

Opinnäytetyö (AMK)

Bio- ja elintarviketekniikka

Laboratoriotekniikka

2015

Riina Suominen

# SEDIMENTTIEN FOSFORI- FRAKTIOINTIMENETELMÄT JA NIIDEN KÄYTETTÄVYYS



TURUN AMMATTIKORKEAKOULU  
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

OPINNÄYTETYÖ (AMK) | TIIVISTELMÄ

TURUN AMMATTIKORKEAKOULU

Bio- ja elintarviketekniikka | Laboratoriotekniikka

2015 | 36 sivua

Ohjaajat:

Hanna Hänninen, opettaja, Turun ammattikorkeakoulu

Antti Kaseva, Turun ammattikorkeakoulu

Riina Suominen

## SEDIMENTTIEN FOSFORIFRAKTIONTIMENETELMÄT JA NIIDEN KÄYTETTÄVYYS

Opinnäytetyön tavoitteena oli sedimenttien fosforyyhdisteiden fraktiointiin ja uuttoon sopivien menetelmien tutkiminen. Haluttiin löytää menetelmä, jonka avulla pystytään arvioimaan sedimentistä mahdollisesti vapautuvan fosforin määrää. Erityisen kiinnostuneita oltiin leville käyttökelpoisista fosforyyhdisteistä. Lisäksi tarkoituksena oli tutkia näytteiden säilytyksen vaikutusta mittaus tuloksiin vertaamalla vanhojen, pakastettujen näytteiden tuloksia uusien, tuoreiden näytteiden analyysituloksiin.

Levät eivät pysty käyttämään kaikkia fosforyyhdisteitä, joten tutkittaessa rehevöitymistä, antaa leville käyttökelpoisen fosforin analysointi paremman kuvan tilanteesta kuin pelkän kokonaisfosforin määrittäminen. Fraktiointi aloitetaan yleensä laimealla uuttoliuoksella, jolla uutetaan liukoisin fosforyyhdiste. Tästä edetään vaiheittain väkevämpiin uuttoliuoksiin, jotka liuottavat sitoutuneimmatkin yhdisteet.

Tässä työssä käytettiin Jensenin ja Thamdrupin muokkausta Psennerin menetelmästä, jota ovat edelleen muokanneet Lukkari, Hartikainen ja Leivuori. Uutoksista määritettiin kokonaisfosforipitoisuus käyttämällä FIA:a eli Flow Injection Analysis-laitetta. Opinnäytetyö tehtiin Turun ammattikorkeakoulun Vesitekniikan tutkimusryhmälle ja saatuja tuloksia hyödynnetään Alimitoitettujen kosteikkojen toimivuuden kehittämishankkeessa.

Testatulla fraktiointimenetelmällä saatujen tulosten tulkinta vaatii laajaa perehtymistä fosforin erilaisiin yhdisteisiin ja niiden käyttökelpoisuuteen leville.

ASIASANAT:

Fosfori, uutto, rehevöityminen, fraktiointi

BACHELOR'S THESIS | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Biotechnology and Food Technology | Laboratory Technology

2015 | 36 pages

Instructors:

Hanna Hänninen, Lecturer, Turku University of Applied Sciences

Antti Kaseva, Turku University of Applied Sciences

Riina Suominen

## FRACTIONATION METHODS FOR SEDIMENT PHOSPHORUS AND THEIR APPLICABILITY

The objective of this study was to look into existing phosphorus fractionation and extraction methods. The method should be usable for estimating the amount of phosphorus potentially released from the sediment. The special focus was in algal available phosphorus. A further aim was to investigate how the storage of the sediment sample affects the results of the measurements by comparing the results obtained with new and fresh samples to those of old and frozen samples.

Algae cannot consume all the different phosphorus compounds. So when studying eutrophication, analysing the algal available phosphorus content gives a better picture of the situation than analysing only the total phosphorus content. Fractionation usually begins with dilute extractants which extract the most soluble phosphorus compounds. The fractionation proceeds stepwise and the extractants gain strength and dilute the strongly bound phosphorus compounds.

In this study the method used was the Psenner method modified by Jensen and Thamdrup. The method was further modified by Lukkari, Hartikainen and Leivuori. The total phosphorus content was determined by FIA, Flow Injection Analysis. The thesis was commissioned by the TUAS Water engineering research group and the results will be exploited in a project developing the functionality of undersized constructed wetlands.

The interpretation of the results obtained by the chosen fractionation method requires extensive study of the different phosphorus compounds and their availability for algae.

KEYWORDS:

Phosphorus, extraction, eutrophication, fractionation

# SISÄLTÖ

<b>KÄYTETYT LYHENTEET JA SANASTO</b>	<b>6</b>
<b>1 JOHDANTO</b>	<b>7</b>
<b>2 SEDIMENTTIFOSFORI</b>	<b>9</b>
2.1 Kosteikko, laskeutusallas ja sedimentti	9
2.2 Fosfori sedimentissä	10
2.2.1 Fosfori ja rehevöityminen	11
2.2.2 Leville käyttökelpoinen fosfori	12
<b>3 FRAKTIOINTIMENETELMÄT JA NIIDEN VERTAILU</b>	<b>14</b>
3.1 Fosforin fraktiointi ja sen merkitys	14
3.2 Fosforin fraktiointimenetelmät	15
3.2.1 Changin ja Jacksonin menetelmä	16
3.2.2 Hedleyn menetelmä	17
3.2.3 Yksittäisuutot	18
3.3 Menetelmien vertailu	18
3.4 Fraktiointimenetelmän valinta	19
<b>4 MENETELMÄT</b>	<b>22</b>
4.1 Näytteiden kuvaus ja niiden käsittely	22
4.2 Fraktiointi	22
4.3 Fosforianalyysi FIA:lla	23
<b>5 TULOKSET</b>	<b>27</b>
<b>6 LOPPUPÄÄTELMÄT JA POHDINTA</b>	<b>32</b>
6.1 Fraktiointimenetelmän valinta ja käytettävyys	32
6.2 Tulosten luotettavuus	32
6.3 Tulokset	33
6.4 Pohdinta	34
<b>LÄHTEET</b>	<b>35</b>

## LIITTEET

Liite 1. Fosforiutto-ohje

## KUVAT

Kuva 1. Maan fosforivarojen luokittelu biologisen käyttökelpoisuuden mukaan ja poolien välisten reaktioiden nopeudet. (muokattu lähteestä 10 s. 167)	10
Kuva 2. Hedleyn fosforifraktiointimenetelmän vaiheet. <sup>22</sup>	17
Kuva 3. Jensenin ja Thamdrupin muokkaama Psennerin menetelmä. <sup>15</sup>	20
Kuva 4. FIA-laitteisto ja fosforianalyysin lähtötilanne.	24
Kuva 5. Fosforistandardien valmistus analyysiä varten.	25
Kuva 6. Fosforianalyysin standardisuora ja kahden ajon erot.	27
Kuva 7. Fosforianalyysissä valonsironnasta aiheutuva negatiivinen piikki ennen varsinaista piikkiä.	28

## KUVIOT

Kuvio 1. Ero säilytetyn ja tuoreen näytteen välillä, fraktiot 2-5.	31
--	----

## TAULUKOT

Taulukko 1 Changin ja Jacksonin fraktiointimenetelmän vaiheet	16
Taulukko 2 Fosforianalyysin standardien valmistus	25
Taulukko 3 Fraktioiden laimennokset fosforianalyysiä varten	26
Taulukko 4 Sedimenttinäytteestä RAU1 1.6.2015 saadut fosforitulokset mg/kg (tuorepainoa kohti / kuivapainoa kohti)	28
Taulukko 5 Sedimenttinäytteestä RAU1 17.2.2015 saadut fosforitulokset mg/kg (tuorepainoa kohti / kuivapainoa kohti)	29
Taulukko 6 Sedimenttinäytteestä VA2 8.6.2015 saadut fosforitulokset mg/kg (tuorepainoa kohti / kuivapainoa kohti)	30

## KÄYTETYT LYHENTEET JA SANASTO

Desorptio	Irtoaminen
Hydratoituminen	Vesimolekyylien liittyminen ioni-dipolisidoksiin
Hydrolysaatio	Hajoaminen takaisin lähtöaineiksi
Laminaarivirtaus	Pyörteetön virtaus
Levätesti	Menetelmä, jolla arvioidaan leville käyttökelpoisen fosforin määrää
P	Fosfori
Pooli	Varanto, luokka tai ryhmä, johon asioita voidaan jaotella
Readsorptio	Takaisinkiinnittyminen
Redox-potentiaali	Pelkistymisherkkyys, sähköinen potentiaali, joka määrittää nesteessä olevien hapetus- tai pelkistysaineiden määrän
Rehevöityminen	Vesistön perustuotannon kasvu, joka johtuu ravinteiden lisääntymisestä vesistössä
Sedimentaatio	Erosion irrottaman kiintoaineen ja muun aineksen asettumista esimerkiksi vesistön pohjalle ja kerrostumista sedimentiksi

# 1 JOHDANTO

Fosfori on tärkeä ravinne, jota kasvit tarvitsevat kasvaakseen ja elääkseen. Fosfori toimii usein kasvua rajoittavana tekijänä vesistöissä, joten sen lisääntyessä levien ja kasvien kasvu tehostuu. Valuma-alueelta tuleva ylimääräinen fosfori aiheuttaa tämän vuoksi vesistöissä rehevöitymistä.<sup>1</sup> Suomessa vesien-suojeluohjelmat perustuvat usein kokonaisfosforikuorman vähentämiseen. Teolliset ja kunnalliset jätevedet sekä maatalouden päästöt sisältävät useita fosforin eri yhdisteitä, valuma-alueiden vesistöjen levien kyetessä hyödyntämään vain osaa fosforyhdisteistä. Jotta vesistöjen rehevöitymistä voitaisiin tehokkaasti vähentää, tulisi tutkimuksissa keskittyä leville käyttökelpoisiin fosforyhdisteisiin kokonaisfosforin sijaan. Tämän vuoksi on tärkeää selvittää fosforin eri yhdisteiden käyttökelpoisuus ja alkuperä. Fosforin käyttökelpoisuutta kasveille ja leville on arvioitu levätesteillä ja useilla erilaisilla kemiallisilla menetelmillä, mutta menetelmien eroavaisuudet ja niiden soveltaminen eri kohteisiin vaikeuttavat menetelmien hyödyntämistä. Lisäksi ei voida olla varmoja, vastaavatko laboratorio-oloissa saadut tulokset luonnon olosuhteita.<sup>2</sup>

Sedimentit ovat vesistöjen sisäisiä fosforinlähteitä. Fosfori kiertää ekosysteemeissä ja sedimentaatioissa sitä kerrostuu esimerkiksi järven pohjasedimenttiin. Olosuhteiden muuttuessa fosforia voi vapautua sedimentistä takaisin vesistöön ja tämä vaikuttaa vesistön rehevöitymiseen.<sup>1</sup> Opinnäytetyön tavoitteena on tutustua erilaisiin sedimenttifosforin fraktiointimenetelmiin ja valita tarkoitukseen sopiva menetelmä, jonka käytettävyyttä testataan. Lisäksi tarkoituksena oli tutkia miten näytteen säilytys vaikuttaa analyysituloksiin.

