



Joona Mäkelä

Haihtuvien orgaanisten yhdisteiden (VOC) TD-GC-MSD-menetelmän validointi

Haihtuvien orgaanisten yhdisteiden (VOC) TD-GC-MSD-menetelmän validointi

Joona Mäkelä
Opinnäytetyö
Syksy 2012
Laboratorioalan koulutusohjelma
Oulun seudun ammattikorkeakoulu



TIIVISTELMÄ

Oulun seudun ammattikorkeakoulu
Laboratorioala, Laboratorioanalytiikka

Tekijä: Joonas Mäkelä

Opinnäytetyön nimi: Haihtuvia orgaanisia yhdisteitä (VOC) määrittävän termodesorptio-
kaasukromatografisen menetelmän validointi

Työn ohjaajat: Eija Hakala, Petri Perätalo

Työn valmistumislukukausi ja -vuosi: Syys 12.2012 Sivumäärä: 41

Opinnäytetyö on tehty WSP Finlandille. Työn aiheena oli haihtuvia orgaanisia yhdisteitä (VOC) määrittävän termodesorptio-kaasukromatografia-massadetektorilaitteiston analyysimenetelmän käyttöönotto ja validointi. Haihtuvat orgaaniset yhdisteet vaikuttavat sisäilman laatuun ja voivat aiheuttaa terveydellisiä haittavaikutuksia suurina pitoisuuksina. Kohonnut VOC-pitoisuus sisätilassa on usein merkki ongelmista. Sen suurimmat lähteet ovat rakennus- ja sisustusmateriaalit. Näin ollen on suositeltavaa tehdä jatkotutkimuksia, jos korkea huoneistossa todetaan VOC-pitoisuus.

Työn tavoitteena oli suorittaa mittauksia, joilla varmistettiin menetelmän oikea käyttö ja osoittaa sen pätevyys olosuhteissa, joissa sitä käytetään. Validoinnista pyrittiin tekemään mahdollisimman laaja käyttämällä BTEX-standardia, joka sisältää kuutta eri yhdistettä. Käytössä olevan menetelmän pohjana oli WSP:n käyttämä sisäinen menetelmä, joka on sovellettu standardista ISO 16000-6.

Validoitavia parametrejä olivat menetelmän lineaarisuusalue, toteamis- ja määrittäysrajat, tarkkuus, toistettavuus, mittausepävarmuus ja häiriöalttius. Työ aloitettiin tekemällä kalibrointisuorat jokaiselle BTEX-yhdisteelle, käyttämällä apuna C-CSLR-kalibrointiliuoksen syöttöalustaa, samalla testaten sen toimintaa. Näytteet ajettiin massaselektiivisellä detektorilla varustetulla kaasukromatografilla.

Seuraavaksi mitattiin kromatografian perussuureita menetelmälle. Näistä voitiin todeta sen olevan selektiivinen ja spesifinen. Toistettavuus oli yhdistekohtaista, ja sitä kuvaava suhteellinen keskijointa vaihteli 3,6–10,6 %. Tekemällä kymmenen näytteen toistokoe todettiin mittausepävarmuus, joka oli 3,6–13,5 %. Häiriöalttiutta tutkittiin kontrollinäytteillä, joita mitattiin jokaisen määrittäyksen yhteydessä. Kontrollinäytteet sijoitettiin X-kortiksi kutsuttuun seurantatyökaluun, jota voidaan käyttää menetelmän seuraamiseen rutiinanalytiikassa.

Menetelmä on toimiva laitteen, standardien ja kontrollinäytteiden osalta. Menetelmän kehityksessä näytteenottoon tulisi kiinnittää huomiota, koska validoinnissa sisäilmanäytteiden otossa oli ongelmia. Tähän voitaisiin löytää ratkaisu käyttämällä passiivista näytteenottoa.

Asiasanat: validointi, VOC, GC-MS

SISÄLTÖ

TIIVISTELMÄ	3
SISÄLTÖ	4
MÄÄRITELMÄT LYHENTEILLE JA KÄSITTEILLE	6
1 JOHDANTO	8
2 HAIHTUVAT ORGAANISET YHDISTEET (VOC)	9
2.1 VOC-yhdisteet sisäilmassa	9
2.2 VOC ja alailmakehän otsoni	11
2.3 Terveysvaikutukset	12
3 NÄYTTEENOTTO- JA ANALYYSILAITTEISTO	13
3.1 Näytteenottolaitteisto	13
3.1.1 Tenax TA -sorbentti	13
3.1.2 TC-20 Tube Conditioner -laitteisto	13
3.1.3 C-CSLR-kalibrointiliuoksen syöttöalusta	14
3.1.4 Näytteenotto	15
3.2 Analyysilaitteisto	16
3.2.1 Termodesorptiolaitteisto	16
3.2.2 Kaasukromatografi (GC)	17
3.2.3 Massaselektiivinendetektori (MSD)	17
4 VALIDOINNIN KÄSITTEET	19
4.1 Määritysalue ja lineaarinen määritysalue	19
4.2 Herkkyys	20
4.3 Toteamisraja	20
4.4 Määritysraja	20
4.5 Selektiivisyys ja spesifisyys	20
4.6 Häiriöalttius ja haavoittuvuus	21
4.7 Tarkkuus	21
4.8 Mittausepävarmuus	22
5 ATD-GC-MSD-SYSTEEMIN VALIDOINTI	23
5.1 Validoitava menetelmä	23
5.2 Validoinnissa käytetyt näytteet	25
5.3 Standardinäytteiden valmistaminen	25
5.4 Mittaus	26

6 VALIDOINTITULOSTEN KÄSITTELY	28
6.1 Kromatografisten perussuureiden määrittäminen	28
6.2 Selektiivisyys, spesifisyys	29
6.3 Määrittämisalue ja lineaarinen määrittämisalue	29
6.4 Toteamis- ja määrittämisraja	31
6.5 Tarkkuus	32
6.6 Toistettavuus	33
6.7 Mittausepävarmuus ja laajennettu mittausepävarmuus	33
6.8 Häiriöalttius	34
7 POHDINTA	37
LÄHTEET	40

MÄÄRITELMÄT LYHENTEILLE JA KÄSITTEILLE

Analyytti	tutkittava aine
ATD	automaattinen termodesorptionäytteesyöttäjä (automatic thermal desorber)
BTEX	validoinnissa käytetty standardiliuos, joka sisältää bentseeni, tolueeni, etyylibentseeni, p-xyleeni, m-xyleeni, o-xyleeni, 1 mg/ml jokaista
Detektori	ilmaisin
GC	kaasukromatografi (gas chromatography)
GC-MS	yhdistelmälaite, jossa on kaasukromatografi-massaspektrometri (gas chromatography- mass spectrometry)
ISTD	sisäinen standardi (internal standard)
Karsinogeeninen	syöpää aiheuttava
Kvantitointi	pitoisuuden määrittäminen
LOD	toteamisraja (limit of detection)
LOQ	määritysraja (limit of quantification)
MS	massaspektrometri (mass spectrometer)
MS-spektrikirjasto	tietokanta, joka sisältää yhdisteiden massaspektrit
Referenssimateriaali	tunnettu materiaali tai aine, jota käytetään esimerkiksi vertailumittauksiin

Split-menetelmä	kaasukromatografissa käytetty ajomenetelmä, jossa vain osa näytteestä menee kolonniin
Tenax TA	polymeeriadsorbentti
Termodesorptio	tekniikka, jolla analysoitava yhdiste irroitetaan adsorbentista kuumentamalla
VOC	haihtuva orgaaninen yhdiste (volatile organic compound)

1 JOHDANTO

VOC-yhdisteet eli haihtuvat orgaaniset yhdisteet ovat terveydelle ja ympäristölle haitallisia yhdisteitä, jotka voivat edistää kasvihuoneilmiötä tai aiheuttaa erilaisia terveyshaittoja. VOC-yhdisteiden haittavaikutuksille altistuminen voi tapahtua työympäristössä tai jopa lenkkipolulla.

Tässä työssä on validoitu VOC-yhdisteitä mittaavaa menetelmää. Validointi pyrittiin tekemään mahdollisimman laajasti käyttäen BTEX-standardia, kalibrointiliuoksen syöttöalustaa ja ATD-GC-MSD-yhdistelmälaitetta. Työ tehtiin WSP Finlandille Oulun seudun ammattikorkeakoulussa.

Työn kirjallisessa osassa kerrotaan VOC-yhdisteistä ja niiden vaikutuksista ihmiseen ja ympäristöön. Osiossa kerrotaan myös menetelmän validoinnista ja validointiin liittyvistä käsitteistä. Myös työssä käytetyt laitteet ja välineet käydään läpi sekä kerrotaan termodesorptiosta.

Työn kokeellisessa osiossa kerrotaan työhön käytetyt reagenssit, laitteet ja välineet. Siinä käydään työkulkua vaiheittain sekä esitellään validoinnin tulokset ja päätelmät.

2 HAIHTUVAT ORGAANISET YHDISTEET (VOC)

Haihtuvilla orgaanisilla yhdisteillä (VOC eli Volatile Organic Compound) tarkoitetaan metaania lukuun ottamatta kaikkia ihmisen toiminnan aiheuttamia orgaanisia yhdisteitä, jotka voivat tuottaa valokemiallisia hapettajia reagoissaan auringonvalossa typen oksidien kanssa. Lisämääritelmänä mainitaan, että ne ovat orgaanisia yhdisteitä, joiden höyrynpaine on 20 °C:n lämpötilassa vähintään 0,01 kPa. EU:n määritelmän mukaan ne ovat orgaanisia yhdisteitä, joiden kiehumispiste on pienempi tai yhtä suuri kuin 250 °C standardi ilmanpaineessa 101,3 kPa. (1; 2.)

Huoneilmassa esiintyy satoja kaasumaisia VOC-yhdisteitä, jotka WHO:n mukaan voidaan jakaa kiehumispisteensä mukaan seuraavasti:

- VVOC: (very volatile organic compounds) erittäin haihtuvat orgaaniset yhdisteet, kiehumispistealue 0 - 100 °C
- VOC: (volatile organic compounds) haihtuvat orgaaniset yhdisteet, kiehumispistealue 50 - 260 °C
- SVOC (semi volatile organic compounds) puolihaihtuvat orgaaniset yhdisteet, kiehumispistealue 240 - 400 °C
- POM (Particulate Organic Matter) partikkeleihin sidotut yhdisteet, kiehumispistealue > 380 °C
- TVOC: (total volatile organic compounds) kromatografiassa n-heksaanin (kiehumispiste 69 °C) ja n-heksadekaanin (kiehumispiste 287 °C) välillä eluoitavat yhdisteet (3.)

