

Khalida Habeb

Keskitisleiden hiilivetytyypit massaspektrometri- alla-menetelmän validointi

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Laboratorioanalyttikko (AMK)

Laboratorioanalytiikka

Opinnäytetyö

5.12.2018

Kiitos Neste Oyj:n tutkimusanalytiikka ryhmälle opinnäytetyön mahdollistamisesta. Eri-tyiskiitokset menevät tutkijalle Elias Ikoselle sekä yliopettajalle Jukka Niiraselle opinnäytetyön ohjeistamisesta. Kiitos myös Sanna Harjulle ohjeistamisesta ja neuvoista laboratorio puolella.

Suuret kiitokset menevät myös siskolleni sekä kavereilleni Janita Sandbergille ja Mia Lindmanille suuresta tuesta ja avusta opinnäytetyön kanssa ja kannustuksesta opiskelun aikana.

Tekijä Otsikko Sivumäärä Aika	Khalida Habeb Keskitisleiden hiilivetytyypit massaspektrometrialla-menettelmän validointi 43 sivua + 5 liitettä 5.12.2018
Tutkinto	Laboratorioanalyttikko (AMK)
Tutkinto-ohjelma	Laboratorioanalytiikka
Ohjaajat	Tutkija Elias Ikonen Yliopettaja Jukka Niiranen
<p>Tämän opinnäytetyön tavoitteena oli validoida keskitisleiden kvantitatiivinen analyysimenetelmä uudelle kaasukromatografi-massaspektrometrille. Validointi suoritettiin Porvoon Kilpilahdessa Neste Oyj:n tutkimus- ja kehitys keskuksessa. Validoitava menetelmä oli standardimenetelmä ASTM D2425. Validoinnin yhteydessä käytettiin myös ASTM D 2549-standardimenetelmää näytteiden fraktiointia varten. Tutkittavat näytematriisit olivat keskitisleihin kuuluvat kaasuöljy ja dieselöljy, joista määritettiin kokonaishiilivetykoostumusta.</p> <p>Käytettävä analyysilaitte oli tavanomainen GCMS-laitte, mutta erona oli, että kaasukromatografissa ei ole analyysikolonnia. Kolonnia korvasi lyhyt inertti putki, jonka läpi näytteet kulkevat massaspektrometrille. Koska kaasukromatografissa ei ole kolonnia näytteiden hiilivedyt eivät erotu toisistaan, jolloin eri hiilivetyryhmät tunnistetaan keskiarvospektristä kullekin ryhmälle tunnusomaisista massapiikeistä. Samoja näytteitä analysoitiin samalla analyysimenetelmällä, mutta vanhalla GCMS-laitteella, jolloin saatiin vertailukelpoisia tuloksia. Vanhan ja uuden laitteen tuloksia vertailtiin toisiinsa käyttäen tilastollisia menetelmiä, jotta voitiin selvittää, esiintyykö tulosten välillä eroavaisuuksia.</p> <p>Validoinnissa tutkittiin menetelmän toteamis- ja määrittämissä, täsmällisyyttä, oikeellisuutta sekä laitteen lineaarisuutta. Menetelmän toteamis- ja määrittämissä saatiin kaasuöljylle LOD 0,04 m-% ja LOQ 0,14 m-%, ja dieselöljylle LOD 0,07 m-% ja LOQ 0,24 m-%. Lineaarisuus suorat todettiin lineaarisiksi residuaalikuvaajien pisteiden satunnaisesta jakautumisesta nollassa molemmille puolille. Menetelmästä saatiin hyviä täsmällisyysarvoja, jotka vaihtelivat alle prosentin ja 15 % välillä matriisista riippuen ja joiden perusteella voidaan todeta, että saadut oikeellisuusarvot välillä 83 - 114 % ovat luotettavia ja vastaavat odotettuja arvoja.</p>	
Avainsanat	Hiilivety, keskitisle, GCMS, validointi, tilastolliset testit

Author Title	Khalida Habeb Validation of Hydrocarbon Types of Middle Distillates by Mass Spectrometry
Number of Pages Date	43 pages + 5 appendices 5 December 2018
Degree	Bachelor of Laboratory Services
Degree Program	Laboratory Sciences
Instructors	Elias Ikonen, Researcher Jukka Niiranen, Principal Lecturer
<p>The aim of this study was to validate quantitative analytical method for hydrocarbon types in middle distillates by mass spectrometry for a new gas chromatography mass spectrometer. Validation was carried out in Porvoo Kilpilahti at Neste corporation's research and development center. The validated method was the standard method ASTM D2425. In connection with validation the standard method ASTM D2549 was used for fractionation of the samples. The studied sample matrices were gas oil and diesel oil middle distillates, of which total hydrocarbon compositions were determined.</p> <p>The analytical instrument used was a conventional GCMS device, but the difference was that there was not an analytical column in the gas chromatography. The column was replaced by a short inert tube through which the samples passed to the mass spectrometer. Since there is no column in the gas chromatograph, hydrocarbons of the samples do not separate; the different hydrocarbon groups are identified from the average spectrum via characteristic mass spectrum of each hydrocarbon group. The same samples were analyzed by same analysis method but with the old GCMS, resulting in comparable results. The results of the old and new instruments were compared and analyzed using statistical methods to find out whether differences between results are present.</p> <p>Validation investigated the method's detection and quantitation limits, precision, trueness and linearity of the device. The detection and quantitation limits for the method were LOD 0.04 m-% and LOQ 0.14 m-% for gas oil and LOD 0.07 m-% and LOQ 0.24 m-% for diesel oil. The instrument response was found to be linear, based on the random distribution of the residual image points on both sides of the zero plane. The method provided good precision values ranging from less than one percent to 15% depending on the matrix, and trueness values between 83 and 114% are reliable and correspond to expected values.</p>	
Keywords	Hydrocarbon, middle distillate, GCMS, validation, statistics methods

Sisällys

Lyhenteet

1	Johdanto	1
2	Teoria	1
2.1	Raakaöljy	2
2.1.1	Raakaöljyn jalostus	2
2.1.2	Raakaöljyn tuotteet	4
2.2	Keskitysleet	5
2.2.1	Kaasuöljy	6
2.2.2	Dieselöljy	6
2.3	Pylväskromatografia	7
2.3.1	Adsorptiokromatografia	8
2.3.2	Öljytuotteiden fraktiointi	9
2.4	Kaasukromatografi-massaspektrometri	11
2.4.1	Elektroni-ionisaatio	12
2.4.2	Kvadrupoli	14
2.4.3	Elektronimonistin	14
2.5	Analyysimenetelmä	14
2.6	Validointi	16
2.6.1	Lineaarisuus	16
2.6.2	Toteamis- ja määrittäysraja	17
2.6.3	Oikeellisuus	17
2.6.4	Täsmällisyys	19
2.7	Tilastolliset testit	19
2.7.1	Tilastollisen menetelmän käsitteet	20
2.7.2	F- ja t-testit	21
3	Laitteet, välineet ja reagenssit	22
3.1	Laitteet	22
3.2	Välineet	22
3.3	Reagenssit	23

4	Työn suoritus	24
4.1	Näytteiden valmistus	24
4.1.1	Validointinäytteet	24
4.1.2	Lineaarisuusnäytteet	24
4.2	Fraktiointi pylväskromatografialla	25
4.3	Näyteliuosten valmistus	27
4.4	Mittausten suoritus	27
4.5	Kokonaistypen ja rikin määrittäminen	28
4.6	Kiehuma-alueiden määrittäminen	28
5	Tulokset	28
5.1	Lineaarisuus	29
5.2	Toteamis- ja määrittämissrajat	32
5.3	Oikeellisuus	32
5.4	Täsmällisyys	33
5.5	Näytteiden kiehumatallisuus sekä rikki- ja typpipitoisuudet	37
5.6	Tilastolliset testit	37
5.6.1	Kaksisuuntainen f-testi.	37
5.6.2	Kahden otoksen t-testi	38
5.6.3	Yhden otoksen t-testi	40
6	Johtopäätökset	42
	Lähteet	44
	Liitteet	
	Liite 1. Näytteiden mittaus tulokset uudella ja vanhalla GCMS:lla	
	Liite 2. Tilastollisten testien tulokset	
	Liite 3. Näytteiden ja lisäysohaineiden massat	
	Liite 4. Toistettavuusmittausten tulokset	
	Liite 5. Simuloidun tislauksen tulokset	

Lyhenteet

ASTM	American Society for Testing and Materials. Kansainvälinen standardisointijärjestö.
EI	Electron ionisation. Elektroni-ionisaatio.
GCMS	Gas chromatography mass spectrometer. Kaasukromatografi-massaspektrometri.
LOD	Limit of Detection. Toteamisraja.
LOQ	Limit of Quantification. Määrittäysraja.
<i>m/z</i>	Mass-to-charge ratio. Massa-varaussuhde.
RSD	Relative standard deviation. Suhteellinen keskihajonta.

