan=fi>

Työterveyslaitos. 2010. PAH-yhdisteet ja niiden esiintyminen. Työterveyslaitos [viitattu 5.1.2013]. Saatavissa:

http://www.ttl.fi/fi/kemikaaliturvallisuus/ainekohtaista_kemikaalitietoa/pah-yhdisteet_ja_niiden_esiintyminen/sivut/default.aspx

UNEP. 2013. Polychlorinated Biphenyls (PCBs): Uses and Environmental Releases. United Nations Environment Programme [viitattu 31.3.2013].

Saatavissa:

http://www.chem.unep.ch/pops/POPs_Inc/proceedings/bangkok/FIEDLER1.html

Wright, J. 2003. Environmental chemistry. Lontoo: Routledge.