2.1 VOC-yhdisteet sisäilmassa

VOC-yhdisteille voi altistua työelämässä tai niitä käsitellessä. Rakennus- ja sisustusmateriaalit on mainittu suurimmiksi haihtuvien orgaanisten aineiden lähteiksi, mutta myös liikenteen aiheuttamat päästöt ja ilman saasteet lisäävät pitoisuuksia sisäilmassa. Yhdisteet ovat alifaattisia ja aromaattisia hiilive-

tyjä, alkaaneja ja alkyylibentseenejä. Nämä ovat yleensä erilaisia liuottimia. (4).

Sisäilmayhdistys ry on tehnyt sisäilmastoluokituksen, jossa on annettu tavoite- ja suunnitteluarvot terveelliselle sisäilmalle. Sisäilmastoluokitus on tarkoitettu helpottamaan suunnittelijoiden ja rakennuttajien työtä, mutta se ei kumo viranomaisäännöksiä. (4.)

Sisäilmastoluokituksessa 2008 mainittiin aikaisempien ”Sisäilmastoluokitus”-julkaisujen TVOC tavoitearvoista luopumisesta niiden vaikean toteamisen takia. Aiemmin sisäilmastoluokituksen mukaan sisäilman kaikkien haihtuvien orgaanisten yhdisteiden pitoisuuden enimmäisarvot olivat

- sisäilmastoluokka S1 200 µg/m³
- sisäilmastoluokka S2 300 µg/m³
- sisäilmastoluokka S3 600 µg/m³.

TVOC-mittaustulosta ei voida käyttää suoraan terveyshaitan arvioinnissa, mutta kohonnut TVOC-pitoisuus (yli 600 µg/m³) on osoitus kemiallisten aineiden epätavallisen suuresta määrästä sisäilmassa. Tästä syystä lisäselvitykset ovat todennäköisesti tarpeen yksittäisille kemiallisille yhdisteille.(5)

Sisäilmastoluokituksessa mainitut tavoite- ja enimmäisarvot ovat edelleen suosituksia, mutta ne korvattiin TVOC:n kohdalla materiaaliteknisillä vaatimuksilla: rakennuksissa on käytettävä vähäpäästöisiä materiaaleja. Rakennusmateriaalien päästöluokitukset on esitelty taulukossa 1. Taulukossa ei ole mainittu päästöluokitusta M3, mutta siihen kuuluvat käytännössä rakennusmateriaalit, jotka eivät yllä päästöluokitukseen M2. (4; 6.)

TAULUKKO 1 Rakennusmateriaalien luokitusrajat (6)

Tutkittavat ominaisuudet	M1 [mg/m ² h]	M2 [mg/m ² h]
Haihtuvien orgaanisten yhdisteiden (TVOC) kokonaisemissio. Yhdisteistä tunnistettava vähintään 70%.	< 0,2	< 0,4
Formaldehydin (HCOH) emissio	< 0,05	< 0,125
Ammoniakin (NH ₃) emissio	< 0,03	< 0,06
IARC:n luokittelun mukaisten luokkaan 1 kuu- luvien karsinogeenisten aineiden emissio ^{1*}	< 0,005	< 0,005
Haju ^{2*}	ei haise	ei haise

1* WHO 1987, ei koske formaldehydiä (IARC 2004)

2* Aistinvaraisen arvioinnin tulos on oltava > +0,1.

2.2 VOC ja alailmakehän otsoni

Otsonin muodostuminen tapahtuu alailmakehässä eli troposfäärissä valoke-
miallisessa reaktioketjussa. Uv-säteily irrottaa happiatomin typpidioksidista,
jolloin syntyy typpimonoksidia ja happiatomeja ensimmäisen reaktioyhtälön
mukaisesti. Happiatomit reagoivat hapen kanssa synnyttäen otsonia (reaktio
2). Otsoni taas reagoi typpimonoksidin kanssa ja syntyy typpidioksidia ja
happea. (Reaktio 3)(7.)



Normaaleissa olosuhteissa yllä esitetty reaktioketju on tasapainossa. On-
gelmaksi tulee tilanne, jossa VOC-yhdisteitä on ilmassa ja ne reagoivat

reaktio 4:n osoittamalla tavalla typpimonoksidin kanssa. VOC-yhdisteet toimivat typpimonoksidin hapettajina nopeammin otsonin sijasta, jolloin tasapainottavaa reaktiota (reaktio 3) ei ehdi tapahtua. (7)

[VOC & NO & säteily] -> NO₂ + muita tuotteita

Reaktio 4

Näin ollen VOC-yhdisteet kohottavat otsonipitoisuutta. Samalla muodostuu lisää typpidioksidia lisäämään otsonin tuotantoa. Auringonvalo, typen oksidien ja hiilivetyjen määrä ja niiden suhde määrittelevät reaktioketjussa syntyneen otsonin määrän. Luonnollisia lähteitä hiilivedyille ovat eläinten ja kasvien elintoiminnot, kosteikot ja meret. Typen oksideille lähteinä ovat maaperässä tapahtuvat biologiset prosessit, salamet ja metsäpalot. Luonnollisten lähteiden kautta syntyneet hiilivedyt ja typen oksidit ovat kuitenkin osana tasapainoista reaktioketjua, jossa otsonia syntyy ja jossa se reagoi toisten yhdisteiden kanssa. Täten ihmisen aiheuttama liikenteen ja teollisuuden vaikutus korostuu hiilivetyjen lähteinä. (7)

2.3 Terveysvaikutukset

Suurina pitoisuuksina VOC-yhdisteitä pidetään terveydelle haitallisena. Niiden aiheuttamia oireita ovat mm. silmien ja hengitysteiden limakalvojen ärsytys, hajutuntemukset, väsymys, voimattomuus ja päänsärky ja astman kaltaisia oireita. Osa VOC-yhdisteistä, kuten bentseeni ja akrylibentseeni, ovat karsinogeenisiä eli syöpää aiheuttavia. (8, s. 6.)

VOC-yhdisteiden aiheuttamat korkeat otsonipitoisuudet vaikuttavat ihmisen elimistössä hapettavasti. Otsoni aiheuttaa vaurioita hengitysteissä ja häiritsee kaasujen vaihtoa keuhkoissa. Sen aiheuttamat haitat riippuvat altistuksen kestosta, pitoisuuksista ja fyysisen rasituksen voimakkuudesta rasituksen aikana. (7.)

3 NÄYTTEENOTTO- JA ANALYYSILAITTEISTO

3.1 Näytteenottolaitteisto

Näytteenottolaitteistoon kuuluivat Tenax TA -sorbenttiputket, TC-20 Tube Conditioner -laitteisto putkien puhdistamiseen, Markes C-CSLR- kalibroitiliuoksen syöttöalusta, Agilent FLEC-näytepumppu ja Agilent Flow Tracker 2000 -virtausmittari.

3.1.1 Tenax TA -sorbentti

Tenax TA -sorbentti on kehitetty erityisesti eri matriisien vapauttamien haihtuvien ja puolihaihtuvien orgaanisten yhdisteiden keräämiseksi. Se on 2,6-difenyleenioksidiin pohjautuva huokoinen polymeeriharts, joka sisältää vain vähän epäpuhtauksia eikä se vuoda näytettä ulos käytössä. Tenax TA ja veden affiniteetti on pieni, joten vesi ei pääse häiritsemään näytteenottoa eikä mittausta. Etuna on myös Tenax TA:n korkea 350 °C:seen ulottuva lämpötila-alue. (8.)

3.1.2 TC-20 Tube Conditioner -laitteisto

Uudet sorbenttiputket pitää alustaa ja ajoittain puhdistaa. Tätä varten on kehitetty TC-20 Tube Conditioner -laitteisto. Laite säästää aikaa ja rahaa, koska siinä voidaan käyttää halvempaa tyyppiä termodesorptiolaitteiston heliumin sijaan. Sillä voidaan puhdistaa 20 putkea samaan aikaan.

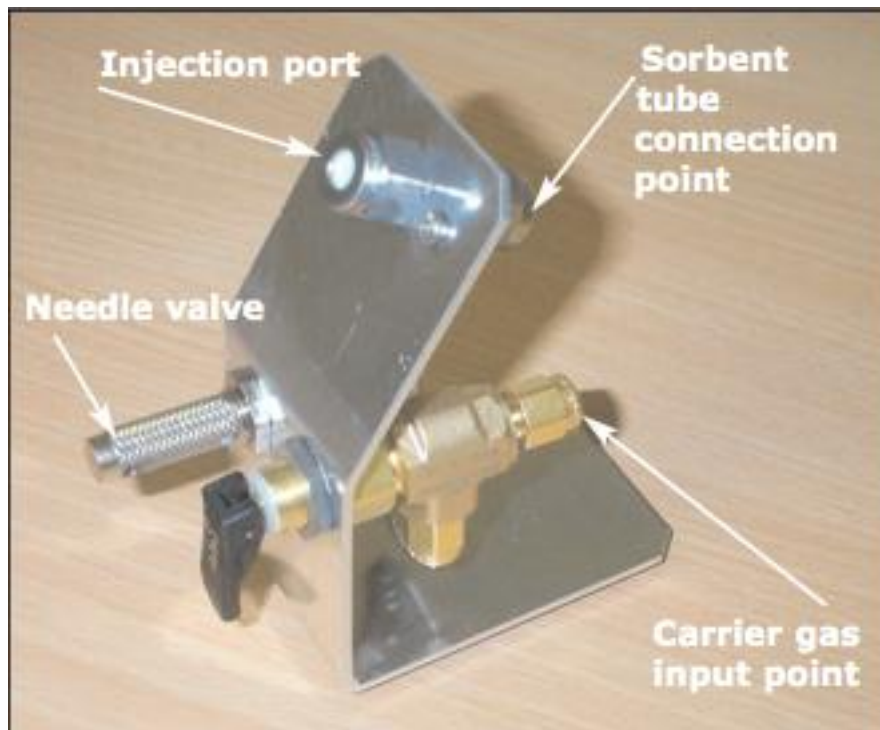
Sorbenttiputkien läpi kulkee inertti kaasuvirta (typpi tai helium) samalla, kun ne kuumennetaan jopa 400 °C:seen. TC-20-laitteessa on myös hiilisuodatin, joka estää epäpuhtauksien pääsyn sorbenttiputkiin. (9.)