1 Johdanto

Tämä opinnäytetyö tehtiin Neste Oyj:llä tutkimus- ja kehityskeskukseen tutkimusanalytiikan ryhmässä. Opinnäytetyön tavoitteena oli validoida analyysimenetelmä uudelle GCMS-laitteelle, joka korvaa vanhan GCMS-analyysilaitteen. Analyysimenetelmällä määritetään keskitisleiden hiilivetykoostumusta ASTM D2425-standardimenetelmän mukaisesti. Validoinnissa hyödynnetään myös ASTM D2549-standardimenetelmää, jolla saadaan näytematriisit fraktioitua tyydyttyneisiin ja aromaattisiin fraktioihin ja sen jälkeen analysoitua kaasukromatografi-massaspektrometrillä. Validoitavan menetelmän ansiosta voidaan käyttää uutta laitetta, jolla saadaan näytteet nopeammin analysoitua. Analyysi nopeutuu, koska uudessa analyysilaitteessa on automaattinen näytteensyöttäjä ja kaasukromatografissa ei ole analyysikolonnia. Analyysikolonnin puuttumisen ansiosta vältytään kolonnifaasin vuotoilta ja siitä aiheutuneesta suuresta taustakohinasta. Tällöin saadaan hyvin matala taustan taso, mikä ei häiritse mittauksia. Automaattisyötöllä saadaan myös toistettavampia tuloksia. Vanhalla laitteella analysointi oli hyvin aikaa kuluttava, sillä näytteet syötettiin manuaalisesti ja laitteessa on analyysikolonne, joka tekee ajosta kuusi kertaa hitaamman, kuin uudella analyysilaitteella.

Analyysimenetelmässä validoitavat parametrit olivat lineaarisuus, toteamis- ja määrittysraja, oikeellisuus ja täsmällisyys. Validoinnissa käytettiin kahta matriisia, jotka olivat kaasuöljy ja dieselöljy. Validoinnissa määritettiin laitteen lineaarisuutta, sillä menetelmän lineaarisuutta ei ollut mahdollista määrittää tämän validoinnin yhteydessä. Toteamis- ja määrittysraja määritettiin kullekin matriisille erikseen. Oikeellisuutta määritettiin saantokokeiden avulla ja täsmällisyyttä toistettavuuden avulla. Vanhan ja uuden GCMS-laitteiden tuloksia vertailtiin keskenään tilastollisilla menetelmillä, jotta voidaan tutkia, esiintyykö tulosten välillä eroavaisuuksia.

2 Teoria

Teoriaosuudessa käsitellään raakaöljyä ja sen jalostusta ja siitä saatuja tuotteita, joista osa on validoinnissa käytettyjä näytematriiseja. Käsitellään validointinäytteiden ominaisuuksia sekä validoinnin, analyysimenetelmien ja laitteiston periaatteita. Teorian lopussa käsitellään tilastollisten testien tarkoitusta tulosten käsittelyssä.

2.1 Raakaöljy

Raakaöljy, joka on yksi fossiilisten polttoaineiden lähtöraaka-aine, on kemialliselta koostumukseltaan useiden erilaisten hiilivetyjen seos. Hiilen ja vedyn lisäksi se sisältää myös muitakin alkuaineita, kuten rikkiä, typpeä, happea sekä jonkin verran metalleja. Nämä muut alkuaineet ovat epäpuhtauksia, jotka esiintyvät öljyssä. Vaikka niiden määrä on pieni, niillä saattaa olla hyvinkin iso vaikutus raakaöljyn laatuun. Raakaöljy voi sisältää tämän lisäksi suolaa, vettä ja sedimenttejä, jotka ovat peräisin öljykentästä tai tulleet öljyn kuljetuksen aikana.

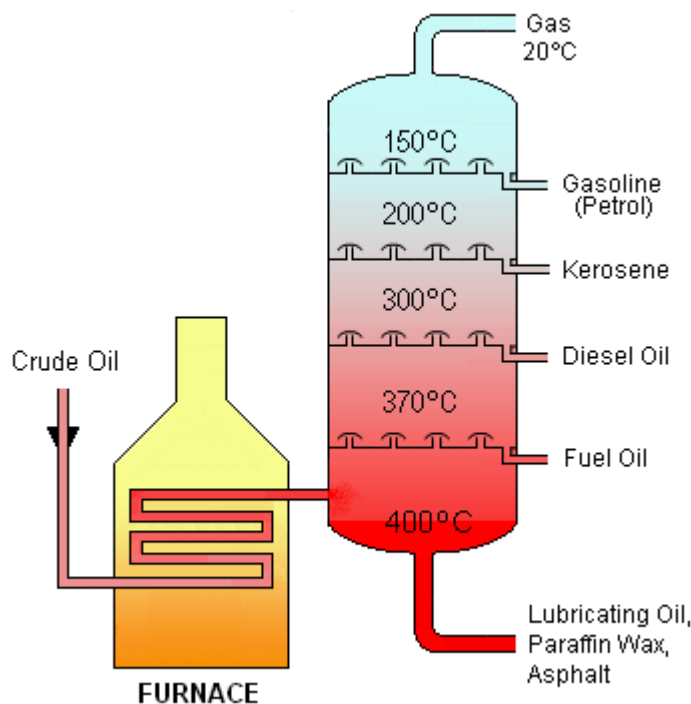
Raakaöljy sisältää pääosin parafiineja, nafteeneja ja aromaattisia hiilivetyjä. Näiden hiilivety-yhdisteiden suhteellinen osuus vaihtelee raakaöljyn alkuperän mukaan. Parafiinit (parum affinis = vähän kemiallista taipumusta) ovat tyydyttyneitä suoraketjuisia hiilivetyjä, kuten butaani tai propaani. Parafiinit voivat olla myös haaroittuneita, jolloin niitä kutsutaan isoparafiineiksi. Nafteenit ovat tyydyttyneitä rakenteeltaan rengasmaisia hiilivetyjä. Nafteenit voivat esiintyä yksi tai moni renkaisina, ja ne voivat sisältää alkyyliryhmiä. Renkaan hiilten määrä määrää yhdisteen perusnimen, kuten sykloheksaani tai syklopentaani. Aromaattiset yhdisteet koostuvat yhdestä tai useammasta bentseenirenkaasta, johon voi liittyä hiilivetyketju, tai jokin funktionaalinen ryhmä. Bentseenirengasta johon on kiinnittynyt hiilivetyketju, kutsutaan alkyylibentseeniksi, johon kuuluu esimerkiksi tolueni. [1, s. 31; 2, s.49.]

2.1.1 Raakaöljyn jalostus

Raakaöljyn jalostusprosessi aloitetaan puhdistamalla öljy epäpuhtauksista, kuten suoloista, vedestä ja kiinteistä epäpuhtauksista, jotka ovat fysikaalisesti sekoittuneita raakaöljyyn. Suolan poisto tapahtuu suolanpoistimen korkeajännitteisessä sähkökentässä, jolloin esilämmitettyyn (120 - 130 °C) raakaöljyyn lisätään voimakkaasti 3–5 % vettä, joka liuottaa suolat pois. Tällöin pienet vesipisarat yhtyvät suuremmiksi sähkökentän vaikutuksesta ja painuvat pohjalle. Myös erilaiset kiinteät epäpuhtaudet laskeutuvat pohjalle, jolloin koko liete poistuu veden mukana, jota ohjataan jäteveden käsittelyyn.

Suolan ja kiinteiden epäpuhtauksien poistamisen jälkeen raakaöljy lämmitetään putkiuunissa noin 355 - 370 °C:seen, jolloin suurin osa öljystä höyrystyy (kuva 1). Lämmityksen jälkeen öljysumu ohjataan tislauskolonniin, jossa on monia jäähdytystasoja. Öljysumu

johdetaan tislaukolonnin haihdutusosaan, jossa kaasu- ja nestevirtaukset erottuvat toisistaan. Neste virtaa painovoiman vaikutuksesta kolonnin pohjaan ja kaasihöyry nousee ylös kolonnin huippua kohti. Jokaisella tislaukolonnin tasolla on tietty lämpötila, joka on aina pienempi mitä korkeammalle mennään. Kolonnin tasot ovat seulalevyjä, joiden läpi kaasihöyry pääsee kulkemaan ja, kun lämpötila laskee alle yhdisteen kiehumispisteen, kaasu tiivistyy ja saadaan siten kerättyä kolonnista. Raskailla hiilivedyillä on korkeampi kiehumispiste, kuin kevyimmillä hiilivedyillä. Näin ollen raskaat hiilivedyt tiivistyvät nopeammin ja jäävät kolonnin alimmille tasoille, kun taas kevyemmät hiilivedyt pysyvät höyrynä pitempään ja tiivistyvät kolonnin ylemmissä tasoissa. [1, s.71–72.]

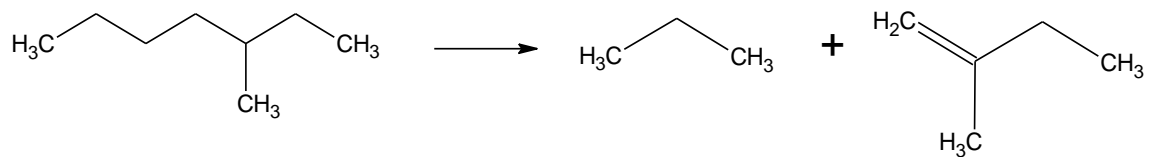


Kuva 1. Raakaöljyn lämmitysuuni ja tislaukolonni [3].

Raakaöljyn tislauksesta saadaan erilaisia jakeita, jotka ovat kaasut, bensiinit, petrolit, kaasuöljyt ja pohjaöljyt. Näiden jakeiden tarkat tiivistyslämpötilat eroavat jalostamolta toiselle riippuen tislautuvan raakaöljyn ominaisuuksista. Yleisesti voidaan sanoa, että pohjaöljyt tiivistyvät noin 390 - 420 °C:ssa, kaasuöljyt 200 - 350 °C:ssa, petrolit 150 - 180 °C:ssa ja bensiinit noin 30 - 120 °C:ssa. Kaasut eivät tiivisty tislaukolonnissa vaan poistuvat höyrynä tislaukolonnin yläosasta keräyskammioon. Jokainen tislattu fraktio sisältää seoksen, jossa on alifaattisia ja aromaattisia hiilivetyjä, joilla on samanlaiset kiehumisalueet ja, jotka vaativat jatkokäsittelyä lopullisen tuotteen valmistamiseksi. Fraktiot

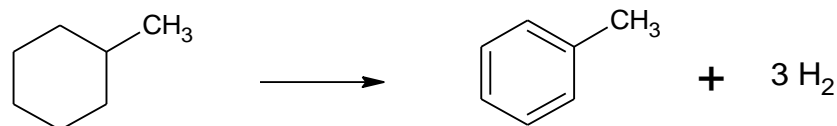
jatkokäsitellään erilaisilla puhdistus ja jalostusprosesseissa, jotka parantavat fraktioiden jalostusarvoa ja käytettävyyssominaisuuksia. Tärkeimmät jatkojalostusoperaatiot ja prosessit ovat rikinpoisto, reformointi ja krakkaus. [1, s. 56, 71–72; 4.]

Tislauksen aikana syntyneet raskaat hiilivedyt jatko käsitellään krakkaus prosessin avulla. Krakkaus prosessissa pitkät hiilivetyketjut, joilla ei ole suurta käyttöarvoa, pilkotaan pienemmiksi hiilivetyketjuiksi, joilla on suurempi arvo (kuva 2). Krakkausta käytetään yleensä tuottamaan enemmän korkeampi arvoisia tuotteita, kuten bensiiniä ja lentopetrolia, joilla on suurempi tarve teollisuudessa. [4.]



Kuva 2. Krakkaus prosessissa tapahtuva pilkkoutuminen [Mukaiillen 5, s. 61].

Reformointia käytetään yleensä moottoribensiinin valmistuksessa. Prosessissa matala-oktaaninen bensiini muutetaan korkeaoktaaniseksi bensiiniksi erilaisten reaktioiden kautta. Reaktioiden lopputuotteina syntyy yleensä aromaattisia yhdisteitä (kuva 3), joilla on suurempi oktaaniluku kuin vastaavilla parafiineilla tai nafteneilla. [6, s. 29.]



Kuva 3. Esimerkki reformointiprosessissa tapahtuvasta aromatisoitumisreaktiosta [Mukaiillen: 6 s.30].

2.1.2 Raakaöljyn tuotteet

Raakaöljyn tislauksesta syntyneillä jakeilla on kaikilla oma käyttökohteensa, joita saavutetaan eri jalostusprosessien avulla. Seuraavassa taulukossa (taulukko 1) on esitetty jakeista jalostettuja öljytuotteita alkaen kevyimmistä.

Taulukko 1. Öljytuotteiden kiehumisalueet ja esimerkkejä tuotteiden käyttökohteista [1, s.55–65, 71].

Tuote	Tislautumisalue	Esimerkkejä käytöstä
Nestekaasu	kaasu (normaalipaineessa ja lämpötilassa)	Polttoaine talouksissa
Bensiinit	30 - 200 °C	Petrokemikaalit ja moottoribensiinit
Petrolit	170 - 230 °C	Lentokonepolttoaine
Dieselöljyt	170 -360 °C	Dieselmootoreiden polttoaine
Kevyet polttoöljyt	170 - 390 °C	Lämmityspolttoaine rakennuksissa
Raskaat polttoöljyt	330 - 500 °C	Teollisuusprosessien ja lämpölaitosten energianlähde
Bitumit	390 - 500 ⁺ °C →	Asfaltit, bitumimaalit ja veden eristysaineena

Tässä validoinnissa keskitytään enemmän keskitislenäytteisiin, joita käytettiin validoinnissa ja, joiden kiehumisalue on noin 170 - 360 °C.

2.2 Keskitisleet

Keskitisleet ovat öljytuotteita, jotka kiehuvat keskimmaisella kiehumisalueella, joka on noin 180 - 360 °C. Raakaöljyn jakeet, jotka tislautuvat tällä kiehumisalueella ovat petroli, kevyt kaasuöljy ja kaasuöljy. Nämä jakeet tislataan joko kokonaisjakeena tai jaetaan eri jakeeseen riippuen siitä, mitä laatuominaisuuksia tuotteille halutaan, esimerkiksi kesä- ja talvilaadut. Nimitys keskitislee tulee myös siitä, että jakeet erottuvat tislauskolonnin keskiosassa. Keskitisleet ovat yleensä kirkkaita, värittömiä tai vähän kellertäviä helposti syttyviä nesteitä. Niissä on noin 10 - 20 hiiliatomia ja niiden tiheys on noin 0,86 kg/l 15 °C:ssa. Keskitisleet voivat olla tislaus jakeita tai loppuun jalostettuja öljytuotteita. Kaasuöljy on esimerkiksi raakaöljyn jake, jota ei ole jalostettu tuotteeksi. Loppuun jalostetut öljytuotteet keskitislejakeista ovat dieselöljyt ja kevyet polttoöljyt. [1, s.71; 7.]

2.2.1 Kaasuöljy

Kaasuöljy on raakaöljyn jae, joka syntyy raakaöljyn tislauksprosessissa. Se jaetaan kolmeen eri luokkaan, jotka ovat kevyt kaasuöljy, kaasuöljy ja raskaskaasuöljy. Kaasuöljyt jaetaan eri ryhmiin niiden kiehumaaalueen mukaan. Kevyen kaasuöljyn kiehumaa-alue on 200 - 320 °C, kaasuöljyn 280 - 400 °C ja raskaan kaasuöljyn on 330 - 500 °C. Näistä kolmesta ryhmästä kevyt kaasuöljy ja kaasuöljy kuuluvat keskitisleisiin, jotka jatkojalostetaan dieselöljyksi, kevyeksi polttoöljyksi ja lentopetroliksi. [1, s. 71.]

2.2.2 Dieselöljy

Dieselöljy on raakaöljyn tuote, jota valmistetaan raakaöljyn keskitisle jakeista ja sen tislauksalue on noin 170 - 360 °C. Se on dieselmootoreiden polttoaine ja sen yleisimmät käyttökohteet ovat kuorma-, linja- ja pakettiautot sekä osa henkilöautoista. Dieselöljyn jalostusprosessin aikana siitä poistetaan ilmastolle haitallista rikkiä ja haluttujen ominaisuuksien mukaan se jalostetaan erilaisiksi kesä- ja talvilaaduiksi.

Parhaimmat talvilaadut saadaan mahdollisimman pienillä tiheys ja viskositeetti arvoilla ja päinvastoin suuret tiheys ja viskositeetti arvot edustavat parhaita kesälaatuja. Dieselöljyjen ominaisuuksiin vaikuttaa setaaniluku, samepiste- ja suodatettavuuslämpötilat. Setaaniluvulla määritetään dieselin syttyvyysominaisuuksia moottorin palotilassa. Syttyvyysominaisuuksiin vaikuttaa dieselin aromaattisten hiilivetyjen pitoisuus, sillä aromaattisten aineiden pitoisuuden lisääntyessä dieselöljyissä ne alentavat setaaniluvun arvoa ja siten heikentävät polttoaineen syttyvyysominaisuuksia. Samepiste kuvaa polttoaineen kylmyyden sietokykyä. Kun lämpötila laskee samepisteen alapuolelle, dieselöljyissä esiintyvät parafiiniset hiilivedyt alkavat kiteytymään, mikä voi aiheuttaa ajoneuvon polttoainejärjestelmän ahtaiden putkien ja tiiviiden suodattimien tukkeutumista. Suodatettavuuslämpötila on arvo, joka kuvaa alinta käyttölämpötilaa hyväkuntoisessa ja hyvin huolletussa ajoneuvossa. Dieselöljyn ominaisuuksiin voidaan vaikuttaa myös erilaisilla lisäaineilla, jotka parantavat mm. setaanilukua, varastointikestävyyttä sekä samepistettä. Lisäaineilla ehkäistään myös ruiskutus-suuttimien karstoittumista sekä korroosiota. [1, s. 58–59 ; 8, s. 75.]

2.3 Pylväskromatografia

Pylväskromatografia on yksi kromatografian tekniikoista, joka tapahtuu stationäärifaasilla täytetyssä kolonnissa. Kolonni on yleensä hanallinen lasiputki, jota täytetään kiinteällä stationäärifaasilla. Liikkuvana faasina on neste, joka valuu stationäärifaasin läpi yleensä omalla painollaan ja sen virtausta voi säätää hanan avulla. Stationäärifaaseja voi olla hyvinkin monenlaisia, adsorptioon, partitioon, molekyylien siivilöitymiseen tai ioninvaihtoon perustuvia.