Opinnäytetyö tehtiin Turun ammattikorkeakoulun Vesitekniikan tutkimusryhmälle. Tutkimusryhmän toimintaan kuuluu muun muassa vesien suojeluun, vesistöjen laadun seurantaan ja kunnostukseen liittyvien projektien toteutus. Tämän työn tuloksia hyödynnetään Alimitoitettujen kosteikkojen toimivuuden kehittämishankkeessa, jossa tutkitaan alimitoitettujen kosteikkojen ja laskeutusaltaiden vesien suojelullista merkitystä ja sitä miten huoltotoimenpiteet tai niiden tekemättä jättäminen vaikuttavat kosteikkojen toimintaan.<sup>3</sup> Lisäksi tutkimuksen kohte-

na on, voidaanko sedimentin happitilannetta muuttamalla vaikuttaa pohjasedimentin luontaiseen fosforin sitomiskykyyn.<sup>4</sup>



## 2 SEDIMENTTIFOSFORI

### 2.1 Kosteikko, laskeutusallas ja sedimentti

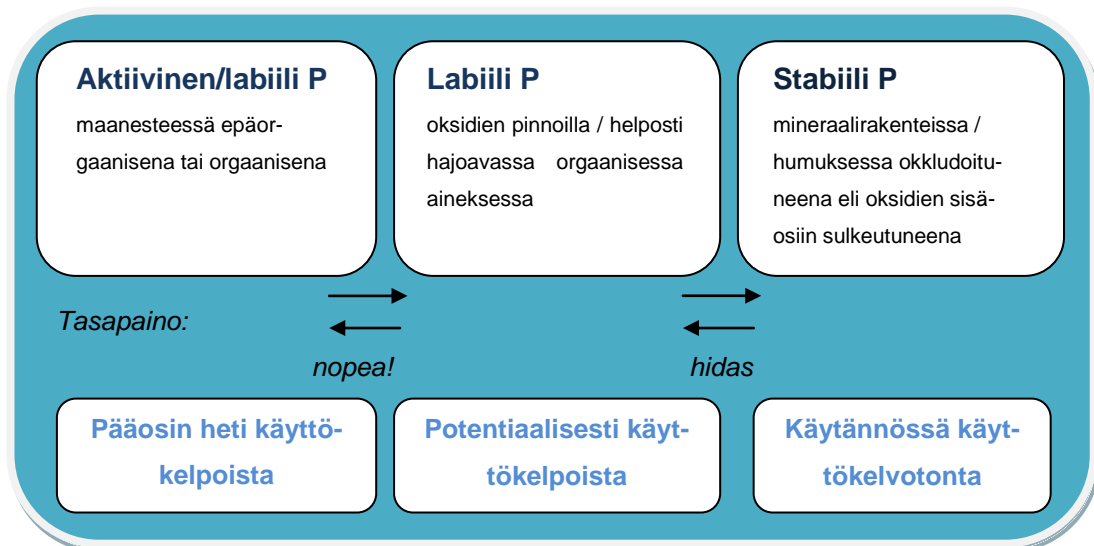
Kosteikkoja käytetään vesiensuojelussa vähentämään vesistökuormitusta. Kosteikko voi olla puron, ojan, joen tai muun vesistön osa, joka on kostea tai pysyy veden alla vuoden ympäri. Kosteikon perustaminen tapahtuu tavallisesti patoamalla tai kaivamalla ja siinä kasvaa vesi- ja kosteikkokasvillisuutta. Laskeutusallas on puron tai ojan yhteyteen tehty vesiallas.<sup>5</sup>

Kosteikoiden ja laskeutusaltaiden tehtävänä on pysäyttää veteen joutunutta kiintoainetta sekä pidättää ja poistaa veteen joutuneita ravinteita, esimerkiksi fosforia. Ne myös lisäävät monimuotoisuutta vesiluonnossa ja elävöittävät maistaa. Kosteikon kasvillisuus hyödyntää veteen liuenneita ravinteita, kuten fosforia ja typpeä. Kasvillisuus ottaa vedessä liukoisena olevaa fosforia suoraan vedestä ja juurien avulla sedimentistä. Kun virtausnopeus kosteikossa hidastuu riittävästi, kiintoaine laskeutuu pohjalle ja siinä olevat ravinteet, etenkin fosfori, varastoituvat kosteikon sedimenttiin. Kosteikot toimivat sitä tehokkaammin, mitä suurempia ne ovat verrattuna niihin kohdistuvan kuormituksen voimakkuuteen ja valuma-alueensa kokoon. Laskeutusaltaaseen halutaan laskeuttaa eroosion mukana irronnutta kiintoainetta. Veden halutaan viipyvän altaassa riittävän kauan, jotta hienojakoisempikin kiintoaine laskeutuu. Laskeutusaltaassa ei yleensä ole kasvillisuutta.<sup>5,6,7</sup>

Sedimentti on vesistön pohjalle laskeutuneen liejun, mudan tai saven muodostama kerros. Sen paksuus vaihtelee vesistön luonteesta ja iästä riippuen. Osa sedimentin pidättämistä aineista ja yhdisteistä saattaa olla vesistölle haitallisia tai aiheuttaa rehevöitymistä. Sedimenttien fysikaalinen ja kemiallinen tutkiminen on tärkeää arvioitaessa liukoisen eli leville sellaisenaan käyttökelpoisen fosforin liikkumista sedimentin ja sen yläpuolisen veden välillä.<sup>8,9</sup>

## 2.2 Fosfori sedimentissä

Apatiitti on tärkein luonnossa esiintyvä fosforimineraali. Siitä on peräisin melkein kaikki luonnossa kiertävä fosfori. Fosforin biologiseen käyttökelpoisuuteen vaikuttavat kaikki prosessit, jotka tapahtuvat maassa. Fosforin biologinen käyttökelpoisuus määräytyy sitoutumislujuuden sekä orgaanisten yhdisteiden liukoisuuden ja hajoamisherkkyuden perusteella. Fosforivarat voidaan luokitella bio-saatavuuden mukaan kolmeen pooliin. Kuvassa 1 on esitetty fosforin luokittelu pooleihin. Fosfori voi liikkua poolista toiseen ja poolien väliset reaktiot voivat tapahtua hyvin vaihtelevilla nopeuksilla.<sup>10</sup>



Kuva 1. Maan fosforivarojen luokittelu biologisen käyttökelpoisuuden mukaan ja poolien välisten reaktioiden nopeudet. (muokattu lähteestä 10 s. 167)

Stabiilin poolin fosfori on biologisesti lähes käytökelvotonta. Siitä suurin osa on apatiittia, josta kasvit pystyvät liuottamaan fosforia vain hieman juurten mykorrhizasienien avulla. Myös humukseen sitoutunut fosfori katsotaan kuuluvaksi stabiiliin pooliin, sillä humus hajoaa erittäin hitaasti. Vedessä liukoisena olevaa epäorgaanista fosforia pidetään biologisesti käyttökelpoisena. Siinä oleva orgaaninen fosfori tulee käyttökelpoiseksi vasta myöhemmin entsyymaattisten pilkkoutumisreaktioiden jälkeen. Samalla, kun kasvit ja levät ottavat liukoista fosfo-

ria suoraan vedestä, täytyy liukoisia fosforivaroja täydentää helposti vapautuvista fosforivaroista.<sup>10</sup>

Hapen puutteesta johtuen  $\text{Fe}^{3+}$  pelkistyy  $\text{Fe}^{2+}$ :ksi, jolloin fosforia voi liueta veteen. Tämä johtuu siitä, ettei kahdenarvoinen ferrorauta kykene sitomaan fosforia. Alumiinin fosforinsitomiskyky säilyy myös huonoissa happioloissa, ja osa rautaoksidoista vapautuneesta fosforista sitoutuu alumiinioksidien pinnoille. Sitoutumislujuus säätelee hiukkaspinnoille sitoutuneen fosforin vapautumista veteen. Sitoutumislujuuden määrää se, kuinka täynnä oksidipinnat ovat. Mitä täydempiä sitoutumispinnat ovat, sitä pienempi on fosforin sitoutumislujuus. Fosforin pidättymiseen vaikuttavat useat eri tekijät, kuten pH, lämpötila, suolapitoisuus, happitilanne ja bakteerien aktiivisuus.<sup>10</sup>

Fosfori päätyy vesistöön joko ulkoisesta tai sisäisestä kuormituksesta. Ulkoinen kuormitus on yleensä hajakuormitusta, kuten luonnon huuhtouma tai maatalous, tai pistemäisiä, kuten teollisuuden tai kotitalouksien jätevedet. Sisäiseksi kuormitukseksi kutsutaan fosforin vapautumista sedimentistä.<sup>11</sup>

### 2.2.1 Fosfori ja rehevöityminen

Fosfori on typen lisäksi kasvua rajoittava tekijä vesistöissä. Fosfori voi päätyä vesistöön partikkelimuodossa tai liuennut fosfori voi liittyä partikkeleihin niiden laskeutuessa pohjaan. Sedimentaatiossa fosfori kulkeutuu veden pintakerroksesta pohjalle ja edelleen sedimenttiin. Fosforin vapautumiseen sedimentistä vaikuttavat esimerkiksi veden pH, redox-potentiaali ja ionivahvuus. Redox-potentiaali vaikuttaa merkittävästi fosforin vapautumiseen sedimentistä. Tutkimuksissa on havaittu, että hapeton sedimentti vapauttaa paljon suurempia määriä fosforia ympäröivään veteen kuin hapellinen. Makean veden sedimenteissä redox-reaktiot ovat usein palautuvia ja fosfori voi kiinnittyä uudelleen sedimenttiin. Fosforia, joka vapautuu sedimentistä, kutsutaan sisäiseksi kuormitukseksi, joka voi edistää rehevöitymiskehitystä. Liiallinen fosforin saanti vesisysteemeissä aiheuttaa vesistön kunnan ja virkistymiskäyttöarvon alenemista levien lisääntyessä.<sup>9,11,12</sup>

Valuma-alueella fosforia pidättyy tehokkaasti maaperään, jolloin sen puute rajoittaa vesistöjen perustuotantoa. Vesistöihin joutuva fosfori sidotaan pian biomassaan, eikä liukoisen fosforin määrä vesimassassa välttämättä kasva. Levämassa, jota tuotetaan, laskeutuu pohjan läheiseen vesimassaan, alkaa hajota ja vapauttaa taas fosforia veteen. Tästä pohjasedimentti yleensä sitoo liuennutta fosforia. Pohjasedimentin ominaisuudet vaikuttavat kuitenkin paljon fosforin pidättymisen tehokkuuteen. Jos pohjan läheisen vesimassan happitilanne on hyvä ja kuormitus alhaista, fosforia varastoituu sedimenttiin. Tästä johtuen rehevöityminen saattaa aluksi edetä piilevästi, mutta kiihtyä kuormituksen jatkuessa. Lopulta ollaan tilanteessa, jossa kasvava biomassa kuluttaa hajotessaan sedimentistä tai pohjan läheisestä vesimassasta hapen loppuun. Tässä tilanteessa sisäinen kuormitus käynnistyy, kun pohjasedimenttiin varastoitunut fosfori vapautuu erityisesti pelkistyvien rautaoksidien pinnoilta. Näin veden fosforipitoisuus äkillisesti nousee ja rehevöityminen kiihtyy edelleen. Vaikka happikaota pidetään usein syynä fosforin vapautumiseen, voi sitä vapautua myös happellisissa oloissa veden ja sedimentin rajapinnassa. Hapellisissa oloissa fosforin vapautuminen liittyy orgaanisen materiaalin mikrobialiseen vähenemiseen tai fosforia sitovien kohtien kylläisyyteen. Sedimenttifosforin pitkäaikaista vaikutusta vesistön rehevöitymiseen on parempi arvioida erilaisilla fosforin fraktioilla kuin määrittämällä kokonaisfosfori, sillä kaikki fosfori ei ole biologisesti käyttökelpoisessa muodossa tai vaikuta vesistön rehevöitymiseen.<sup>9,10,13</sup>