Sorbenttiputket pitää kunnostaa ja puhdistaa, kun putket on pakattu uudella sorbentilla, ne ovat kontaminoituneet tai niitä on säilytetty yli kaksi vuorokautta ilman varastointikorkkeja. Myös ennen erittäin pienten pitoisuuksien mittausta putket tulee puhdistaa. (9.)

3.1.3 C-CSLR-kalibrointiliuoksen syöttöalusta

Standardiliuosten syöttämistä putkiin helpottamaan MARKES on valmistanut C-CSLR- kalibrointiliuoksen syöttöalusta. Syöttöalusta vähentää myös kontaminaation mahdollisuutta näytteensyötössä. Alustassa on portti kantajakaasulle, joka on varustettu kaasuvirran sulkevalla vivulla ja kaasuvirtausta säätelevällä venttiilillä. Tämä mahdollistaa helpon käytettävyyden ja kaasuvirran säätelyn. Suositeltu kaasuvirtaus on 50–100 ml minuutissa. (10.)

Sorbenttiputki liitetään kuvassa 1 näkyvään holkkiin, joka voidaan kiristää täydellisen tiiviiden varmistamiseksi. Sen toisella puolella on septumilla varustettu portti jonka kautta standardiliuos voidaan syöttää. Standardiliuosta syötettäessä ruisku työnnetään septumin läpi ja kaasuhana aukaistaan vivusta. Ruiskun työnnetään alas, jolloin inertti kantajakaasuvirta kuljettaa neulankärkeen syntyneen tipan sorbenttiputkeen ja levittää sen tasaisesti sorbenttiin. Määrätyn ajan kuluttua kaasuvirta suljetaan ja sorbenttiputki irrotetaan alustasta ja korkitetaan.



KUVA 1 C-CSLR -kalibrointiliuoksen syöttöalusta (10.)

3.1.4 Näytteenotto

VOC-yhdisteiden näytteenottoa on sekä aktiivista että passiivista. Aktiivisessa näytteenotossa sorbenttiputken toiseen päähän liitetään näytepumppu. Se imee tietyn määrän ilmaa vakiovirtauksella putken läpi, jolloin VOC-yhdisteet adsorboituvat sorbenttiin. Usein näytteenotto kestää noin 30 minuuttia, mutta pumpuilla on myös mahdollista tehdä pitkän aikavälin näytteenkeruuta. Aktiivinen näytteenotto kallista, koska pumppuja pitää tarkistaa ja validoida virtauksen ja tilavuuden osalta. Ongelmaksi voidaan lukea myös pumpun aiheuttama melu pitkäaikavälin mittauksissa. (11, s.17.)

Passiivisessa näytteenotossa VOC-yhdisteet diffundoituvat sorbenttiputkeen. Putken suun pinta-ala ja sen etäisyys sorbenttiin määräävät näytteenotonopeuden aksiaalisessa passiivisessa näytteenotossa. Passiivinen näytteenotto on halpa ja helppo tapa kerätä näytteitä. Se soveltuu hyvin pitkäaikaisten VOC yhdisteiden keskiarvojen mittaamiseen. Putken voi sijoittaa melkein mihin tahansa. Sitä voi jopa kantaa mukana henkilökohtaisen VOC-analyysin tekemiseksi. (11, s.17.)

MARKES:illa on valikoimissaan passiiviseen näytteenottoon aksiaalisen sorbenttiputken lisäksi myös radiaalinen näytteenkeräin. Sen adsorboiva pinta-ala on suurempi kuin aksiaalisessa näytteenkeräimessä. Näin päästään suurempiin näytteenotonopeuksiin, jolloin aksiaalikeräimeen verrattuna näytteenottoaika putoaa 2–4 viikosta 1–6 tuntiin. Radiaalinen näytteenkeräin on tarkoitettu lyhyt aikaiseen näytteenottoon, koska se saturoituu eli saavuttaa kapasiteettinsa nopeasti. (12.)

3.2 Analyysilaitteisto

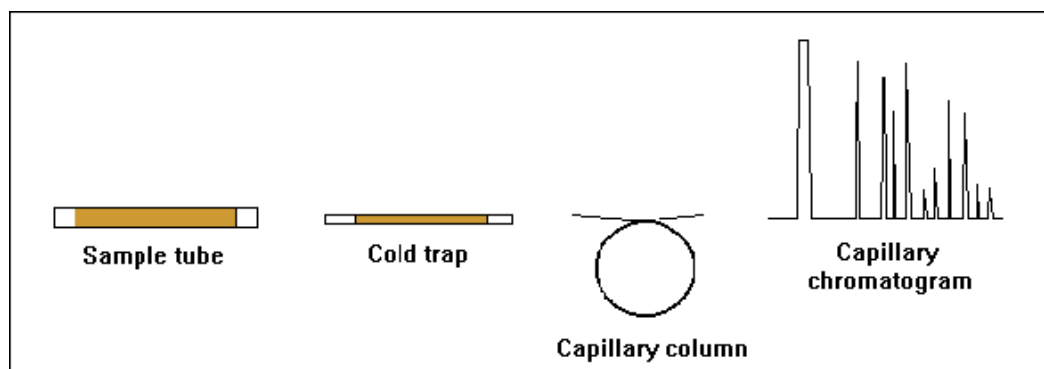
Analyysilaitteistoon kuuluivat Markes näytteensyöttö- ja termodesorptioyksikkö, Agilent kaasukromatografi ja massaselektiivinen spektrometri.

3.2.1 Termodesorptiolaitteisto

Analysoitaessa orgaanisten yhdisteiden pieniä pitoisuuksia termodesorptio on herkkä vaihtoehto. Dynaamisessa kaasu-uuttoprosessissa näytteitä kuumennetaan inertissä kaasuvirrassa, jotta kohdeyhdisteet saadaan optimaalisesti kerättyä kaasuvirtaan. (13.)

Termodesorptiolaitteita on olemassa yksi- ja kaksivaiheisena. Yksivaiheinen termodesorptio on huono vaihtoehto tavallisilla alle yhden gramman näytteillä, koska eluointilavuus kasvaa liian suureksi. Tämä johtaa huonoon resoluutioon ja huonoon herkkyteen. Tästä syystä suurin osa termodesorptiolaitteista on kaksivaiheisia. Ne käyttävät kylmäloukkuja, joka konsentroi analyytin ja vapauttaa sen analyysilaitteistoon. Analysaattorille saapuessaan näyte on pienimmässä mahdollisessa kaasutilavuudessa. (13.)

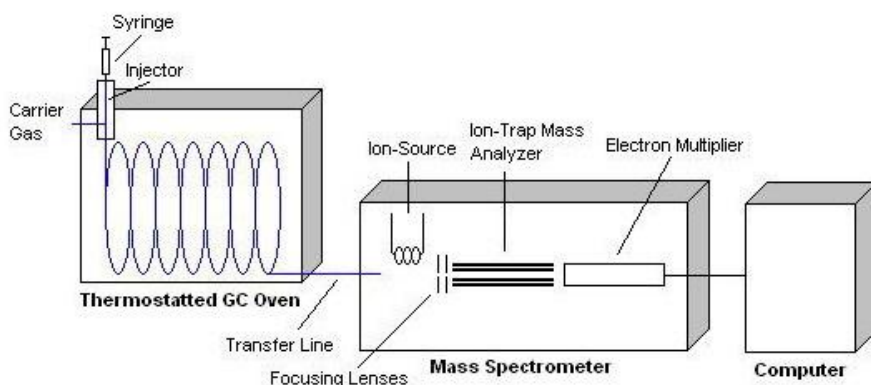
Sähköisesti kylmenevä kylmäloukku on yleisin kylmäloukkutyyppi. Näytteen-syöttäjältä saapuva analyytti ohjataan kylmäloukkuun, jossa se kuumennetaan nopeasti. Tällöin 99 % analyytistä desorboituu eli vapautuu parin ensimmäisen sekunnin aikana. Menettely mahdollistaa herkästi haihtuvien yhdisteiden kvantatiivisen mittauksen. Kuvassa 2 on esitetty termodesorptiosysteemi, joka käyttää kylmäloukkuja. (13.)



KUVA 2 Kylmäloukku (13.)

3.2.2 Kaasukromatografi (GC)

Kaasukromatografi on analyysilaitte, jonka rakenne on esitetty kuvassa 3. Kaasukromatografiaa käytetään hajoamatta höyrystyvien yhdisteiden analytiikkaan. Kaasukromatografiassa liikkuvana faasina toimii kantajakaasu ja stationäärifaasi on yleensä neste. Erottuminen perustuu yhdisteiden erilaisiin höyrönpaineisiin ja liukoisuuksiin stationäärifaasiin. Mitä helpommin yhdisteet höyrystyvät, sitä nopeammin ne kulkevat kolonnissa. Usein yhdisteet eluoituvat kiehumispistejärjestyksessä; tosin stationäärifasin muut ominaisuudet, kuten poolisuus, vaikuttavat eluotumisjärjestykseen. (14, s.167.)



KUVA 3 GC-MSD Kaasukromatografi-massaselektiivinen detektori -yhdistelmälaite (15.)

Kantajakaasun, yleensä helium, typpi tai vety, puhtauden tulee olla vähintään 99,995 %. Se kuljettaa kromatografiin syötetyn näytteen kolonnin läpi detektorille. Kolonni sijaitsee kolonniuunissa, joten sen lämpötilaa voidaan kontrolloida ja vaikuttaa yhdisteiden höyrystymiseen ja näin vaikuttaa erottumiseen. Kolonnin jälkeen laitteessa on detektori, joka havaitsee analyytit ja antaa signaalivasteen. (14, s.167–168.)

3.2.3 Massaselektiivinendetektori (MSD)

Massaselektiivinendetektori on analyysilaitte, jota käytetään useasti liitettynä kaasukromatografiin (kuva 3). Massaspektrometria on hyvin herkkä mene-

telmä. Massaspektrometrin signaali on verrannollinen ionien määrään ja näin verrannollinen alkuperäisen näytemolekyylin määrään. (14, s.116.)

Massaspektrometriassa tutkittava yhdiste ionisoidaan positiiviseksi ioniksi, ionisaattorin toimesta. Ionisaattorina toimii yleensä, joko elektronipommitus-ionisaatio (EI) tai kemiallisella ionisaatio (CI). Ionisaatiosta saatu ylimääräinen energia katkaisee sidoksia ja molekyyli-ioni pilkkoutuu pienemmiksi kappaleiksi, massafragmenteiksi. Tässä validoinnissa käytettiin elektronipommitus-ionisaatiota. (14, s.118.)