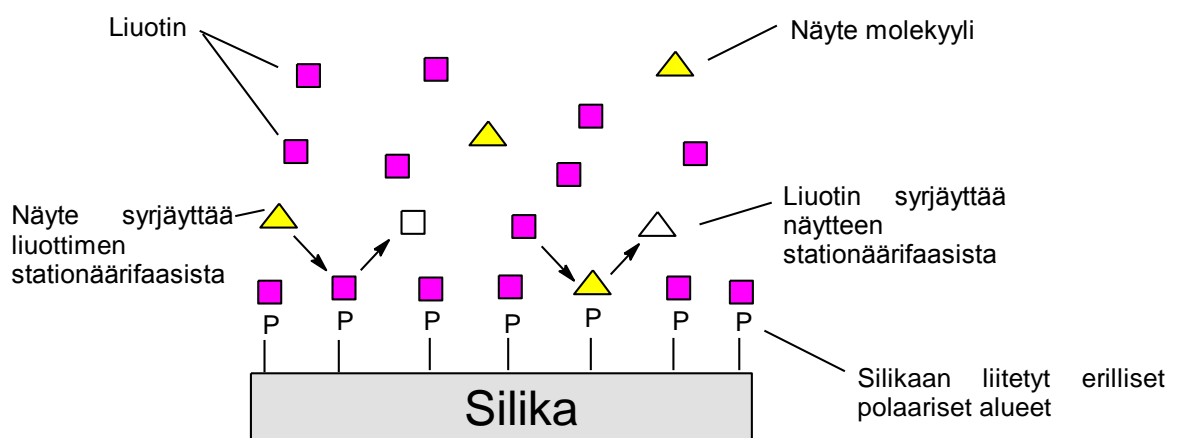
Pylväs voi olla valmiiksi täytetty tai sitä voi täyttää itse. Jotta stationäärifaasin alapinta saadaan tasaiseksi, pylvään pohjalle pistetään lasivillaa ja sen päälle pienikokoisia lasihelmiä. Kolonnin pohjassa voi olla myös valmis huokoinen lasista valmistettu levy, jonka avulla stationäärifaasin pinta saadaan tasaiseksi. Pylvään täyttäminen huolellisesti on hyvin tärkeää sillä mitä paremmin partikkelit ovat pakkautuneet kolonnissa, sitä tehokkaampia erotuksia saadaan aikaan. Täytemateriaalin partikkelikoko, kolonnin mittasuhteet ja täyttötapa vaikuttavat pakkaamisen laatuun. Kolonni täytetään yleensä eluentilla ja sitten lisätään täyteainetta pienissä erissä ja annetaan sedimentoitua.

Kun eluointiliuos on saavuttanut stationäärifaasin tason, näyte pipetoidaan pienessä tilavuudessa pylvääseen. Näytteen imeytyttyä stationäärifaasiin eluointiliuosta lisätään aluksi pienissä erissä, jotta näytevyöhyke pysyisi kapeana. Eluoinnin aikana täytyy varmistaa, että kolonni ei pääse kuivumaan, missään eluoinnin vaiheessa. Näytteen komponentit eluoituvat kolonnista eri aikoina, ja ne kerätään talteen käsin tai fraktionkeräyslaitteella. Eluointiliuoksen koostumusta voidaan muuttaa ajon aikana, jolloin saadaan erityyppiset yhdisteet eluoitua vuorotellen kolonnista. Kromatografiapylväiden suuren kapasiteetin ansiosta niillä voidaan erotella suuriakin määriä ja tehdä preparatiivista erotelua. Pylväskromatografiaa käytetään yleensä näytteen fraktiointiin ja puhdistukseen. [9, s. 151–152.]

Tässä menetelmässä käytettiin itsetäyttämistapaa, koska käytetty lasikolonni oli pitkä, eikä ole kaupallisesti myytävänä. Käytetty pylväs oli 76 cm pitkä, eikä siinä ollut eluentin virtausta säätelevää hanaa, vaan eluentti tippui kolonnista oman painon avulla kolonnin päähän pistetyn lasivillan läpi. Fraktioinnissa stationäärifaaseina toimi silikageeli ja bauksiitti.

2.3.1 Adsorptiokromatografia

Tässä työssä näytteiden pylväsfraktiointi perustui adsorptiokromatografiaan. Adsorptiokromatografia perustuu liuotinmolekyylien ja näytemolekyylien väliseen kilpailuun stationäärifaasin sitoutumispaikoista (kuva 4). Adsorptiokromatografia, jossa käytetään silikaa stationäärifaasina, on esimerkki normaalifaasikromatografiasta. Normaalifaasikromatografiassa käytetään polaarista stationäärifaasia ja vähemmän polaarista liuotinta. Erilaisten liuottimien suhteellinen kyky eluoida tietty yhdiste adsorbentista on lähes riippumaton yhdisteen luonteesta. Eluutio tapahtuu, kun liuotin syrjäyttää adsorboituneen yhdisteen stationäärifaasista.



Kuva 4. Adsorptiokromatografian periaate. Näytemolekyylien ja liuotinmolekyylien kilpailu stationäärifaasin kiinnittymispaikoista [Mukaillen: 10, s. 675].

Eluutiovahvuus (ϵ^0) on mittaus liuottimen adsorptioenergiasta paljaalla silikalla, missä pentaanin arvo on määritetty nollaksi. Mitä polaarisenempi liuotin on sitä korkeampi on sen eluutiovahvuus adsorptiokromatografiassa. Yhdisteet eluotuvat sitä nopeammin normaalifaasi kolonnista, mitä vahvempi eluutti on kyseessä. Taulukoissa 2 ja 3 on esitetty joidenkin liuottimien eluutiovahvuuksia silikassa ja alumiinioksidissa.

Taulukko 2. Liuottimien eluutiovahvuudet silikassa [10, s. 677].

Liuotin	Eluentti vahvuus ϵ° (silikassa)
Alkaanit	≤ 0.01
Kloroformi	0.26
Dietyylieetteri	0.43
2-Propanoli	0.60
Metanoli	0.70

Taulukko 3. Liuottimien eluutiovahvuudet alumiinioksidissa [11, s. 236–237].

Liuotin	Eluentti vahvuus ϵ° (alumiinioksidissa)
Pentaani	0.00
Etyylieetteri	0.38
Kloroformi	0.40
Etanoli	0.88
Metanoli	0.95

On kuitenkin huomattu joitakin eroavaisuuksia polaarisuusindeksin ja eluenttivahvuuden välillä, niiden retentio mekanismien erilaisuuden ansiosta. Normaalifaasikromatografia on todella herkkä pienellekin määrälle vettä eluentissa, sekä stationäärifaasissa, joten on varmistettava käytettävien reagenssien vedettömyys. [10, s.610, 675.]

2.3.2 Öljytuotteiden fraktiointi

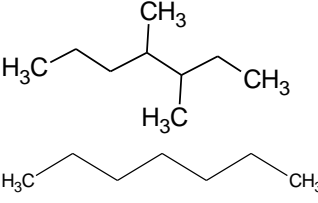
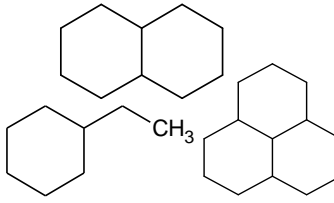
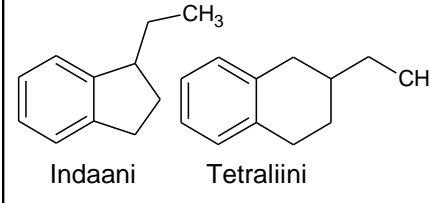
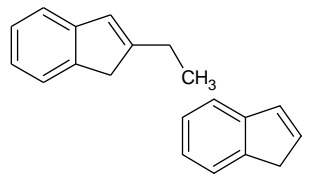
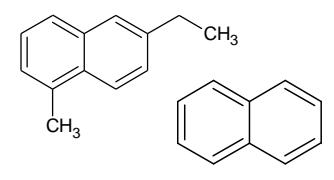
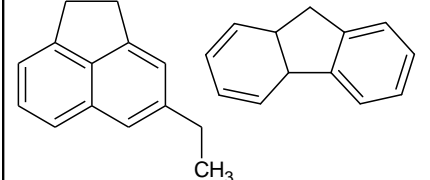
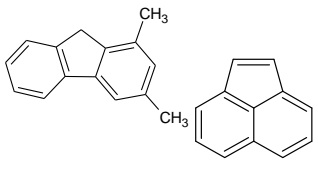
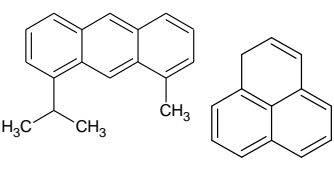
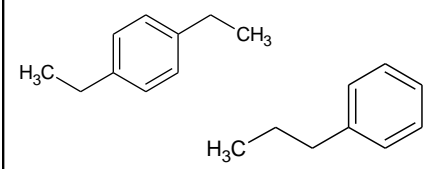
Adsorptiokromatografiaa käytetään öljytuotteissa, jotta saadaan öljytuotteet fraktioitua eri yhdisteisiin tai yhdisteryhmiin. Öljytuotteiden fraktioinnissa käytetään yleensä poolistia adsorbenttia, kuten silikaa (SiO_2) tai alumiinioksidia (Al_2O_3). Näyteseoksen komponentit houkuttelevat stationäärifaasin pintaan käänteisillä molekyylien välisillä voimilla: dispersio, dipoli, vetysidos ja heikoilla kovalenttisillä sidoksilla. Adsorption voimakkuus riippuu adsorbentista ja näytemolekyylien funktionaalisista ryhmistä ja tasapainon paikka riippuu näytteen ja liuottimen adsorption suhteellisesta lujuudesta. Molekyyleissä esiintyvät funktionaaliset ryhmät aiheuttavat suuren eron molekyylien välisissä voimissa, jolloin molekyylin sisältämä funktionaalinen ryhmä vaikuttaa siihen, miten vahvasti molekyyli tarttuu stationäärifaasiin. Esimerkiksi alkyyliryhmät ovat heikosti sitoutuneita, koska ne ovat kiinnittyneet heikoilla dispersiovoimilla, kun taas alkoholit ovat sitoutuneita vahvemmillä dipoli- ja vetysidoksilla. Alkyyliryhmän heikko sitoutumiskyky vaikuttaa myös samankaltaisten yhdisteryhmien sitoutumiseen. Esimerkiksi alkyylibentseenit sitoutuvat

lähes yhtä heikosti stationääri faasiin, kuin alkyyliketjut. Molekyylien erilaiset sitoutumisvahvuudet mahdollistavat yhdisteiden erottumista toisistaan. Esimerkiksi alkyyliryhmän heikko adsorboituminen on hyödynnetty öljynäytteiden komponenttien erottamiseen tyydyttyneisiin, alkyylimonoaromaattisiin ja alkyylidiaromaattisiin hiilivetyihin, kolmeksi erilliseksi yhdisteryhmäksi. [11, s. 217.]

Aromaattiset yhdisteet erottuvat aktivoitulla alumiinioksidilla paremmin kuin silikalla. Eroteltaessa aromaattisia hiilivetyjä toisistaan fraktioissa saattaa esiintyä pientä kontaminaatiota toisista aromaattisista fraktioista. Samalla tavalla tyydyttyneessä ja aromaattisessa fraktiossa voi esiintyä pientä päällekkäisyyttä eluotaessa fraktiot toisistaan. [11, s. 244, 246.]

Liuottimen valinta on tärkeä sillä kromatografisessa erottelussa pyritään mahdollisimman pieneen retentioaikaan. Esimerkiksi sykloheksaanilla ja pentaanilla on samankaltaiset kromatografiset ominaisuudet, mutta sykloheksaanilla on neljä kertaa isompi viskositeetti, kuin pentaanilla, jolloin eluominen pentaanilla olisi neljä kertaa nopeampi. Liuottimen valinnassa pitää ottaa myös huomioon liuottimen kiehumispiste, sillä öljyfraktioista täytyy yleensä haihduttaa tai tislata liuotin pois, jotta saadaan valmisnäyte. Tämän takia pitää valita liuotin, jolla on alhainen kiehumispiste, jotta minimoidaan näytteen haihtumista tai lämpöhajoamista. On vältettävä myös liuottimia jotka reagoivat adsorbentin tai ilman kanssa, koska ne vaikuttavat kromatografiseen erotteluun. Esimerkiksi asetoni reagoi alumiinioksidin kanssa muodostaen diasetonialkoholia. [11, s.234.]

Pylväsfraktioinnilla erotetaan keskittisnäytteet, joiden kiehumisalue on, 232 - 538 °C. Näytteet erotetaan kahdeksi fraktioksi, jotka ovat tyydyttynyt fraktio ja aromaattinen fraktio. Tyydyttynyt fraktio eluoidaan pentaanilla kolonnista pois ja aromaattinen fraktio eluoidaan dietyylieetterillä kloroformilla ja etanolilla. Tyydyttyneeseen fraktioon kuuluvat hiilivetyryhmät ovat parafiinit, monosykloparafiinit, disykloparafiinit ja trisykloparafiinit (kuva 5). Aromaattiseen fraktioon kuuluvat hiilivetyryhmät ovat alkyylibentseenit, indaanit ja tetraliinit, indeenit, naftaleenit, asenaftenit, asenaftyleenit ja triaromaatit. Aromaattisessa ja tyydyttyneessä fraktiossa voi esiintyä myös pieniä kontaminaatioita toisistaan, jolloin tyydyttyneessä fraktiossa voi esiintyä alkyylibentseeniä ja aromaattisessa fraktiossa parafiineja ja sykloparafiineja. [12; 13.]

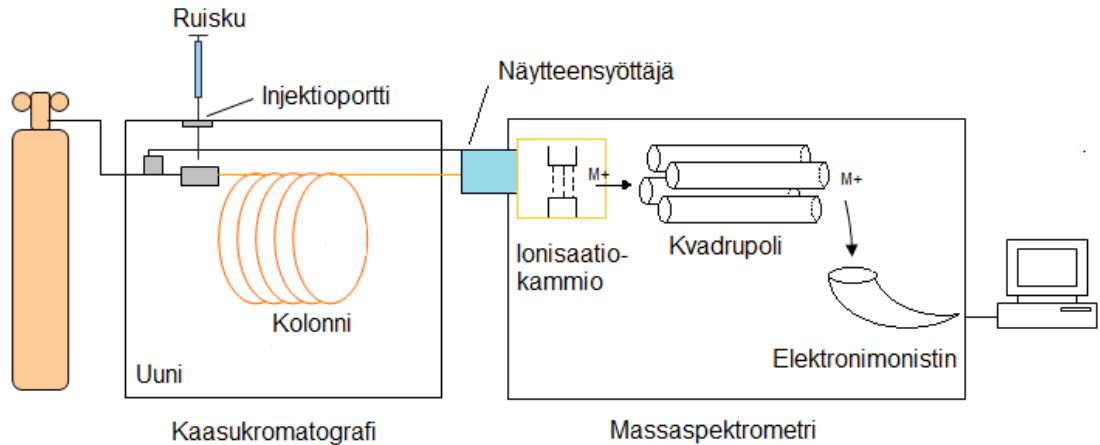
Hiilivetyryhmät		
Parafiinit	Sykloparafiinit	Indaanit + tetraliinit
		 Indaani Tetraliini
Indeenit + C_nH_{2n-10}	Naftaleenit	Asenafteenit + C_nH_{2n-14}
		
Asenaftyleeni + C_nH_{2n-16}	Triaromaatit	Alkyylibentseenit
		

Kuva 5. Keskitisleidien hiilivetyryhmät ja esimerkki molekyylijä jokaisesta ryhmästä. Kaikkiin ryhmiin voi sitoutua erilaisia alkyyliiryhmiä [14].

2.4 Kaasukromatografi-massaspektrometri

Kaasukromatografialla (GC) erotetaan haihtuvia ja termisesti stabiileja yhdisteitä toisistaan. Näytteiden komponentit erotetaan toisistaan niiden vuorovaikutuksen perusteella kiinteään tai nestemäisen stationäärifaasin ja liikkuvan kaasufaasin välillä. Yhdisteiden erottuminen perustuu niiden tasapainoon näiden kahden faasin välillä. Yhdisteet vuorotellen adsorboituvat stationäärifaasin pintaan ja irrottautuvat takaisin liikkuvaan faasiin. Molekyylien viipymisaikaan stationäärifaasissa vaikuttaa stationäärifaasin paksuus, molekyylin koko ja diffuusiovakion arvo. Molekyylin kineettinen energia ja vuorovaikutukset stationäärifaasin kanssa vaikuttavat sen haihtuvuuteen takaisin liikkuvaan faasiin. Mitä korkeampi lämpötila on, sitä suurempi kineettinen energia molekyyilleillä on, jolloin ne irrottautuvat nopeammin stationäärifaasin pinnasta. Molekyylit kulkevat eteenpäin, kun ne ovat liikkuvassa faasissa. Tällöin helposti haihtuvat yhdisteet kulkevat nopeammin, kuin stationäärifaasiin voimakkaammin sitoutuvat yhdisteet. Yhdisteet liikkuvat eri nopeuksilla riippuen niiden tasapainoista stationäärifaasin ja liikkuvan faasin välillä, mikä mahdollistaa niiden erottumista toisistaan. [9, s.140; 15, s. 155; 16, s. 69.]

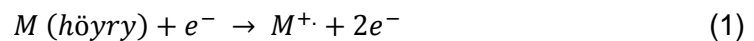
Kromatografisen erottelun jälkeen näytteet analysoidaan massaspektrometrillä (kuva 6). Massaspektrometriassa (MS) orgaaniset ja epäorgaaniset näytemolekyylit ionisoidaan ionisaattorissa positiivisiksi tai negatiivisiksi ioneiksi, jonka jälkeen ne kiihdytetään lentämään massa-analyysaattorille. Analyysaattori erottelee muodostuneet ionit, niiden massan ja varauksen suhteen perusteella (mass-to-charge ratio, m/z), jonka jälkeen erotetut ionit mitataan detektorilla. [9, s. 122-123; 15, s.15.]



Kuva 6. Kaasukromatografi-massaspektrometria-laitteen kaavakuva [Mukaihen 9, s.123,125; 17].

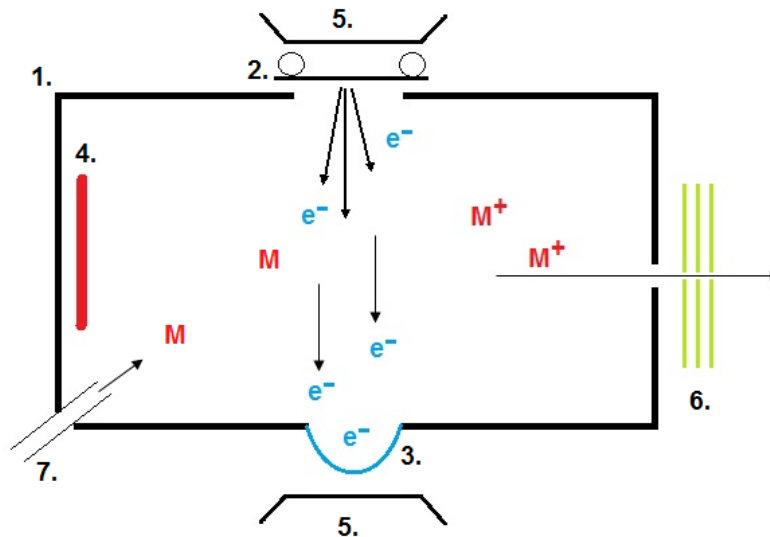
2.4.1 Elektroni-ionisaatio

Elektroni-ionisaatio (EI) on yksi vanhimmista ja laajemmin käytetyistä ionisaatiotekniikoista orgaanisessa massaspektrometriassa. Siinä kaasumainen analyyttimolekyylit pommitetaan korkeaenergisillä elektroneilla, jolloin molekyylistä irtoaa elektroni ja muodostuu molekyylioni (M^+) (kaava 1).



Elektronin irtoamisen lisäksi molekyylille voi tapahtua erilaisia reaktioita kuten virittyminen, useasti varautuneen ionin muodostuminen ja elektronisieppaus, jolloin muodostuu molekyylianioni M^- . Useasti varautuneen molekyylin syntyminen ja elektronisieppaus

ovat kuitenkin harvinaisempia, kuin muut ionisoitumis muodot. Molekyyli-ionin lisäksi ionisaatiossa syntyy myös runsaasti pilkeioneja, joita hyödynnetään yhdisteiden rakenteen tunnistamisessa. Koska elektroni-ionisaatio on hyvin vahva, molekyyli-ionin intensiteetti saattaa olla hyvin pieni tai se puuttuu kokonaan, mikä vaikeuttaa huomattavasti spektrin tulkintaa.



Kuva 7. Elektroni-ionisaatiolähde. 1. Ionisaatiokammio, 2. filamentti, 3. keräin, 4. karkoitin, 5. magneetti, 6. ionioptikka ja 7. näytteen syöttö [Mukaillen: 15, s. 55].

Elektroni-ionisaatio tapahtuu vakuuissa olevassa ionilähteessä (kuva 7). Ionilähde koostuu ionisaatiokammioista, filamentista, keräimestä, karkoittimesta (repelleri), ionioptiikasta ja kammion ympärillä olevasta heikkotehoisesta magneetista. Höyrystynyt näyte johdetaan ionilähteeseen, jossa sitä pommitetaan elektroneilla. Elektronit tuotetaan filamenttilangalla, joka on tavallisesti volframia tai reniumia. Elektronit johdetaan kammioon, jossa ne ionisoivat näytemolekyylejä ja jatkavat matkaa kohti keräintä. Ionisoituneet näytemolekyylit poistetaan ionilähteestä karkoittimen pienen positiivisen jännitteen avulla. [15, s. 54.]

2.4.2 Kvadrupoli

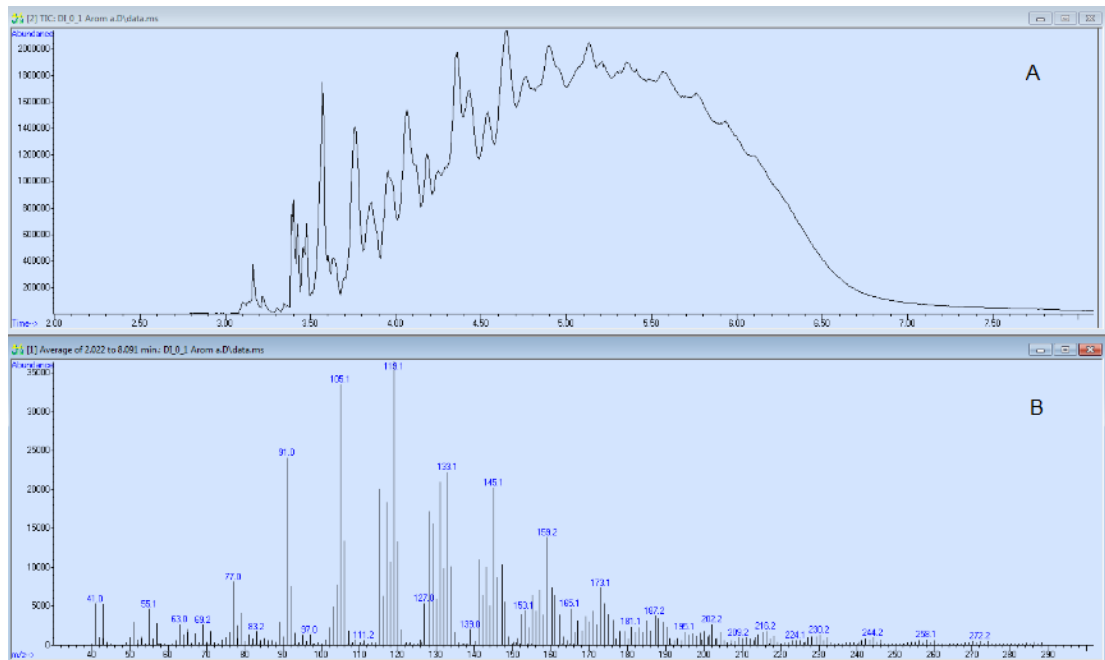
Tässä analysilaitteessa käytetty analysaattori on kvadrupoli, joka on yleisemmin käytetty analysaattorityyppi. Kvadrupoli toimii suodattimena, joka päästää lävitseen ionit, niiden m/z -suhteen perusteella. Se koostuu neljästä yhdensuuntaisesta elektrodista, jotka ovat rakenteeltaan pyöreitä sauvamaisia putkia. Elektrodeihin johdetaan jännitettä, jonka ansiosta sauvojen väliin syntyy sähkökenttä. Ionit kulkevat tämän sähkökentän läpi, jonka jälkeen ne ohjataan detektorille. [15, s. 27.]

2.4.3 Elektronimonistin

Elektronimonistimeen saapuneiden positiivisten ionien virtaa vahvistetaan elektroni emissiolla. Kun positiivinen ioni saapuu elektronimonistimelle, se törmää elektronimonistimen seinämään (dynodiin), jolloin dynodista irtoaa useita elektroneja. Dynodien potentiaalierojen vaikutuksesta irronneet elektronit lentävät dynodilta toiselle irrottaen lisää elektroneja. Elektronien törmätessä useampaan dynodiin, niiden virta vahvistuu ja lopuksi törmäävät 0-potentiaalissa olevalle anodille (keräin), jonka jälkeen elektronisuihkusta syntynyt jännite muutetaan signaaliksi. [15, s. 97.]

2.5 Analyysimenetelmä

Näytteiden analysoinnissa käytettiin GCMS (Gas chromatography mass spectrometer) -laitetta. Laitteen eroavaisuus normaalista GCMS:sta on, että kaasukromatografissa ei ole analyysikolonnia, jolloin näytteen yhdisteet eivät erotu toisistaan. GC:ssä on vain lyhyt inertti putki, jonka läpi näyte kulkee kantajakaasun mukana tietyn uunin lämpötilaohjelman ja kantajakaasun virtausohjelman mukaisesti. Koska erotusta ei tapahdu, kromatogrammissa ei näy yksittäisiä piikkejä vaan yksi hyvin leveä vyöhyke (kuva 8).

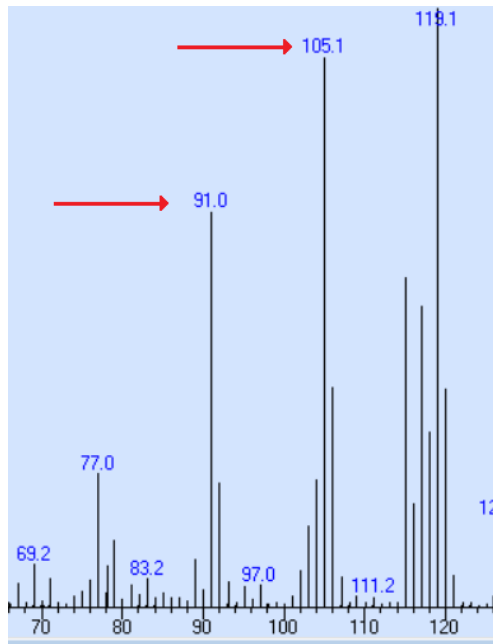


Kuva 8. Diesel näytteen aromaattisen fraktion kromatogrammi (A) sekä kromatogrammin keskiarvospektri (B).

Keskityslenäytteistä määritetään eri hiilivetyjä yhdisteryhmittäin. Menetelmässä ei tarkastella yksittäisiä hiilivety molekyyliä vaan keskitysleen hiilivetykoostumusta määritetään sen sisältämien hiilivetyryhmien massafragmenttien summan perusteella. Keskiarvospektrien tuloksista lasketaan kunkin hiilivetyryhmän osuus näytteestä massaprosentteina, siten, että näytteen kaikkien hiilivetyryhmien yhteen laskettu massaprosentti on 100. Kullekin hiilivetyryhmälle on luonteenomaiset massapiikit, joiden summien avulla lasketaan koko näytteen hiilivetykoostumusta. Alla on esimerkki alkyylibentseenien massafragmenteista, joiden avulla yhdisteryhmä tunnistetaan.

Σ 91 (alkyylibentseeni) = totaali piikin korkeus m/e^+ 91 + 92 + 105 + 106 + ...jne. 175 + 176 asti. [13.]

Kuvassa 9 on suurennus dieselnäytteen aromaattisen fraktion keskiarvospektristä, jossa näkyy osa alkyylibentseeniryhmän massafragmenteista.



Kuva 9. Suurennus dieselnäytteen aromaattisen fraktion massaspektristä, jossa näkyy ainakin alkyylibentseeniryhmän 91 ja 105 massafragmentit.

2.6 Validointi

Validoinnilla tarkoitetaan menettelyä, jossa varmistetaan analyysimenetelmän soveltuvuutta tunnetulle käyttökohteelle. Analyysimenetelmälle asetetaan tiettyjä suorituskykyparametrejä, joiden toimivuutta selvitetään suunniteltujen mittaussarjojen avulla. Validoinnista syntyvän tiedon perusteella todetaan menetelmän luotettavuus. [9, s.11.]

Vaikka analyysimenetelmä on validoitu ASTM (American Society for Testing and Materials) - tahon puolesta, on kuitenkin tarpeen validoida analyysimenetelmä, koska tässä analyysimenetelmässä on poikettu näytefraktioinnin osalta standardista, jolloin pelkkä verifiointi ei riitä.

2.6.1 Lineaarisuus

Lineaarisuudella määritetään analyttisen menetelmän tai analyttisen instrumentin kykyä antaa tietyllä alueella hyväksyttävä lineaarinen korrelaatio tulosten ja näytteen analyttien pitoisuuksien välillä. Menetelmä on siis lineaarinen, kun järjestelmän ulostulon muutoksen suhde ja sisääntulon muutoksen suhde on vakio. Jos tämä muutos ei ole vakio, menetelmä ei ole lineaarinen.

Lineaarisuutta määritetään yleensä useammalla eri pitoisella näyteliuoksella, jotka kattavat koko mittausaluetta. On kuitenkin suositeltavaa käyttää vähintään viittä eri pitoista näytettä nollanäytteen lisäksi. Näytteistä tehdään kaksi tai kolme rinnakkaismittausta ja tutkitaan suoran residuaalikuvaajaa. Residuaalikuvaaja kuvaa miten lineaarisuussuoran pisteiden arvot jakautuvat nollassa molemmille puolille. Residuaali (ε) on jäännös, jota saadaan vähentämällä mitattuja ja laskettuja y-arvoja toisistaan kaavan 2 mukaisesti. [18, s.12; 19, s.28–29 ; 20.]

$$\varepsilon = y_i - v_i \quad , \text{ jossa} \quad (2)$$

y_i = mitattu arvo

v_i = laskettu arvo

2.6.2 Toteamis- ja määrittäysraja

Toteamisraja (LOD = *Limit of Detection*) on analyytin pienin pitoisuus, jota voidaan määrittää menetelmällä tietyllä luottamustasolla. Määrittäysraja (LOQ = *Limit of Quantification*) on analyytin pienin pitoisuus, jota voidaan määrittää kvantitatiivisesti. LOD ja LOQ määritetään nollanäytteen avulla tai näytteen, joka sisältää tutkittavaa analyyttiä hyvin vähän. Rajat määritetään mitattujen rinnakaistulosten keskihajonnan (s) avulla. Saaduilla tuloksilla täytyy kuitenkin olla hyvä toistettavuus, jotta voidaan määrittää LOD ja LOQ luotettavasti. Menetelmän toteamisraja lasketaan kaavan 3 mukaisesti. [9, s.13; 19, s. 24–25.]

$$LOD (mg/kg) = 3 * s \quad (3)$$

Vastaavasti menetelmän määrittäysraja lasketaan kaavan 4 mukaisesti

$$LOQ (mg/kg) = 10 * s \quad (4)$$

2.6.3 Oikeellisuus

Oikeellisuus kuvaa, kuinka lähellä mitattujen tulosten keskiarvo on tunnetun referenssi materiaalin arvoon. Kun käytetään tätä määrittäystapaa, oikeellisuutta voidaan määrittää kvantitatiivisesti bias arvona. Jos referenssimateriaalia ei ole käytettävissä oikeellisuutta

voidaan määrittää saantokokeiden avulla tai vertaamalla saatuja tuloksia toisen menetelmän tuloksiin. [19, s.31.]

Oikeellisuuden määrittämisessä saantokokeiden avulla sisältää jonkin verran epävarmuutta, sillä lisätty analyytti ei välttämättä käyttäydy samalla tavalla, kuin näytteessä luonnostaan esiintyvä analyytti. Tästä syystä saannot, jotka ovat alle tai yli 100 %, sisältävät poikkeaman tuloksissa, mutta jos mitattu saanto on hyvin lähellä 100 %, se ei välttämättä tarkoita, että tuloksissa ei ole poikkeamaa. [21, s.105.]

Referenssimateriaalia ei ollut käytettävissä tämän validoinnin yhteydessä, joten oikeellisuutta määritettiin saantokokeiden avulla. Saannot laskettiin seuraavan kaavan 5 mukaisesti:

$$R (\%) = \frac{m_{\text{spiikattu,mitattu}} - m_{\text{ei spiikattu,mitattu}}}{m_{\text{spiikattu,teoreettinen}}} * 100\% \quad , \text{ jossa} \quad (5)$$

$$m_{\text{spiikattu, mitattu}} = c_s * m_t * 1/100 \%$$

jossa, c_s on mitattu parafiinien/alkyylibentseenien konsentraation keskiarvo (m- %) näytteessä KA_S tai DI_S ja m_t on näytteen KA_S tai DI_S kokonaismassa (mg)

$$m_{\text{ei spiikattu, mitattu}} = c_0 * m_{\text{KA,DI}} * 1/100 \%$$

jossa, c_0 on mitattu parafiinien tai alkyylibentseenien konsentraation keskiarvo (m- %) näytteessä KA_0 tai DI_0 ja $m_{\text{KA,DI}}$ on punnittu kaasuöljyn tai dieselin massa (mg) näytteessä KA_S tai DI_S

$$m_{\text{spiikattu, teoreettinen}}$$

Punnittu parafiinien tai alkyylibentseenien lisäyksen massa (mg) näytteessä KA_S tai DI_S.

2.6.4 Täsmällisyys

Menetelmän täsmällisyyttä määritetään yleensä toistettavuuden ja uusittavuuden avulla. Toistettavuus kuvaa rinnakkaismittausten välistä vaihtelua, kun yksi tekijä suorittaa mitaukset samalla laitteella lyhyen aikavälin sisällä. Sillä pyritään saamaan pienintä mahdollista hajontaa tulosten välillä. Uusittavuus kuvaa suurinta hajontaa laboratorioden välisissä mittauksissa. [19, s. 35.]

Menetelmän validoinnissa täsmällisyyttä määritettiin toistettavuuden avulla. Toistettavuus määritetään tulosten keskihajonnan perusteella. Rinnakkaistuloksista lasketaan keskihajonnat ja arvot muutetaan prosentiarvoiksi eli suhteelliseksi hajonnaksi (RSD %, relative standard deviation) kaavan 6 mukaan.

$$RSD = \frac{s}{\bar{x}} * 100 \% \quad ,\text{jossa} \quad (6)$$

s = keskihajonta ja

\bar{x} = näytteiden tulosten keskiarvo

Toistettavuus arvoille laskettiin myös r-rajat, kaavan 7 mukaisesti. R-arvot kuvaavat toistettavuusrajoja, joita toistettavuustulokset eivät saa ylittää.

$$r = 2,8 * s \quad (7)$$

2.7 Tilastolliset testit

Tilastollisella testauksella tarkoitetaan tiettyjen ennakkokäsitysten paikkansapitävyyden selvittämistä jostakin perusjoukosta. Ennakkokäsitys on asetettu yleensä teorian tai käytännön kokemuksen pohjalta. Perusjoukosta selvitetään tietyn otoksen käyttäytymistä. Tutkitaan ovat otoksessa mahdollisesti esiintyvät erot tai tilastolliset riippuvuudet tilastollisesti merkitseviä vai ovatko ne sattumasta johtuvia. On olemassa useita erilaisia testausmenetelmiä, joita käytetään tutkimuksissa. Käytettävän menetelmän valintaan vaikuttavat sekä tutkittavan aineiston ominaisuudet että ennako-oletuksen luonne. [22, s. 219.]

Tutkittaessa esiintyykö tulosten välillä hajontaa, käytetään tilastollisia testejä, joita kutsutaan merkitsevyys testeiksi. Merkitsevyytestit käytetään yleensä kokeellisten tulosten tutkimisessa. [21, s.37–38.] Tilastolliseen testaamiseen kuuluvat vaiheet ovat:

- hypoteesien asettaminen
- otoksen poimiminen
- tilastollisen testin valinta
- testin suorittaminen
- tuloksen tulkinta
- johtopäätöksen tekeminen. [23, s.181]

2.7.1 Tilastollisen menetelmän käsitteet

Merkitsevyysteesteissä tutkitaan yleensä hypoteesien paikkansa pitävyyttä. Käytetyt hypoteesit ovat nollahypoteesi (H_0) ja vaihtoehtoinen hypoteesi eli vastahypoteesi (H_1). Nollahypoteesilla väitetään, että tulosten välillä ei ole eroja ja vasta hypoteesilla väitetään, että tulosten välillä on eroja. Testeissä pyritään todistamaan jommankumman hypoteesin voimassaoloa. Asetetut hypoteesit eivät ole ikinä oikein tai väärin, vaan ne joko hyväksytään tai hylätään. Hypoteesit voivat olla yksi- tai kaksisuuntaisia, riippuen mitä halutaan tutkia. [21, s. 38; 23, s. 182–183.]

Testimuuttuja on suure, jonka arvojen perusteella johtopäätökset hypoteesien voimassaolosta tehdään. Jokaisella testityypillä on omat menetelmänsä testisuureen laskemiseen. Testisuure lasketaan otoksen mitattujen arvojen perusteella ja verrataan saatua arvoa teoreettiseen todennäköisyysjakaumaan. Jos laskettu arvo asettuu jakauman ääriarajoille, tämä tarkoittaa, että tulos on hyvin epätodennäköinen eikä noudata ennakolettamuksen mukaista jakaumaa, jolloin H_0 hylätään. [22, s. 220.]

Merkitsevyytaso eli riskitaso on arvo, joka kuvaa hylkäämisvirheen todennäköisyyttä, kun tehdään hypoteeseja koskevia johtopäätöksiä. Merkitsevyytasolla mitataan tehdyn johtopäätöksen tilastollista luotettavuutta eli toisin sanoen se on todennäköisyys tehdä virheellinen johtopäätös, kun H_0 hylätään. Merkitsevyytasosta käytetään lyhenteitä p tai α . [22, s.220; 23, s.184.]

Koska johtopäätökset perusjoukosta tehdään otoksesta saaduista arvoista, niin täyttä varmuutta johtopäätösten oikeellisuudesta ei ole. Tämän takia johtopäätöksiin liittyy kaksi erilaista virhemahdollisuutta:

1. lajin virhe eli hylkäämisvirhe: hylätään H_0 , vaikka se on tosi.
2. lajin virhe eli hyväksymisvirhe: hyväksytään H_0 , vaikka se on epätosi. [22, s. 220–221.]

Merkitsevyystaso on siis raja, jonka riskitason on alitettava, jotta nollahypoteesi hylätään. Käytetyin merkitsevyys taso on 0,05 (5 %), mutta testeissä käytetään myös 0,01:n (1 %) ja 0,001:n (0,1 %) merkitsevyystasoja. [23, s.184.]

2.7.2 F- ja t-testit

F-testi tutkii menetelmien tulosten varianssien vaihtelua keskenään. Vertailussa käytetään tulosjoukkojen keskihajonnan (s) neliöiden eli varianssien (s^2) suhdetta. Testi voidaan suorittaa kahdessa muodossa, joko yksi- tai kaksisuuntaisena. Yksisuuntaisessa testissä testataan onko menetelmä A tarkempi kuin menetelmä B tai vaihtoehtoisesti kaksisuuntaisessa testissä tutkitaan, eroavatko menetelmien A ja B tarkkuudet toisistaan. Esimerkiksi yksisuuntaista testiä käytetään, jos halutaan selvittää, onko uusi menetelmä tarkempi kuin standardi menetelmä ja tutkittaessa, eroavatko kaksi keskihajontaa merkitsevästi toisistaan, käytetään kaksisuuntaista testiä. [21, s. 47.]

T-testi tutkii yleensä menetelmien keskiarvojen eroavaisuuksia. Tutkiessa keskiarvoja t-testiä voidaan käyttää sekä yhtä suurten, että eri suurten varianssien tapauksessa. Täytyy siis ensin selvittää eroavatko tulosten varianssit toisistaan vai ei (esimerkiksi f-testillä) ja valita sen mukaan sopiva t-testi. [21, s. 45; 23, s. 215.]

T-testillä voidaan tutkia yhtä tai kahta otosta riippuen tutkittavasta kohteesta. Yhden otoksen t-testissä tutkitaan poikkeavatko tutkittavan perusjoukon odotusarvo μ ja jokin tietty luku μ_0 toisistaan. Kahden otoksen t-testissä tutkitaan eroavatko kahden otoksen tulosten keskiarvot toisistaan. Hypoteesit ovat molemmissa tapauksissa muotoa:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

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

$$H_1: \mu_1 > \mu_2 \quad \text{tai} \quad H_1: \mu_1 < \mu_2$$

Kaksisuuntainen testi

Yksisuuntainen testi

[22, s. 228,230.]

3 Laitteet, välineet ja reagenssit

Työssä käytettiin monia erilaisia laitteita ja välineitä, joita on lueteltu laitteet ja välineet alaotsikoiden alle. Taulukossa on koottu työssä käytettävät reagenssit.

3.1 Laitteet

Työssä käytettiin seuraavia laitteita:

- tisluslaitteisto
- vaaka
- rotavapori
- uusi GC-MS (Agilent: kaasukromatografi 7890B ja massaspektrometri 5977B)
- vanha GC-MS (Agilent)
- vortex- sekoitin
- lämpökaappi
- muhveliuuni.

3.2 Välineet

Työssä käytettiin alla lueteltuja välineitä:

- 2, 5, 10 ja 50 ml:n mittapulloja
- pasteuripipettejä
- spaatteleita
- lasinen fraktiointipylväs (76 cm)
- statiivi ja kourat
- 10 ja 100 ml:n mittalaseja
- 1,5 ja 10 ml:n vialeja
- 2 ja 20 ml:n ruiskuja
- ruiskuneuloja.

3.3 Reagenssit

Taulukossa 5 on esitetty kaikki työssä käytetyt reagenssit.

Taulukko 4. Validoinnissa käytetyt reagenssit sekä niiden valmistajat, tuotenumerot ja puhtaudet.

Reagenssi	Valmistaja	Tuotenumero	Puhtaus %
Dikloorimetaani	Merck Millipore	1.06050.2500	99.8
Kloroformi	VWR Chemicals	22711.324	99.3
Pentaani	VWR Chemicals	-	99.8
Heksaani	VWR Chemicals	24575.320	99.0
Dietyylieetteri	Merck Millipore	1.00921	99.7
Etanoli, ETAX Aa	Altia Industrial	-	≥ 94.0
Undekaani, C11	Sigma Aldrich Chemistry	U407-25 ML	99.3
Dodekaani, C12	Merck Millipore	8.20543.1000	99.0
Tridekaani, C13	Sigma Aldrich Chemistry	91490-5 ML	99.7
Tetradekaani, C14	Acros Organics	174131000	99.4
Pentadekaani, C15	Sigma Aldrich Chemistry	P3406-1006	99.0
Heksadekaani, C16	Acros Organics	120461000	99.1
Heptadekaani, C17	Acros Organics	156240250	99.1
Oktadekaani, C18	Sigma Aldrich Chemistry	O652-25G	99.3
Nonadekaani, C19	Fluka AG Buchs SG	-	99.1
Eikosaani, C20	Sigma Aldrich Chemistry	219274-5G	99.8
Heneikosaani, C21	Acros Organics	352770010	99.5
Dokosaani, C22	Sigma Aldrich Chemistry	134457-25G	99.1
1,2,4,5-tetrametyyli- bentseeni	Sigma Aldrich Chemistry	T19607-100G	98.0
1,4-dietyylibentseeni	Sigma Aldrich Chemistry	D170305-5G	95.0
Pentametyylibentseeni	Sigma Aldrich Chemistry	153613-5G	98.0
1-fenyylioktaani	Sigma Aldrich Chemistry	113190-5G	98.0
1-fenyylidecaani	Sigma Aldrich Chemistry	113212-25G	98.0
Pentyylibentseeni	Sigma Aldrich Chemistry	113174-25G	99.0
n-heksadekaani-d ₃₄	CDN Isotopes	D-0821	98.6
Silikageeli	VWR Chemicals	15173LX	-
Bauksiitti	-	-	-

4 Työn suoritus

Validoinnissa käytettiin kahta eri näytematriisia, jotka olivat kaasuöljy ja dieselöljy. Molemmat näytematriisit kuuluvat keskitisleisiin. Näytteillä on kuitenkin pienet kiehumisalue erot, koska standardimenetelmä on validoitu kaasuöljylle, mutta ei dieselöljylle. Dieselöljy otettiin validointinäytteeksi, koska se on tyypillisin tuotematriisi, jolle menetelmä tul- laan käyttämään.

4.1 Näytteiden valmistus

Validointinäytematriiseina käytettiin kaasuöljyä ja dieselöljyä. Molemmista näytemat- riiseista tehtiin lisäysnäytteet, joihin lisättiin tiettyjä hiilivetyjä kahdesta eri hiilivetyryh- mistä. Lisätyt hiilivetyryhmät kuuluivat parafiineihin ja alkyylibentseeneihin.

4.1.1 Validointinäytteet

Validointinäytteitä oli yhteensä neljä: kaasuöljy, kaasuöljylisäysnäyte, dieselöljy ja die- selöljylisäysnäyte. Kaasuöljy- ja dieselöljynäytteitä punnittiin 20000 ± 50 mg 50 ml:n mit- tapuloihin (liite 3). Kaasuöljylisäysnäytteeseen punnittiin jokaista parafiinia (C11, C12, C13, C14, C15, C16, C17 ja C18) 350 ± 20 mg, alkyylibentseenejä 200 ± 20 mg ja kaasu- öljyä 16000 ± 50 mg 50 ml:n mittapulloon. Lisätyt alkyylibentseenit olivat: tetrametyyli- bentseeni, dietylibentseeni, pentametyylibentseeni, pentyylibentseeni, oktyylibentseeni ja dekyylibentseeni. Dieselöljylisäysnäytteeseen lisättiin parafiineja (C11 - C22) 250 ± 20 mg, alkyylibentseenejä 200 ± 20 mg ja dieselöljyä 15800 ± 50 mg 50 ml:n mittapulloon. Molempiin lisäysnäytteisiin lisättiin samat alkyylibentseenit. Mittapulloja ei täytetty merk- kiin millään liuottimella, vaan tarkoituksena oli liuottaa hiilivedyt näytematriiseihin. Valmiit näyteliuokset jaettiin yhdeksään vialiin, joista kahdeksan on validointinäytteitä ja yksi va- ranäyte. Jokaisessa vialissa oli noin kaksi grammaa näytettä. