



HS-GC-MS-menetelmän kehittäminen VOC-yhdisteiden analysoimiseksi ympäristönäytteistä

Sara Tapanainen

OPINNÄYTETYÖ
Marraskuu 2023

Laboratoriotekniikka

TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Laboratoriotekniikan tutkinto-ohjelma

TAPANAINEN, SARA:

HS-GC-MS-menetelmän kehittäminen VOC-yhdisteiden analysoimiseksi ympäristönäytteistä

Opinnäytetyö 55 sivua, joista liitteitä 16 sivua
Marraskuu 2023

Opinnäytetyön tavoitteena oli luoda metodi VOC-yhdisteiden mittaamiseen ympäristönäytteistä HS-GC-MS-laitteistolla. Työ tehtiin Tampereen ammattikorkeakoululle. Työn aikana tehtyjen mittausten perusteella luotiin näytteiden teko- ja mittaushjeet, joita voidaan käyttää mahdollisten tulevien opiskelijatöiden suunnitteluun ja toteutukseen.

Työ suunniteltiin esitutkimuksessa luettujen artikkelien perusteella. Kaasukromatografille testattiin kahta eri kolonnia työn aikana. Standardit luotiin laboratorion löytyvistä hiiliyhdisteistä laimentamalla. Lähtöaineina käytettiin bentseeniä, tolueniä, o-ksyyleeniä, naftaleeniä, dikloorimetaania, kloroformia, hiilitetrakloridia, 1,1,1-trikloorietaania, ja 1,2-dibromietaania. Työn mittaussvaiheessa tutkittiin edellä mainittujen aineiden käyttäytymistä HS-GC-MS-laitteistolla mitattaessa. Näitä mittaustuloksia ja artikkelitietoa käytettiin vesi- ja maanäytteiden luomiseen ja mittaamiseen.

Kirjallisessa raportissa käydään läpi työn teoriaosuus, joka keskittyy VOC-yhdisteisiin ja HS-GC-MS-tekniikan toimintaperiaatteisiin. Menetelmää testattaessa tehdyt mittaukset on myös esitelty raportissa. Tässä työssä tehdyt mittaukset ovat kaikki kvalitatiivisia, joten aineiden määristä on annettu vain suurpiirteisiä tietoja. Työn tuloksista luotiin ohjeet vesi- ja maanäytteiden tekemiseen ja mittaamiseen. Näistä ohjeista tehtiin myös suppeammat PDF-versiot, jotka löytyvät tämän työn liitteistä.

Asiasanat: haihtuvat orgaaniset yhdisteet, VOC, HS-GC-MS, menetelmän kehitys

ABSTRACT

Tampereen ammattikorkeakoulu
Tampere University of Applied Sciences
Degree Programme in Laboratory Engineering

TAPANAINEN, SARA:
HS-GC-MS Method Development for Measurement of VOCs from Environmental Samples

Bachelor's thesis 55 pages, appendices 16 pages
November 2023

The aim of this work was to create a method for the measurement of VOCs using HS-GC-MS. The work was done in collaboration with Tampere University of Applied Sciences. During the work, instructions for sample preparation and analysis were produced. These instructions may be used for the development of future student works.

The work was preplanned using articles read during the research phase. For the gas chromatograph, two columns were tested during the work. The standards were created by diluting carbon compounds available in the laboratory. The source substances were benzene, toluene, o-xylene, naphthalene, dichloromethane, chloroform, carbon tetrachloride, 1,1,1-trichloroethane, and 1,2-dibromoethane. During the measuring phase of the work, the behavior of the aforementioned substances was studied using the HS-GC-MS instrument. These measurements and the researched articles were used to create instructions for the creation and measurement of soil and water-based samples.

The written report details the theoretical process which focuses on VOCs and the operating principles of the HS-GC-MS. The measurements done during the method development are also explained. The measurements in this work are all qualitative which means that the substance amounts are all approximate. Work instructions for sample creation and measurement of water and soil samples were created based on the results of this work. More succinct versions of these instructions were created and converted into PDF-form which can be found in the appendices of this work.

Keywords: volatile organic carbons, VOC, HS-GC-MS, method development

SISÄLLYS

1	JOHDANTO	6
2	TEORIA	7
2.1	Haihtuvat orgaaniset yhdisteet.....	7
2.1.1	Aromaattiset hiilivedyt.....	8
2.1.2	Halogenoidut hiilivedyt.....	10
2.2	HS-GC-MS-tekniikka	13
2.2.1	Headspace näytteenotto	13
2.2.2	Kaasukromatografia	14
2.2.3	Massaspektrometria	17
3	MITTAUKSET	19
3.1	Laitteisto ja reagenssit	19
3.2	Ainemittaukset.....	20
3.2.1	Kolonne Intuvo HP-5MS	20
3.2.2	Kolonne Intuvo DB-624 UI	23
3.2.3	Naftaleeni	23
3.3	Maaperänäytteiden analyysi	24
3.4	Vesinäytteiden analyysi.....	26
4	TULOKSET	29
4.1	Ohje näytteentekijälle.....	30
4.1.1	Eriyisiä huomioita	30
4.1.2	Maanäyte.....	30
4.1.3	Vesinäyte.....	31
4.2	Ohje opiskelijalle	32
5	POHDINTA	34
	LÄHTEET	37
	LIITTEET	40
	Liite 1. Kuvio 8. Ensimmäinen mittaus	40
	Liite 2. Kuvio 9. Toinen ainemittaus	41
	Liite 3. Kuvio 10. Kolmas ainemittaus	42
	Liite 4. Kuvio 11. Ensimmäinen DB-624 UI -mittaus	43
	Liite 5. Kuvio 12. Naftaleenimittaukset	44
	Liite 6. Kuvio 13. Ensimmäiset hiekkänäytteet.....	45
	Liite 7. Kuvio 14. Toinen maanäytemittaus	46
	Liite 8. Kuvio 15. Ojavesimittaukset	47
	Liite 9. Kuvio 16. Metanolimittaukset.....	49
	Liite 10. Kuvio 17. UHP-näytteet DB-624 UI -kolonnilla	50

Liite 11. Kuvio 18. Viimeiset vesimittaukset	51
Liite12.VOC-näyteenteko-ohjeet	52
Liite 13. Ohje opiskelijalle	54

1 JOHDANTO

Opinnäytetyön tavoitteena oli luoda metodi, jonka avulla voitaisiin tehdä haihtuvien hiilivetyjen kvalitatiivisia mittauksia mahdollisesti opiskelijatöinä, ja ehkä tulevaisuudessa kehittää kvantitatiivista mittaussuunnitelmaa ohjeiden perusteella. Tätä varten luotiin ohjeet sekä näytteiden mittaamista että tekemistä varten. Ohjeita luotiin vesi- ja maaperänäytteiden simuloimiseksi käyttäen laboratoriosta jo löytyviä hiilivetyjä.

VOCit, eli haihtuvat orgaaniset yhdisteet tai haihtuvat hiilivedyt, ovat hiilen yhdisteitä, jotka höyrystyvät nopeasti ja kerääntyvät luontoon. Erityisesti pohjavesiin ja kaivoihin kerääntyvät VOCit voivat aiheuttaa terveysongelmia sekä ihmisille että eläimille. Joissain tapauksissa hiilivetyjen tiedetään aiheuttavan jopa syöpää. (David & Niculescu 2017, Chapter 4.)

Pitkään VOCien pääasiallinen mittaustapa on ollut kaasukromatografia-analyysi. Koska tämän opinnäytetyön tavoitteena oli kvalitatiivinen analyysi, käytettiin massaspektrometriaa tulosten käsittelyyn ja analyyttien tunnistamiseen. Näytteenottoon käytettiin headspace näytteenottoa, koska kyseessä ovat helposti höyrystyvät aineet. (Metodi 5021A 2014.)

Opinnäytetyön kokeellisen osuuden aikana mitattiin yhdeksän hiilivedyn retentioajat ja luotiin näytteet näiden aineiden avulla. Kokeellisen osuuden aikana testattiin kahta eri kolonnaa. Myös erilaisia näytteenkäsittelymetodeja testattiin. Menetelmät ja näytteidenkäsittely perustuivat artikkeleihin, joiden pohjalta opinnäytetyön alkuperäinen mittaussuunnitelma luotiin.

2 TEORIA

2.1 Haihtuvat orgaaniset yhdisteet

Haihtuvat orgaaniset yhdisteet (volatile organic compounds, tai VOC) ovat alle 250 °C kiehuvia hiilyhdisteitä. Matala kiehumispiste johtaa molekyylien irtoamiseen VOCeista ympäröivään ilmaan. VOC-yhdisteitä voi syntyä luonnostaan, esimerkiksi mikrobien ja sienien hajoamisessa (näitä kutsutaan haihtuviksi mikrobyhdisteiksi), mutta myös ihmisen toiminnan seurauksena erityisesti teollisuuden tuotteina. (Speight 2017, Chapter 4.)

VOCeja voi löytää esimerkiksi muovintuotannosta, palosammuttimista, saippuista, parfyymeistä, ja niitä käytetään yleisesti liuottimina. Osan VOCeista tiedetään olevan myös terveydelle vaarallisia. Joillakin VOCeilla tiedetään olevan negatiivinen vaikutus hermostoon, munuaisiin, hengitysteihin, ja jopa sukuelimiin. Jotkut VOCit saattavat myös olla karsinogeenisiä, eli aiheuttaa syöpää. (David & Niculescu 2021.)

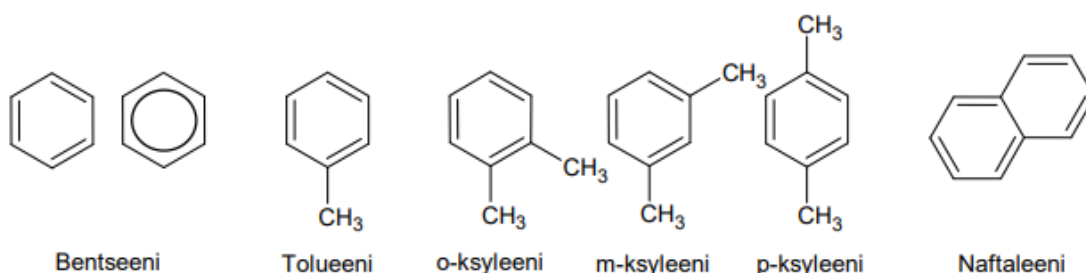
VOCeista on harmia luonnossa erityisesti maaperässä ja pohjavesissä. VOCit joutuvat yleensä luontoon teollisuusjätteenä. Esimerkiksi huonosti huolletuista jäteainesäiliöistä ja öljyvuotojen mukana. Ne voivat myös liikkua luonnossa pitkiäkin matkoja. Yleisimmin luonnosta löytyviä VOCeja ovat aromaattiset hiilivedyt, kuten bentseeni, tolueeni, etyylibentseeni, ja ksyleeni, ja halogenoidut hiilivedyt, kuten vinyylikloridi ja trikloorietyleeni. Mahdollisen haitallisuuden vuoksi haihtuvien hiilivetyjen ympäristöstä tunnistaminen ja mittaaminen ovat tärkeitä. (Yadav & Pandey 2017.)

VOCien analysoimiseen maa- ja vesinäytteistä on jo pitkään käytetty kaasukromatografiaa, jonka avulla hiiliperäisten yhdisteiden mittaaminen on luotettavaa. Yleisesti ottaen suositellaan helposti haihtuvien aineiden mittauksen yhteydessä käytettävän matriksin modifikaatioliuosta. Tämä on suolaliuos, jonka tarkoituksena on lisätä VOCien liikettä näytteen pinnan yläpuolelle (eli näytepullon headspaceen). Kvantitatiivisissa mittauksissa sen on todettu myös parantavan näytteen ja standardien välisten erojen havaitsemista. (Metodi 5021A 2014.)

2.1.1 Aromaattiset hiilivedyt

Ensimmäinen tunnettu historiallinen maininta aromaattisista yhdisteistä on tehty vuonna 1855 (Hoffmann 1855). Aromaattisia hiilivetyjä yhdistää bentseenirengas (C_6H_6), joka löytyy niiltä kaikilta. Bentseenirengas on kuuden hiilen muodostama rakenne, joka kuvataan kuusikulmion muotoiseksi. Yleensä sisälle lisätään joko viivat tai ympyrä kuvaamaan elektronien delokalisoitumista, eli tilaa, jossa elektronit eivät kuulu tiettyyn sidokseen vaan jakautuvat koko renkaan alueelle (ks. Kuvio 1). (Speight 2017, Chapter 2, 2.1.3.)

Aromaattisiin hiilivetyihin kuuluvat siis kaikki hiilivedyt, joissa on ainakin yksi bentseenirengas pääosana rakennetta. Bentseenirengas voi olla myös liittyneenä suurempaan hiilivetyrakenteeseen, mutta tässä tapauksessa sitä kutsutaan nimellä fenyyliyhmä (tällä on myös eri kemiallinen kaava C_6H_5). (Alén 2009, 38.)



Kuvio 1. Eräiden aromaattisten hiilivetyjen kemialliset rakennekaavat (McMurry 2011, 155–175)

Bentseeni (C_6H_6) on kaikista yksinkertaisin mutta myös tärkein aromaattinen yhdiste. Bentseenin kiehumispiste on $80,1\text{ }^\circ\text{C}$. Se on toiseksi yleisin kemian lähtöaine eteenin jälkeen ja sitä käytetään monen tärkeän kemiallisen aineen lähtöaineena. Näitä ovat mm. sykloheksaani, aniliini, maleiinihappo, ja etyylibentseeni. (Alén 2009, 39.)

Bentseenin aromaattinen haju saattaa varoittaa sen läsnäolosta, mutta tähän ei kannata luottaa liikaa, koska myös vaarallisissa pitoisuuksissa bentseeni ei välttämättä haise vahvasti. Vaikka se yleensä hajoaa aerobisissa oloissa nopeasti, bentseeniä voi joutua pohjaveteen, minkä seurauksesta vesi pilaantuu. Se voi olla myös vesieliöille vaarallista, mutta koska aine ei kerry ravintoketjuun, se on luokiteltu ympäristölle vaarattomaksi. Bentseeni voi aiheuttaa terveysongelmia,

jos sille altistuminen on suurta tai jatkuvaa. Esimerkiksi, Työterveyslaitos esittää bentseeniä ainakin luuytimelle vaaralliseksi, ja se voi pitkän altistuksen seurauksena aiheuttaa leukemiaa, verisyöpää. (Työterveyslaitos 2022a.)

Tolueeni (C_7H_8), eli metyylibentseeni, on lähin bentseenin johdannainen. Tämän takia aineiden ominaisuudet ovat samankaltaiset. Tolueenin kiehumispiste on $110,6\text{ }^\circ\text{C}$. Tolueeni saattaa bentseenin tavoin ärsyttää hengitysteitä, ihoa, ja aiheuttaa huumaavan olotilan, mutta ei vaikuta luuytimeen yhtä vahvasti. Tolueenia käytetään paljon teknisenä liuottimena. Sen lisäksi siitä valmistetaan joitain teollisuudentuotteita, kuten bentsoehappoa, fenolia, ja trinitrotolueenia eli TNT:tä. (Alén 2009, 40.)

Voimakkaasti hapettavat aineet reagoivat vahvasti tolueenin kanssa. Ilmassa tolueenin puoliintumisaika on 1–4 päivää ja maaperässä 1–4 viikkoa. Jos tolueenia pääsee pohjaveteen, ja anaerobisiin olosuhteisiin, voi sen puolittumisaika olla jopa useita kuukausia. (Työterveyslaitos 2022d.)

Ksyleenissä ($C_8H_4(CH_3)_2$), eli dimetyylibentseenissä, on kaksi metyyliiryhmää tolueenin yhden sijasta. Tämän takia ksyleenille on olemassa kolme eri isomeeristä muotoa: orto-, meta- ja paraksyleeni (ks. Kuvio 1). Ksyleenin kaikkia kolmea isomeeriä käytetään polyesterin valmistuksessa lähtöaineina. O-ksyleenin kiehumispiste on $144,4\text{ }^\circ\text{C}$, m-ksyleenin $139,1\text{ }^\circ\text{C}$, ja p-ksyleenin $138,2\text{ }^\circ\text{C}$. (Alén 2009, 41.)

Ksyleenillä on samantapaisia terveysvaikutuksia kuin tolueenilla, eli se aiheuttaa suurina annoksina huimausta ja pahoinvointia ja voi ärsyttää hengitysteitä. Ksyleenin eri isomeereillä ei juuri ole eroja terveyden kannalta. Ympäristössä ksyleeni hajoaa aerobisissa olosuhteissa, tosin isomeerit hajoavat hieman eri tahtia. P-ksyleeni hajoaa hitaimmin ja m-ksyleeni nopeimmin. (Työterveyslaitos 2022c.)

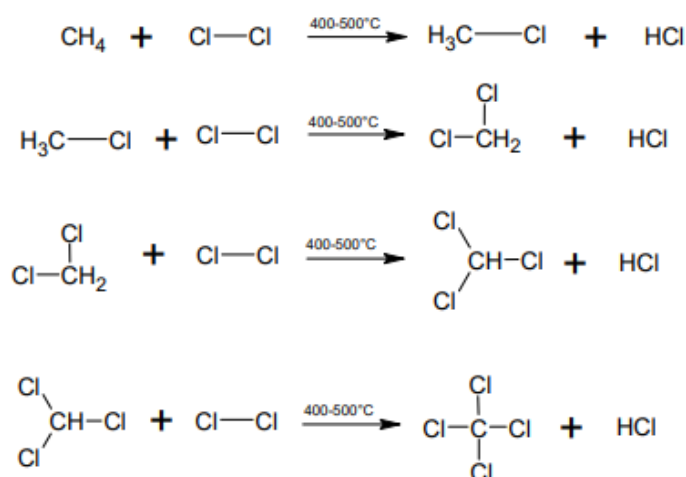
Vuonna 1821 John Kidd sai kivihiilitervasta hajottamalla aikaiseksi valkoisen betonimaisen aineen. Kidd nimesi aineen naftaleeniksi. (Kidd 1821). Nafta on persiaa ja tarkoittaa palavaa ainetta (Alén 2009, 47).

Nykyään naftaleenia ($C_{10}H_8$) valmistetaan kivihiilitervan lisäksi myös maaöljystä. Toisin kuin muut tässä esitellyt aromaattiset hiilivedyt, naftaleeni on huoneenlämmössä kiinteä. Se muodostaa valkoisia, lehtimäisiä kiteitä, ja liukenee liuottimiin,

mutta ei veteen. Sen kiehumispiste on 218 °C. Naftaleeni haihtuu huoneenlämmössä ilmaan ja synnyttää niin tehdessään vahvan tervamaisen hajun. Naftaleenipöly on hengitettynä vaarallista ja voi aiheuttaa akuutteja oireita. Naftaleenia on käytetty aiemmin hyönteismyrkkinä, kuuluisimmin koipallojen pääraaka-aineena. (Alén, 2009, 47.)

2.1.2 Halogenoidut hiilivedyt

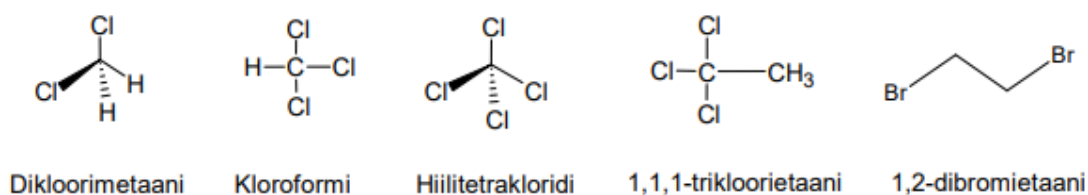
Halogeenit ovat jaksollisen järjestelmän seitsemänteen pääryhmään (17. ryhmään) kuuluvat alkuaineet. Tähän ryhmään kuuluvat siis fluori, kloori, bromi, jodi ja astatiini. Halogeenien nimi tulee kreikan sanoista "hals", suola, ja "gen", synnyttää, eli halogeenien nimi tarkoittaa vapaasti suomennettuna "suolan tekijää" (Harper n.d.). Kun halogeenit reagoivat metallien kanssa, ne muodostavat yhdisteitä, joita kutsutaan yleisesti suoloiksi.



Kuvio 2. Esimerkki halogenoitumisesta (Rossberg ym. 2006, 1.3.)

Halogeenit muodostavat yhdisteitä hiilivetyjen kanssa. Tätä prosessia kutsutaan halogenoitumiseksi. Yksi tapa, joilla halogenoituja yhdisteitä voi syntyä on radikaalireaktio, joka tapahtuu, kun halogeeni-ioni luovuttaa yhden elektronin ja hiili-ioni toisen, luoden yhteisen uuden siteen. Esimerkiksi, klooria voidaan liittää hiilivetyihin klooraamalla niitä. Tähän liittyy yleensä suolahapolla (HCl) käsittely, mutta joissain tapauksissa voidaan tarvita myös muita katalyyttejä, kuten muita klooriyhdisteitä tai lämmitystä. Joskus halogenoitumiseen liittyy kahden hiilen välillä olevan kaksoissidoksen katkeaminen. (McMurry 2011, 120–122.) Kuviossa 2

esitellään halogenoitumisreaktio metaanista dikloorimetaaniin, dikloorimetaanista kloroformiin, ja kloroformista hiilitetrakloridiin.



Kuvio 3. Halogenoituja hiilyhdisteitä (McMurry 2011)

Dikloorimetaania (CH₂Cl), eli metyleenikloridia, valmistetaan klooraamalla metaania. Se on palamaton aine, joka haihtuu nopeasti huoneenlämmössä, ja jonka höyryillä on narkoottinen vaikutus. Sen kiehumispiste on 40,7 °C. Dikloorimetaanilla on monia käyttötarkoituksia, ja se on suosittu liuotinaine, koska se ei pala. Liuotinainetarkoituksen lisäksi sitä käytetään puudutusaineena ja laitteiden jäähdytysnesteenä. (Alén 2009, 53.)

Mitä tulee aineen terveyshaittoihin, myrkyllisyydestä ei ole epäilystäkään, mutta kun lukee aineen käyttöturvallisuustiedotteita voi huomata, että monissa varoitetaan syöpäriskistä (VWR, 2023). Mutta ainakaan tähän mennessä ei ole pystytty todistamaan aiheuttaako aine oikeasti syöpää. Esimerkiksi vuonna 2016 tehdyssä tutkinnassa vahvaa yhteyttä ei löydetty (DFG 2016).

Kloroformi (CHCl₃), eli trikloorimetaani, on metaanista klooraamalla valmistettu yhdiste, jolla on voimakas paha haju. Se ei ole kovin palava aine, mutta saattaa muodostaa myrkyllistä fosgeenia (COCl₂) joutuessaan auringonvalolle alttiiksi. Kloroformin kiehumispiste on 61,7 °C. Muutenkin kloroformihöyryt ovat narkootisia ja sitä on käytetty vanhaan aikaan myös nukutusaineena. Kloroformi on hyvä liuotin ja sitä käytetään fluorattujen hiilivetyjen valmistuksessa katalyyttinä. (Alén 2009, 54.)

Koska kloroformia käytettiin 1800-luvulla nukutusaineena, se yhdistetään usein tajunnan menettämiseen. Tämän takia kloroformia on käytetty erilaisissa rikoksissa. Yleisesti ottaen kloroformilla kestää jonkin aikaa viedä ihminen tajuttomaksi ja esimerkiksi Paynen artikkelissa kuvatut rikokset usein epäonnistuivat,

koska uhria ei saatukaan tajuttomaksi. Kloroformia on käytetty myös huumausaineena, johon se soveltuu hieman paremmin, tosin kuolemantapauksilta näissäkään puuhissa ei ole vältytty. (Payne 2002.)

Hiilitetrakloridi (CCl_4), eli tetrakloorimetaani, ei sanan kirjaimellisessa merkityksessä ole hiilivety - koska yhdisteessä ei ole vetyä - mutta se valmistetaan klooraamalla metaania kuten muutkin halogenoidut hiilivedyt, joten käytännössä se lasketaan mukaan. Hiilitetrakloridi ei pala eikä muodosta palavia yhdisteitä huoneenlämmössä. Tosin korkeammissa lämpötiloissa siitä saattaa muodostua fosgeenia, vetykloridia tai kloorikaasua, jotka ovat myrkyllisiä. Sen kiehumispiste on $76,5\text{ }^\circ\text{C}$. Tetrakloorimetaani on myrkyllisempi yhdiste kuin dikloorimetaani ja kloroformi. Aineen pääkäyttötarkoitus on liuottimena, mutta sitä käytetään myös tulensammutusaineena. (Alén 2009 54.)

Hiilitetrakloridi on haitallinen otsonikerrokselle ja sen käyttö on laissa kielletty 1.8.1993 lähtien (4 §, 677/1993). Hiilitetrakloridi haihtuu muita VOCEja huonomin ja jää helposti luontoon pyörimään, jos sitä pääsee ilmaan tai maaperään. Troposfäärissä hiilitetrakloridi voi pysyä jopa 50 vuotta ja laskeutuessaan alemmas, vapauttaa klooria, joka tuhoaa otsonia. Koska aine ei sitoudu maaperään, se voi kulkeutua pohjavesiin, mutta sen ei tiedetä kertyvän ravintoverkkoon. (Työterveyslaitos 2022b.)

1,1,1-trikloorietaani ($\text{C}_2\text{H}_3\text{Cl}_3$), eli metyylikloroformi, on väritön neste, jolla on makea itse asiassa ihan mukava tuoksu. Tästä huolimatta se voi ärsyttää silmiä, ihoa, ja limakalvoja. Aine ei pala, mutta saattaa kuumissa lämpötiloissa hajota myrkylliseksi kloorikaasuksi. Sen kiehumispiste on $74\text{ }^\circ\text{C}$. 1,1,1-trikloorietaanin tunnetaan vähentävän otsonimäärää. (National Center for Biotechnology Information 2023a.)

Kuten hiilitetrakloridi, 1,1,1-trikloorietaani on laissa kielletty (3§, 677/1993). Toisin kuin hiilitetrakloridi lain kolmas pykälä kieltää myös aineen maahantuonnin käytön lisäksi.

1,2-dibromietaani ($\text{CH}_2\text{BrCH}_2\text{Br}$), eli etyleenibromidi, on palamaton aine, jonka höyryt ovat myrkyllisiä. Sen kiehumispiste on $131\text{ }^\circ\text{C}$. Iholle joutuessaan aine imeytyy sen läpi ja ärsyttää. (Alén 2009, 57.)

1,2-dibromietaania käytettiin aiemmin hyönteismyrkkinä, mutta sen käyttö on suuressa osassa maailmaa lopetettu, koska se vahingoittaa ympäristöä. Nykyään sitä saatetaan käyttää väriaineiden ja vahojen valmistuksessa. Joskus sillä myös poistetaan koita tai termiittejä tukeista ennen niiden jatkojalostusta. (National Center for Biotechnology Information 2023b.)

2.2 HS-GC-MS-tekniikka

HS-GC-MS viittaa analyysimuotoon, jossa käytetään headspace näytteensyöttöä, kaasukromatografista erottelua ja massaspektrometria analysoimaan näytteen komponentteja. Kuvassa 1 on esitetty HS-GC-MS-laitteisto. Etualalla oleva headspace näytteensyötin (HS) on huomattavasti suurempi kuin taka-alalla oleva mustakylkinen GC-MS. Näytteet asetetaan keskellä HS-laitteistoa olevaan luukuun. Koholla oleva kohta laitteen vasemmalla puolella on HS:n uuni.

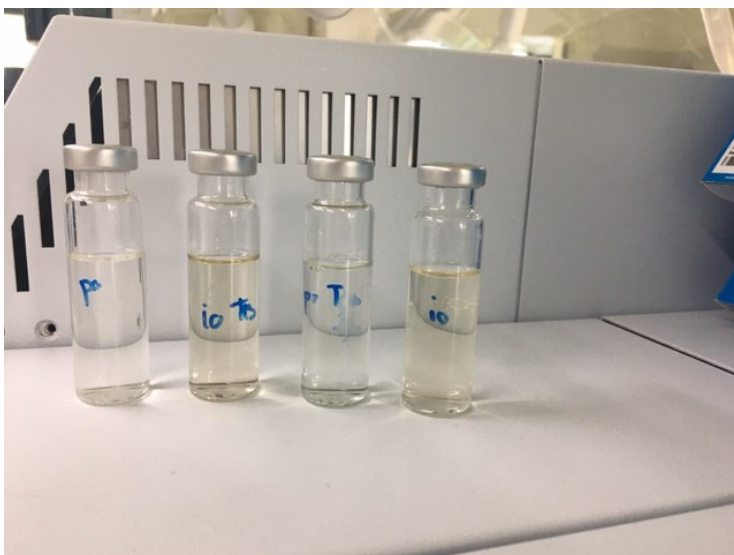


Kuva 1. Etualalla headspace näytteensyötin, takana vasemmalla GC-MS

2.2.1 Headspace näytteensyöttö

Analysoidessa kaasukromatografilla (GC) ei-haihtuvan näytteen haihtuvia komponentteja, tarvitaan näytteenottotekniikka, jonka avulla haihtuva näyte saadaan kolonniin ilman että ei-haihtuva näyte kontaminoi ruiskun. Tämän lisäksi ongel-

mana on kaasunäytteiden mittaaminen tasapainotilassa. Ruiskun käyttäminen pitää tasapainotilan näytepulloissa, eli mittauksen tekeminen näyttää mahdottomalta. Headspace näytteensyöttö keksittiin ratkaisemaan nämä ongelmat. Headspace ottaa näytteen pullosta näyteaineen päältä (eli sen headspacesta). Näytteestä haihtuvat kaasut saadaan täten GC:lle ilman että ruisku kontaminoituu tai tasapainotila purkaantuu. (Ettre & Hinshaw 2008, 354–355.)



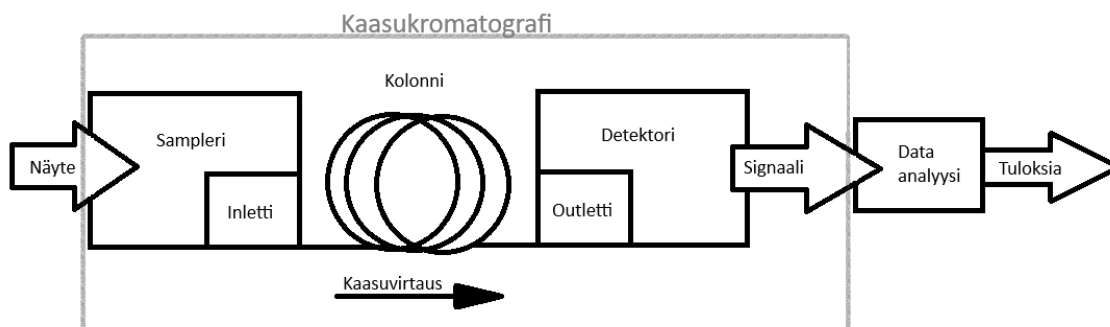
Kuva 2. Headspacen näytepulloja

Yksinkertaisimmillaan, headspace näytteensyötin ottaa näytteen suljetun näytepullon (ks. Kuva 2) yläosasta, näyteaineen päältä. Staattista headspace näytteenottoa käytettäessä näytepullo lämmitetään, kunnes näyte saavuttaa tasapainotilan, ja laite ottaa näytteen pullon kaasufaasista. Dynaamisessa headspace näytteen läpi ohjataan kantajakaasu, joka vie näytteen kolonnille suoraan. Näytteenoton helppous johtaa siihen, että headspace syöttimeen laitettavia näytteitä ei juurikaan tarvitse esikäsitellä. Prosessi voidaan tehdä myös täysin automatisoidusti, jolloin näytteet vain laitetaan syöttimeen, jonka jälkeen kone hoitaa itse kaiken näytteenottoon liittyvän. Tämä nopeuttaa analyysiä ja mahdollistaa useampien näytteiden ajon. (Anderson 2008, 814.)

2.2.2 Kaasukromatografia

Kromatografia on fyysinen erottelutapa, jossa aineen komponentit jakautuvat kahden faasin, määrättyyn suuntaan liikkuvan ja paikallaan pysyvän, välille (IUPAC 1997). Kaasukromatografia on kromatografian muoto, jossa liikkuva faasi

on kaasu (McNair ym. 2019, 4). Kuviossa 4 esitellään kromatografian perusrakennetta.



Kuvio 4. Kaasukromatografian perusrakenne (muokattu Poole 2012, 20)

Kromatografisen käsittely alkaa, kun näyte injektoidaan inletille. Inletti on GC:n osa, jossa näyte höyrystetään ennen sen kantajakaasuun liittämistä, ja kolonnille lähettämistä. Inletti on yleensä noin 250°C, jotta näytteet höyrystyisivät mahdollisimman täysin. Inlettiin injektoidavan näytteen tilavuus on yleensä noin 1 µl. Tämän lisäksi inletistä kolonnille lähtevä näytteenosuus on yleensä vain 1 % inletille injektoidusta näytteestä. Loppupelissä kolonnille joutuu siis hyvin vähän alkuperäisestä näyteaineesta. (McNair ym. 2019, 99–101)

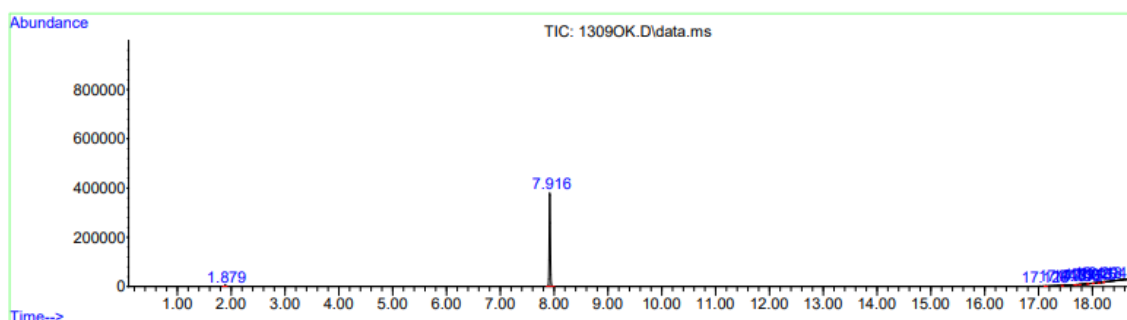
Näyte voidaan injektoida joko jako- tai suorainjektiona. Jakoinjektiossa osa näytteestä injektoidaan kaasuvirtaan ja osa päästetään ulos laitteistosta. Esimerkiksi, jos injektoidaan 10:1, 1 osa näytteestä pääsee GC:lle ja 10 osaa poistetaan. Yleensä laitteistosta ulos päästettävä kaasu joutuu joko poistoilmaputkeen tai hiihliuodattimeen. Suorainjektio injektioi näytteen kokonaan ja sitä käytetään näytteille, joissa tiedetään olevan vain hyvin vähän mitattavia aineita. (Sparkman ym. 2011, 16–21) Joillakin HS-näytteensyöttimillä ei saa käyttää suorainjektiota (Agilent Technologies 2011, 33).

Kaasukromatografiassa liikkuvana faasina toimii kaasu, jota kutsutaan kantajakaasuksi. Yleisesti kantajakaasuna käytetään inerttia, eli reagoimatonta, kaasua kuten heliumia. Helium on sopiva käytettäväksi melkein kaikkien GC:llä mitattavien aineiden kanssa. Joissakin maissa saatetaan käyttää heliumin sijasta vetyä, koska se on halvempaa, mutta vety on myös reaktiivisempaa ja räjähdysherkkää,

minkä takia sen käyttö ei ole suositeltavaa, jos heliumia on saatavilla. (McNair ym. 2019, 38.)

Aineiden erotus tapahtuu lämmitetyn ontton putken, kolonnin, sisällä. Kolonnin seinät on peitetty kerroksella stationäärifaasia, yleensä jotakin siloksaania, joka vaikuttaa kolonnille injektioituihin aineisiin. Kolonniin joutuneet aineet hidastuvat stationäärifaasin vaikutuksesta. Stationääri vaikuttaa aineisiin pääasiassa niiden polaarisuuden perusteella. Esimerkiksi, jos stationäärifaasi on polaarinen, se hidastaa polaarisia aineita enemmän kuin ei-polaarinen faasi. Kun kolonnia lämmitetään, aineet alkavat kiehua, ja liikkuvat höyrystyessään kolonnin läpi. Tämän takia aineet, joilla on eri kiehumispisteet liikkuvat kolonnin läpi eri tahtiin ja erotuvat täten toisistaan. Kun aine pääsee kolonnista ulos, sen sanotaan eluoituvan. (Sparkman, ym. 2011, 49–50.)

GC-analyysin tuloksena saadaan kuvaaja, jota kutsutaan kromatogrammiksi. Kuten muissakin GC-analyyseissä, GC-MS:n tuottamat kromatogrammit kuvaavat aineiden signaalin voimakkuutta retentioaikaan verrattuna. GC-MS-analyysin perusteella syntyvä massakromatogrammi sisältää näiden lisäksi kolmannen ulottuvuuden, massa-askelin, joka kuvaa aineiden ionifraktiota MS:llä mitattuna. Yleensä GC-MS ei näytä näitä tietoja samanaikaisesti vaan massaspektriä voidaan tarkastella erillään kromatogrammista. Pelkkä kromatogrammi tarjoaa tiedon aineen määrästä ja sen retentioajasta. Esimerkiksi kuviossa 5 on näkyvässä ksyleenin kromatogrammi. Tästä näkee, että ksyleenin retentioaika on 7,916 minuuttia ja sitä on näytteessä noin 400 000 yksikköä. Kvantitatiivisessa analyysissä ksyleenistä voitaisiin tehdä eri suuruisia laimennoksia ja näiden laimennosten perusteella luoda kalibrointikäyrä, jonka avulla ksyleenin määrä voidaan laskea vertaamalla näytteen tuloksia käyrään. (Hübschmann 2015, 355.)



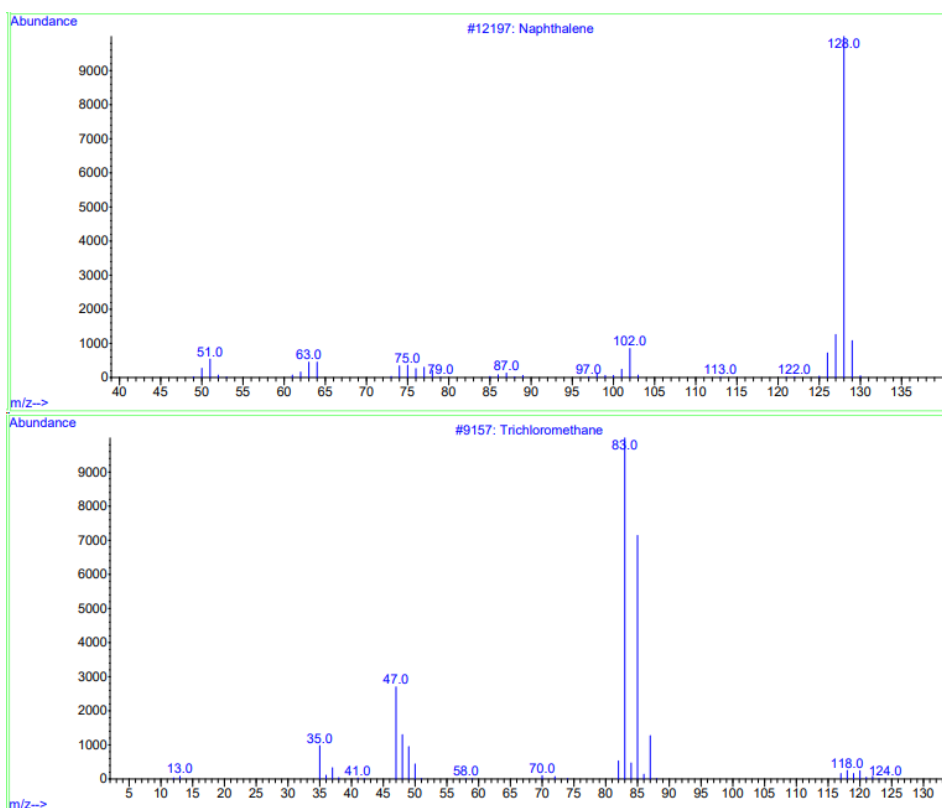
Kuvio 5. Esimerkki kromatogrammista

2.2.3 Massaspektrometria

Massaspektrometria (MS) on analyysimuoto, joka tunnistaa yhdisteitä niiden massa/varaussuhteen perusteella. Massaspektrometri liitetään usein detektoriksi kaasukromatografiin, sillä MS:n kyky tunnistaa yhdisteitä niiden massan perusteella toimii hyvin synergiassa GC:n erottelukyvyn kanssa. Laitteistoyhdistelmä pystyy tunnistamaan tuntemattomia aineita tehokkaasti ja automatisoidusti jopa pienissä tilavuuksissa. Tämän lisäksi näytteiden esikäsittely on vähäistä. (Kitson ym. 1996, 22)

Kun näyte pääsee kromatografian kolonnista massaspektrometriin, se ionisoituu. Tämä tapahtuu hieman eri tavalla riippuen, minkälaista massaspektrometriä käytetään. Massaspektrometrit erottelevat ionit massa/varaus suhteessa (m/z), mutta koska periaatteessa kaikkien spektrometriin pääsevien ionien varaus on 1, niiden ainoa erotteluperuste on loppukädessä massa. Elektroni-ionisaatio (EI) on yleisin ionien varausmetodi. Tämä ionisaation muoto toimii kohdistamalla 70 elektronivoltin vahvuinen säde aineisiin (McNair 2019, 161). Elektroni-ionisaatio on niin sanotusti ”vahva ionisaatiotekniikka”, ja se usein hajottaa, eli fraktioi, ionin moniin eri ioniosiin. Kun ionit fraktioituvat, EI-prosessi tuottaa vain positiivisesti varautuneita ioneja. Koska ionit fraktioituvat, niistä muodostuu massaspektri, jolla on hyvin omantakeinen muoto, ja jota sen takia kutsutaan joskus ”EI-sormenjäljeksi” (esimerkki kuviossa 6). (Sparkman ym. 89–90.)

loneilla on edellisen prosessin jälkeen varaus, minkä takia massa-analysaattori vetää ne puoleensa. Massa-analysaattoreita on erilaisia, mutta yleisin on kvadrupolianalysaattori. Sen sisällä on neljä sauvaa, joissa on tasavirtavaraus – kahdella negatiivinen ja kahdella positiivinen. Varaus vaihtelee hyvin nopeasti (nanosekunneissa) negatiivisen ja positiivisen välillä ja täten ionit liikkuvat nopeasti joko sauvoja päin tai niistä pois päin. Sauvoissa on myös radiotaajuus. Tästä taajuudesta ja tasavirrasta riippuen, ionit, joilla on tietty m/z -varaus, pääsevät kulkemaan sauvojen välistä analysoitavaksi. Muut joko osuvat sauvoihin ja tuhoutuvat, tai imeytyvät analysaattoria ympäröivään tyhjiötilaan. Radiotaajuus/tasavirta suhdetta nostetaan nopeasti, jotta m/z -arvot laajalta vaihteluväliltä saadaan skannattua, ja spektri muodostettua. (McNair ym. 2019, 163)



Kuvio 6. Massaspektrit: yllä naftaleeni, alla kloroformi

Massaspektrillä ionit erotellaan niiden m/z arvon mukaan. Suurin piikki on nimeltään peruspiikki, ja se kuvaa vahvinta signaalia. Tämän lisäksi on molekyyli-ionin piikki, joka kuvaa rikkoutumatonta ionia. Joskus nämä piikit ovat sama piikki. Hiilen moolimassa on noin 12 ja vedyn noin 1. Naftaleenin kaava on $C_{10}H_8$, eli sen massa on teoriassa 128 ($10 \times 12 + 1 \times 8$). Kuten kuvioista 6 näkee, naftaleeninäytteen suurin piikki on kohdassa 128, eli sen peruspiikki on sama kuin sen molekyyli-ionin piikki. Naftaleenin rakenne ei siis ionisoituessaan ole hajonnut kovin pahasti. Halogenoidun kloroformin kohdalla tilanne on toinen. Kloorin moolimassa on noin 35 ja kloroformin kaava on $CHCl_3$. Massa on täten 118 ($35 \times 3 + 12 + 1$). Kuvioista 6 nähdään, että kloroformin peruspiikki on numero 83. Tämä vastaa kloroformin ensimmäisen kloorin menettämistä ($118 - 35 = 83$) ionin hajotessa. Tämä tarkoittaa, että prosentuaalisesti eniten molekyyliä näytteessä ovat fraktiot, jotka ovat menettäneet yhden kloori-ionin, teoriassa $CHCl_2$. (McMurry 2011, 434)

3 MITTAUKSET

3.1 Laitteisto ja reagenssit

Mittauksissa käytetty GC-laitteisto oli Agilent Technologies Intuvo 9000 GC. Massaspektrometri oli Agilentin 5977C ja HS-laitteisto Agilentin 7697A. Työn aikana mittauksia tehtiin kahdella eri kolonnilla, jotka olivat Agilentin Intuvo DB-624 UI ja Intuvo HP-5MS. DB-624 UI kolonnissa on faasina 6 % syanopropyylifenyylä ja 94 % metyyliipolysiloksaani, ja se on keskivertopolaarinen. Pituus on 30 m, sisähalkaisija 0,32 mm ja faasin paksuus 0,18 µm. HP-5MS on matalasti polaarinen kolonni, jonka faasina toimii 5 % fenyyli-metyyliipolysiloksaani. Se on 30 m pitkä ja sen sisähalkaisija on 0,25 mm. Faasin paksuus on 0,25 µm. Taustatyössä käytetyissä artikkeleissa DB-624-kolonni oli käytössä Dorgerloh'n ym. 2018 artikkelissa ja Jacq'n ym. 2008 artikkelissa. Myös eri valmistajan samafaasista kolonnia käytettiin Leen ja Cojocariun 2020 artikkelissa ja Zhao fan ja Kiran 2017 artikkelissa. HP-5MS-kolonni oli käytössä Chopran ym. vuoden 2008 artikkelissa.

Ennen mittausten aloittamista tehtiin yksi litra matriksin modifikaatioliuosta säätämällä UHP-veden pH 2,0:aan fosforihapolla ja kyllästämällä se natriumkloridilla. Tätä samaa liuosta käytettiin koko mittausvaiheen ajan tiettyjen näytteiden käsittelyyn. Matriksin modifikaatioliuos luotiin Leen ja Cojocariun 2020 artikkelin perusteella. Suurin osa aineiden mittauksista tehtiin myös tässä artikkelissa kuvattujen standardimittausten perusteella (10 ml matriksin modifikaatioliuosta + 4 µl näytettä). Modifikaatioliuosta käytettiin myös maanäytteiden käsittelyyn Zhao fan ja Kiran 2017 artikkelissa ja suositeltiin käytettäväksi VOC-mittausten yhteydessä monta kertaa metodissa 5021A, erityisesti kohdassa 1.6.

Työssä käytetyt VOCit valittiin pääosin taustatutkimuksen perusteella (pääasiassa Lee & Cojocariu 2020, 9–10, ja Jacq ym. 2008, 12–13). Näistä aineista oli olemassa olevia mittaustuloksia, joiden perusteella tiedettiin hieman niiden retentiosta ja mitattavuudesta GC:llä. Tietenkin myös aineiden saatavuus laboratoriossa vaikutti reagenssien valintaan. Yhteensä testattiin kymmentä eri ainetta, mutta yksi aineista, trans-1,2-dikloorietyleeni, loppui, joten siitä ei saatu kunnon mittaustuloksia. Aineet, joista saatiin mittaustuloksia, olivat bentseeni, tolueeni,

o-ksyleeni, 1,2-dibromietaani, 1,1,1-trikloorietaani, kloroformi, dikloorimetaani, hiilitetrakloridi, ja naftaleeni. Kaikki työssä käytetyt aineet olivat 94–99 prosenttisia, eli periaatteessa puhtaita.

3.2 Ainemittaukset

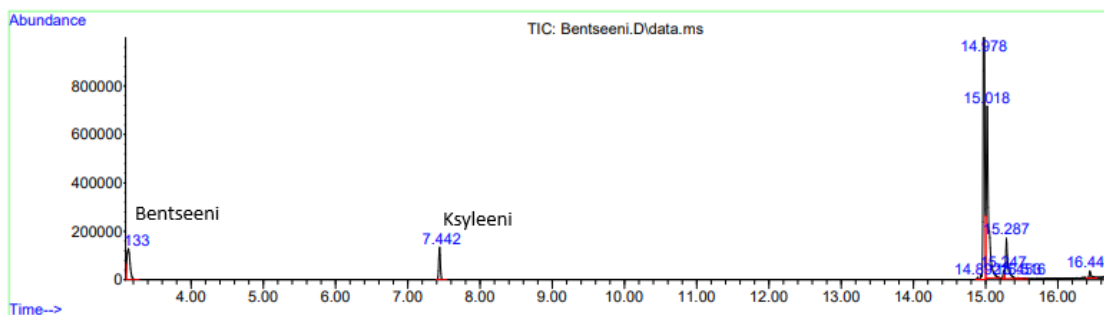
3.2.1 Kolonni Intuvo HP-5MS

Ensimmäiset mittaukset liittyivät hiilivetyjen retentioaikojen määrittämiseen Intuvo HP-5MS kolonnille. Tarkoituksena oli varmistaa, että näytteiden kromatografiikit tulevat näkyviin eivätkä mene toistensa kanssa päällekkäin. Mittaukset aloitettiin ajamalla pelkästään tolueeni, bentseeni ja o-ksyleeni käyttämällä taulukossa 1 näkyviä parametrejä. Nämä aineet ovat vähemmän vaarallisia ja niillä pitäisi taustatutkimuksen perusteella olla erilaiset retentioajat. Suurin osa parametreistä tuli kahdesta eri artikkelista (Lee & Cojocariu 2020 ja Jacq ym. 2008).

Taulukko 1. Ensimmäisen ajon parametrit

Ensimmäiset parametrit						
Jakoinjektio			35:1			
Injektori			275°C			
Inletti			250°C			
HS Siirtolinja			200°C			
HS Neula			150°C			
HS Uuni			100°C			
Lämpötilaohjelma						
Aloitus	Pito	Nosto	Väli	Nosto	Lopetus	Pito
40°C	4 min	15°C/min	180°C	30°C/min	300°C	1 min

Lämpötilaohjelma ei juurikaan muuttunut koko työn aikana, koska sillä saatiin hyviä tuloksia. Ensimmäisessä mittauksessa oli kolmen minuutin odotusaika injektion ja mittauksen välillä. Kuten kuvioista 7 näkee, bentseeni, jonka teoreettinen retentioaika ei edes ole kaikista mitattavista aineista matalin, eluoi aivan mittauksen alussa ja piikki leikkaantuu. Tämän takia säädettiin mittaus alkamaan heti injektioista kaikissa muissa mittauksissa, jotta kaikkien aineiden piikit saataisiin kromatogrammille.



Kuvio 7. Bentseeninäytteen ensimmäinen mittaus (näkyvissä myös ksyleenikon-taminaatio)

Koska mittaukset olivat kvalitatiivisia, aineiden laimennokset olivat suuripiirteisiä. Haluttiin tietysti nähdä, miten paljon näytettä tarvitaan luotettavaan piikin muodostumiseen, mutta määrien ei tätä varten tarvinnut olla tarkkoja. Koska joidenkin aineiden tiheydet olivat samantapaisia, niille käytettiin samoja laimennoksia. Esimerkiksi bentseenin, tolueenin ja ksyleenin tiheys on noin 0,9 g/ml, joten niille voidaan teoriassa käyttää samaa laimennossuhdetta ja saada suurin piirtein saman verran ainetta näytteeseen. Ensimmäisen näytesarjan välilaimennokset on esitetty taulukossa 2. Kaikki hiilivetyjen laimennokset tehtiin metanoliin.

Taulukko 2. Ensimmäisen näytesarjan välilaimennokset

Aineet	Laimennokset
Bentseeni, tolueeni, o-ksyleeni	6 mikrolittraa, 20 millilitraan
Dikloorimetaani	9 mikrolittraa, 20 millilitraan
1,1,1-trikloorietaani, trans-1,2-dikloorietyleeni	4 mikrolittraa, 20 millilitraan
1,2-dibromietaani	2 mikrolittraa, 20 millilitraan
Hiilitetrakloridi, kloroformi	3 mikrolittraa, 20 millilitraan

Tämän jälkeen kaikista välilaimennoksista otettiin 4 mikrolittraa lopulliseen näytteeseen, joka koostui tämän lisäksi 10 millilitrasta matriksin modifikaatioliuosta. Näytteitä tehtiin yhteensä yhdeksän, yksi jokaiselle aineelle ja yksi yhteisnäyte, johon mitattiin 4 mikrolittraa jokaista laimennosta. Ennen ajoa laskettiin HS:n lämpötiloja, uuni 75°C, siirtolinja 150°C ja neula 100°C. Uunin lämpötilaa laskettiin, jotta aineet eivät haihtuisi yhtä helposti, ja jotta vesi ei höyrystyisi ja nostaisi painetta näytepullossa. Taustatutkimuksen artikkeleissa käytettiin yleensä myös hie-man matalampia HS-uunin lämpötiloja (esim. Lee & Cojocariu 2020, ja Jacq ym.

2008, ja Zhao fa & Kira 2017). Ensimmäisen mittaussarjan aikana saatiin retentioajat bentseenille, dikloorimetaanille, o-ksyleenille, toluenille, 1,1,1-trikloorietaanille ja kloroformille. Massaspektrometrillä oli vaikeuksia tunnistaa o-ksyleeni. Tämän ensimmäisen mittauksen aikana se tunnisti aineen p-ksyleeniksi. Myös ensimmäisen mittauksen kaikki näytteet (paitsi hiilitetrakloridi) olivat kontaminoituneet kloroformilla, joten aineen piikit näkyivät jokaisessa näytteessä (ks. Liite 1).

Tämän jälkeen aineet, joille ei saatu tuloksia ensimmäisen ajon aikana ajettiin uudestaan suuremmilla määrillä, jotta piikit saataisiin näkyviin. Tämän ajon aikana saatiin retentioajat hiilitetrakloridille ja 1,2-dibromietaanille. Trans-1,2-dikloorietyleenille ei saatu tämänkään mittauksen aikana retentioaikaa, ja aine päätettiin jättää pois lopuista mittauksista. Naftaleenia oli tilattu ja se saapui vasta kun DB-624 UI -kolonni oli jo vaihdettu, minkä takia sen ajo HP-5MS:llä tehtiin myöhemmin kuin muiden aineiden.

Kun aineille oli saatu retentioajat, keskityttiin mittaamaan, kuinka paljon ainetta tarvitaan näytteessä, jotta piikki tulee näkyviin, ja aine on tunnistettavissa. Tämän mittauksen aikana laimennokset tehtiin taulukon 3 mukaan.

Taulukko 3. Pienet laimennokset

Aineet	Ensimmäinen laimennos	Toinen laimennos
Bentseeni, tolueni, o-ksyleeni	6 mikrolitraa, 10 milliin	100 mikrolitraa, 10 milliin
Dikloorimetaani	9 mikrolitraa, 10 milliin	100 mikrolitraa, 10 milliin
1,1,1-trikloorietaani	4 mikrolitraa, 10 milliin	100 mikrolitraa, 10 milliin
1,2-dibromietaani	2 mikrolitraa, 10 milliin	100 mikrolitraa, 10 milliin
Hiilitetrakloridi, kloroformi	3 mikrolitraa, 10 milliin	100 mikrolitraa, 10 milliin

Näistä laimennoksista otettiin taas 4 µl ja lisättiin vialiin, jossa oli 10 millilitraa matriksin modifikaatioliuosta. Näytteitä tehtiin yhdeksän, yhdet kaikista aineista ja yksi yhdistelmänäyte. Näissä laimeammissa näytteissä ei ollut näkyvissä mitään piikkejä bentseeninäytettä ja yhdistelmänäytettä lukuun ottamatta. Yhdistel-

mänäytteessä oli näkyvissä bentseenin, 1,2-dibromietaanin, o-ksyleenin, ja kloroformin piikit (ks. Liite 2). Samoihin aikoihin ajettiin myös vahvemmat näytteet, jotka tehtiin pipetoimalla 4 µl suoraan ensimmäisistä laimennoksista. Näistä näytteistä saatiin parempia tuloksia. Ainoa aine, joka ei piikittänyt näissä mittauksissa oli 1,2-dibromietaani. Yhdistelmänäytteessä oli näkyvissä dikloorimetaani, bentseeni, 1,1,1-trikloorietaani, kloroformi, tolueeni ja o-ksyleeni (ks. Liite 3).

3.2.2 Kolonni Intuvo DB-624 UI

Seuraava aineiden mittausta tehtiin Intuvo DB-624 UI -kolonnilla. Tämän kolonnin lämpötilamaksimi oli pienempi kuin HP-5MS:än, joten uunin lopetuslämpötilaa täytyi pienentää 230 asteeseen, mutta muuten menetelmään ei tehty muutoksia.

Ensin tällä kolonnilla ajettiin 18 näytettä. Kahdeksan yhden aineen näytettä, jotka tehtiin taulukon 2 perusteella ja kahdeksan näytettä taulukon 3 mukaan. Näiden lisäksi tehtiin kaksi yhdistelmänäytettä, toinen vahvemmissa ja toinen laimeammista näytteistä. Suurin osa aineista näkyi kromatogrammissa piikkinä vahvemmissa näytteissä, mutta ei laimeammista. Ainoa aine, joka piikitti laimeammassa näytteessä, oli bentseeni, joka piikitti tolueenin näytteessä (luultavasti kontaminaatio) ja laimeassa yhdistelmänäytteessä. Ainoat aineet, jotka eivät piikittäneet omilla vahvemmissa näytteissään olivat dikloorimetaani ja 1,2-dibromietaani. Mutta kaikkien aineiden piikit olivat näkyvissä vahvemmassa yhdistelmänäytteessä (ks. Liite 4). Tämän takia kaikille aineille saatiin retentioajat jo ensimmäisen tällä kolonnilla tehdyn ajon aikana. Myöhemmin ajettiin naftaleeni myös tällä kolonnilla, kun sitä saatiin laboratorioon.

3.2.3 Naftaleeni

Naftaleenin mittaukset olivat hieman erilaiset kuin muiden aineiden. Osin, koska aine on kiinteä, ja osin, koska ainetta ei ollut alun perin saatavilla ja se jouduttiin ajamaan muista erillään. Ensimmäinen naftaleeniliuos DB-624 UI -kolonnille tehtiin punnitsemalla 0,02 g naftaleenia 20 millilitraan metanolia. Sitten tehtiin laimennos edellisestä 2 µl 20 millilitraan. Tämän jälkeen naftaleenista ajettiin kolme näytettä 10 millilitraan matriksin modifikaatioliuosta, yksi, johon laitettiin 4 µl toista

laimennosta, toinen, johon laitettiin 4 µl alkuperäisestä liuoksesta, ja kolmas, johon laitettiin 20 µl alkuperäisestä liuoksesta. Samanlaiset näytteet ajettiin sekä DB-624 UI:lla että HP-5MS:llä, mutta näytteet tehtiin eri päivinä, joten niiden välillä saattaa olla eroja. Kaikki naftaleeniajot ovat näkyvissä liitteessä 5. Liitteestä näkee myös, että naftaleenia tarvitsee suht suuren määrän, jotta piikki tulee näkyviin. Varsinkin DB-624 UI:lla naftaleenipiikki pienemmillä tilavuuksilla hukkuu nousevaan pohjaviivaan ja sekoittuu helposti epäpuhtauksien piikkeihin.

3.3 Maaperänäytteiden analyysi

Koska aitoja maaperänäytteitä ei ollut saatavilla, täytyi ne tehdä laboratorion löytyvien reagenssien avulla. Kaikkien maaperänäytteiden perusta oli sekoitus metanoliin liuotetuista hiilivedyistä. Hiilivetyjen liuokset tehtiin samalla tavalla kuin taulukossa 2 ja sitten sekoitettiin toisiinsa mittapullossa.

Ensimmäiset maanäytteet tehtiin kvartsihiekkään. Hiekkaa mitattiin noin 10 grammaa pakasterasiaan ja hiekan päälle kaadettiin mittapullossa tehty sekoitus hiilivetyjä niin että hiekan pinta peittyi kokonaan. Hiilivetyinä tässä mittauksessa olivat bentseeni, tolueeni, o-ksyleeni, 1,2-dikloorietaani, 1,1,1-trikloorietaani, dikloorimetaani, kloroformi ja hiilitetrakloridi. Tämän jälkeen pakasterasia jätettiin pöydälle yön yli tekeytymään. Samalla kokeiltiin myös, kuinka aineet haihtuvat avoimesta rasiasta (ks. Kuva 3). Kun maanäytteet olivat tekeytyneet jonkin aikaa, niistä mitattiin 2 g 10 millilitran näytepulloihin. Niiden päälle lisättiin 10 millilitraa matriksin modifikaatioliuosta. Näin tehtiin kaksi näytettä kannellisesta rasiasta ja kaksi näytettä avoimesta rasiasta. Näytteet, joita säilytettiin ilman kantta, olivat piikittömiä, mutta maanäytteet, joita säilytettiin rasiassa, näyttivät piikin dikloorimetaanille, kloroformille, 1,1,1-trikloorietaanille, bentseenille ja tolueenille (ks. Liite 6).



Kuva 3. Maanäyte kuivumassa

Seuraavaksi kokeiltiin tehdä maanäyte mullasta samalla tavalla kuin edellä hiekasta. Tämä ei onnistunut hirveän hyvin. HS ei onnistunut injektioimaan toista kahdesta tehdystä näytteestä ollenkaan, ja toisen näytteen kromatogrammissa ei näkynyt mitään piikkejä.

Viimeinen maanäytteentekokoe keskittyi näytteen tekemiseen edellä opittujen asioiden avulla. Aluksi tehtiin kolme näytettä kvartsihiekasta samalla tavalla kuin aiemmin; sekoittamalla mittapullossa metanolia ja kaikki yhdeksän hiilivetyä. Yksi pakasterasia laitettiin suoraan jääkaappiin (näyte 1), toisesta haihdutettiin metanoli ja kaadettiin päälle tuoretta metanolia ennen jääkaappiin laittoa (näyte 2), ja kolmannesta haihdutettiin metanoli ja laitettiin jääkaappiin kuivana (näyte 3). Kaikkia pakasterasioita säilytettiin yön yli. Seuraavana päivänä näytteestä 1 ja 2 punnittiin noin 2 g hiekkaa näytepulloon. Tämän päälle lisättiin 10 ml matriksin modifikaatioliuosta (näytteet 1a ja 2a). Näytteestä 3 pipetoitiin sentrifugiputkeen metanolia näytteen pinnalta. Tämän jälkeen haihdutettiin näytteestä 1 metanoli pois ja kaadettiin haihtuneen näytteen 1 ja näytteen 2 päälle puhdasta metanolia. Näistä näytteistä pipetoitiin sitten metanolia sentrifugiputkiin (näytteet 1b ja 2b). Tämän jälkeen kaikki putket sentrifugoitiin, jotta saatiin hiekka putken pohjalle. Kaikista sentrifugiputkista pipetoitiin 4 μ l näytettä 10 millilitraan matriksin modifikaatioliuosta. Näiden näytepullojen ajon jälkeen näytteissä 1b ja 2b ei ollut yhtään

piikkiä. Näytteessä 3 oli ksyleenin piikki, mutta ei muita piikkejä. Näytteessä 2a oli o-ksyleenin, 1,2-dibromietaanin, tolueenin, bentseenin ja kloroformin piikit. Näytteessä 1a oli näkyvissä kaikki piikit paitsi naftaleeni ja bentseeni (ks. Liite 7). Tosin bentseeni oli löydettävissä, jos tiesi mistä etsiä hiilitetrakloridin piikin liepeiltä.

3.4 Vesinäytteiden analyysi

Toisin kuin maanäytteiden kohdalla, vesinäytteitä kerättiin myös luonnosta. 13.9. yksi näyte kerättiin isosta ojasta Ruskon teollisuusalueelta, Tampereelta, ja yksi näyte pienemmästä ojasta samalta alueelta. Näitä näytteitä ajettiin, jotta saatiin testattua vesinäytteiden ajamista ja arvioitua luonnosta kerättyjen näytteiden analysoimisen mahdollisuutta. Myöhemmin, 29.9., saatiin lisää näytteitä isosta ojasta, pintavedestä ja pohjavedestä, mutta näiden ajo oli kokeellinen eikä juurikaan vaikuttanut tämän työn tuloksiin (ks. Kuva 4).



Kuva 4. Kaikki työssä käytetyt ojavesinäytteet

Ensimmäisen ympäristönäytteen ajon aikana testattiin erilaisia vesinäytteenotko metodeja. Testauksessa oli 10 ml vettä ja 4 ml etyyliasetaattia (perustuu Thacker ym. 2015, 8), 10 ml vettä ja 7 g natriumsulfaattia (perustuu Jacq ym. 2008, 2), ja pelkkä 10 ml vettä. Tämän lisäksi tehtiin näytteitä, joihin lisättiin bentseeniä ja tolueenia, jotta saatiin vertausnäytteitä, joissa tiedettiin olevan hiilivetyjä. Näille

näytteille tehtiin samat käsittelyt. Parhaat tulokset saatiin yleisesti ottaen vesinäytteistä, joissa oli pelkkää vettä. Etyyliasetaatin piikki oli niin suuri, että se vaikutti negatiivisesti mittaukseen ja olisi varmasti peittänyt alleen ainakin joitakin testattujen hiilivetyjen piikkejä. NaSO₄ ei vaikuttanut mittaukseen millään lailla (ks. Liite 8). Nämä mittaukset ajettiin vain HP5-MS-kolonnilla.

Seuraavaksi, etyyliasetaatista inspiroituneena, päätettiin kokeilla metanolin lisäämistä näytteeseen. Etyyliasetaatin toiminta perustuu sen tiheyteen. Koska sen tiheys on vettä pienempi, se kelluu veden pinnalla. Hiilivedyt liukenevat orgaanisiin aineisiin, kuten etyyliasetaattiin ja metanoliin, mutta eivät veteen, joten teoriassa, jos veden päälle lisätään orgaanista ainetta ja näytepulloa ravistetaan, vedessä olevat aineet siirtyvät orgaaniseen faasiin. Etyyliasetaatin suuri piikki teki siitä mittauksissa hyödyttömän, mutta metanoli ei piikitä, joten sitä voitaisiin ehkä käyttää etyyliasetaatin sijasta. Metanolimittaukset tehtiin neljästä näytteestä, kaksi näytettä, jotka olivat pelkkää vettä ison ojan pinnalta ja pienestä ojasta, ja näyte molemmista ojista, joihin lisättiin tolueenia ja bentseeniä. Metanolimittauksissa oli jatkuvasti mittauksen loppupuolella epämääräisiä piikkejä, joita ei näkynyt missään muissa vesimittauksissa. Ne kuuluivat esimerkiksi undekaanille, dodekaanille, dekaanille, ja metyyliidekaanille (ks. Liite 9). Nämä mittaukset tehtiin vain DB-624 UI -kolonnilla.

Viimein päätettiin siirtyä näytteentekoon UHP-vedestä. Aluksi kokeiltiin hiilivetyjen lisäämistä sekä UHP että vesijohtoveteen. Näytteet tehtiin lisäämällä veteen noin 4 µl taulukossa 2 kuvattuja laimennoksia. UHP- ja vesijohtovesinäytteistä tehtiin näytteet sekä pelkästä vedestä että lisäämällä 4 ml metanolia. Nämä ajettiin DB-624 UI -kolonnilla. Metanoli ei juurikaan vaikuttanut tuloksiin (ks. Liite 10). Vesijohtoveden ja UHP-veden välillä ei ollut suuria eroja, joten tulevat näytteet tehtiin kaikki UHP-veteen.

Viimeiset vesinäytteet tehtiin UHP-veteen. Tämän mittauksen tarkoituksena oli testata, mikä oli paras ainemäärä lisätä näytteeseen, jotta piikki tuli näkyviin ja oli tunnistettavissa. Nämä ajot tehtiin HP5-MS-kolonnilla. Ensimmäiset laimennokset tehtiin taas kerran taulukon 2 mukaan. Naftaleeninäyte tehtiin lisäämällä 0,02 g naftaleenia 20 millilitraan metanolia. Sen jälkeen tehtiin kolme UHP-näy-

tettä, yhteen lisättiin 5 µl jokaisesta laimennoksesta, toiseen 100 µl, ja kolman-
teen 500 µl. Tämän mittauksen tuloksia (ks. Liite 11) käytettiin lopullisen vesinäy-
teohjeen luomiseen.