Massaspektrometri erottelee massafragmentit niiden massa/varaus-suhteen (m/z) mukaan. Erotteluun validoinnissa käytettiin kvadropolianaalysaattoria, joka on yleisin massa-analysaattori. Kvadropolianaalysaattori koostuu neljästä samansuuntaisesta sauvasta, jotka tuottavat värähtelevän sähkökentän ohjaamaan varautuneita partikkeleita. Vain tietyn m/z -suhteen ionit lentävät sauvaston läpi, muut törmäävät sauvastoon pääsemättä detektorille. (14, s.120)

Massaspektrometrin detektorina käytetään elektronimonistinta. Sen sisäpintaan törmäävät positiiviset ionit irrottavat elektroneja, jotka lentävät kohti elektronimonistimen perää ja törmäävät uudelleen seinämään vapauttaen lisää elektroneja. Tämä signaali vahvistetaan, ja se on verrannollinen analysaattorin läpi tulevien ionien määrään. (14, s.122.)

4 VALIDOINNIN KÄSITTEET

Validoinnin tarkoituksena on varmistaa menetelmän oikea käyttö ja osoittaa, että se on tieteellisesti pätevä olosuhteissa, joissa sitä käytetään. Validointi on tarpeellinen laboratorion sisäisille menetelmille, standardoimattomille menetelmille ja menetelmille, joita parannellaan ja laajennetaan. Hyvin tehty validointi osoittaa, että menetelmän suorituskykyyn liittyvät ominaisuudet (tarkkuus, mittausepävarmuus, toteamisraja) täyttävät käytössä tarvittavan tarkkuuden. (16, s. 65)

Validoinnin laajuus tulee valita käyttötarkoituksen mukaan. Aina ei ole tarkoituksenmukaista tai mahdollista suorittaa kaikkia toimenpiteitä. Pääperiaatteena kuitenkin on, että validoinnista tehdään mahdollisimman kattava. Vähimmäisvaatimuksena voidaan pitää seuraavien ominaisuuksien tutkimista: menetelmän toteamisraja, tarkkuus, toistettavuus, soveltuvuus tutkittavalle matriisille sekä mittausepävarmuus. (16, s.65.)

4.1 Määrittäminen ja lineaarinen määrittäminen

Mittauksessa tutkitaan menetelmälle pitoisuusalue, jolla menetelmä pystyy mittaamaan tuloksia toistettavasti ja hyväksyttävällä tarkkuudella. Määrittämisaluetta kuvataan standardikuvaajalla, jossa mitattavan standardin pitoisuus muuttuu suhteessa laitteen mittaamaan vasteeseen. Se voidaan määrittää analysoimalla laajalla pitoisuusalueella olevia standardeja.

Lineaarinen määrittäminen on pitoisuusalue, missä standardisuorassa ei esiinny kaareutumista. Tuloksista voidaan laskea regressiosuora pienimmän neliösumman menetelmällä. Tästä saadaan selville selitysaste (r^2), joka kuvaa lineaarisuuden hyvyttä. Mitä lähempänä selitysaste on yhtä, sitä vähemmän esiintyy hajontaa ja sitä lineaarisempi kuvaaja on. Lineaarisuuden tutkimiseen voidaan myös käyttää jäännöstermejä (residuaalit). Residuaalit ovat mitattujen tulosten ja kuvaajalta laskettujen tulosten erotuksia. Mitä paremmin residuaalit ovat jakaantuneet kuvaajan nollassa molemmille puolille, sitä lineaarisempi kuvaaja on. (16, s.103–105.)

4.2 Herkkyys

Herkkyys kuvaa pienintä eroa analyytin pitoisuudessa, joka vastaa pienintä havaittavissa olevaa eroa menetelmän vasteessa. Se voidaan todeta käyttämällä kalibrintikäyrän tangentin kulmakerrointa tai laskemalla herkkyuden arvo pitoisuutena. (16, s.102.)

4.3 Toteamisraja

Toteamisraja (LOD, limit of detection) on pienin analyysimenetelmällä havaittava pitoisuus. Se voidaan määrittää rinnakkaisten nollanäytteiden tulosten keskihajonnan avulla. (Kaava 1) (16, s.101.)

$$LOD = \text{tulosten keskiarvo} + 3 * \text{tulosten keskihajonta} \quad \text{KAAVA 1}$$

4.4 Määritysraja

Määritysraja (LOQ, limit of quantitation) on pienin analyytin pitoisuus, joka voidaan määrittää hyväksyttävällä tarkkuudella ja täsmällisyydellä. Se määritetään, kuten toteamisrajakin nollanäytteiden keskihajonnan avulla. (Kaava 2) (16, s.101.)

$$LOQ = \text{tulosten keskiarvo} + 6 * \text{tulosten keskihajonta} \quad \text{KAAVA 2}$$

4.5 Selektiivisyys ja spesifisyys

Selektiivinen menetelmä antaa signaalin tai vasteen usealle eri aineelle, mutta pystyy erottamaan määritettävän signaalin muista signaaleista. Spesifinen menetelmä on täysin selektiivinen tutkittavalle aineelle tai aineryhmälle. (16, s.91.)

Selektiivisyyttä ja spesifisyyttä voidaan määrittää monella tavalla. Analysoimalla standardisoitua referenssimateriaalia voidaan määrittää selektiivisyyttä. Jos mittausten saannot ovat huomattavasti yli tai alle 100 %, se voi viitata selektiivisyysongelmaan. (16, s.91.)

4.6 Häiriöalttius ja haavoittuvuus

Häiriöalttiutta ja haavoittuvuutta tutkitaan tekemällä pieniä muutoksia ja havainnoimalla niiden vaikutuksia menetelmään. Yleensä menetelmän kehittäjä tutkii häiriöalttiuden perusteellisesti ja siksi standardoitujen menetelmien validoinnissa validoijan ei yleensä tarvitse puuttua niihin. (16, s.105.)

4.7 Tarkkuus

Tarkkuus tarkoittaa menetelmässä mitattujen tuloksien läheisyyttä oikeaan arvoon. Tarkkuus kertoo sekä menetelmän satunnais- että systemaattisesta virheestä. Tarkkuutta voidaan tutkia, varmennettujen vertailumateriaalien avulla esim. luottamusvälitarkastelulla tai t-testillä (14. s.111). Sitä voidaan tutkia myös tunnetun lisäyksen takaisinsaantokokeella, jonka tarkoituksena on tutkia onko analysoitavassa näytteessä muita aineita jotka häiritsevät mitausta. Kokeessa lisätään näytteeseen tunnettu määrä analyyyttiä. Sekä lisäyksen sisältävän näytteen että alkuperäisen näytteen pitoisuus mitataan useassa rinnakkaismäärityksessä, ja näin voidaan arvioida satunnaisvirhettä. (Kaava 3) (16. s.113.)

$$R = (S - U) / C * 100\%$$

KAAVA 3

R = saanto - %

C = lisätyn standardin pitoisuus (tunnettu)

S = näytteen alkuperäinen pitoisuus (mitattu)

U = lisäyksen sisältävän näytteen pitoisuus (mitattu)

Toistotarkkuus ilmaisee keskenään toisistaan riippumattomien tulosten vastaavuuden, joka ilmoitetaan keskihajontana. Pienillä pitoisuuksilla keskiha-

jonta on suurempaa ja on siksi konsentraatiosta riippuvainen. Validoinnissa toistotarkkuuden konsentraatiiriippuvuus tulee tutkia ja dokumentoida. (16. s.113.)

Toistotarkkuus voidaan määrittää tekemällä useista näytteistä rinnakkaismäärittäyksiä useana päivänä. Näin saadaan selville menetelmän systemaattinen virhe. Päivien sisäiset, päivien väliset ja kokonaishajonnan voidaan laskea tuloksista tilastollisesti yksisuuntaisella varianssi analyysillä (ANOVA) (16, s.106.)

4.8 Mittausepävarmuus

Mittausepävarmuus on mittaukseen liittyvä arvio rajoista, joiden välissä todellisten tulosten voidaan olettaa olevan valitulla todennäköisyydellä. Mittausepävarmuuden tuloksilla voidaan arvioida luotettavuutta, verrata tuloksia ja menetelmiä keskenään, tehdä johtopäätöksiä tuloksista tai verrata tuloksia raja-arvoihin. Mittausepävarmuus ilmoitetaan suhteellisena hajontana, sekä sen laskennallisena kerrannaisena (laajennettu mittausepävarmuus) (14, s.118.)

Mittausepävarmuuden arvioimiseen on olemassa eri menetelmiä riippuen siitä onko käytettävissä vertailumateriaaleja, menetelmien välisiä vertailutuloksia jne. Mittausepävarmuuden laskemiseen käytimme varmistetun vertailumateriaalin tuloksille tarkoitettua kaavaa 4.

$$u_c = \sqrt{u(R_W)^2 + (u_{bias})^2}$$

KAAVA 4

$u(R_W)$ = satunnaisvirhe (esim. toistotarkkuuskokeet, X-kortit jne.)

u_{bias} = systemaattinen virhe (16, 125.)

5 ATD-GC-MSD-SYSTEEMIN VALIDOINTI

5.1 Validoitava menetelmä

Mittausmenetelmässä sisäilmaa tai materiaalista emittoituvia yhdisteitä ime-tään adsorbenttiputken läpi. VOC-yhdisteet sitoutuvat adsorbenttiin, ja ne analysoidaan ATD-GC-MSD-laitteistolla.

Käytössä olevan menetelmän pohjana oli WSP:n käyttämä sisäinen mene-telmä, joka on sovellettu standardista ISO 16000-6.

Validoinnissa tutkitaan seuraavat analyysimenetelmän ominaisuudet:

- kromatografisten perussuureiden määrittäminen
- spesifisyys ja selektiivisyys
- mittausalue, herkkyys ja lineaarisuus
- toteamis- ja määrittämissrajat
- tarkkuus
- toistettavuus
- mittausepävarmuus ja laajennettu mittausepävarmuus
- häiriöalttius.

Analyysilaitteistoon kuuluivat näytteenottoyksikkö, termodesorptioyksikkö, kaasukromatografi ja massaspektrometri. Taulukossa 2 esitetään kaikki vali-doinnissa käytetyt reagenssit välineet ja laitteet.

Taulukko 2 Validoinnissa käytetyt reagenssit, välineet ja laitteet

BTEXSTD, SPEX Certiprep, Cat # BTEX-H, Lot # R1100602017
MeOH (HPLC-Grade), VWR Prolabo, Batch 11Z3071
N2-kaasu, grade 5
He-kaasu, grade 5,5
Tenax TA-putket (mesh 35/60)
Markes Unity-termodesorptioyksikkö
Markes Ultra-näytteensyöttöyksikkö
Agilent 6890 -kaasukromatografi
Agilent 5973N Mass Selective Detector-massaselektiivinen spektrometri
Markes TC-20 Tube Conditioner-laitteisto
Agilent FLEC-näytepumppu
Agilent Flow Tracker 2000-virtausmittari
Markes C-CSLR-kalibrointiluoksen syöttöalusta
Hamilton Model 7002 KH SYR-ruisku
Thermo Scientific Finnpiipette Focus 100-1000 µl -pipetti

Ennen mittauksia kalibroidiin Finnpiipette-pipetti ja samaa pipettiä käytettiin kaikissa laimennoksissa. Hamilton 7002 KH -ruiskua ei testattu, koska se hankittiin validointia varten valmiiksi kalibroituna. Tämän lisäksi ruiskun tilavuus on niin pieni, ettei sitä olisi voitu todentaa luotettavasti käytössä olleilla välineillä.

Menetelmän validointia varten oli hankittu 20 Tenax TA-sorbentilla (mesh 35/60) pakattua putkea. Käytössä oli myös TC-20 Tube Conditioner -laitteisto putkien puhdistamiseen, Agilent FLEC -näytepumppu sekä Agilentin Flow Tracker 2000 -virtausmittari.

Uudet Tenax TA -putket alustettiin käyttämällä TC-20 Tube Conditioner -laitteistoa. Inerttinä kaasuna käytettiin He-kaasua (grade 5,5). Putket kuumennettiin 335 °C:seen 45 minuutissa virtausnopeuden ollessa 60 ml/min. Kun putket irrotettiin niiden jäähtyttyä, ne korkitettiin säilökorkeilla.

5.2 Validoinnissa käytetyt näytteet

Validoinnissa oli tarkoitus käyttää laboratorioalueelta otettuja ilmanäytteitä, mutta kävi ilmi, etteivät pitoisuudet olleet tarpeeksi suuria mittauksiin. Ongelmana oli myös, että ilmanäytteet otettiin peräkkäin koska käytössä oli vain yksi pumppu. Otettiin 5–10 l:n ilmanäytteitä. Erot pitoisuuksissa näytteiden kesken olivat välillä suuria.

Kokeiltiin myös mitata näytteitä tavallisen asunnon huoneilmasta mutta ne eivät antaneet sen parempia tuloksia. Tämän lisäksi yritettiin tehdä takaisin-saantokokeita sekä laboratorio- että huoneilmanäytteistä lisäämällä standardiliuosta. Näistä mittauksista ei saatu käyttökelpoista materiaalia, koska näytteet eivät olleet tasaisia. Tästä syystä päädyttiin käyttämään standardiliuoksista tehtyjä näytteitä, koska validoinnissa on kuitenkin kyse laitteen ja menetelmän toimivuudesta. Aiheeseen palataan pohdintaosiossa.

5.3 Standardinäytteiden valmistaminen

Standardit tehtiin käyttämällä Markes C-CSLR -kalibrointiliuoksen syöttöalustaa, johon näyteputki liitettiin. Ennen injisointia 2 µl:n Hamilton Model 7002 KH SYR -ruisku puhdistettiin ennen injisointia kymmenen kertaa metanolilla. Ruiskussa oli metalliholkki injisointisyvyyden säätämisen helpottamiseksi.

Kun standardiliuos oli imetty ruiskuun, ruiskun neula työnnettiin syöttöalustan septumin läpi aina metalliholkkiin asti ja alustan kaasuhana avattiin. Kuljetuskaasuna käytettiin puhdasta typpeä (grade 5). Standardi injisoitiin putkeen, minkä jälkeen ruiskun annettiin olla syöttölaitteessa minuutin ajan. Kaasuvirtaus pidettiin päällä viisi minuuttia, jonka aikana kaasuvirtausta tarkkailtiin Agilent Flow Tracker 2000 -virtausmittarilla joka oli liitetty putken avoimeen päähän. Kaasuvirtaus oli noin 90 ml/min ja se vaihteli välillä 88–93 ml/min. Ajokorkit laitettiin huolellisesti putkiin heti syöttöalustasta irrottaessa.

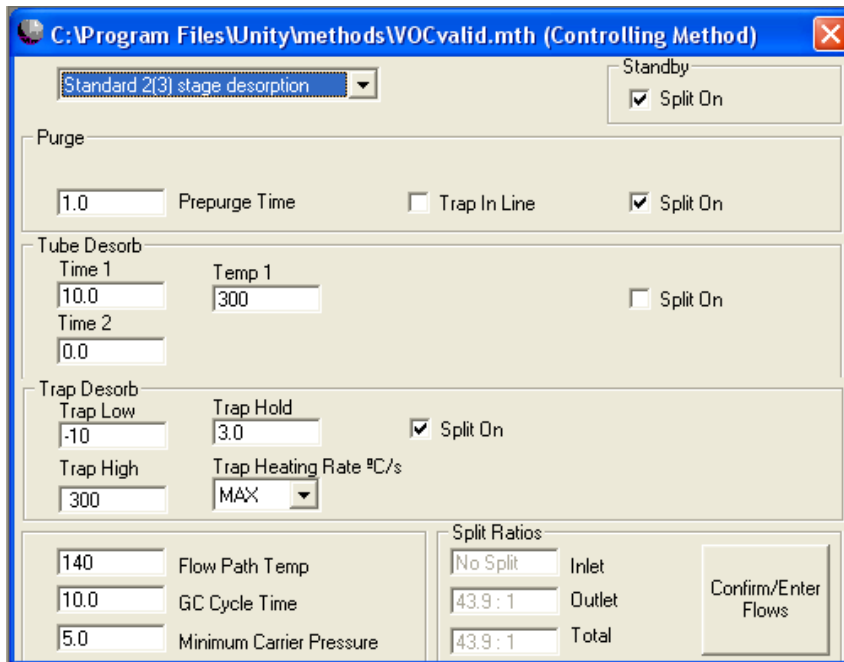
5.4 Mittaus

Aina ennen mittauksen alkamista tarkistettiin ATD-GC-MSD-laitteiston kanta-jakaasun virtaus Agilent Flow Tracker 2000 -virtausmittarilla termodesorptioyksikön ylälaidan kannen alla sijaitsevien putkien avulla. (Kuva 4).



KUVA 4 Virtauksen säätö

Virtaus säädettiin aina tasaiseksi niin, että desorptiovirtaus (desorb flow) oli 50 millilitraa minuutissa ja splitvirtaus (split flow) oli 30 millilitraa minuutissa.



KUVA 5 Mittauksen ajoasetukset

Mittauksen alkaessa näytteenäytöyksikkö siirsi putken uuniin, joka kuumensi putken 10 minuutissa huoneenlämmöstä 300 °C:seen. Inerti kantaja-kaasu siirsi putkesta kuumennuksen yhteydessä irtoavat yhdisteet kylmäloukkuun, joka oli säädetty -10 °C:seen. Tämän jälkeen kylmäloukku kuumennettiin nopeasti 300 °C:seen ja yhdisteet siirtyivät kaasukromatografian kapillaariin. Kapillaarissa tapahtui yhdisteiden erottuminen, ja ne kulkeutuivat erottuneina massadetektorille, jossa ne mitattiin. (Kuva 5).

Tulokset luettiin Agilentin Enhanced ChemStation -ohjelmalla ja vasteet tarkistettiin ohjelmaan integroidusta NIST-spektrikirjastosta.

6 VALIDOINTITULOSTEN KÄSITTELY

6.1 Kromatografisten perussuureiden määrittäminen

Kromatogrammista voidaan mitattujen perussuureiden avulla määrittää erotuksen ja kolonnintehokkuutta kuvaavia parametreja. Tässä validoinnissa määritettiin kolonnin pohjaluku (N), erotustekijä (α) ja Resoluutio (R) (taulukko 3) (13, s.133–136.)

Kolonnin pohjaluku (N) kuvaa kolonnin erotuskykyä. Se lasketaan kaavalla 5. (13, s.136.)

$$N = 16 \cdot \left(\frac{t_R}{W_b}\right)^2 \quad \text{KAAVA 5}$$

t_R = retentioaika

W_b = yhdisteen leveys pohjaviivalla

Erotustekijä (α) kuvaa tehokkaasti kuinka kaksi yhdistettä erottuu toisistaan retentioaikojen perusteella. Erotustekijä kuvaa kahden vierekkäisen piikin ($t_{R2} > t_{R1}$) retentiotekijöiden suhdetta. (Kaava 6.)(13, s.135.)

$$\alpha = \frac{t_{R2} - t_M}{t_{R1} - t_M} \quad \text{KAAVA 6}$$

t_{R1} = yhdisteen 1 retentioaika,

t_{R2} = yhdisteen 2 retentioaika

t_M = kolonniin pidättymättömän yhdisteen retentioaika. Kaasukromatografiasa pidättymättömiä yhdisteitä ei mitata, joten kaavassa $t_m = 0$

Resoluutio (R) kuvaa kahden vierekkäisen piikin ($t_{R2} > t_{R1}$) erottumista toisistaan. Resoluutio määritettiin piikin kannoille. (Kaava 7.)(13, s.137.)

$$R = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{W_{b1} + W_{b2}} \quad \text{KAAVA 7}$$

W_{b1} = yhdisteen 1 leveys pohjaviivalla

W_{b2} = yhdisteen 2 leveys pohjaviivalla

TAULUKKO 3 Kromatografiset perussuureet

	t_R (min)	Piikin pohjan- leveys W_b (min)	Kolonnin pohjaluku N
Bentseeni	6,76	0,12	50775
Tolueeni	8,28	0,17	37956
Etyylibentseeni	9,94	0,15	70260
m/p-ksyleenit	10,11	0,17	56588
o-ksyleeni	10,53	0,14	90515

	Erotustekijä α (min)	Resoluutio R
Tolueeni - Bentseeni	1,225	10,48
Etyylibentseeni - Tolueeni	1,200	10,38
m/p-ksyleenit - Etyylibentseeni	1,017	1,06
o-ksyleeni - m/p- ksyleenit	1,042	2,71

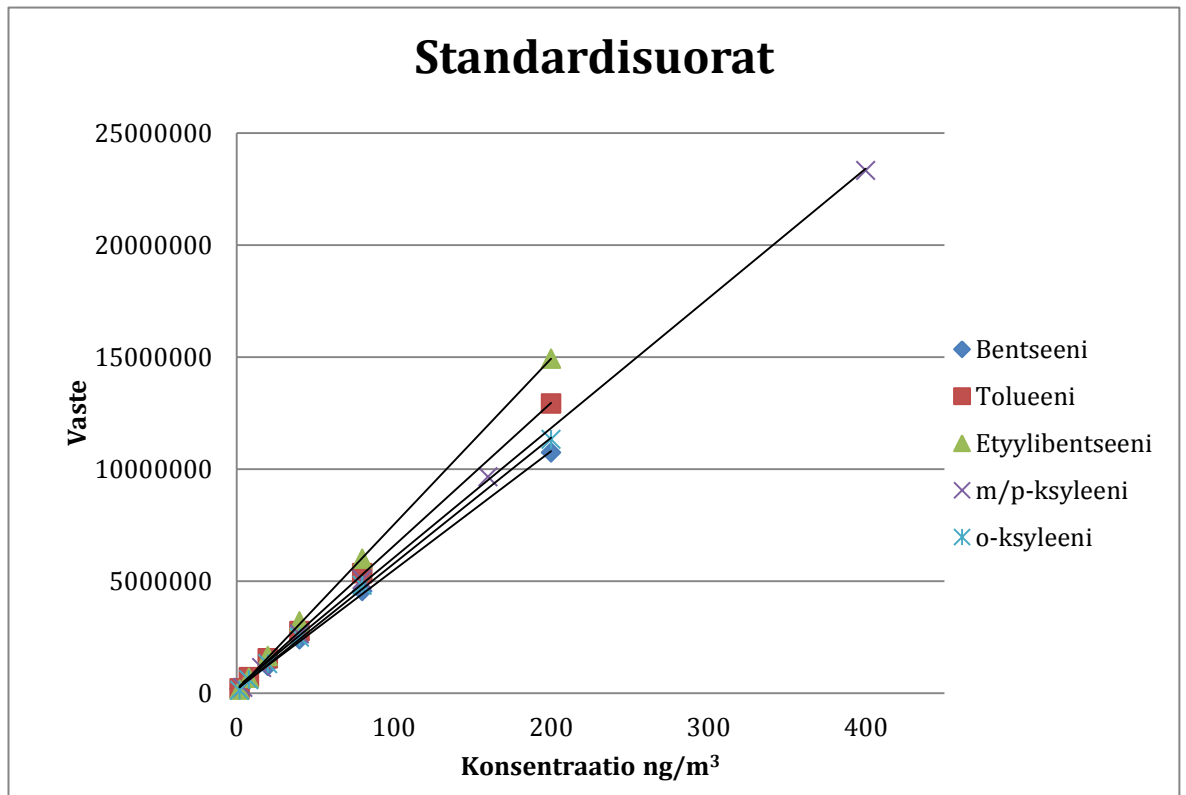
6.2 Selektiivisyys, spesifisyys

ATD-GC-MSD-tekniikassa suurena etuna on erottelukyky ja spesifisyys. Mittauksissa oli kuitenkin mahdotonta erottaa m- ja p-ksyleeni toisistaan, koska ne ovat rakenteellisesti hyvin lähellä toisiaan ja hajoavat samantyyppisiin massapartikkeleihin. Menetelmän selektiivisyyttä kuvaavat kromatografian perussuureet resoluutio (R) ja kolonnin pohjaluku (N). (Taulukko 3.)

6.3 Määritysalue ja lineaarinen määritysalue

Mittauksissa standardina käytettiin kaupallista 1000 ppm:n BTEX-liuosta, jossa oli bentseeniä, tolueenia, etyylibentseeni, m-ksyleeniä, p-ksyleeniä ja o-ksyleeniä, kutakin 1000 ppm:n verran. Standardit laimennettiin kromatografia-laatusella metanolilla, koska sen ei näy valitsemallamme mitta-alueella. BTEX-liuoksesta tehtiin 100 ppm:n käyttöliuos, josta laimennettiin standardi-

liuokset välille 1 ng - 200 ng. Näyteputkiin injisoitiin 2 µl saatiin standardit välille 2 ng – 400 ng. (Kuva 6.)



KUVA 6 Standardisuurat

Kuvassa 6 on esitetty m- ja p-ksyleenin standardisuora yhtenä suorana, koska tällä menetelmällä niiden piikit eivät erotu toisistaan. Tästä syystä konsentraatio ja vaste näyttävät olevan suurempia verrattuna muihin standardeihin. Taulukossa 4 esitellään korrelaatiokerroin r^2 , joka ilmaisee lineaarista suhdetta suoran pisteiden välillä. Mitä lähempänä arvo on yhtä, sitä parempi suora on. Myös suoran yhtälön, $y = ax + b$, kulmakertoimen a -arvot ja leikkauspisteen b -arvot on listattu taulukossa 4.

TAULUKKO 4 Standardisuora ja korrelaatiokerroin

	Kulmakerroin (a)	Leikkauspiste (b)	Korrelaatio (r ²)
Bentseeni	53074	180785	0,9997
Tolueeni	63798	197145	0,9999
Etyylibentseeni	74081	113018	0,9999
m/p-ksyleenit	57904	256326	0,9998
o-ksyleeni	56189	167279	0,9997

Mittausalue määritettiin alueelta, joka voitiin todeta luotettavaksi. Siksi 400 ng:n standardi päätettiin hylätä tulosten valossa. Mittausalueeksi siis otettiin 2–200 ng. Tällä alueella kaikki kuusi yhdistettä käyttäytyivät lineaarisesti.

Herkkyys ilmaisee pienintä eroa analyytin pitoisuudessa, joka vastaa pienintä havaittavissa olevaa eroa menetelmän vasteessa. Käytännössä tämä tarkoittaa, että herkkyys voidaan määrittellä suoran kulmakertoimesta. (Taulukko 5.)

TAULUKKO 5 Herkkyys ilmoitettuna vasteyksiköissä

Yhdiste	Herkkyys
Bentseeni	53074 vasteyksikköä
Tolueeni	63798 vasteyksikköä
Etyylibentseeni	74081 vasteyksikköä
m/p-ksyleenit	57904 vasteyksikköä
o-ksyleeni	56189 vasteyksikköä

6.4 Toteamis- ja määrittäysraja

Toteamis- ja määrittäysrajojen määritelmässä käytettiin nollanäytteen keskiarvoa laskennassa. Nollanäytteet eivät kuitenkaan antaneet vasteita kaikille yhdisteille, joten tehtiin pienimmästä standardista (2 ng) viisi toistoa. Toistoista laskettiin keskiarvo ja keskihajonta, joista laskettiin kaavojen 1 ja 2 avulla toteamis- ja määrittäysrajat. Tulokset massoina on laskettu käyttämällä standardisuoria ja näytteiden vasteita suoran yhtälöstä johdetun kaavan 8 mukaan. (Taulukko 6.)

$$x = \frac{y-b}{a}$$

KAAVA 8

y = mittalaitteen vaste
 b = y-akselin leikkauspiste
 a = standardisuoran kulmakerroin

TAULUKKO 6 Toteamis- (LOD) ja määrittäysraja (LOQ)

	Toteamisraja (ng)	Määrittäysraja (ng)
Bentseeni	0,84	1,79
Tolueeni	0,48	0,78
Etyylibentseeni	0,90	1,25
m/p-ksyleenit	0,35	0,72
o-ksyleeni	0,14	0,35

Taulukon 6 tuloksista nähdään, että arvot ovat pienempiä kuin 2 ng. Tästä voidaan todeta, että mittauksessa standardisuoran alapäässä voi olla jotain vikaa.

6.5 Tarkkuus

Tarkkuutta yritettiin mitata validoinnin aikana kaksi kertaa käyttämällä 10 litran ilmanäytteitä, joihin osaan oli lisätty 80 ng standardia. Lisäksi mitattiin referenssinäytteenä 80 ng:n standardinäyte. Molemmilla kerroilla saatiin tuloksia, joissa vasteet heiluivat niin paljon, etteivät ilmanäytteiden pitoisuudet tulleet esille. Myös lisäyksissä tässä mittauksessa oli jotain häiriötä. Tulokset on esitetty taulukossa 7.

TAULUKKO 7 Tarkkuusnäytteet

	Ilmanäyte 1 (ng)	Ilmanäyte 2 (ng)	Ilmanäyte + 80 ng 1 (ng)	Ilmanäyte + 80 ng 2 (ng)	80 ng referenssinäyte (ng)
Bentseeni	0,66	1,91	81,26	84,31	84,30
Tolueeni	5,66	7,66	88,33	97,01	89,57
Etyylibentseeni	0,22	0,07	82,83	92,53	95,98
m/p-ksyleenit	1,13	1,12	163,97	188,02	195,87
o-ksyleeni	1,40	1,23	79,81	95,32	101,50

Validoinnin aikana ongelmaksi osoittautui myös se, ettei suuresta osasta ilmanäytteitä löytynyt bentseenin ja tolueenin pienten pitoisuuksien lisäksi muita tutkittuja yhdisteitä. Tästä syystä lisäysmenetelmällä ei saatu haluttuja tuloksia.

6.6 Toistettavuus

Toistettavuudella tarkoitetaan samoissa olosuhteissa, samasta näytteestä, samalla menetelmällä saatujen mittaustulosten keskihajontaa. Toistettavuus voidaan ilmoittaa suhteellisena keskihajontana (RSD %), jolloin tulos ilmoitetaan prosentteina. (Taulukko 8.)

TAULUKKO 8 Keskihajonta ja suhteellinen keskihajonta

	Keskiarvo (ng)	Keskihajonta (ng)	RSD %
Bentseeni	82,55	2,96	3,6
Tolueeni	82,52	6,29	7,6
Etyylibentseeni	82,59	6,11	7,4
m/p-ksyleenit	83,64	6,62	7,9
o-ksyleeni	85,01	8,99	10,6

Toistettavuuskokeessa tehtiin kymmenen toistoa 80 ng:n näytteistä. Tuloksista laskettiin keskihajonta ja suhteellinen keskihajonta. Taulukosta 8 voidaan todeta, että suhteellinen keskihajonta vaihtelee 3,6–10,6 % riippuen mittaavasta näytteestä. Tämä on menetelmälle hyväksyttävissä rajoissa.

6.7 Mittausepävarmuus ja laajennettu mittausepävarmuus

Mittausepävarmuus (u) ja laajennettu mittausepävarmuus (U) laskettiin 80 ng:n näytesarjan tuloksista kaavalla 4. Epävarmuus on ilmoitettu sekä ng:ssa että prosenteissa taulukossa 9.

TAULUKKO 9 Mittausepävarmuus ja laajennettu mittausepävarmuus

	u (\pm ng)	u -%	U (\pm ng)	U -%
Bentseeni	2,9	3,6	5,8	7,2
Tolueeni	6,1	7,6	12,2	15,2
Etyylibentseeni	5,9	7,4	11,8	14,8
m/p-ksyleenit	10,8	13,5	21,6	27,0
o-ksyleeni	8,4	10,5	16,8	21,0

Kuten taulukosta 9 näkyy, menetelmän epävarmuus on tarpeeksi pieni. Tosin ksyleeneille mittausepävarmuudet nousivat melko korkeiksi.

6.8 Häiriöalttius

Validointiin kuului X-korttien teko. X-kortti on valvontatyökalu, jonka avulla voidaan tarkastella tuloksia ja niiden vaihtelua menetelmässä annettujen rajojen sisällä. Niitä lukemalla voidaan nopeasti nähdä mittauksissa ilmenevät rajojen ylitykset ja näin puuttua niihin nopeasti. Niistä on myös helppo todeta pitkällä aikavälillä tapahtumat siirtymät ja laitteen kunnosta johtuvat muutokset vasteessa. Hälytys- ja toimintarajat on laskettu kaavoilla 9 ja 10.

Hälytysrajat: keskiarvo \pm 2·keskihajonta

KAAVA 9

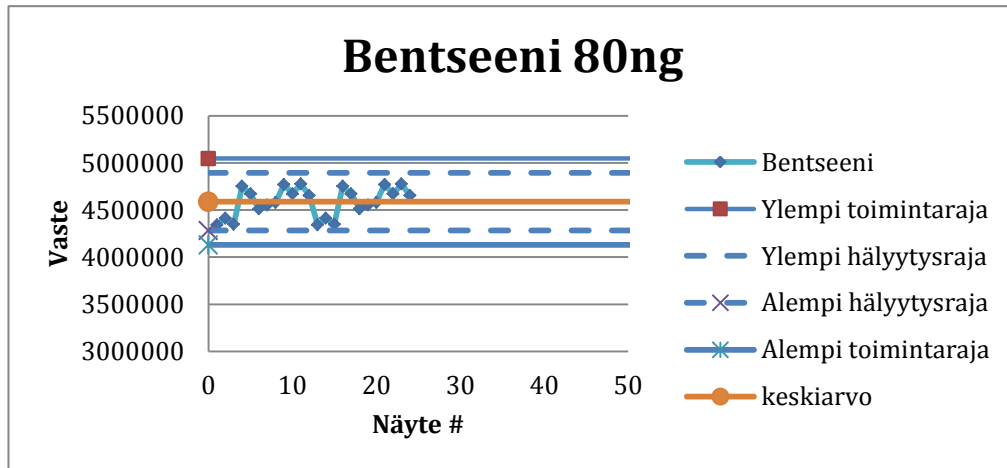
Toimintarajat: keskiarvo \pm 3·keskihajonta

KAAVA 10

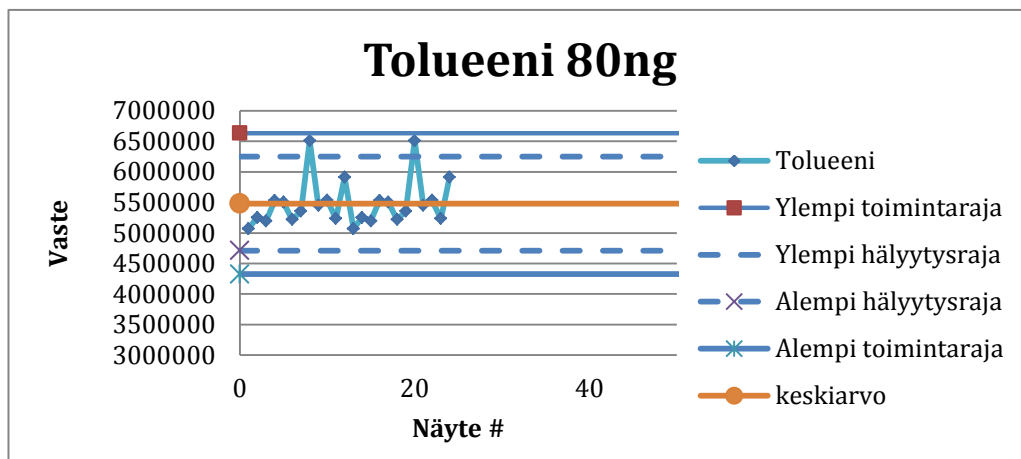
X-korttia laadittaessa puolet x-korttiin tarkoitetuista mittauksista olivat epäluotettavia laitteistossa tapahtuneen muutoksen johdosta. Että X-korttiin saatiin tarpeeksi tuloksia mittausrajojen vakiinnuttamiseksi, kopioitiin mittauksen tulokset ja käytettiin niitä kaksi kertaa peräjälkeen.

Kuvista 7–11 voidaan nähdä, että suurin osa mittauksen tuloksista pysyy rajojen sisällä. Tästä voidaan todeta, että toistomittauksen satunnaisvaihtelu noudattaa normaalijakaumaa. Ainostaan tolueenin X-kortissa näkyy hälytysrajan ylitys. Muissakin mittauksissa tolueenin pitoisuudet ovat vaihdelleet paljon. Näistä valvontakorteista ei kuitenkaan vielä näin pienellä mittausmäärällä ole hyötyä. Hyöty tulee esiin, kun validoitua menetelmää

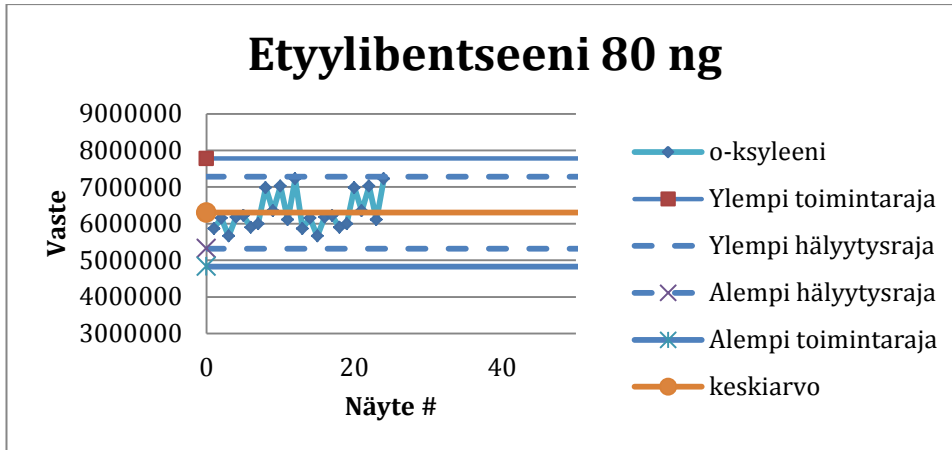
aletaan käyttää rutiinimittauksissa ja mittaussarjaan liitetään lisäksi kontrollinäyte eli tässä tapauksessa 80 µg näyte BTEX-standardilioksesta. Näin voidaan valvoa menetelmän häiriöalttiutta tehokkaasti. Kuitenkin pitää muistaa, että suurimmat virheet analyysin tulosten kannalta tapahtuvat näytteenotossa ja -käsittelyssä.



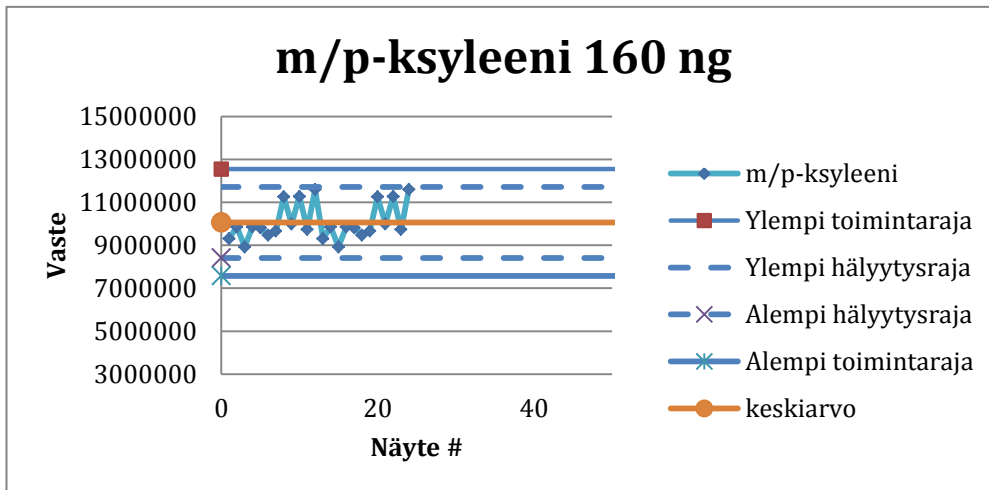
KUVA 7 X-kortit Bentseeni 80 ng



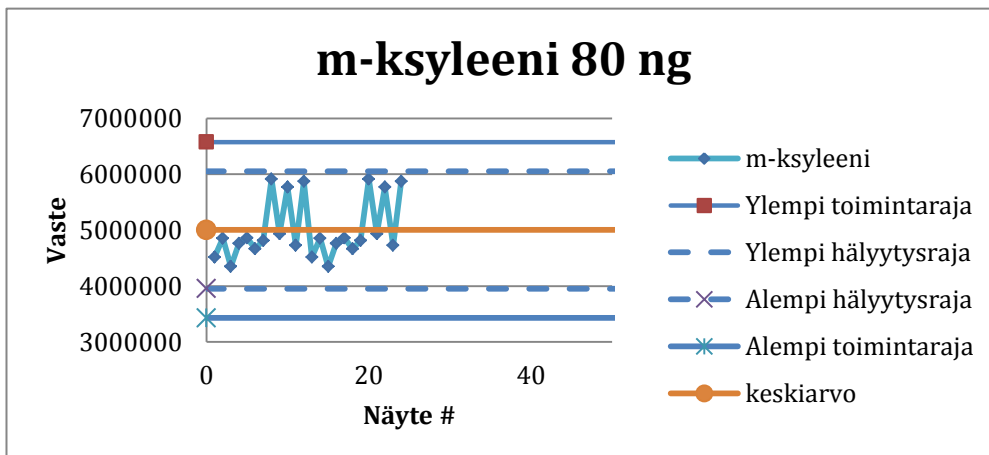
KUVA 8 X-kortti Tolueeni 80 ng



KUVA 9 Etylibentseeni 80 ng



KUVA 10 m/p-ksyleeni 160 ng



KUVA 11 m-ksyleeni 80 ng

7 POHDINTA

Työn tavoitteena oli suorittaa validointi ATD-GC-MS-laitteelle. Siihen kuuluivat kaikki validoinnin osa-alueet jotka pystytään tekemään laboratorion sisäisesti ilman ulkoista auditointia. Suureen osaa validoinnin kysymyksistä saatiin vastaukset, mutta osa osa-alueista jäi suoritettavaksi jatkotutkimuksessa.

BTEX-yhdisteet käyttäytyivät lineaarisesti käytetyllä mittausalueella. Mittausalueen alarajaksi todettiin 2 ng/näyte ja ylärajaksi 200 ng/näyte. Tämän lisäksi mittauksissa oli mukana myös 400 ng:n standardi, mutta se ei ollut enää lineaarisella alueella, joten se hylättiin. Samalla todettiin myös herkkyyden olevan hyvää luokkaa.

Kaikki yhdisteet erottuivat toisistaan hyvin, paitsi m- ja p-ksyleenit, joita on mahdotonta saada erilleen tällä menetelmällä. Näin ollen voidaan todeta, että menetelmä on selektiivinen ja spesifinen tutkituille yhdisteille.

Menetelmän tarkkuuden tarkastelussa ongelmaksi muodostuivat ilmanäytteiden pienet pitoisuudet, ja näin ollen jäätii ilman tulosta.

BTEX-yhdisteillä toistettavuus oli hyvä. Standardisuoran keskivaiheilla suhteellinen keskihajonta vaihteli 3,6–10,6 % riippuen tutkittavasta yhdisteestä ja oli keskimäärin 7,4 %:n luokkaa. Myös mittausepävarmuus oli, 3,6–13,5 % laajennetun mittausepävarmuuden ollessa 7,2–27 %:n luokkaa. Erityisesti ksyleeneillä esiintyi mittausepävarmuutta.

Toteamis- ja määritysrajamittaukset antoivat liian pieniä tuloksia. Tämä viittaisi siihen, että standardisuorien alapäässä olisi vikaa. Vaikka menetelmällä ei päästäisi niin pieniin pitoisuuksiin luotettavasti, sillä ei välttämättä ole käytännön merkitystä. Käytännön analytiikassa haetaan suuria pitoisuuksia, koska ne aiheuttavat terveysriskejä.

Validointia suoritettaessa saatiin selville haetut parametrit, tarkkuutta lukuun ottamatta. Myös päivien välinen toistettavuus jäi testaamatta, koska validoinnin puolivälissä laitteisto alkoi antaa kaksinkertaisia vasteita verrattuna validoinnin ensimmäisen puoliskon mittausten vasteisiin. Kaikki mittaukset jouduttiin tekemään uusiksi. Lopulta päivien välisen toistettavuuden mittauksiin ei ollut aikaa. Tästä johtuen mittauksesta saadun datan määrä jäi haluttua pienemmäksi. Vasteiden kaksinkertaistuminen on havaittu validoinnissa käytetyllä laitteella aiemminkin, mutta syytä sille ei ole tiedossa.

Alun perin suunnitelmana oli, että käytettäisiin ilmanäytteitä validoinnin pohjana. Näin saataisiin näytteenotto osaksi validointia. Ongelmaksi osoittautui ilmanäytteiden pienet pitoisuudet tutkittavissa yhdisteissä. Ilmanäytteen otossa esiintyi paljon ongelmia ja tulokset eivät olleet toistettavia. Tästä syystä päädyttiin muokkaamaan validointisuunnitelmaa ja tekemään validointi pelkästään laitteen suorituskyvyille. Validointi tehtiin käyttämällä standardiliuoksia. Niiden syöttämiseen apuna käytettiin kalibrointiluoksen syöttöalustaa, joka todettiin toimivaksi tavaksi tehdä standardinäytteitä.

Validoinnissa käytettiin aktiivista näytteenkeräystä, eli ilmapumppu liitettiin sorbenttiputken päähän ja se imi ilmaa putken läpi. Näytteen keruu oli haastavaa, koska 10 l:n ilmanäytteen keräämiseen meni noin 30 minuuttia, minkä jälkeen seuraava näyteputki laitettiin keräämään rinnakkaista näytettä jne. Tästä tuloksena analyysistä saaduissa tuloksissa oli paljon hajontaa, koska 30 minuutissa huoneilmastossa tapahtui paljon muutoksia hyvin ilmastoidussa laboratoriotilassa. Tätä yritettiin korjata ottamalla näytesarja kotiolosuhteista, mutta tulokset olivat saman suuntaisia.

Menetelmä on jo nyt käyttökelpoinen, mutta jatkotutkimuksena standardisوران yläpäättä pitäisi tutkia lisää ja tehdä toistettavuusmittauksia useammilta alueilta. Myös toistoja pitäisi tehdä enemmän, että saataisiin enemmän tietoja häiriöalltiudesta.

Osa näytteenotto-ongelmasta voitaisiin selvittää ottamalla käyttöön passiivinen näytteen kerääminen: diffuusiokorkit sorbenttiputkille. Tällöin putket voi-

taisiin jättää keräämään ilmanäytettä 8 tunniksi tai pitempiaikaisia näytteitä 2–4 viikoksi. Tällöin näytteet olisivat rinnakkaisia eivätkä peräkkäisiä.

Käytännössä validointia tehtäessä pitkästä keruuajasta tulisi ongelma. Passiivisella näytteenottotavalla lyhempään näytteenottoaikaan voitaisiin päästä käyttämällä MARKES:in radiaalisia diffuusionäytteen keräimiä. Niissä on aksiaalisia keräimiä (diffuusiokorkillinen sorbenttiputki) huomattavasti suurempi pinta-ala, joten ne absorboivat ilmassa olevia yhdisteitä nopeammin vaatien näytteenottoajan 1–6 tuntiin.

LÄHTEET

1. Directive 2004/42/CE of the European Parliament and of the Council.
Saatavissa:
<http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32004L0042:EN:NOT> Haettu: 28.11.2012.
2. Euroopan parlamentin ja neuvoston direktiivi 2001/81/EY, 3§
Saatavissa:
<http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32001L0081:FI:NOT> Haettu: 28.11.2012.
3. Kemialliset sisäilman epäpuhtaudet 2008. Sisäilmayhdistys ry. Saatavissa:
http://www.sisailmayhdistys.fi/portal/terveelliset_tilat/sisailmasto/kemialliset_epapuhtaudet/#VOC Haettu: 15.10.2012.
4. Asumisterveysohje. Sosiaali- ja terveysministeriön oppaita 2003:1, Sosiaali- ja terveysministeriö. Helsinki: Oy Edita Ab. Saatavissa:
http://www.finlex.fi/pdf/normit/14951-asumisterveysohje_pdf.pdf Haettu: 28.11.2012.
5. Rakennusmateriaalien päästöluokitus M1. Rakennustieto.fi. Saatavissa:
https://www.rakennustieto.fi/index/rakennustieto/rakennusmateriaalien_paastoluokitus/m1-vaatimuksetjaluokiteltujentuotteidenkaytto.html Haettu: 28.11.2012.
6. Tarvainen, Virpi 2008. Otsoni ilmansaasteena. Ilmanlaatu.fi. Saatavissa:
http://www.ilmanlaatu.fi/ilmansaasteet/tietosivut/otsoni_ilmansaasteena.php Haettu: 28.11.2012.
7. Ulkoilman haihtuvienorgaanisten yhdisteiden (VOC) pitoisuudet Lahdessa ja Heinolassa 2004. Lahden tutkimuslaboratorio. Saatavissa:
[http://www.lahti.fi/www/images.nsf/files/51F7B40184FA65F0C2256F6D0039E9D7/\\$file/ulkoilman_voc_raportti.pdf](http://www.lahti.fi/www/images.nsf/files/51F7B40184FA65F0C2256F6D0039E9D7/$file/ulkoilman_voc_raportti.pdf) Haettu: 28.11.2012.
8. Tenax® TA Adsorbent Resin Physical Properties 2012. Scientific Instrument Services, Inc. Saatavissa:

- <http://www.sisweb.com/index/referenc/tenaxtam.htm> Haettu:
10.10.2012.
9. Multi-tube conditioner and dry purge unit: TC-20™ 2012. Markes International Ltd. Saatavissa:
<http://www.markes.com/Instrumentation/TC-20.aspx> Haettu:
10.10.2012.
- 10.07: Calibration - Preparing and Introducing Thermal Desorption Standards using Sorbent Tubes 2009. Markes International Ltd. Saatavissa: <http://www.markes.com/Downloads/Application-notes.aspx>
Haettu: 9.10.2012.
11. Björn, Lundgren - Crump, Derrick R. - Knöppel, Helmut - Laurent, Anne-Marie - Lebret, Erik - Rothweiler, Heinz - Seifert, Bernd - Wolkoff, Peder - Cavallo, Domenico 1994. Sampling strategies for volatile organic compounds (VOCs) in indoor air. Saatavissa:
http://www.inive.org/medias/ECA/ECA_Report14.pdf Haettu:
3.11.2012
- 12.08: Principles of diffusive monitoring 2009. Markes International Ltd. Saatavissa: <http://www.markes.com/Downloads/Application-notes.aspx> Haettu: 9.10.2012
13. About Thermal Desorption 2012. Markes International Ltd. Saatavissa: <http://www.markes.com/Technical-Zone/About-Thermal-Desorption.aspx> Haettu: 10.10.2012.
14. Jaarinen, Soili - Niiranen, Jukka 2000. Laboratorion analyysitekniikka 3. Painos. Helsinki: Oy Edita Ab.
15. Gas chromatography 2011. UC Davis Chemwiki. Saatavissa:
http://chemwiki.ucdavis.edu/Analytical_Chemistry/Instrumental_Analysis/Chromatography/Gas_Chromatography Haettu: 29.11.2012
16. Välimäki, Ilkka 2009. O1027BA Laboratorion laatutoiminta 3 op. Opimateriaali. Oulu: Oulun seudun ammattikorkeakoulu, tekniikan yksikkö.