### 2.2.2 Leville käyttökelpoinen fosfori

Käsite leville käyttökelpoinen fosfori (algal-available P) kuvaa epäorgaanista fosforia, joka on leville ja kasveille käyttökelpoisessa muodossa. Leville käyttökelpoinen fosfori on ortofosfaattia ja hiukkasmuodossa olevaa fosforia, joka voi muuttua leville käyttökelpoiseksi ortofosfaatiksi. Hiukkasmuodossa oleva fosfori koostuu liukoisesta, desorptoituvasta ja redox-herkstä fosforista. Desorptoituvalla fosforilla tarkoitetaan fosforia, joka on sitoutunut mineraaleihin ja orgaanisiin partikkeleihin ja voi irrota helposti. Redox-herkkä fosfori tarkoittaa fosforia, joka vapautuu helposti sitä sitovista yhdisteistä hapetus-pelkistys olosuhteiden

muuttuessa. Levät voivat välittömästi hyödyntää liukoisen fosforin ja hiukkas-  
muodossa oleva fosfori on pitkällä aikavälillä mahdollinen leville käyttökelpoisen  
fosforin lähde.<sup>12,14</sup>

## 3 FRAKTIOINTIMENETELMÄT JA NIIDEN VERTAILU

### 3.1 Fosforin fraktiointi ja sen merkitys

Järvi- ja merisedimenttien fosforia voidaan tutkia fraktioinnin avulla. Fraktioinnissa fosforin eri yhdisteet jaetaan fraktioihin, jotka perustuvat fosforin liukoisuuteen ja reaktiivisuuteen eri kemiallisten liuosten kanssa. Fraktiointi aloitetaan laimealla uuttoliuoksella, joka irrottaa kaikkein helppoliukoisimman fosforin sedimentistä. Tämän jälkeen jatketaan asteittain väkevämpiin liuoksiin, jotka uuttavat tiukimmin sitoutuneet muodot. Uuttoliuksessa voi olla esimerkiksi anioni, joka korvaa fosfaatti-ionin näytteessä tai aiheuttaa fosforia kuljettavien yhdisteiden liukenemisen. Maaperän fosforifraktiointia on tehty jo vuodesta 1957 ja myöhemmin menetelmää on muokattu sedimenteille sopivaksi, jotta saadaan muutakin tietoa kuin kokonaisfosforipitoisuus.<sup>15,16</sup>

Kun tutkitaan fosforin fraktioita sedimenteistä, on tavoitteena usein luonnehtia sedimenttejä potentiaalisina sisäisen fosforikuormituksen vesiekosysteemissä. Sedimenttifosforin fraktiointi auttaa ymmärtämään fosforin kiertoa vesisysteemissä.<sup>9,17</sup>

Uuttojen avulla pystytään arvioimaan sitä miten fosfori sitoutuu eri yhdisteisiin, mutta myös päättämään lähdettä, josta fosfori on päätenyt sedimenttiin. Paras esimerkki tällaisesta varhaisesta uuttojärjestelmästä on Changin ja Jacksonin luoma menetelmä vuodelta 1957. Kyseistä menetelmää on edelleen muokattu vastaamaan eri tarkoituksia. Kuitenkaan ei ole kehitetty standardisoitua menetelmää eri fraktioiden määrittämiseksi.<sup>11</sup>

Potentiaalista fosforin vapautumista veteen ja fosforin käyttökelpoisuutta leville on parempi mitata selektiivisillä uuttomenetelmillä kuin arvioimalla kokonaisfosforin määrää. Varhaiset menetelmät jakoivat maaperän fosforin labiiliin, alumiiniin, raudan tai kalsiumin sitomaan, pelkistimiin liukoiseen, absorboituneeseen sekä orgaaniseen fosforiin. Myöhemmin menetelmiä on sovellettu myös sedimenteille.<sup>18</sup>

### 3.2 Fosforin fraktiointimenetelmät

Fosforin fraktiointiin on kehitetty useita eri menetelmiä riippuen näytteestä, tutkimuksen tavoitteesta ja kiinnostuksen kohteena olevista fosforifraktioista. Fraktiointimenetelmän sopivuus tiettyyn tarkoitukseen riippuu näytematriisista, näytteen olosuhteista ja lähteestä sekä siitä, millaisille näytteille menetelmä oli alun perin suunniteltu. Esimerkiksi näytteen kalkkimineraalien tai orgaanisen aineksen määrä saattavat vaikuttaa menetelmän valintaan.<sup>13,15</sup>

Yleensä fraktiointi aloitetaan liukoisen ja heikosti sitoutuneen, eli labiilin fosforin uutamisella. Se antaa arvion välittömästi saatavilla olevasta fosforimäärästä. Seuraavassa fraktiossa erotetaan pelkistimiin liukeneva, rautahydroksidiin sitoutunut fosfori. Tämän jälkeen uutetaan fosfori, joka on sitoutunut metallioksidiin eli pintoihin, joissa fosfaatti voidaan vaihtaa  $\text{OH}^-$  ioniin. Seuraavat uutot ovat adsorboituneen fosforin, emäksiin liukenevan fosforin, karbonaatteihin sitoutuneen fosforin, apatiittifosforin ja oksidien hajotessa vapautuvan fosforin uutot. Lopuksi jää jäännösfosfori, johon sisältyy orgaaninen ja heikoimmin irtoava fosfori. Suurin osa menetelmistä on muokkauksia Changin ja Jacksonin menetelmästä. Menetelmien kulkua ei ole yleensä selitetty tarkasti kirjallisuudessa eikä menetelmällä eroteltujen fraktioiden teoreettista taustaa ole välttämättä selvennetty. Siitä johtuen niitä on usein vaikea seurata ja tutkia.<sup>9,11,15</sup>

Alun perin potentiaalisesti käyttökelpoisen fosforin määrää on arvioitu erilaisilla levätesteillä ja myöhemmin käyttöön on otettu kemiallisia menetelmiä. Levätestejä on pidetty tarkempina vaihtoehtoina, mutta ne ovat kalliita ja aikaa vieviä.<sup>19</sup>

Tässä työssä ennen käytännön työn aloitusta oli tehtävä laaja esiselvitys ja tiedonhankinta olemassa olevista menetelmistä. Menetelmiä käsitellään seuraavissa kappaleissa.

### 3.2.1 Changin ja Jacksonin menetelmä

Changin ja Jacksonin menetelmä on laajalti käytössä ja monien tutkimusten mukaan se korreloi hyvin levätestien kanssa. Sen rajoituksena on kuitenkin se, etteivät uutetut fosforifraktiot välttämättä korreloi fosforin käyttökelpoisuuden kanssa.<sup>21</sup>

Taulukko 1 Changin ja Jacksonin fraktiointimenetelmän vaiheet

Uuttoliuos	Uutettava fraktio
NH <sub>4</sub> Cl 1 M	labiili P
NH <sub>4</sub> F 0,5 M pH 8,2	alumiinin sitoma P
NaOH 0,1 M	raudan sitoma P
HCl 0,5 M	kalsiumin sitoma P
Sitraatti-ditioniitti-bikarbonaatti (CDB)	pelkistimiin liukeneva P

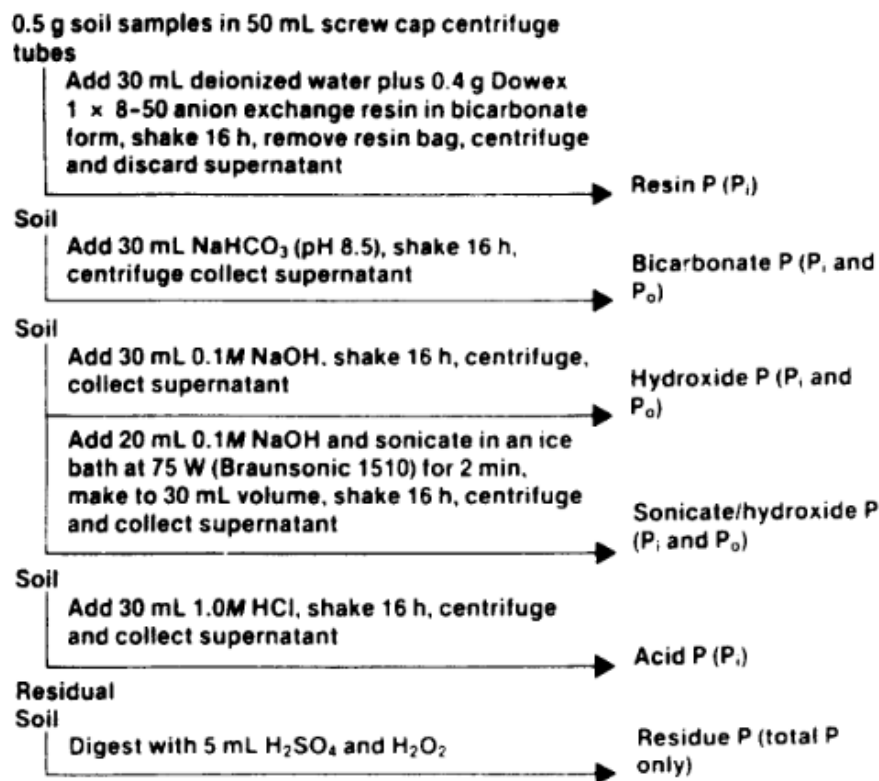
Changin ja Jacksonin menetelmää muokkasi sedimenteille ensimmäisenä Williams et al. Alkuperäisen menetelmän puutteita olivat raudan ja alumiinin sitoman fosforin uuttaminen ammoniumfluoridilla sekä fosfaatin readsorptio, joka johtui kalsiumdifluoridin muodostumisesta. Ammoniumfluoridin käyttöä on pidetty puutteena, koska se on melko voimakas uuttoliuos ja uutto-olosuhteet eroavat tällöin paljon sedimentin luonnollisista olosuhteista.<sup>11</sup>

Psennerin ja Pucskon (1988) menetelmän perusteella voidaan tehdä johtopäätöksiä fosforia sitovista yhdisteistä sedimenteissä ja se on hyödyllinen arvioitaessa fosforin biosaatavuutta. Tällä menetelmällä saatavat fraktiot ovat labiili (NH<sub>4</sub>Cl), redox-herkkä (bikarbonaatti-ditioniitti), metallioksideihin sitoutunut (NaOH), kalsiumin sitoma (HCl), orgaanisesti sitoutunut (NaOH) sekä jäännösfosfori (kuuma NaOH).<sup>16</sup>



### 3.2.2 Hedleyn menetelmä

Hedleyn menetelmässä ensimmäisenä tehdään hartsiuutto, joka uutaa labiilin epäorgaanisen fosforin. Bikarbonaatti uutaa suhteellisen labiilin ja kasveille käyttökelpoisen pintoihin sitoutuneen fosforin.<sup>21</sup> Kuvassa 2 on esitetty Hedleyn menetelmän vaiheet.



Kuva 2. Hedleyn fosforifraktiointimenetelmän vaiheet.<sup>22</sup>

Hedleyn menetelmän etuna on esimerkiksi se, että hartsilla uutettu fosfori antaa tutkimusten mukaan hyvän kuvan kasveille käyttökelpoisen fosforin määrästä. Menetelmää on käytetty laajalti viimeisten vuosikymmenten aikana, mutta se on erittäin monimutkainen ja vie paljon aikaa.<sup>23</sup>

### 3.2.3 Yksittäisuutot

Risto Uusitalon<sup>20</sup> mukaan yksittäisuutot on kehitetty enimmäkseen lannoitustarpeen tunnistamiseksi, eikä niinkään käyttökelpoisen fosforin määrittämiseksi. Usein yksittäisuuttoja tulkitaankin väärin erityisesti sedimenttien kohdalla, sillä ne on kehitetty maatalousmaille. Yksittäisuutoista parhaiten sedimenteille sopivat kuitenkin rautaoksidilla kyllästetyt suodatinpaperit (FeO-uutto) ja anioninvaihtohartsit.

FeO-uutto on alun perin kehitetty maaperän kemiallisiin tutkimuksiin 70-luvulla. Myöhemmin sitä on alettu soveltaa kasveille käyttökelpoisen fosforin tutkimuksiin vaihtoehtona anioninvaihtohartsille. Menetelmä perustuu siis suodatinpaperipalasiin, jotka peitetään amorfisella FeO-saostumalla. Kun näytettä ravistetaan CaCl<sub>2</sub>:ssa, johon on lisätty FeO:lla kyllästetty suodatinpaperipala, fosfori irtoaa maahiukkasista ja adsorboituu suodatinpaperipalaseen, jolloin näytteestä irtoaa lisää fosforia. Ravistelun aikana maahiukkasista irtoava fraktio ns. kuluu loppuun. Ravistelun jälkeen fosfori liuotetaan suodatinpaperista rikkihapolla, josta määritetään kokonaisfosforipitoisuus esimerkiksi ICP-spektrofotometrillä.<sup>24</sup>

Anioninvaihtohartsit toimii melko samalla tavalla kuin suodatinpaperipalaset. Näytteessä olevaa fosforia siirtyy hartsiin, josta fosfori liuotetaan esimerkiksi NaCl:lla. Tästä liuksesta tehdään kokonaisfosforimääritys. Vaikka anioninvaihtohartsilla saadut tulokset ovat usein pienempiä kuin levätesteissä saatavat, on niiden todettu korreloivan hyvin levätestien kanssa.<sup>25</sup>

### 3.3 Menetelmien vertailu

Usein menetelmissä käytetään kuivattua näytettä. Tämä saattaa kuitenkin johtaa tärkeän informaation katoamiseen, sillä altistaminen ilmalle hapettaa pelkistyneitä komponentteja, jotka taas sitovat liuennutta fosforia huokosvedestä. Lisäksi näytteiden kuivaaminen ja pakastaminen voivat aiheuttaa solujen hajoantumista ja orgaanisen aineksen hydrolysaatiota, mikä taas kasvattaa labiiliin P:n fraktiota. Tavallinen menetelmä, jolla suojataan sedimentin hapettuminen uutto-

jen aikana, on käsitellä näytettä typpi-atmosfäärissä. Tämä on tärkeä tapa, kun käsitellään hapettomia sedimenttejä, sillä sedimentin hapettuminen edistää ferrirauta-yhdisteiden fosfaatin sitomiskykyä. Suurimmat muutokset näytteessä näytteenoton ja analyysin välillä vältetään käsittelemällä näytteitä in situ-olosuhteissa ja analysoimalla näyte mahdollisimman pian näytteenoton jälkeen. Tällä tarkoitetaan sitä, että näytteen käsittelyssä otettaisiin huomioon olosuhteet, joissa näyte on vesistössä (esimerkiksi happiolosuhteet) ja pyritään ylläpitämään näitä olosuhteita. Tämä ei ole aina mahdollista sillä fraktiointi on aikaa vievää ja näytteenkäsittely saattaa viivästyä. Sen vuoksi on tärkeää olla tietoinen muutoksista, jotka voivat aiheutua pitkäaikaisesta säilytyksestä eri fosfori-fraktioissa ja miten kyseisiä muutoksia voidaan välttää.<sup>13</sup>

Menetelmissä on joitakin eroja fraktioiden määrittelyissä ja siinä mikä uuttoliuos uuttaa mitään. Leville käyttökelpoisia ovat yleensä ensimmäiset fraktiot, mutta on hyvin vaikeaa sanoa missä jonkin fraktion käyttökelpoisuus alkaa ja mihin loppuu. Esimerkiksi Changin ja Jacksonin menetelmässä  $\text{NH}_4\text{F}$ -fraktion kanssa päällekkäin menee  $\text{NaOH}$ -fraktion käyttökelpoisuus.  $\text{NaOH}$ -fraktiosta kaikki ei ole käyttökelpoista tai tulee käyttökelpoiseksi vasta, kun helppoliukoisemmat fraktiot loppuvat ja silloinkin mahdollisesti vasta vuosikymmenien kuluessa.<sup>20</sup>

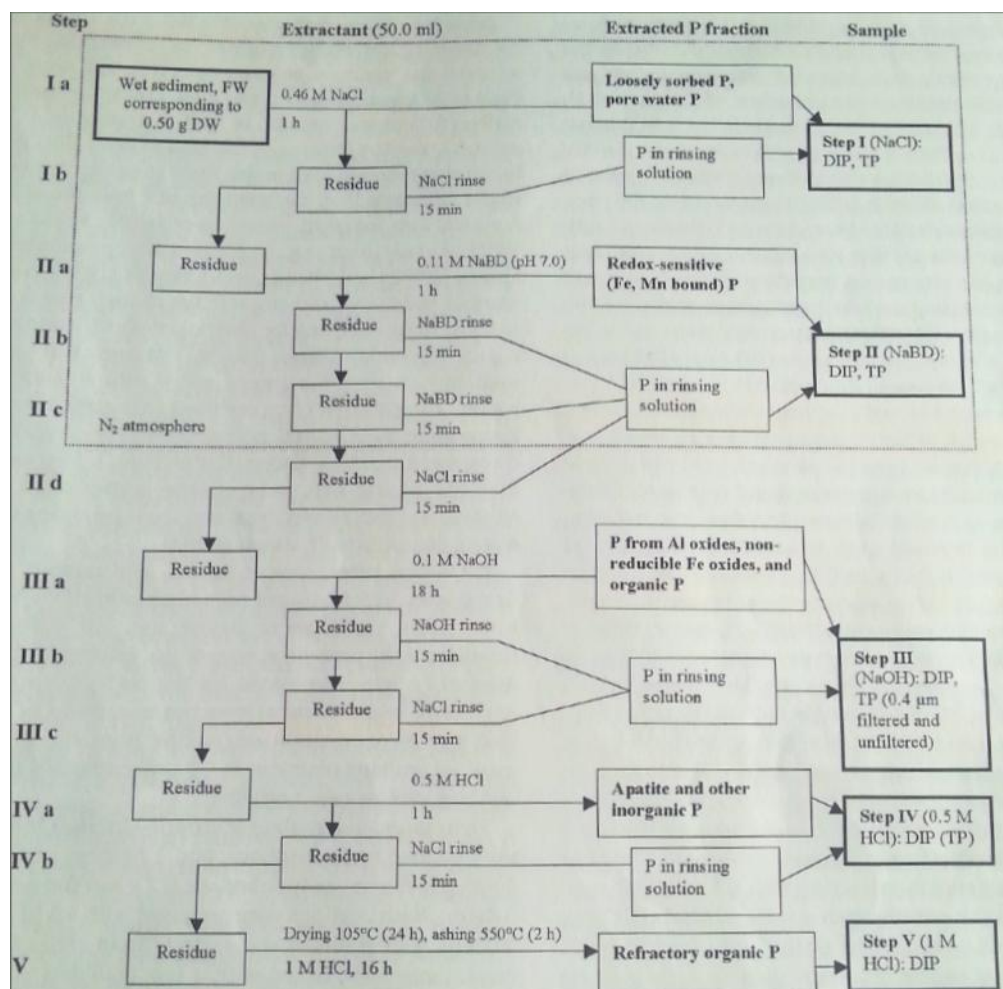
### 3.4 Fraktiointimenetelmän valinta

Fraktiointimenetelmän valinta perustui kirjallisuudesta tehtyihin havaintoihin sekä yhteydenotoista saatuihin suosituksiin.

Koska työssä tarkasteltiin fosforin käyttökelpoisuutta itse kosteikossa tai laskeutusaltaassa, tulisi fraktiointi suorittaa hapettomissa oloissa. Hapettomia oloja ei kuitenkaan toteutettu tässä työssä, koska se ei ollut mahdollista.

Valittu fraktiointimenetelmä on Jensenin ja Thamdrupin muokkaus Psennerin menetelmästä. Tätä ovat edelleen muokanneet K. Lukkari, H. Hartikainen ja M. Leivuori. Menetelmä on esitetty julkaisussa: Fractionation of sediment phosphorus revisited. I: Fractionation steps and their biogeochemical basis.<sup>15</sup> Kuvassa 3 on esitetty käytetyn uuton kaikki vaiheet. Muokkauksena tähän käytettiin 0,50

gramman näytemäärän sijasta 0,25 g ja uutoliuosta laitettiin vain 25 ml. Uuttosuhte pysyi kuitenkin samana. Julkaisussa käytettyä typpi-atmosfääriä ei myöskään pystytty toteuttamaan. Jokaisesta uutoksesta määritettiin liuenneen epäorgaanisen fosforin pitoisuus sekä kokonaisfosforipitoisuus.



Kuva 3. Jensenin ja Thamdrupin muokkaama Psennerin menetelmä.<sup>15</sup>

Seuraavaksi on selostettu käytetty uuttomenetelmä:

Ensimmäisessä vaiheessa näytteet uutetaan 0,46 M NaCl:lla tunnin ajan heikosti sitoutuneen ja huokosvedeen sitoutuneen fosforin uuttamiseksi. Toisessa vaiheessa kiinteä jäännös uutetaan 0,11 M natriumditiionitilla ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ), joka on puskuroitu 0,11 M natriumbikarbonaatilla pH 7. Tämä uutaa redox-herkän fosforin, joka on sitoutunut hydratoituneisiin oksideihin. Tunnin uuton jälkeen tehdään vielä kaksi 15 minuutin huuhtelua pelkistymisen viimeistelyksi ja ”hän-

timisen” ehkäisemiseksi. Kolmas uutto tehdään 0,1 M NaOH:lla, joka uuttaa lopun rautaoksidiin sitoutuneen sekä alumiinioksidiin sitoutuneen fosforin. Lopuksi, 18 tunnin uuton jälkeen, tehdään vielä huuhtelu 0,1 M NaOH:lla. Neljännen vaiheen 0,5 M HCl uuttaa kalsiumiin sitoutuneen apatiitti-P:n. Vaiheet 1-4 päättyvät kaikki 15 min huuhteluun 0,46 M NaCl:lla.

Neljännen vaiheen jälkeen kiinteä sedimenttijäännös siirretään kvantitatiivisesti keraamiseen upokkaaseen käyttäen 10-20 ml laboratoriovettä. Näytettä kuivataan 24 h 105 °C:ssa ja punnitaan. Tämän jälkeen näytettä hehkutetaan 2 h 550 °C:ssa, jäähdytetään ja punnitaan. Tämän jälkeen näyte siirretään takaisin uuttoputkiin viimeisen uuttoliuoksen, 1 M HCl, avulla ja uutetaan 16 tuntia. Viimeisessä uutossa ei tehdä huuhtelua.

## 4 MENETELMÄT

### 4.1 Näytteiden kuvaus ja niiden käsittely

Näytteet olivat kosteikko- tai laskeutusallasedimenttejä kahdesta eri kohteesta. Näytteidenoton suoritti vesitekniikan tutkimusryhmän työntekijät ja näytteet saapuivat laboratorioon pakastusrasioissa. Sedimenteistä uutettiin menetelmän mukaiset fraktiot, joiden lisäksi määritettiin kuiva-ainepitoisuus ja tilavuuspaino ennen uuttojen aloitusta. Tutkituista uusista näytteistä kuiva-ainepitoisuus määritettiin näytteenottopäivänä ja uutto aloitettiin heti seuraavana. Näytteitä säilytettiin kylmiössä yön yli. Kosteus määritettiin kosteusanalysointilaitteella (Mettler Toledo Halogen Moisture Analyzer HR73), jossa halogeenilamppu kuivaa näytettä vaakalla.

Näytteet RAU1 ovat Rauhalinnan laskeutusaltaasta. Näytteet on otettu samasta paikasta suunnilleen samoista syvyyksistä, 1-5 cm, 6-10 cm, 11-21 cm ja 22-36 cm. Aiemmin otettua näytettä säilytettiin pakastettuna noin 3,5 kuukautta ja sulatuksen jälkeen noin kolme viikkoa kylmiössä +4 °C:ssa. Tuoreen ja vanhan näytteen eroja tarkkailtiin. Näyte VA2 oli Maarianaltaasta, joka on Turussa sijaitseva tekoallas. Näyte otettiin syvyyksistä 0-2 cm ja 3-5 cm.

### 4.2 Fraktiointi

Uuttoastioina käytettiin 50 ml:n sentrifugointiputkia. Putket huuhdeltiin kymmenesosaan laimennetulla väkevällä typpihapolla ennen käyttöä.

Fraktiointi aloitettiin punnitsemalla uuttoputkiin tuoreesta näytteestä kolme rinnakkaista näytettä 0,25 g:n kuivapainoa vastaava määrä. Punnittava määrä laskettiin kaavalla:

$$\text{Punnittava määrä} = \frac{0,25\text{g} \cdot 100}{\text{kuiva - aine \%}}$$

Jokaisessa vaiheessa uuttoliuosta mitattiin 25 ml mittalasilalla, jonka jälkeen putket asetettiin vaakatasossa tasoravistelijalle. Ravistelijan nopeutena käytettiin 250 rpm, koska käytössä olevalla laitteella ei päästy nopeuteen 400 rpm. Uuton jälkeen näytteet sentrifugoitiin 4000 rpm nopeudella ja supernatantti kaadettiin näytepulloon. Tämän jälkeen suoritettiin huuhtelut uuttoliuoksella ja vielä viimeiseksi 0,46 M NaCl:lla. Uutot ja huuhtelut näkyvät kuvassa 2 ja ovat tarkemmin kuvailtuna kappaleessa 3.3.1.

Vaiheen kaksi, natriumditiioniitilla uutetut, uutokset kuplitettiin paineilmalla noin 15 minuuttia, tai kunnes väri muuttui tumman ruskeaksi. Vaihe suoritettiin ditiioniitin poistamiseksi näytteestä. Ditiioniitti häiritsee spektrofotometrasta määrittäystä reagoimalla fosfomolybdaatin kanssa.

Kolmannen vaiheen 0,1 M NaOH:lla uutetut uutokset olivat hieman rusehtavia ja pohjalla oli happolisäyksen ja säilytyksen jälkeen havaittavissa ruskea saostuma. Jo suodatetut näytteet suodatettiin uudelleen ennen hapetuskäsittelyä. Suodattamattomista näytteistä saostuma hävisi hapetuksen aikana. Liitteessä 1 on opinnäytetyössä käytetty fraktiointi- ja näytteenkäsittelyohje.

#### 4.3 Fosforianalyysi FIA:lla

Näytteiden kokonaisfosforipitoisuus määritettiin FIAstar 5000-laitteella. Laitteen toiminta perustuu jatkuvaan tasaiseen laminaarivirtaukseen, johon näyte injektoidaan. Näytesilmukan koolla säädetään näytteen määrää ja se valitaan näytteen pitoisuuden mukaan. Näyte kulkee laitteen läpi kantajaliuoksen mukana. Ennen detektorille tuloa näytelinjaan syötetään reagensseja, jotka aikaansaavat näytteessä kemiallisen reaktion, joka aiheuttaa värinmuodostuksen. Detektorilla värin absorbanssi mitataan ja ohjelma (SoFIA) laskee pitoisuuden standardiliuosten perusteella. Kuvassa 4 näkyy laitteisto ja analyysin lähtötilanne. Tapahtuva värinmuutosreaktio on pH-riippuvainen, joten on tärkeää, että standardien ja näytteiden pH on lähes sama. Jos näytteille, jotka ovat kestäväitä hapolla, käytetään hapottomia standardeja voi aiheutua jopa 20 % virhe tuloksiin.<sup>26</sup>



Kuva 4. FIA-laitteisto ja fosforianalyysin lähtötilanne.

Jokaisen vaiheen uutოს jaettiin kahteen osaan, joista toinen suodatettiin imusuodatuksella 0,45  $\mu\text{m}$  kalvosuodattimella (Nuclepore polykarbonaattisuodatin). Vaiheiden 1-3 uutokset kestäväitöin 4,5 M rikkihapolla (1 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$ /100 ml näytettä). Vaiheiden 4 ja 5 uutokset jaettiin myös, mutta uutoksiin ei lisätty happoa uuttoliuoksen happamuuden vuoksi. Suodatetusta osasta saadaan liukoisen fosforin määrä ja suodattamattomasta osasta kokonaisfosfori. Uutokset säilytettiin kylmiössä +4  $^{\circ}\text{C}$ :ssa analyysiin asti (1-5 vrk). Ennen analyysiä uutosten pH tarkastettiin pH-paperilla, jotta se on sama kuin analyysissä käytettävillä standardiliuksilla (noin pH 2).

Ennen fosforipitoisuuden määrittystä näytteet hajotetaan happopersulfaattiliuksella 120  $^{\circ}\text{C}$ :ssa autoklaavissa. Hajotettu näyte, jossa fosfori on ortofosfaattina, reagoi ammoniummolybdaatin kanssa muodostaakseen heteropolymolybdofosforihappoa. Toisessa vaiheessa tämä happo reagoi tinakloridin kanssa rikkihapon läsnä ollessa ja muodostaa sinisen värin. Värin absorbanssi mitataan aallonpituudella 720 nm.<sup>27</sup>



Tässä opinnäytetyössä käytettiin 0,01-1 mg/L PO<sub>4</sub>-P ja 400 µl:n näytesilmukkaa. Standardit valmistettiin taulukon 2 mukaisesti jokaisella analyysikerralla. Kantaliuos 100 mg/L (kaliumdivetyfosfaatista) oli kaikissa analyyseissä sama, mutta 1 mg/L-kantaliuos laimennettiin samana päivänä. Kuvassa 5 näkyy standardien valmistusta.

Taulukko 2 Fosforianalyysin standardien valmistus

PO <sub>4</sub> -P konsentraatio (µg/L)	1 mg/L kantaliuos (ml)	100 mg/L kantaliuos (ml)	Lopullinen tilavuus (ml)
0	0	-	100
10	1	-	100
50	5	-	100
100	10	-	100
500	-	1	200
1000	-	1	100

Jokaiseen standardiin lisättiin 1 ml 4 M rikkihappoa (500 µg/L standardiin 2 ml). Myös standardit hapetettiin autoklaavissa. Sekä näytteitä että standardeja pipetoitiin automaattipipetillä 15 ml hapetuspulloon, jonne lisättiin 3 ml hapetusliuosta. Fosfaatti adsorboituu helposti muovisiin pintoihin, joten kaikki näytepullot ja standardien valmistukseen käytetyt lasiastiat happopestiin ennen käyttöä.



Kuva 5. Fosforistandardien valmistus analyysiä varten.

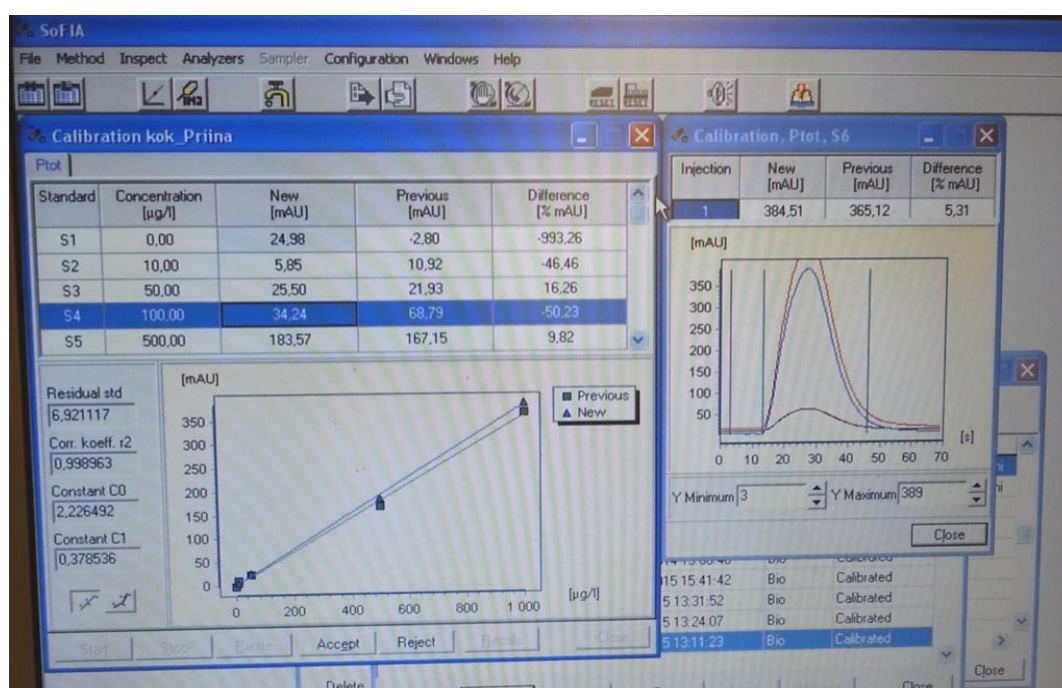
Osa näytteistä jouduttiin laimentamaan. Aluksi, kun laimennuksen tarvetta ei tiedetty, näytteet laimennettiin vasta hapetuskäsittelyn jälkeen, mutta seuraavilla kerroilla näytteet laimennettiin suoraan hapetuspulloihin. Tehdyt laimennokset näkyvät taulukossa 3.

Taulukko 3 Fraktioiden laimennokset fosforianalyysiä varten

<b>Fraktio</b>	<b>Näytettä (ml)</b>	<b>Vettä (ml)</b>	<b>Laimennuskerroin</b>
1: 0,46 M NaCl	-	-	-
2: 0,11 M NaBD	2	13	7,5
3: 0,1 M NaOH	2	13	7,5
4: 0,5 M HCl	3	12	5
5: 1 M HCl	4	11	3,75

## 5 TULOKSET

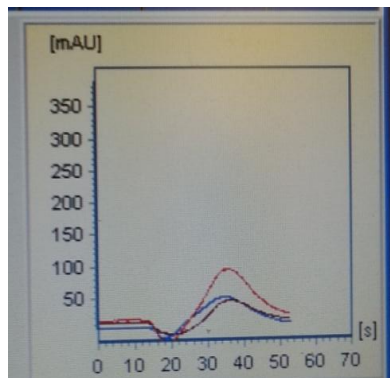
Näytteiden kuiva-ainepitoisuudet olivat 22-42 %. Sedimentin pinnalla kosteus oli suurempi kuin syvemällä. Tuloksista ei saatu laskettua hehketushäviötä, sillä yksi punnitusvaihe jäi vahingossa välistä. Kuvassa 6 näkyy esimerkki analyysin standardisuorasta ja kahdella eri kerralla tehtyjen suorien välinen ero. Lisäksi kuvassa näkyy spektrin muoto. Standardisuorilla ei ollut suurta eroa. Nollastandardi antoi muutamissa analyyseissä suuremman tuloksen kuin ensimmäinen varsinainen standardi. Tämä saattaa johtua kontaminaatiosta. Nollastandardi jätettiin tällöin huomioimatta.



Kuva 6. Fosforianalyysin standardisuora ja kahden ajon erot.

Näytteistä tehtiin kolme rinnakkaismäärittystä. Näiden kolmen rinnakkaisen keskiarvot ovat taulukoissa 4, 5 ja 6. Tulokset on esitetty yksikössä mg/kg eli ppm. Vinoviivan edessä on tulos tuorepainoa kohti ja sulkuviivan jälkeen tulos kuivapainoa kohti. Tulosten perässä on tähti (\*), jos yksi rinnakkaisista on eronnut muista niin paljon, ettei sitä ole otettu huomioon. Usean näytteen kohdalla liuenneen fosforin määrä oli korkeampi kuin kokonaisfosforin.

Taulukossa 4 ovat näytteestä RAU1 1.6.2015 saadut tulokset. Näytteen ensimmäisestä fraktiosta ei saatu tulosta. Tämä johtui suolapitoisen uuttoliuoksen valonsirontaa aiheuttavasta vaikutuksesta, joka saa aikaan negatiivisen piikin ennen varsinaista piikkiä. Näin ollen kyseisestä näytteestä ei pystytä laskemaan kokonaisfosforia eikä ensimmäisen fraktion tuloksia voida huomioida säilytystutkimuksessa. Kuvassa 7 on negatiivisen tuloksen aiheuttanut piikki. Muita näytteitä analysoitaessa asia otettiin huomioon muokkaamalla analyysimenetelmän parametreja, jolloin laite huomioi siis vasta negatiivisen piikin jälkeen tulevan positiivisen piikin.



Kuva 7. Fosforianalysissä valonsironnasta aiheutuva negatiivinen piikki ennen varsinaista piikkiä.

Toisen fraktion fosforipitoisuudet pysyivät suurimpana suurimpina riippumatta näytteenottosyvyydestä. Fraktioista pienin on viimeinen eli jäännösfosfori. Poikkeus on syvyydessä 11-21 cm, jossa viimeisen fraktion fosforipitoisuus on erittäin suuri. Kolmannen fraktion näytteet seisoivat jääkaapissa yön yli ennen suodatusta ja kestäväintä ajan puutteen vuoksi.

Taulukko 4 Sedimenttinäytteestä RAU1 1.6.2015 saadut fosforitulokset mg/kg (tuorepainoa kohti / kuivapainoa kohti)

Fraktio	Fosforipitoisuus (mg/kg)			
	1-5 cm	6-10 cm	11-21 cm	22-31 cm
<b>1 Kokonais-P</b>	ei tulosta	ei tulosta	ei tulosta	ei tulosta
<b>1 Liukoinen P</b>	ei tulosta	ei tulosta	ei tulosta	ei tulosta
<b>2 Kokonais-P</b>	210 / 960	220 / 800	240 / 690	280 / 720

Fraktio	Fosforipitoisuus (mg/kg)			
	1-5 cm	6-10 cm	11-21 cm	22-31 cm
<b>2 Liukoinen P</b>	340 / 1500	600 / 2100	560 / 1600*	740 / 1900*
<b>3 Kokonais-P</b>	77 / 350	97 / 350	210 / 600	170 / 440
<b>3 Liukoinen P</b>	90 / 410	100 / 370*	230 / 650	180 / 480
<b>4 Kokonais-P</b>	68 / 310*	82 / 290	110 / 310	120 / 300
<b>4 Liukoinen P</b>	69 / 320	79 / 280	100 / 290	120 / 300
<b>5 Kokonais-P</b>	12 / 56*	14 / 49*	300 / 860*	36 / 93*
<b>5 Liukoinen P</b>	6,6 / 30*	6,2 / 22*	300 / 860*	11 / 28*

Taulukossa 5 ovat RAU1 17.2.2015-näytteen tulokset. Pinnalla, syvyydessä 1-5 cm, fraktioiden 2 ja 3 fosforipitoisuudet ovat lähes samansuuruiset. Muissa syvyyksissä suurin fosforipitoisuus on selkeästi kolmannessa NaOH:lla uutetussa fraktiossa. Ensimmäinen fraktio eli kaikkein liukoisimman fosforin pitoisuus on pienin. Myös osassa näitä tuloksia on nähtävissä, että liunneen eli suodatetun näytteen pitoisuus on suurempi kuin suodattamattoman eli kokonaisfosforin pitoisuus.

Taulukko 5 Sedimenttinäytteestä RAU1 17.2.2015 saadut fosforitulokset mg/kg (tuorepainoa kohti / kuivapainoa kohti)

Fraktio	Fosforipitoisuus (mg/kg)			
	1-5 cm	6-10 cm	11-21 cm	22-31 cm
<b>1 Kokonais-P</b>	4,0 / 17	6,2 / 21	7,4 / 20	8,0 / 19
<b>1 Liukoinen P</b>	4,3 / 18	5,5 / 18	6,2 / 17	7,4 / 18
<b>2 Kokonais-P</b>	160 / 690	50 / 160	60 / 160	50 / 120
<b>2 Liukoinen P</b>	130 / 540	45 / 150*	44 / 120*	47 / 110
<b>3 Kokonais-P</b>	130 / 540	250 / 830	270 / 740	310 / 730
<b>3 Liukoinen P</b>	130 / 540	250 / 820	260 / 710	310 / 740*
<b>4 Kokonais-P</b>	53 / 230	76 / 250	73 / 200	82 / 190
<b>4 Liukoinen P</b>	51 / 220	63 / 190*	76 / 210	87 / 210
<b>5 Kokonais-P</b>	14 / 62	20 / 67*	32 / 88	23 / 55
<b>5 Liukoinen P</b>	13 / 58	20 / 68	35 / 96	24 / 57

Maarian-altaan näytteen VA2 8.6.2015 tulokset ovat taulukossa 6. Toinen ja kolmas fraktio ovat suurimpia tässäkin näytteessä pienimmän ollessa ensimmäinen fraktio.

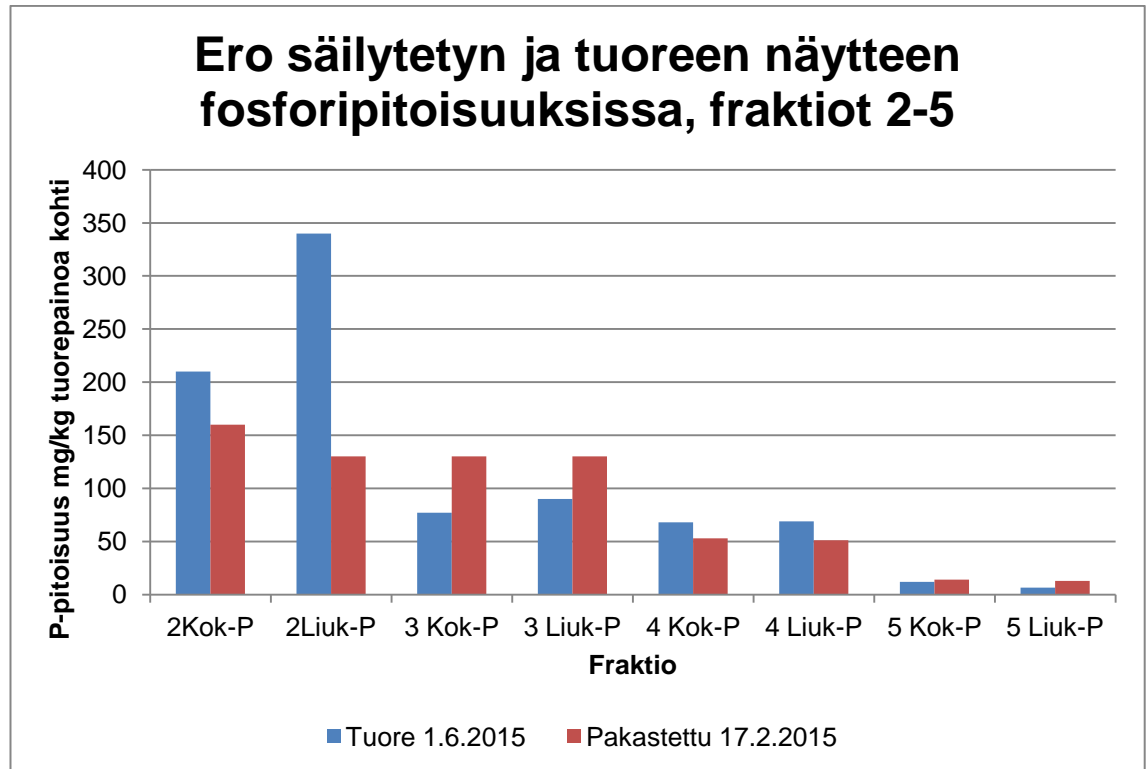
Taulukko 6 Sedimenttinäytteestä VA2 8.6.2015 saadut fosforitulokset mg/kg (tuorepainoa kohti / kuivapainoa kohti)

Fraktio	Fosforipitoisuus (mg/kg)	
	0-2 cm	3-5 cm
<b>1 Kokonais-P</b>	5,2 / 18	5,7 / 17
<b>1 Liukoinen P</b>	5,4 / 19*	5,3 / 15
<b>2 Kokonais-P</b>	180 / 640	220 / 630
<b>2 Liukoinen P</b>	150 / 530*	180 / 520
<b>3 Kokonais-P</b>	130 / 440	180 / 520*
<b>3 Liukoinen P</b>	130 / 470	140 / 410
<b>4 Kokonais-P</b>	68 / 240	83 / 240*
<b>4 Liukoinen P</b>	77 / 270	86 / 250
<b>5 Kokonais-P</b>	35 / 120*	34 / 100
<b>5 Liukoinen P</b>	32 / 110	27 / 80

Kaikkiin NaOH-uutoksiin muodostui uutosten aikana ruskea saostuma, mikä kertoo näytteen humuspitoisuudesta.

Fraktioiden fosforipitoisuudet eri syvyyksissä heittelevät suurimmassa osassa vain vähän.

Säilytyksen vaikutusta analyysituloksiin tutkittiin siis vertaamalla samasta paikasta otetun näytteen fosforituloksia eri ajoilta. Näytteet olivat eri vuodenaajoilta, joten tulosten vaihtelut voivat johtua myös siitä. Kuvaajassa 1 näkyvät tulosten erot.



Kuvio 1. Ero säilytetyn ja tuoreen näytteen välillä, fraktiot 2-5.

Suurin ero tuoreen ja säilytetyn näytteen välillä on toisen fraktion liukoisen fosforipitoisuudessa.

## 6 LOPPUPÄÄTELMÄT JA POHDINTA

### 6.1 Fraktiointimenetelmän valinta ja käytettävyys

Opinnäytetyön tavoitteena oli kartoittaa olemassa olevia erilaisia fosforin fraktiointimenetelmiä ja testata yhtä. Menetelmien kirjo on laaja ja sopivan löytäminen oli hankalaa. Näytteen ominaisuudet, esimerkiksi kalkkipitoisuus, vaikuttavat menetelmän valintaan. Kirjallisuuden ja tieteellisten artikkeleiden tutkimisen jälkeenkin oli vielä melko hankalaa valita mitä olisi paras lähteä kokeilemaan. Yhteydenotot asiaan perehtyneisiin tutkijoihin auttoivat huomattavasti ja menetelmä saatiin valittua.

Fraktiointimenetelmät ovat melko työläitä ja aikaa vieviä. Yhteen fraktiointiin työssä käytetyllä menetelmällä kului viikko analyysit mukaan lukien. Aikataulutamista vaikeuttivat muutamat pitkät uuttoajat sekä uutosten suodatukset ja kestävöinnit. Viikon aikana käsiteltiin 3 tai 4 näytettä ja jokaisesta näistä kolme rinnakkaista. Jokainen uutto jaettiin vielä kahtia suodatusta varten ja fraktioita oli viisi, joten yhdestä fraktioinnista tuli analysoitavia näytteitä 45-60. Saatavilla olleiden välineiden ja näytepullojen rajallisuudesta johtuen ei kaikkia näytteitä voitu analysoida kerralla vaan analyysit oli jaettava useammalle päivälle.

### 6.2 Tulosten luotettavuus

Näytteiden käsittelyssä tapahtui virhe, eivätkä tulokset ole aivan tarkkoja. Jokaisen uuttovaiheen jälkeen saadun näytteen tilavuus tulisi tietää tarkkaan ennen jakoa kahtia, jotta pystytään laskemaan tulos tarkasti. Nyt laskuissa on käytetty uuttotilavuutta, joka on annettu menetelmässä. Se ei välttämättä kuitenkaan aivan pidä paikkaansa sillä uuttoliuosta on saattanut hieman jäädä uuttoputkeen. Tämän vuoksi tulokset ovat vain suuntaa-antavia ja melko karkeasti pyöristettyjä.



Suodattaminen on saattanut vaikuttaa tuloksiin. Kalvosuodattimen huokokset saattavat tukkeutua, jolloin huokoskoko saattaakin olla pienempi kuin nimellinen koko. Liuenneiden muotojen lisäksi suodattimen läpi saattaa päästä pienissä partikkeleissa tai kolloideina olevaa fosforia. Myös suodatuksessa hajoavat organismit tai muut jäänteet tuovat epätarkkuutta tuloksiin. Myös pakastaminen vaikuttaa lisäämällä labiilin fraktion määrää.<sup>2</sup>

Tutkimuksessa, josta menetelmä on peräisin, suoritettiin kaksi ensimmäistä uutovaihetta typpi-atmosfäärissä. Tässä opinnäytetyössä sitä ei toteutettu, joten tulosten tulkinnassa tulee ottaa huomioon hapellisten olojen vaikutus fraktioihin. Aiemmassa tutkimuksessa<sup>13</sup> tutkittiin eri käsittelytapojen, erityisesti hapellisuuden, vaikutusta tuloksiin. Sen mukaan pelkistyneissä oloissa olleen sedimentin altistaminen hapelle kasvattaa toista fraktiota. Pitkäaikaisen säilytyksen vaikutukset voimistuivat, kun näyte altistettiin hapelle. Vakavimmat muutokset tapahtuvat heti näytteenotossa tai välittömästi sen jälkeen sekä säilytettäessä näytteitä. Merkittäviä muutoksia tapahtui redox-herkässä, heikosti sitoutuneessa ja orgaanisessa fraktiossa. Tulee siis ottaa myös huomioon onko sedimentti ennen näytteenottoa pelkistyneenä vai hapettuneena. Tutkimuksen mukaan näytematriisilla eli uuttoliuoksella, josta kokonaisfosfori määritetään, ei ole merkitystä analyysitulokseen tai sen vaikutus katoaa laimentamisen jälkeen.

Näytteen säilyttämisen vaikutusta tutkittaessa tulee ottaa huomioon, ettei kaikkien muutoksien voida olettaa johtuneen pakastamisesta ja pitkästä säilytysajasta. Myös vuodenaika voi vaikuttaa fraktioihin toisen näytteen ollessa talvi- ja toisen kesäajalta.

### 6.3 Tulokset

Osassa tuloksia kokonaisfosforipitoisuus oli pienempi kuin liuenneen fosforin pitoisuus, eikä tämän käytännössä tulisi olla mahdollista. Tutkimuksen, josta käytetty menetelmä on peräisin, mukaan se johtuu analyysimenetelmän epätarkkuudesta. Tässä työssä se on myös vaikuttava tekijä ja tähän voisi auttaa sekä analyysi- että uutomenetelmän validointi kyseiseen tarkoitukseen.

Tulosten avulla pystytään kuitenkin hieman luonnehtimaan sedimenttiä. Jotta saataisiin vielä tarkempaa tietoa sedimentin sisältämästä fosforista, tulisi uutokista analysoida myös sen sisältämien fosforia sitovien alkuaineiden (mm. Ca, Al, Fe, Mn, Mg) pitoisuudet. Näiden avulla pystyttäisiin mahdollisesti arvioimaan lähdettä, josta fosfori on päätenyt sedimenttiin.

Aiemmassa tutkimuksessa ensimmäisen fraktion fosforipitoisuus oli suhteellisen suuri (noin 70 mg/kg kuivapainoa kohti) verrattuna aikaisempiin järvi- ja merisedimenteistä saatuihin tuloksiin, mikä tarkoittaa sitä että kyseisellä näytteellä on alhainen fosforinsidontakapasiteetti. Tässä työssä saadut tulokset ovat melko paljon alhaisempia (noin 20 mg/kg) eli näytteellä on suhteellisen hyvä fosforinsidontakapasiteetti.

NaOH:lla uutetusta fosforista osa on käyttökelpoista ja osa ei ja suurin osa siitä on orgaanista. Uutoissa 4 ja 5 liunneen fosforin pitoisuus ja kokonaisfosforipitoisuus olivat lähes samoja, kuten myös aiemmassa tutkimuksessa. Tämä siis tarkoittaa, että näiden fraktioiden fosfori on lähes kokonaan liukoisessa muodossa.

#### 6.4 Pohdinta

Opinnäytetyössä saatiin kartoitettua fosforifraktiointiin käytettyjä menetelmiä ja löydettiin menetelmä, jota lähdettiin kokeilemaan. Saatujen tulosten syvällisempi tarkastelu vaatisi lisää tietämystä ja tarkempaa perehtymistä fosforin eri yhdisteisiin. Tämän vuoksi arvio siitä, soveltuuko menetelmä tarkoitukseensa, on vaikea tehdä. Menetelmä käytettävyyys oli melko hyvä, mutta sen ottaminen laajempaan käyttöön vaatii lisää testaamista ja menetelmän validoinnin.

Tarkoituksena oli myös tutkia näytteen säilyttämisen vaikutusta analyysituloksiin. Tämän testin tulokset ovat melko epäluotettavia, koska näytteet oli otettu eri aikaan, vaikkakin samasta kohdasta. Tällöin saaduissa tuloksissa näkyy myös vuodenajan vaikutus, eikä voida olla varmoja johtuvatko erot tuloksissa pakastamisesta vai eri sääolosuhteista. Oikeita tuloksia olisi saatu, jos samaa näytettä olisi analysoitu tuoreena sekä pakastamisen jälkeen.

## LÄHTEET

- 1 Pelastajarvi.fi [www.pelastajarvi.fi](http://www.pelastajarvi.fi) > Opiskele > Fosforin kierto viitattu 18.8.2015  
[http://www.pelastajarvi.fi/fosforin\\_kierto](http://www.pelastajarvi.fi/fosforin_kierto)
- 2 Ekholm P. 1998 Algal-available phosphorus originating from agriculture and municipalities. Monographs of the Boreal Environment Research No. 11 Finnish Environment Institute, Helsinki Finland
- 3 Turun ammattikorkeakoulu Tutkimusryhmät viitattu 11.8.2015.  
<http://www.turkuamk.fi/fi/tutkimus-kehitys-ja-innovaatiot/tutkimusryhmat/vesitekniikka/#>
- 4 Turun ammattikorkeakoulu Vesitekniikan tutkimusryhmä viitattu 18.8.2015  
<http://www.turkuamk.fi/fi/tutkimus-kehitys-ja-innovaatiot/hae-projekteja/alimitoitettujen-kosteikkojen-toimivuuden-kehittam/>
- 5 Maa- ja metsätalousministeriö 2005. Maatalouden ympäristötuen erityistuet v. 2000-2006: Kosteikot ja laskeutusaltaat viitattu 19.8.2015 <http://www.salaojakeskus.fi/pdf/kosteikot.pdf>
- 6 Tuusulanjärvi. Kosteikot ja laskeutusaltaat viitattu 19.8.2015  
<http://www.tuusulanjarvi.org/kosteikot-ja-laskeutusaltaat/>
- 7 Kosteikko.fi Vesiensuojelu ja tulvien hillintä. Viitattu 19.8.2015. <http://kosteikko.fi/kosteikkojen-hyodyt/vesiensuojelu-ja-tulvien-hillinta/>
- 8 Ramboll.fi Sedimenttitutkimus viitattu 21.8.2015  
[http://www.ramboll.fi/palvelut/vesi\\_ ja\\_ymparisto/maapera\\_ ja\\_pohjavesi/sedimentti](http://www.ramboll.fi/palvelut/vesi_ ja_ymparisto/maapera_ ja_pohjavesi/sedimentti)
- 9 Fytianos, K. ja Kotzakioti, A. 2005 Sequential fractionation of phosphorus in lake sediments of northern Greece. Environmental Monitoring and Assessment 100: 191-200
- 10 Hartikainen H. 2009 Aineiden käyttäytyminen maaperässä. Fosfori. Teoksessa: Paasonen-Kivekäs, M., Peltomaa R., Vakkilainen, P. & Äijö, H. (toim.). Maan vesi- ja ravinnetalous – Ojitus, kastelu ja ympäristö. Salaojayhdistys ry. s. 166-174
- 11 Wang, C., Zhang, Y., Li, H. & Morrison, R.J. 2013 Sequential extraction procedures for the determination of phosphorus forms in sediment. Limnology 14: 147-157
- 12 Uusitalo, R., Turtola, E., Puustinen, M., Paasonen-Kivekäs, M. & Uusi-Kämpä, J. 2003 Contribution of Particulate Phosphorus to Runoff Phosphorus Bioavailability. Journal of Environmental Quality 32
- 13 Lukkari, K., Leivuori, M. & Hartikainen, H. 2007. Fractionation of sediment phosphorus revisited: II. Changes in phosphorus fractions during sampling and storing in the presence or absence of oxygen. Limnology and Oceanography: Methods 5: 445-456
- 14 McDowell, R., Sharpley, A., Condon, L. Haygarth, P. & Brookes, P. 2001. Processes controlling soil phosphorus release to runoff and implications for agricultural management. Nutrient Cycling in Agroecosystems 59: 269-284
- 15 Lukkari, K., Hartikainen, H. & Leivuori, M. 2007. Fractionation of sediment phosphorus revisited. I: Fractionation steps and their biogeochemical basis. Limnology and Oceanography: Methods 5: 433-444
- 16 Ribeiro, D., Martins, G., Nogueira, R., Cruz, J. & Brito, A. 2007. Phosphorus fractionation in volcanic lake sediments (Azores-Portugal). Chemosphere 70:1256-1263

- 17 Siwek H. 2010. Speciation analysis of phosphorus in bottom sediments – comparison of two methods. *Journal of Elementology* 15: 161-170
- 18 Zhou, Q., Gibson, C. & Zhu, Y. 2001. Evaluation of phosphorus bioavailability in sediments of three contrasting lakes in China and the UK. *Chemosphere* 42: 221-225
- 19 Uusitalo, R. & Ekholm, P. 2003. Phosphorus in Runoff Assessed by Anion Exchange Resin Extraction and Algal Assay. *Journal of Environmental Quality* 32:633-641
- 20 Uusitalo Risto, Luonnonvarakeskus. Sähköpostiviesti 14.4.2015
- 21 Lajtha, K., Driscoll, C. Jarrell, W. & Elliott, E. Soil Phosphorus: Characterization and Total Element Analysis Teoksessa Robertson, G., Coleman, D., Bledsoe, C. & Sollins, P. 1999. *Standard Soil Methods for Long-Term Ecological Research*. Oxford University Press, Inc. s 115-142
- 22 Cross, A., Schlesinger, W. 1995. A literature review and evaluation of the Hedley fractionation: Applications to the biogeochemical cycle of soil phosphorus in natural ecosystems. *Geoderma* 64 s 197-214 viitattu 7.9.2015 saatavilla  
[http://www.researchgate.net/publication/222304634\\_A\\_Literature\\_Review\\_and\\_Evaluation\\_of\\_the\\_Hedley\\_Fractionation\\_Applications\\_to\\_the\\_Biogeochemical\\_Cycle\\_of\\_Soil\\_Phosphorus\\_in\\_Natural\\_Ecosystems](http://www.researchgate.net/publication/222304634_A_Literature_Review_and_Evaluation_of_the_Hedley_Fractionation_Applications_to_the_Biogeochemical_Cycle_of_Soil_Phosphorus_in_Natural_Ecosystems)
- 23 Santa Catarina State University. Catiboni, L. 2012 Dia-sarja. Fractionation of Soil Phosphorus by Hedley's Procedure: Uses and Limitations. viitattu 26.8.2015  
[http://brasil.ipni.net/ipniweb/region/brasil.nsf/e0f085ed5f091b1b852579000057902e/1685d9f84258360183257ac5006a8756/\\$FILE/Palestra%20ESALQ%202012%20Gatiboni.pdf](http://brasil.ipni.net/ipniweb/region/brasil.nsf/e0f085ed5f091b1b852579000057902e/1685d9f84258360183257ac5006a8756/$FILE/Palestra%20ESALQ%202012%20Gatiboni.pdf)
- 24 Chardon, W. 2000. Phosphorus Extraction with Iron Oxide-Impregnated Filter Paper (P<sub>i</sub> test). Teoksessa *Methods of Phosphorus Analysis for Soils, Sediments, Residuals, and Waters*. Southern Cooperative Series Bulletin No. #396. Kansas State University. s. 27-30
- 25 Uusitalo R. 2004. Potential bioavailability of particulate phosphorus in runoff from arable clayey soils. Doctoral Dissertation. MTT Agrifood Research Finland. saatavilla  
<http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/maa/skemi/vk/uusitalo/potentia.pdf>
- 26 Mikkonen, P. 2010. Laitetekniikan kirjoitelma
- 27 FOSS Analytical A/S. 2008. Application Note 5241 (Acc to ISO 15681-1): Determination of total phosphorus in water by FIAstar 5000.

## Fosforiuutto-ohje

### UUTTO 1:

1. Punnitse 0,25 g kuivapainoa vastaava määrä sedimenttiä uuttoputkeen
2. Lisää 25 ml 0,46 M NaCl liuosta ja uuta 1 h tasoravistelijassa 400 rpm nopeudella
3. Sentrifugoi näytteet 15 min 4000 rpm
4. Siirrä supernatantti mittapulloon (huomioi mittapullon tilavuus)
5. Lisää putkeen 25 ml 0,46 M NaCl ja uuta vielä 15 min
6. Sentrifugoi 15 min 4000 rpm ja kaada supernatantti samaan mittapulloon
7. Täytä mittapullo vedellä merkkiin

### UUTTO 2:

8. Lisää uuttoputkeen 25 ml 0,11 M NaBD ja uuta 1 tunti 400 rpm nopeudella
9. Samalla UUTTO 1:n uutokset jaetaan kahteen osaan (ks. näytteiden jakaminen)
10. Sentrifugoi UUTTO 2 15 min 4000 rpm
11. Siirrä supernatantti mittapulloon
12. Huuhtelee jäännös 2 x 15 min x 25 ml NaBD:lla ja 15 min 0,46 M NaCl:lla
  - Jokaisen huuhtelun välissä sentrifugointi ja supernatantin siirto samaan mittapulloon ja lopuksi mittapullon täyttö vedellä merkkiin

### UUTTO 3:

13. Lisää uuttoputkeen 25 ml 0,1 M NaOH ja uutetaan 18 h (aloitus aikaisintaan klo 14)
14. Kuplita UUTTO 2:n uutokset paineilmalla noin 15 min per näyte ditioniitin poistamiseksi
  - väri saattaa muuttua ruskeaksi, mutta kirkastuu yleensä rikkihappolisäyksessä
  - ilmastuksen tulee olla riittävä, jottei fosfaatin määrittämisessä synny valkoista saostumaa
15. Jaa näytteet kahteen osaan kuplituksen jälkeen (ks. näytteiden jakaminen)
16. Sentrifugoi UUTTO 3 seuraavana aamuna (18 h jälkeen) ja kaada supernatantti mittapulloon
17. Huuhtelee jäännös 15 min 25 ml NaOH ja 15 min 25 ml NaCl
  - Jokaisen huuhtelun välissä sentrifugointi ja supernatantin kaato samaan mittapulloon ja lopuksi mittapullon täyttö vedellä merkkiin

## UUTTO 4:

18. Lisää uuttoputkeen 25 ml 0,5 M HCl ja uuta 1 h
19. Jaa UUTTO 3:n uutokset kahteen osaan (ks. näytteiden jakaminen)
  - happolisäys aiheuttaa HAs:n saostumisen suodatetussa näytteessä, joten annetaan seistä yön yli 5 °C:ssa ja otetaan analysoitava näyte uutoksen yläosasta
20. Sentrifugoi UUTTO 4 ja kaada supernatantti mittapulloon
21. Huuhtelee jäännöstä 25 ml 0,46 M NaCl ja sentrifugoi sekä kaada supernatantti samaan mittapulloon ja lopuksi mittapullon täyttö vedellä merkkiin

## UUTTO 5:

22. Siirrä jäännös kvantitatiivisesti 10-20 ml vettä punnittuihin upokkaisiin ja kuivaa näytteitä 24 h 105 °C
23. Punnitse näytteet upokkaissa jäähdytyksen jälkeen ja hehkuta kuivatut näytteet 2 h 550 °C:ssa ja punnitse jälleen jäähtyneet näytteet
24. Jaa UUTTO 4:n uutokset kahteen osaan (ks. näytteiden jakaminen)
25. Siirrä jäännös kvantitatiivisesti uuttoputkeen seuraavan uuttoluoksen avulla 25 ml 1 M HCl
26. Uuta näytteitä 16 h (alitus aikaisintaan klo 14)
27. Sentrifugoi näyte seuraavana päivänä ja siirrä supernatantti mittapulloon ja täytä se vedellä merkkiin
28. Jaa UUTTO 5:n uutokset kahteen osaan (ks. näytteiden jakaminen)

## NÄYTTEIDEN JAKAMINEN:

1. Ota näytteestä tarkka määrä suodatukseen ja suodata näyte suodatusohjeen mukaan
2. Ota tarkka määrä myös suodattamatonta näytettä (mittapullo merkkiin täytettynä)
  - Merkkiin täytön jälkeen lisätään 4,5 M rikkihappoa suhteella 1 ml/ 100 ml näytettä
  - Happolisäystä ei tehdä uuttojen 4 ja 5 uutoksille

## SUODATUS:

1. Ota tarkasti noin puolet näytteestä
2. Rakenna imusuodatuslaitteisto
3. Aseta suodatinkalvo buhner-suppiloon
4. Huuhtelee kalvo pienellä määrällä näytettä jäteimupulloon
5. Suodata näyte ja ota se talteen mittapulloon

Huomioi:

- uuttoputkien käsittely
- näytemäärät ja mittapullojen koot
- suodatus- ja kestäväintä vaiheen tarkkuus
- kuplitus
- saostuman muodostuminen
- punnitut upokkaat