4 TULOKSET

Ainemittauksien tuloksia käsiteltiin jonkin verran jo mittauksien yhteydessä, sillä mittauksissa löytyneet aineet liittyivät usein seuraaviin mittauksiin ja oli selkeämpi liittää mittausvaiheen selityksiin. Tässä ovat näkyvissä ainemittauksista saadut retentioajat HP-5MS-kolonnille (ks. Taulukko 4) ja DB-624 UI -kolonnille (ks. Taulukko 5).

Taulukko 4. Aineiden retentioajat HP-5MS-kolonnilla

Aine	Retentioaika (min)
Dikloorimetaani	2,337
Kloroformi	2,903
1,1,1-trikloorietaani	3,229
Bentseeni	3,435
Hiilitetrakloridi	3,447
Tolueeni	5,535
1,2-dibromietaani	6,325
O-ksyleeni	7,916
Naftaleeni	11,349

Taulukko 5. Aineiden retentioajat Intuvo DB-624 UI -kolonnilla

Aine	Retentioaika (min)
Dikloorimetaani	5,163
Kloroformi	7,263
1,1,1-trikloorietaani	7,509
Hiilitetrakloridi	7,716
Bentseeni	7,922
Tolueeni	9,924
1,2-dibromietaani	10,811
O-ksyleeni	11,921
Naftaleeni	15,252

4.1 Ohje näytteentekijälle

Mittausten tulosten perusteella kehitettiin tässä luvussa esitetyt ohjeet.

4.1.1 Erityisiä huomioita

Osa hiilivedyistä on vaarallisia ja niiden käyttöturvallisuustiedotteita pitää noudattaa. Vaarallisuuden takia, tehtyjä liuoksia kannattaa säilyttää, jos näytteitä täytyy tehdä lisää, jotta vältetään puhtaiden aineiden käsittelyltä, kun mahdollista. Joistakin purkeista voi myös tehdä näytteenoton suoraan ruiskulla. Tällä tavalla vältetään kaatamasta ainetta keitinlasiin. Ruisku pitää tietenkin muistaa pestä metanolilla kaikkien pipetointien välissä. Jos jotakin hiilivedyistä on kaadettu keitinlasiin, sen voi jättää vetokaapin takaseinälle haihtumaan. Naftaleeni haisee pahalta ja voi vaarantaa hengitysteitä, joten sen punnitseminen kannattaa tehdä vetokaapissa. Samasta syystä sen metanoliliuos kannattaa säästää, kunnes sitä ei enää tarvita. Jos mittaukset tehdään DB-624 UI -kolonnilla, naftaleenia täytyy lisätä enemmän kuin HP-5MS-kolonnilla, koska naftaleeni piikittää pohjaviivan nousemisen aikana. HP-5MS-kolonnilla, samaan näytteeseen ei kannata lisätä sekä bentseeniä että hiilitetrakloridia, koska niiden piikit menevät toistensa kanssa päällekkäin.

4.1.2 Maanäyte

Maanäytteen teko aloitetaan mittaamalla haluttu määrä kvartsihiekkää (yksi näyte on noin 2 g, joten alkuperäinen hiekkamäärä riippuu siitä, kuinka monta näytettä halutaan tehdä) ilmatiiviiseen rasiaan. Tämän jälkeen luodaan yhdistelmä halutuista hiilivedyistä metanoliin. Riippuen siitä, kuinka paljon hiekkää rasiassa on, metanoliseosta voidaan tarvita vähemmän tai enemmän. Esimerkiksi, jos hiekkää on noin 20 g 10 cm³ pakasterasiassa, tarvitaan hiilivetyseosta noin 25 ml. Pipetoinnit ovat 25 millilitraan samat kuin taulukossa 6, ja samassa taulukossa olevaa naftaleenin metanoliliuosta voi lisätä noin 3 ml. On parempi laittaa liikaa hiilivetyä kuin liian vähän, koska tämä varmistaa niiden imeytymisen hiekkään. Varmista, että hiekan pinnalle jää ainakin puolen sentin paksuinen metanolikerros. Tämä estää hiilivetyjen haihtumisen näytteestä. Heiluta näytettä varo-

vasti, jotta hiekka tulee kunnolla märäksi joka puolelta, mutta ei lentele joka puolelle rasian seiniä. Säilytä astia jääkaapissa hyvin suljettuna. Näyte säilyy ainakin muutaman päivän, kunhan metanolikerros ei haihdu. Kun näyte halutaan hävittää, se voidaan jättää aukinaisena ainakin yön yli vetokaappiin, jotta suurin osa hiilivedyistä haihtuu. Kun hiilivedyt ovat haihtuneet, hiekka voidaan hävittää sekajätteenä. Kuiva kvartsihiekkä on hienojakoista ja pölyää, joten se kannattaa pistää muovipussiin ennen roskakoriin laittamista. Tämän ohjeen PDF-versio liitteessä 12.

Taulukko 6. Laimennosten ainemäärät

Aineet	Laimennokset
Bentseeni, tolueeni, o-ksyleeni	6 mikrolittraa, 20 millilitraan
Dikloorimetaani	9 mikrolittraa, 20 millilitraan
1,1,1-trikloorietaani	4 mikrolittraa, 20 millilitraan
1,2-dibromietaani	2 mikrolittraa, 20 millilitraan
Hiilitetrakloridi, kloroformi	3 mikrolittraa, 20 millilitraan
Naftaleeni	0,02 g, 20 millilitraan

4.1.3 Vesinäyte

Vesinäytteen teko alkaa tekemällä taulukossa 6 näkyvät laimennokset riippuen siitä, mitä aineita halutaan näytteeseen. Laimennokset säilyvät ainakin viikon, kunhan mittapulloja pidetään kunnolla suljettuna. Jos halutaan naftaleeni mittaukseen, pitää tehdä laimennos lisäämällä 0,02 g naftaleenia 20 millilitraan metanolia. Vesinäytettä tehdään UHP-vedestä sen verran kuin sitä tarvitaan. Yhteen opiskelijänäytteeseen vettä tarvitsee noin 5 ml. Jos tehdään 20 ml vesinäyte, mitataan aineita taulukon 7 mukaan. Näillä määrillä aineen piikki on tarpeeksi suuri, jotta se tulee näkyviin, mutta ei häiriinny muista aineista.

Taulukko 7. Aineliuosten pipetoinnit vesinäytteeseen

Ainelaimennos	Pipetointi
1,2-dibromietaani	300 µl
Naftaleeni	30–50 µl
Kloroformi, 1,1,1-trikloorimetaani	100–200 µl
Bentseeni, tolueeni, ksyleeni, hiilitetrakloridi, dikloorimetaani	100 µl

Vesinäytettä voi säilyttää jääkaapissa kunnolla suljettuna. Näyte täytyy kaataa kemikaalijätteisiin, koska osa aineista on ympäristölle vaarallisia. Liuosten haihtuminen on epäluotettavaa, koska näyte on vedessä. Tämän ohjeen PDF-versio liitteessä 12.

4.2 Ohje opiskelijalle

Ensin pitää tehdä matriksin modifikaatioliuos. Jos tehdään yksi maanäyte, liuosta tarvitaan 5 ml. Eli sitä voi tehdä noin 20 ml, jotta sitä on varmasti tarpeeksi. Liuos tehdään säätämällä UHP-veden pH 2,0 fosforihapolla. Tämän jälkeen veteen lisätään NaCl, kunnes liuos on kylläinen; 50 millilitraan vettä menee noin 17,95 g suolaa. Varmistetaan, että suolakiteitä ei enää ole näkyvissä. Sitten punnitaan noin 2 g hiekkametanoliseosta. Odotetaan, kunnes metanoli on haihtunut niin paljon, että näytteen saa näytepulloon. Päälle lisätään 5 ml matriksin modifikaatioliuosta. Tämä näytepullo voidaan sitten ajaa taulukon 8 parametreilla.

Taulukko 8. Ajon parametrit (*DB-624 UI kolonnilla 230°C)

Ajon parametrit						
Jako			35:1			
Injektori			275°C			
Inletti			250°C			
HS Siirtolinja			150°C			
HS Neula			100°C			
HS Uuni			75°C			
Tasapainotusaika			~30 min			
Lämpötilaohjelma						
Aloitus	Pito	Nosto	Väli	Nosto	Lopetus	Pito
40°C	4 min	15°C/min	180°C	30°C/min	300°C*	1 min

Ajon jälkeen näytteet voidaan hävittää kaatamalla nestekerros jäteastiaan ja huuhtomalla hiekan yläosa vedellä, joka kaadetaan myös jäteastiaan. Tämän jälkeen näytepullo pitää huuhtoa kraanavedellä muutaman kerran, jotta hiekka saadaan pois näytepullosta. Jos halutaan välttää hiekan joutuminen viemäriin, voidaan hiekka kaataa vaikkapa suureen muovirasiaan. Hiekka ei ole puhtaana ympäristölle vaarallista, mutta voi suurissa määrissä tukkia viemärin.

Vesinäyte tehdään mittaamalla 5 ml vettä näytepulloon. Tämän lisäksi näytteelle ei tarvitse tehdä muuta ja se voidaan heti ajaa taulukossa 7 näkyvillä parametreillä. Vesinäyte hävitetään ajon jälkeen kaatamalla se jäteastiaan. PDF-versiot näistä ohjeista on näkyvissä liitteessä 13.

5 POHDINTA

Tämä opinnäytetyön aikana oli tarkoitus tehdä metodi HS-GC-MS:lle VOCien mittaamiseksi, ja luoda ohjeet opiskelijatöitä varten. Koska taustatietoa oli paljon, metodinkehitys oli helppoa ja se onnistui hyvin. Artikkeleita oli monia ja niissä oli riittävästi tietoa erilaisista mittauksista. Varsinkin Leen ja Cojocariun 2020 artikkeli ja Zhao fann ja Kiran 2017 artikkeli olivat hyviä lähteitä menetelmän kehityksen kannalta. Myös Jaqc ym. 2008 artikkeli oli hyödyllinen aineiden retentioaikojen määrittämisen kannalta.

Aineiden käsittelyyn ei juuri liittynyt ongelmia. Kaikki työssä käytetyt aineet voivat olla terveydelle vaarallisia, mutta käsiteltävät määrät olivat niin pieniä, että vaara oli minimaalinen. Mittaukset tehtiin suoraan pullosta, kun mahdollista. Ruiskumittauksen kanssa oli aluksi pieniä ongelmia, varsinkin koska ruiskujen eri koko jäi mittausten alussa huolimattomuuden takia huomiotta. Onneksi tämän ei pitäisi vaikuttaa ratkaisevasti ensimmäisiin mittauksiin, sillä niiden aiheena oli pääosin aineiden retentioaikojen mittaaminen, mihin aineiden määrällä ei niin ole vaikutusta. Varsinkin työn alussa, ruiskumittauksissa esiintyi myös kontaminaatioita, sillä 10 mikrolitran ruiskuja oli vain yksi. Tämä väheni työn loppua päin, koska ruiskua alettiin mittausten välillä kunnolla huuhdella metanolilla. Ylijäämä metanoli ruiskutettiin erilliseen jäteastiaan ja ruisku jätettiin joskus myös mittausten välille muutamaksi sekunniksi ilman mäntää haihtumaan.

Metodin kehittämiseen liittyi lisäksi kolonnien testaus. Kolonneja oli kaksi, joista molemmilla saatiin hyviä tuloksia. Alun perin aiottiin testata vain DB-624 UI -kolonna, mutta koska kyseisellä GC:llä käytetään yleensä HP-5MS-kolonna, ja koska sitä oli käytetty myös yhdessä taustatutkimuksen artikkelissa, sitä päätettiin kokeilla. Siitä saadut tulokset olivat yhtä hyviä. Kummallakin kolonnilla oli ainakin yksi aine, joka aiheutti päänvaivaa. HP-5MS:llä bentseeni ja hiilitetrakloridi eluoituivat toistensa päälle. Tätä yritettiin vähentää lisäämällä noston aikaa, mutta koska tämä ei auttanut asiaa, tämän mittauksen tuloksia ei ole käsitelty raportissa. DB-624 UI:lla naftaleeni eluoi niin myöhään, että sen pienemmät piikit eivät erottuneet ajon loppua kohti nousevasta pohjaviivasta. Tämä vältettiin suuremmalla naftaleenimäärällä. Tosin kolonnin paahtaminen voisi ehkä myös siistiä

pohjaviivaa. Paahtamista ehdittiin työn mittausvaiheen aikana tehdä vain yhden päivän ajan, joten enempi paahtaminen saattaisi ehkä parantaa tuloksia. Tosin menetelmän parametrit ajautuvat lähelle DB-kolonnin maksimilämpötilaa, joka jo itsessään voi aiheuttaa epäpuhtauksia ja nousua loppupään pohjaviivalle. DB-624 UI -kolonnia vaihtaessa mittaus pysähtyi noin viikoksi, koska gasketti, eli kolonnin ja laitteen välinen eriste, oli huonossa kunnossa, ja laitteeseen pääsi ilmaa, joka näkyi tavallista suurempana typpimääränä laitteen testiajoissa. Gasketti vaihdettiin uuteen ja mittaus jatkui normaalisti. Laitteen toiminnassa ei kolonnin- vaihdosta johtuvien hidastusten lisäksi ollut muita ongelmia. Jos kolonni halutaan vaihtaa opiskelijatöitä varten, laitteen massa kannattaa ajaa alas ennen tunnin alkua. Näin tehtäessä kolonnin vaihtoon menee noin tunti, joka jättää vielä jonkun verran aikaa mittauksille. Opiskelijoille voi olla kiinnostavaa nähdä, miten kolonni vaihdetaan, minkä takia sen tekeminen mittauksen aluksi voisi olla ihan hyvä idea.

HS-GC-MS-laitteisto on suurilta osin automatisoitu, joten sen käyttäminen on helppoa. Lopullisista mittausohjeista näkee, että näytteenkäsittelyä on vähän, varsinkin vesinäytteiden kanssa. Yksi vesinäytteisiin liittyvä ongelma oli yhden ajon aikana esiintynyt ylipaine näytepullossa. Näyte kokeiltiin ajaa tavallista kuumemmalla HS:n uunin lämpötilalla (150 °C). Vesi pullossa höyrystyi ja aiheutti ylipaineen, joka pysäytti koko mittauksen, koska laite luki sen vuodoksi. Tämän jälkeen näytteet ajettiin jatkossa aina matalammilla HS:n lämpötiloilla. Koska mittauksesta ei syntynyt tuloksia, sitä ei käyty läpi raportin mittausosiossa. Tämän lisäksi injektioon liittyviä ongelmia ei juuri ollut.

Aineiden kiehumispisteiden perusteella niiden olisi pitänyt eluoida järjestyksessä: dikloorimetaani, kloroformi, 1,1,1-trikloorietaani, hiilitetrakloridi, bentseeni, tolueni, 1,2-dibromietaani, ksyleeni, naftaleeni. Tämä piti paikkansa HP-5MS-kolonnilla, mutta DB-624 UI -kolonnilla hiilitetrakloridi ja bentseeni eluivat eri järjestyksessä. Koska menetelmä ja kantajakaasu on sama molemmille kolonneille, järjestyksen muutos johtuu luultavimmin kolonnien ominaisuuksista. Kolonnien faasin paksuus ja poolisuus saattavat vaikuttaa aineiden erottuvuuteen. Toinen retentioaikaan liittyvä muutos on nähtävissä ensimmäisten ja viimeisten HP-mittausten välillä. Esimerkiksi toluenin retentioaika on ensimmäisissä mittauksissa 5,535 minuuttia (ks. Liite 1) ja viimeisimmissä 5,021 minuuttia (ks. Liite 11). Tämä

sama muutos nähdään kaikissa aineissa. Vaikka aineiden järjestys on sama, yli puolen minuutin muutos retentioajassa on huomattava. Tämä saattaa johtua aiemmin mainitusta gasketin vaihdosta. Gasketti on eriste ja sen huono kunto saattaa aiheuttaa vähäistä vuotoa systeemissä. Tämä vuoto saattaa sitten vaikuttaa retentioaikoihin.

Tässä opinnäytetyössä tuotettuja ohjeita on tarkoitus käyttää tulevaisuudessa opiskelijatöiden suunnitteluun ja toteutukseen. Tietysti ohjeita pitää vielä testata, sillä tämän työn aikana syvällistä testausta ei tehty. Työssä ei testattu esimerkiksi maanäytteen säilymistä muuten kuin pinnallisesti. Tämän lisäksi työn perusteella tuotetut ohjeet ovat kvalitatiiviselle mittaukselle. Jos tulevaisuudessa halutaan tehdä kvantitatiivisia mittauksia, voidaan näitä ohjeita ehkä jatkojalostaa. Yleisesti ottaen ohjeet tulevat olemaan ainakin siltä osalta hyödyllisiä, että niiden perusteella voidaan tuottaa lisää mittauksia Tampereen ammattikorkeakoulun HS-GC-MS-laitteistolle. Laitteistoa on hyvä käyttää ihan laitteiston kunnonkin kannalta, mutta tärkeää on myös opiskelijoiden kyky käyttää GC-MS-laitteistoa, joka kuitenkin on yleinen nykylaboratorioissa.

LÄHTEET

- A 8.7.1993/677. Valtioneuvoston päätös täysin halogenoitujen kloorifluorihilivety-yhdisteiden, 1,1,1-trikloorietaanin sekä tetrakloorimetaanin käytön ja maahan tuonnin rajoittamisesta. Viitattu 16.10.2023. <https://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/1993/19930677> ajantasainen lainsäädäntö.
- Agilent Technologies. 2011. Agilent 7679A Headspace Sampler, Advanced Operation. Manuaali. <https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/Pub-lic/G4556-90016.pdf>
- Alén, R. 2009. Kokoelma orgaanisia yhdisteitä: Ominaisuudet ja käyttökohteet. Helsinki: Raimo Alén ja Consalen Consulting.
- Anderson, J. L., ed. 2015. Analytical Separation Science. Weinheim, Germany: John Wiley & Sons, Inc.
- Chopra S. & Ridley L. & Murphy W.R. & Sowa J.R. Jr & Bentivegna C.S. & Snow N.H. Quantitative Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons at Part Per Billion Levels in Fish Oil by Headspace Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry (HS-SPME-GC-MS). J Chromatogr Sci. 2019 Jan 1;57(1):87-92. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30215681/>
- David, E. & Niculescu, V.-C. 2021. Volatile Organic Compounds (VOCs) as Environmental Pollutants: Occurrence and Mitigation Using Nanomaterials. Int. J. Environ. Res. Public Health 2021, 18, 13147. <https://doi.org/10.3390/ijerph182413147>
- DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft. 2016. Dichloromethane [MAK Value Documentation, 2015]. The MAK Collection for Occupational Health and Safety. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. <http://dx.doi.org/10.1002/3527600418.mb7509e5916>
- Dorgerloh U. & Becker R. & Nehls I. 2018. Volatile Hydrocarbons in Contaminated Soil: Robustness of Fractional Quantification Using Headspace Gas Chromatography-Mass-Spectrometry, Soil and Sediment Contamination: An International Journal. 27:1, 1-12. <https://doi.org/10.1080/15320383.2018.1418287>
- Ettre, L. S. & Hinshaw, J.V. 2008. Chapters in the Evolution of Chromatography. London: Imperial College Press.
- Harper, D. N.d. Etymology of halogen. Online Etymology Dictionary. Luettu 16.10. 2023. <https://www.etymonline.com/word/halogen>
- Hofmann, A. W. 1855. On Insolinic Acid. Proceedings of the Royal Society. 8: 1–3. <https://royalsocietypublishing.org/doi/pdf/10.1098/rspl.1856.0002>
- Hübschmann, H-J. 2015. Handbook of GC-MS: Fundamentals and Applications. Third edition. Weinheim, Germany: Wiley-VCH.

IUPAC. 1997. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford. Online version (2019-) created by S. J. Chalk. ISBN 0-9678550-9-8. <https://doi.org/10.1351/goldbook>.

Jacq, K. & David, F. & Sandra, P. 2008. Analysis of Volatile Organic Compounds in Water Using Static Headspace-GC/MS. Agilent Technologies, Inc.

Kidd, J. XVI. 1821. Observations on naphthaline, a peculiar substance resembling a concrete essential oil, which is apparently produced during the decomposition of coal tar, by exposure to a red heat. <https://royalsocietypublishing.org/doi/pdf/10.1098/rstl.1821.0017>

Kitson, F. G. & Larsen, B. S. & McEwen, C. N. 1996. Gas Chromatography and Mass Spectrometry a Practical Guide. San Diego: Academic Press.

Lee, D. & Cojocariu, C. 2020. A consolidated method for the analysis of VOCs in soil by HS-GC-MS in analytical testing laboratories. ThermoFisher Scientific.

McMurry, J. 2011. Fundamental of Organic Chemistry. Brooks/Cole Cengage Learning.

McNair, H. M. & Miller, J. M. & Snow, N. H. 2019. Basic Gas Chromatography (3rd Edition). 3rd ed. Newark: John Wiley & Sons.

Metodi 5021A. 2014. VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS IN VARIOUS SAMPLE MATRICES USING EQUILIBRIUM HEADSPACE ANALYSIS. SW-846 Update V.

Metodi 8260D. 2017. Volatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. SW-846 Update VI.

National Center for Biotechnology Information. 2023a. PubChem Compound Summary for CID 6278, 1,1,1-Trichloroethane. Luettu 6.11. 2023. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1_1_1-Trichloroethane.

National Center for Biotechnology Information. 2023b. PubChem Compound Summary for CID 7839, 1,2-Dibromoethane. Luettu 16.10.2023 https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1_2-Dibromoethane

Payne, J.P. 2002. The criminal use of chloroform. Association of Anaesthetics. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2044.1998.528-az0572.x>

Poole, C. F. 2012. Gas Chromatography. 1st ed. Amsterdam, Elsevier.

Rosberg, M. & Lendle, W. & Pfeleiderer, G. & Tögel, A. & Dreher, E-L. & Langer, E. & Rassaerts, H. & Kleinschmidt, P. & Strack, H. & Cook, R. & Beck, U. & Lipper, K-A. & Torkelson, T.R. & Löser, E. & Beutel, K.K. & Mann, T. 2006. "Chlorinated Hydrocarbons". Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Weinheim: Wiley-VCH. https://doi.org/10.1002%2F14356007.a06_233.pub2

Sparkman, O. D. & Penton, Z. & Kitson, F. G. 2011. Gas Chromatography and Mass Spectrometry a Practical Guide. 2nd ed. Boston: Elsevier.

Speight, J. G. 2017. Environmental Organic Chemistry for Engineers. 1st edition. Amsterdam, Netherlands: Elsevier.

Thacker, J. & Hildenbrand, Z.L. & Fontenot, B.E. & Carlton, D. Jr. 2015. Analysis of groundwater quality using GC-MS, HS-GC-FID, TOC/TN analysis, ICP-OES, and a multi-parameter probe in a complementary fashion. https://www.researchgate.net/publication/340772022_Analysis_of_groundwater_quality_using_GC-MS_HS-GC-FID_TOCTN_analysis_ICP-OES_and_a_multi-parameter_probe_in_a_complementary_fashion

Työterveyslaitos. 2022a. OVA-ohjeet: Bentseeni. Viimeksi päivitetty 21.4.2022. <https://ova.ttl.fi/bentseeni>

Työterveyslaitos. 2022b. OVA-ohjeet: Hiilitetrakloridi. Viimeksi päivitetty 12.8.2022. <https://ova.ttl.fi/hiilitetrakloridi>

Työterveyslaitos. 2022c. OVA-ohjeet: Ksyleeni. Viimeksi päivitetty 12.8.2022. <https://ova.ttl.fi/ksyleeni>

Työterveyslaitos. 2022d. OVA-ohjeet: Tolueeni. Viimeksi päivitetty 12.8.2022. <https://ova.ttl.fi/tolueeni>

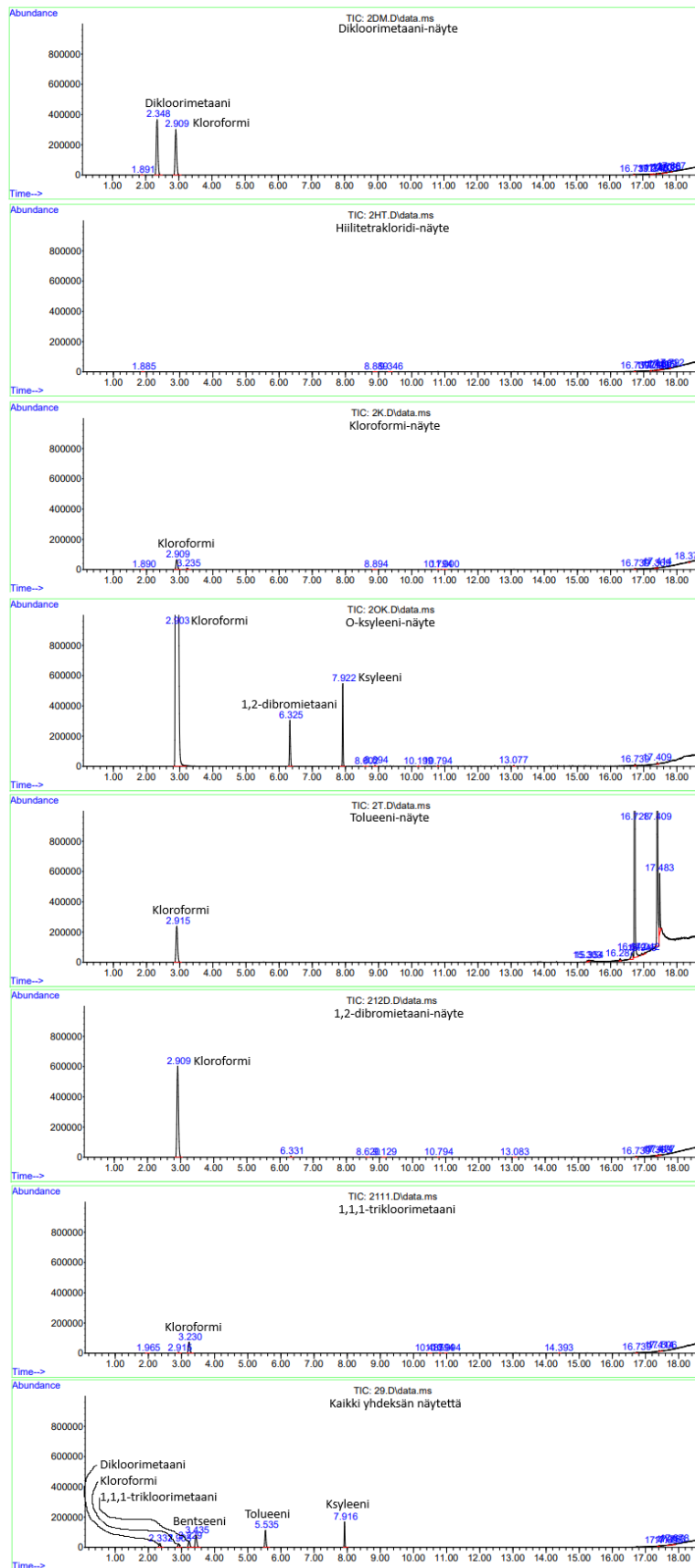
VWR. 2023. Käyttöturvallisuustiedote. Metyleenikloridi GPR RECTAPUR® Stabilized with about 0,002 % of 2-methyl-2-butene. Luettu 16.10.2023. https://fi.vwr.com/assetsvc/asset/fi_FI/id/7902258/contents

Yadav, R. & Pandey, P. 2017. A Review on Volatile Organic Compounds (VOCs) as Environmental Pollutants: Fate and Distribution. International Journal of Plant and Environment Vol. 4, No. 2 (July 2018), 14-26. <https://pdfs.semanticscholar.org/4457/79b95efcc61cb8f24a0ce561935889d814f6.pdf>

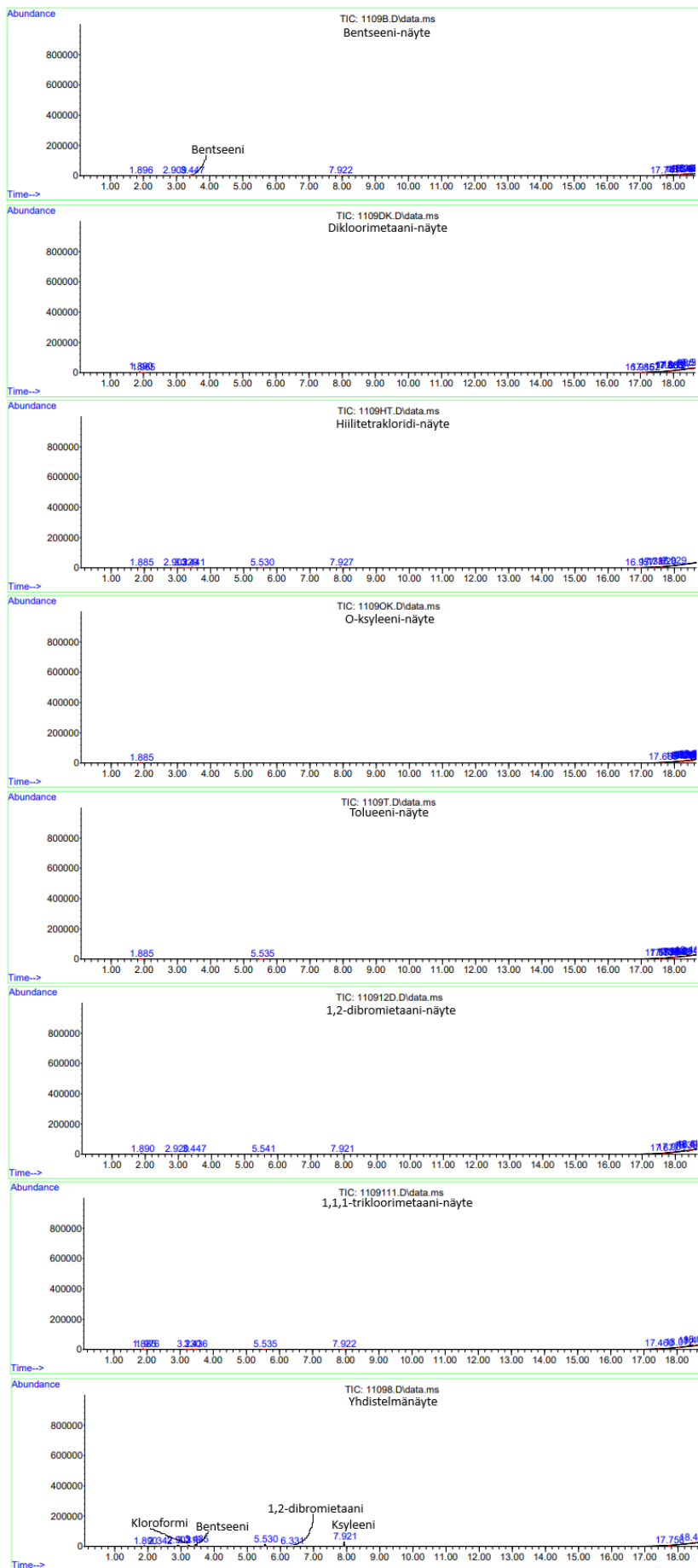
Zhao fa, H. & Kira, Y. 2017. Determination of Volatile Organic Compounds in Soils By HS-GC/MS. PerkinElmer, Inc.

LIITTEET

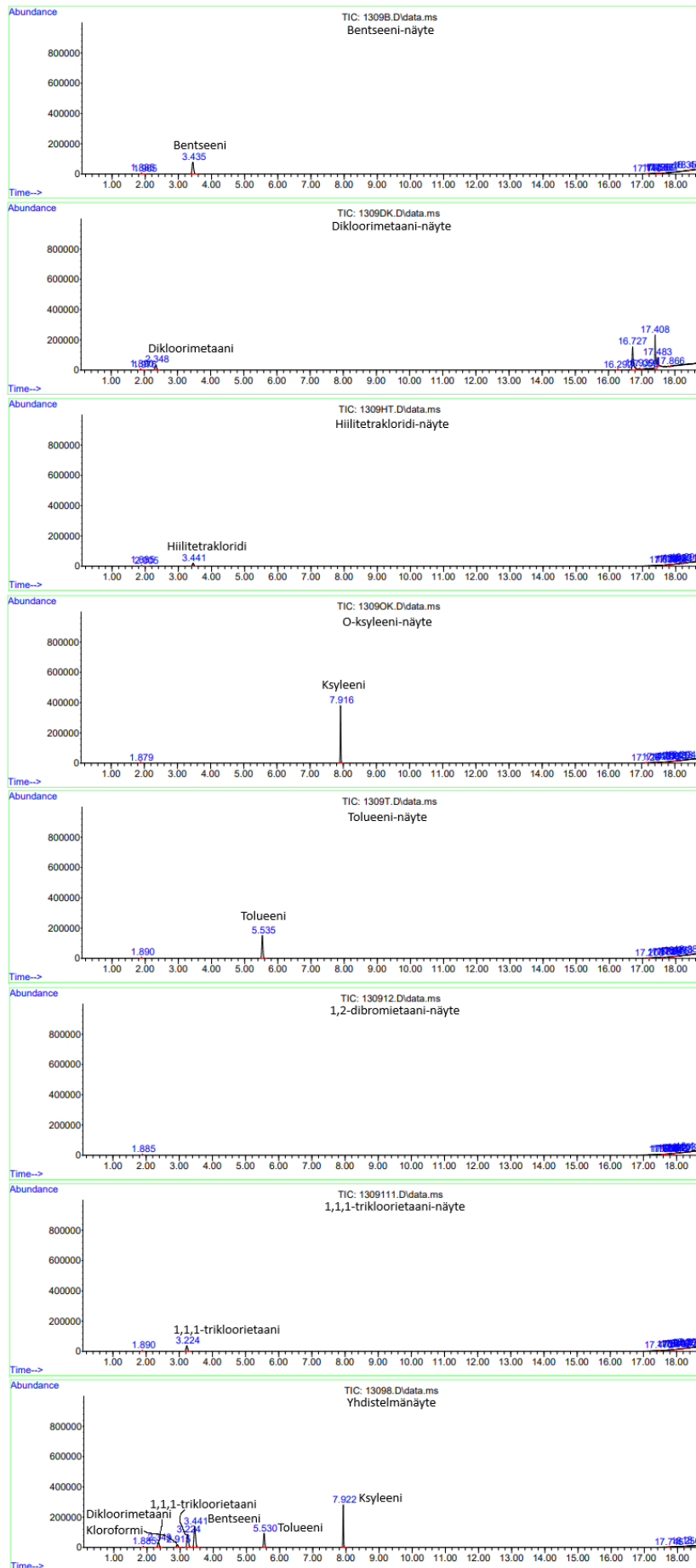
Liite 1. Kuvio 8. Ensimmäinen mittaus



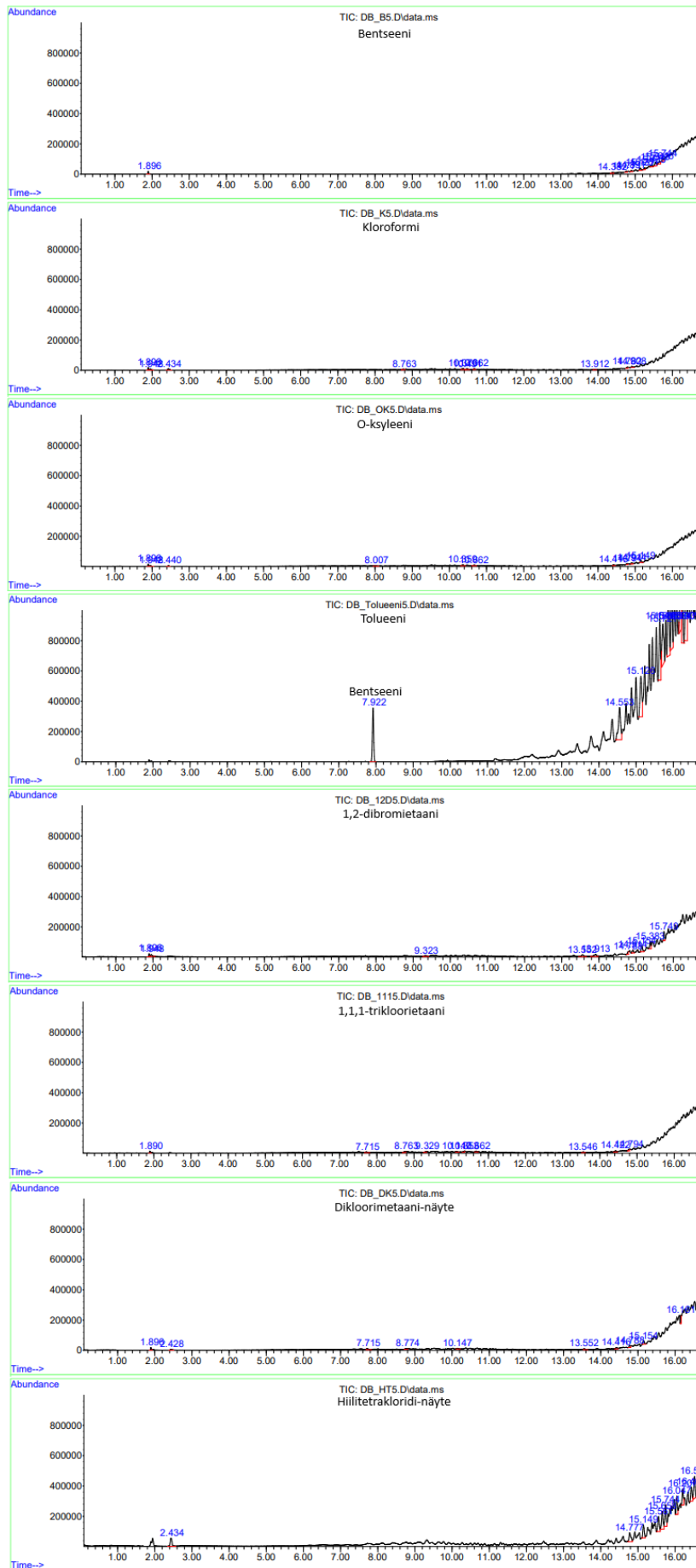
Liite 2. Kuvio 9. Toinen ainemittaus



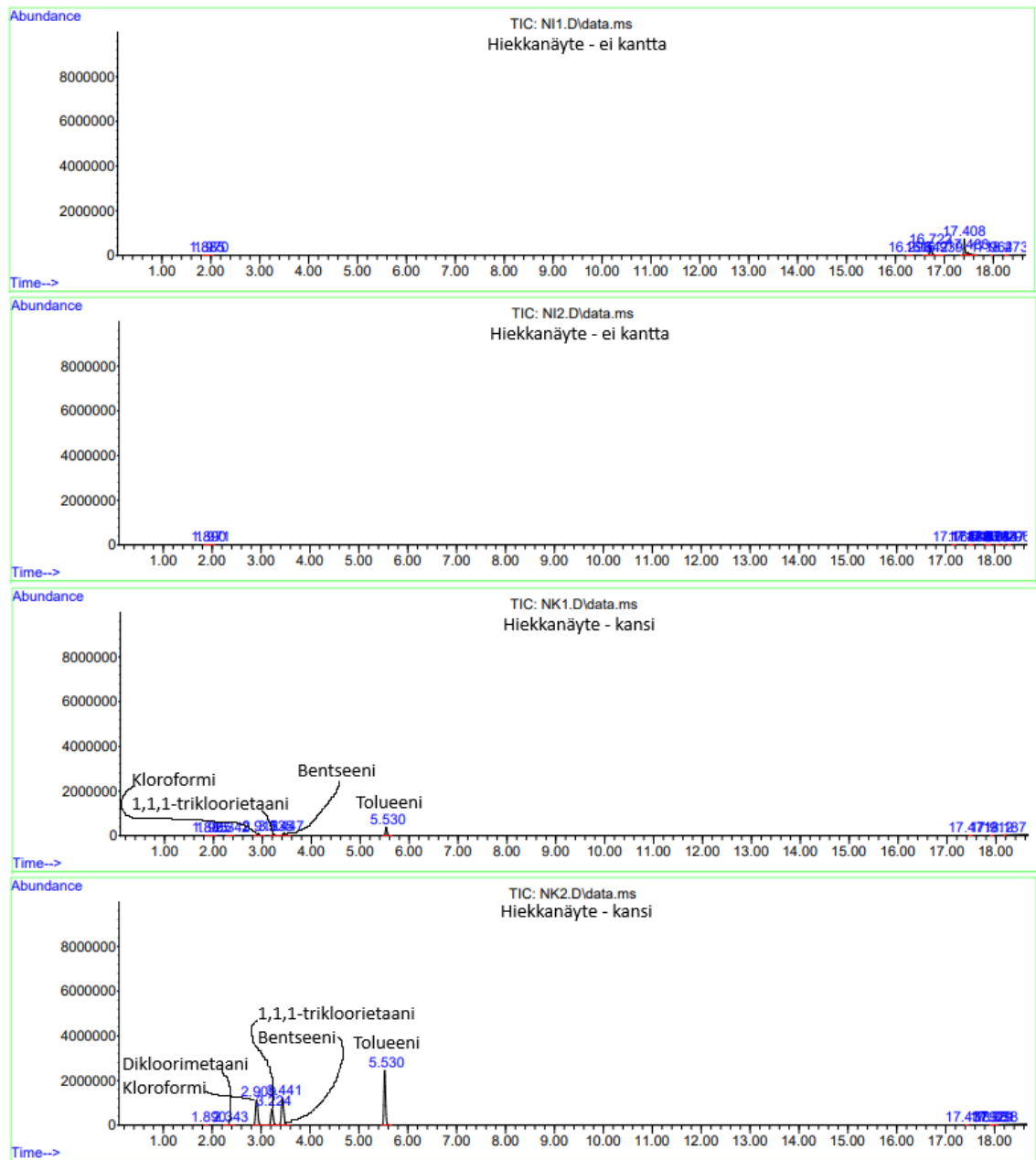
Liite 3. Kuvio 10. Kolmas ainemittaus



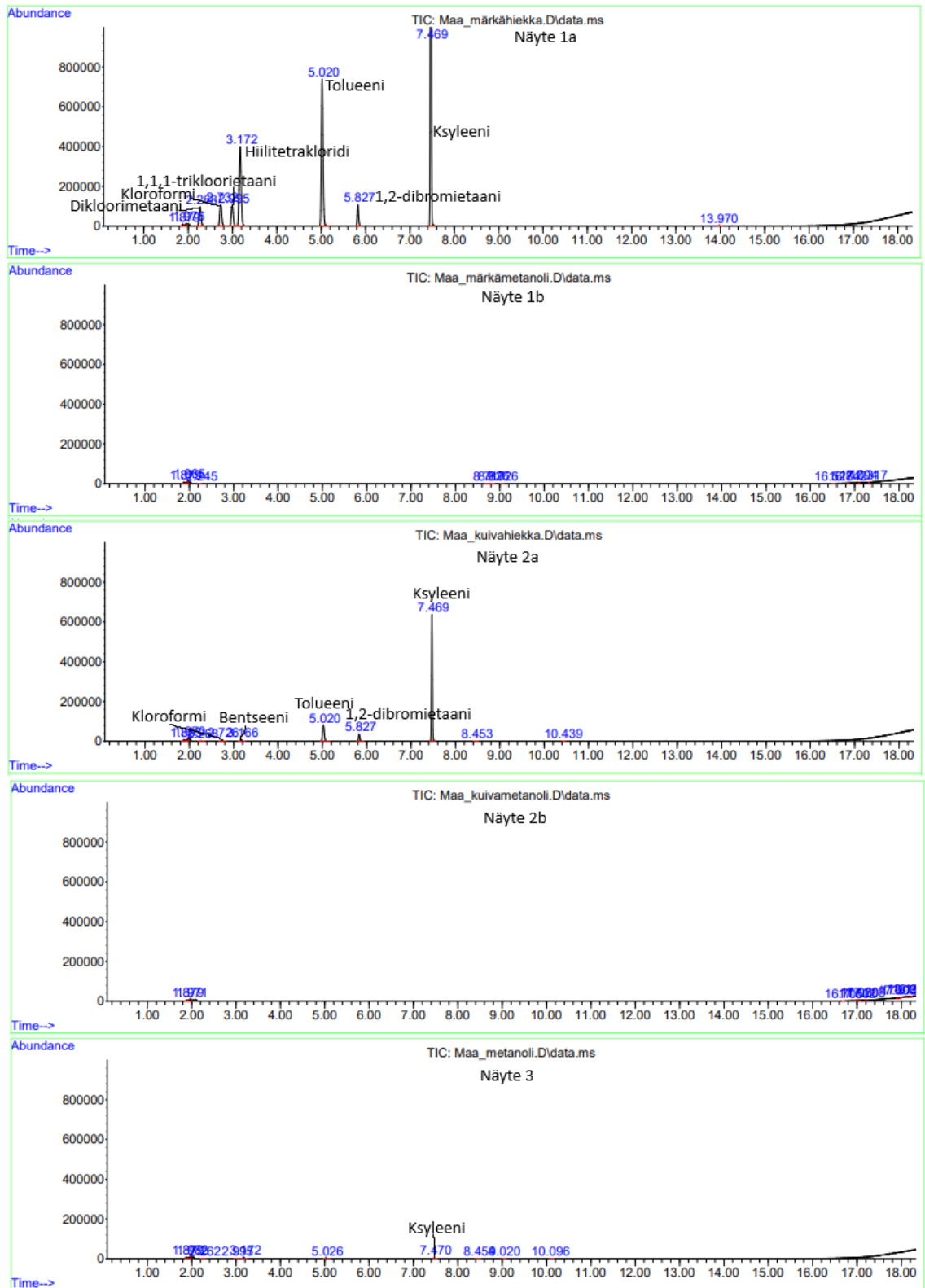
Liite 4. Kuvio 11. Ensimmäinen DB-624 UI -mittaus



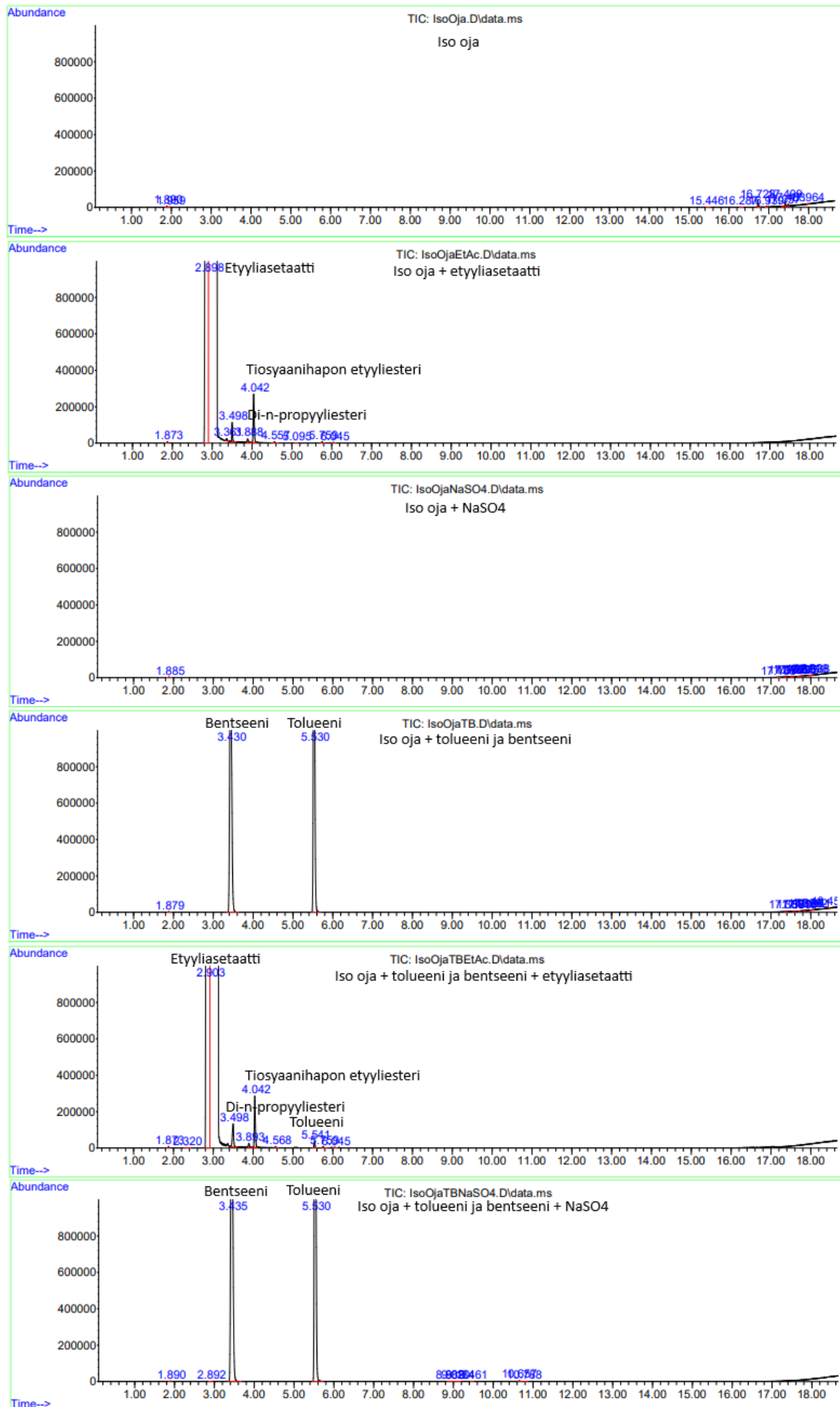
Liite 6. Kuvio 13. Ensimmäiset hiekkänäytteet



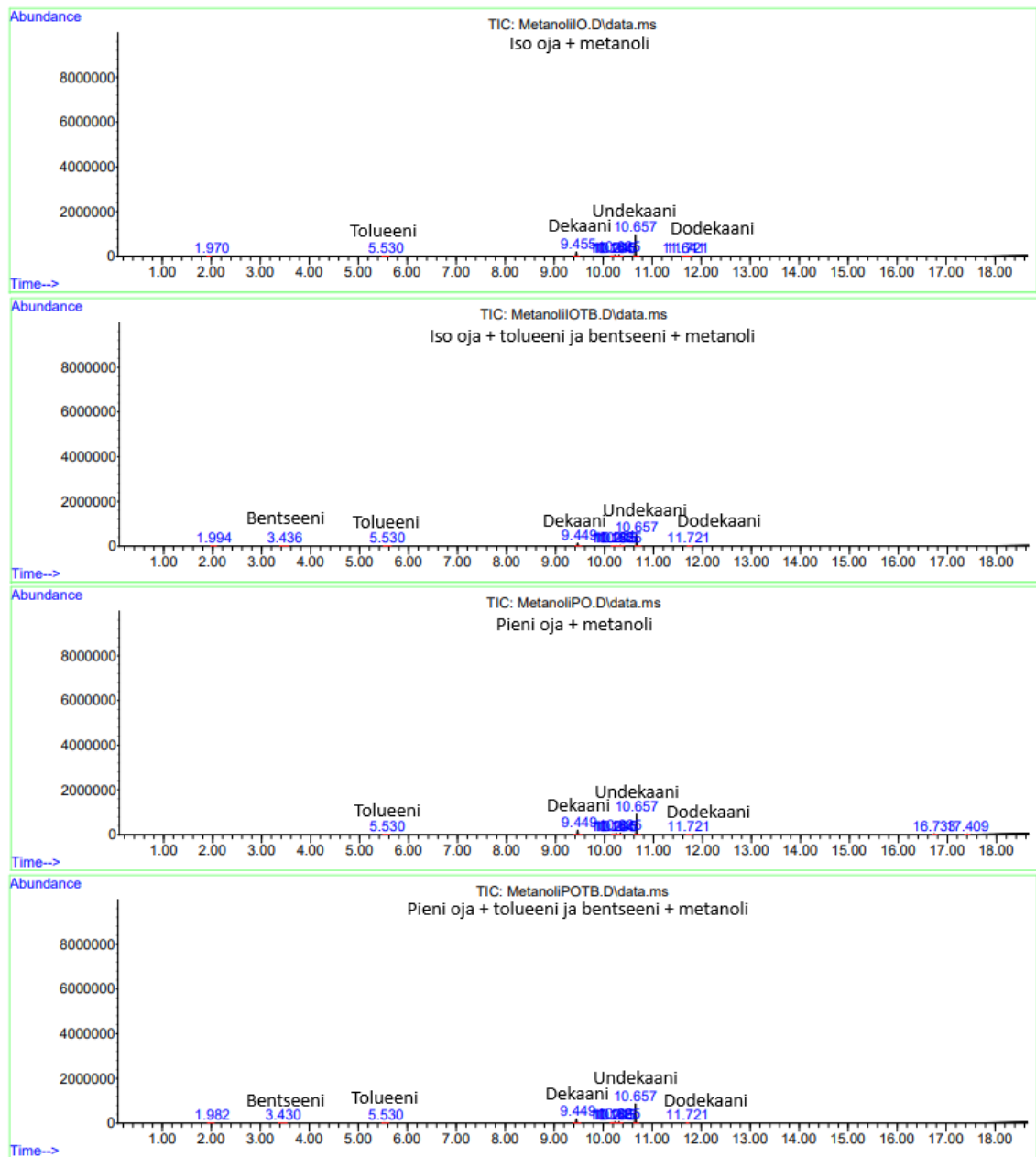
Liite 7. Kuvio 14. Toinen maanäytemittaus



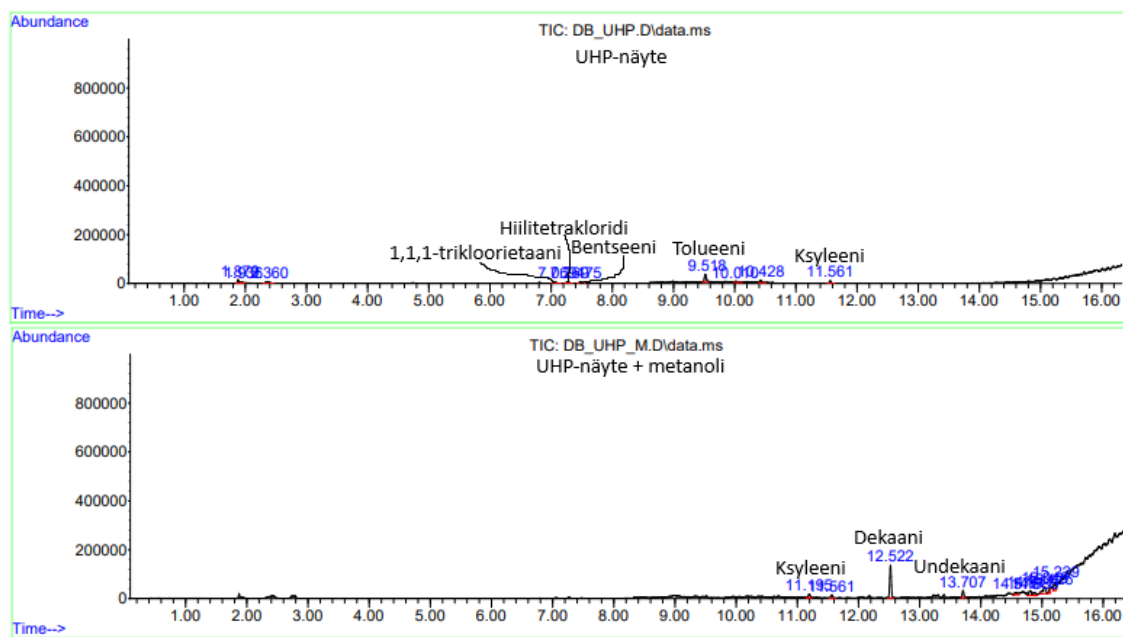
Liite 8. Kuvio 15. Ojavesimittaukset



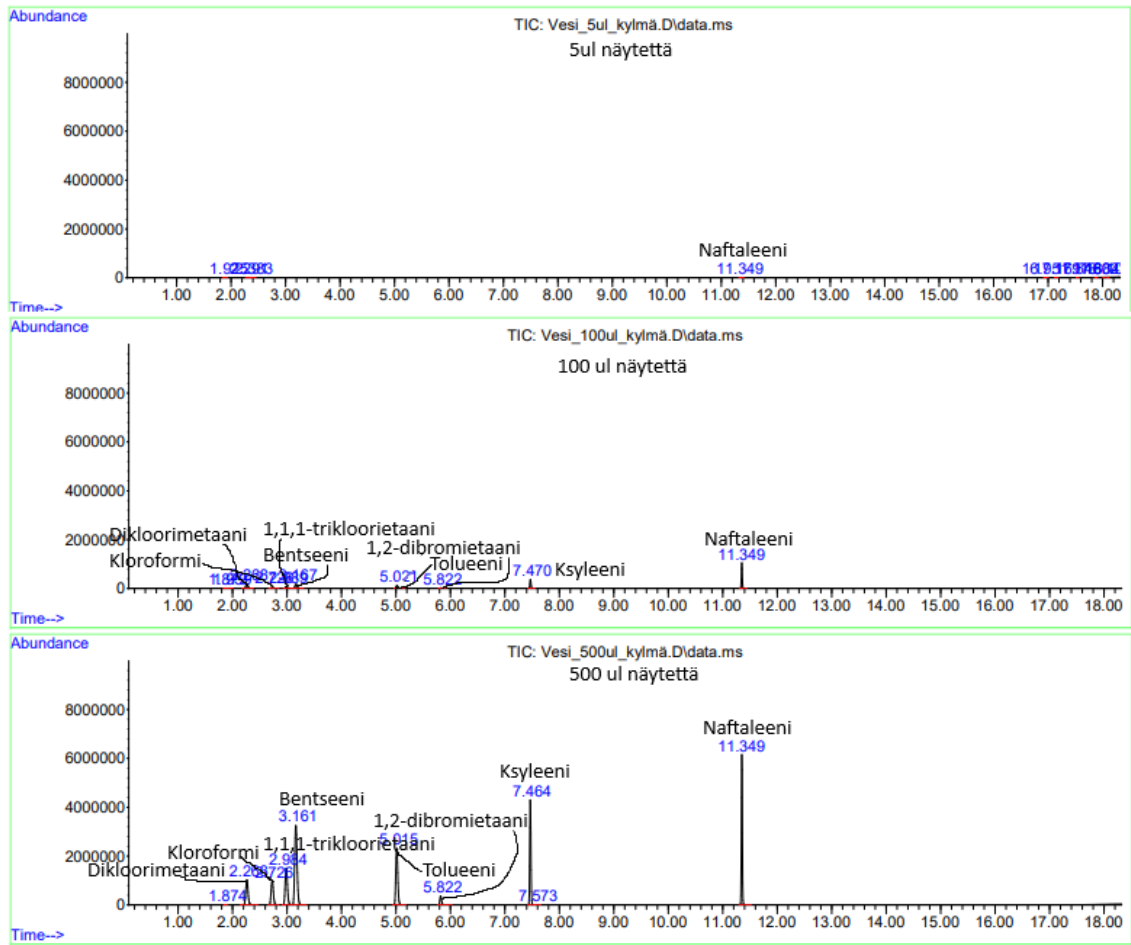
Liite 9. Kuvio 16. Metanolimittaukset



Liite 10. Kuvio 17. UHP-näytteet DB-624 UI -kolonnilla



Liite 11. Kuvio 18. Viimeiset vesimittaukset



Liite12.VOC-näyteenteko-ohjeet

Vesinäytteen teko VOC-mittaustyöhön

HUOMIO! Tämä ohje on todettu toimivaksi seuraavilla aineilla: 1,2-dibromietaani, naftaleeni, dikloorimetaani, kloroformi, 1,1,1-trikloorimetaani, bentseeni, tolueni, ksyleeni, hiilitetrakloridi. Osalle näistä aineista on voimassa yksi tai useampi seuraavista varoitusmerkeistä:



Vakava terveysvaara voimassa kaikille näyteaineille.

Ohjeita seurattaessa, riippuen käytettävistä aineista, täytyy KTT:t ja purkin kyljessä olevat ohjeet huomioida!

- Mittaa ensimmäiset välilaimennokset metanoliin. Lopullisiin näytteisiin haluttavien aineiden mukaan, pipetoinnit ovat seuraavat:

Bentseeni, tolueni, o-ksyleeni	6 mikrolitraa, 20 milliin
Dikloorimetaani	9 mikrolitraa, 20 milliin
1,1,1-trikloorietaani	4 mikrolitraa, 20 milliin
1,2-dibromietaani	2 mikrolitraa, 20 milliin
Hiilitetrakloridi, kloroformi	3 mikrolitraa, 20 milliin
Naftaleeni	0,02 g, 20 milliin

Välilaimennokset säilyvät ainakin viikon avaamattomina.

- Tee vesinäytettä tarpeen mukaan. Yhteen opiskelijänäytteeseen tarvitaan vettä noin 5 millilitraa. 20 millilitran vesinäyte tehdään pipetoimalla välilaimennoksista näytteeseen haluttavia aineita seuraavan taulukon mukaan. Jos tarvitaan isompi näyte, mittaa harkiten enemmän aineita.

1,2-dibromietaani	300 µl
Naftaleeni	30–50 µl
Dikloorimetaani	100 µl
Kloroformi	100–200 µl
1,1,1-trikloorimetaani	100–200 µl
Bentseeni	100 µl
Tolueni	100 µl
Ksyleeni	100 µl
Hiilitetrakloridi	100 µl

Vesinäytteet säilyvät jääkaapissa kunnolla suljettuna ainakin pari päivää. Hiilitetrakloridia ja bentseeniä ei voi laittaa samaan näytteeseen, jos käytetään HP-5MS-kolonnia!

- Puhtaiden aineiden hävittäminen onnistuu haihduttamalla. Hiilitetrakloridi ja kloroformi saattavat tuottaa myrkyllisiä höyryjä haihtuessaan, joten haihduttaminen pitää tehdä vetokaapin takaseinällä. Välilaimennokset voi myös haihduttaa, mutta on periaatteessa helpompi kaataa ne jäteastiaan. Vesinäytteen voi kaataa jäteastiaan.

Maanäytteen teko VOC-mittaustyöhön

HUOMIO! Tämä ohje on todettu toimivaksi seuraavilla aineilla: 1,2-dibromietaani, naftaleeni, dikloorimetaani, kloroformi, 1,1,1-trikloorimetaani, bentseeni, tolueni, ksyleeni, hiilitetrakloridi. Osalle näistä aineista on voimassa yksi tai useampi seuraavista varoitusmerkeistä:



Vakava terveysvaara voimassa kaikille näyteaineille.

Ohjeita seurattaessa, riippuen käytettävistä aineista, täytyy KTT:t ja purkin kyljessä olevat ohjeet huomioida!

1. Mittaa kvartsihiekkaa tarvittava määrä. Yksi opiskelijanäyte on noin 2 g eli mittaa hieman yli tarvittavan näytemäärän (esim. 20 näytettä on 40 g hiekkaa, eli mittaa vaikka 45 g). Laita mitattu hiekka kannelliseen rasiaan.
2. Tee yhteisliuos haluttavista aineista metanoliin seuraavan taulukon perusteella. Liuosta tarvitaan tarpeeksi peittämään rasiassa oleva hiekka ja jättämään metanolikerros hiekan päälle. Jos hiekkaan tarvitaan enemmän kuin 25 ml liuosta, voidaan pipetointien määriä kasvattaa. Naftaleenia 0,02 g, 20 millilitraan metanolia ja ainakin 3 ml tätä liuosta lopulliseen liuokseen.

Bentseeni, tolueni, o-ksyleeni	6 mikrolitraa, 25 millilitraan
Dikloorimetaani	9 mikrolitraa, 25 millilitraan
1,1,1-trikloorietaani	4 mikrolitraa, 25 millilitraan
1,2-dibromietaani	2 mikrolitraa, 25 millilitraan
Hiilitetrakloridi, kloroformi	3 mikrolitraa, 25 millilitraan

Hiilitetrakloridia ja bentseeniä ei voi laittaa samaan näytteeseen, jos käytetään HP-5MS-kolonnia!

3. Kaada yllä tehty liuos hiekan päälle rasiaan ja sulje kansi hyvin. Näytettä kannattaa hieman heiluttaa, mutta ei saa ravistaa. Jätä tekeytymään jääkaappiin ainakin yön yli. Näyte säilyy ainakin viikon jääkaapissa, kunhan se suljetaan näytteenoton jälkeen mahdollisimman nopeasti.
4. Puhtaiden aineiden hävittäminen tehdään haihduttamalla. Hiilitetrakloridi ja kloroformi voivat haihtuessaan tuottaa myrkyllisiä kaasuja, joten ne pitää haihduttaa vetokaapin peräseinällä. Yhdistysliuos voidaan myös hävittää haihduttamalla, mutta sitä ei pitäisi periaatteessa jäädä yli, ellei pakasterasia näytä täytyvän liiaksi. Kun hiekanäyte halutaan hävittää, se pitää jättää haihtumaan vetokaappiin ainakin pari tunniksi. Kun hiekka on kuivaa, se voidaan kaapia rasiasta ja laittaa pieneen muovipussiin. Muovipussi voidaan heittää roskakoriin. Pakasterasian pohjalle luultavasti jää hieman hiekkaa, joka voidaan huuhtoa vedellä pois.

Liite 13. Ohje opiskelijalle

VOC-yhdisteiden mittaus HS-GC-MS-laitteistolla

Tarvittavat aineet:

- UHP-vesi
- Fosforihappo
- NaCl

Kolonni: Intuvo DB-624 UI *tai* Intuvo HP-5MS

Maanäyte:

1. Tee matriksin modifikaatioliuos. Mittaa tarvittava määrä vettä, yhteen näytteeseen tarvitaan 5 ml, eli tee hieman enemmän kuin tarvitset. Älä vielä täytä mittapulloa merkkiin, vaan säädä pH 2,0:aan fosforihapolla. Happoa tarvitsee vain pari tippaa, joten ole varovainen! Sitten lisää veteen NaCl, kunnes liuos on kylläinen. Esimerkiksi, 50 millilitraan vettä tarvitaan 17,95 g suolaa. Liuos on kylläinen, kun joitain suolakiteitä näkyy vielä liuoksessa sekoituksen jälkeen. Täytä pullo merkkiin.
2. Ota pakasterasiassa olevaa hiekkasohjoa, yhteen näytteeseen noin 2 g. Laita näyte vialiin. Jos näytteen saaminen vialiin on vaikeaa, voit odottaa, että osa metanolista haihtuu. Älä anna näytteen kuivua kokonaan, sillä tämä pilaa näytteen!
3. Kun näyte on vialissa, lisää mahdollisimman pian 5 ml matriksin modifikaatioliuosta. Tämän jälkeen viali voidaan sulkea ja näyte ajaa.
4. Ajo tehdään seuraavilla parametreillä:

Jakoinjektio	35:1					
Injektori	275°C					
Inletti	250°C					
HS Transfer line	150°C					
HS Neula	100°C					
HS Uuni	75°C					
Tasapainotusaika	~30 min					
Lämpötilaohjelma						
Aloitus	Pito	Nosto	Väli	Nosto	Lopetus	Pito
40°C	4 min	15°C/min	180°C	30°C/min	300°C*	1 min

*Jos ajo tehdään DB-624 UI -kolonnilla, lopetuslämpötilan pitää olla 230°C

5. Etsi valmiista kromatogrammista aineiden piikit ja tunnista ne laitteen avulla. Ovatko löytämäsi aineet oikeita?
6. Maanäyte hävitetään kaatamalla nestekerros jäteastiaan ja huuhtomalla hiekka vedellä näyteastiaan. Tämän jälkeen viali huuhdotaan vedellä erilliseen jäteastiaan niin monta kertaa, että kaikki hiekka poistuu vialista. Matriksin modifikaatioliuoksen voi kaataa vetokaapin viemäriin.

Vesinäyte:

1. Mittaa 5 ml vesinäytettä vialiin ja sulje mahdollisimman nopeasti. Muista myös sulkea vesinäytteen pullo mahdollisimman nopeasti, jotta aineita ei pääse haihtumaan.
2. Aja näytteet käyttäen samoja parametrejä kuin maanäyteajossa. Voit ajaa näytteet jopa samalla kertaa, jos haluat. Ensimmäisen näytteen ajo kestää noin tunnin ja muiden noin 40 min/näyte. DB-624 UI -kolonni ajaa hieman nopeammin kuin HP-5MS.
3. Kun ajo loppuu, ota löydetyt VOCit muistiin. Ovatko löytämäsi aineet oikeat?
4. Vesinäyte kaadetaan jäteastiaan.

HUOMIO! Mitattavat VOCit ovat terveydelle vaarallisia! Vaikka niitä on maa- ja vesinäytteissä vähän, ole silti varovainen näytteitä käsitellessäsi!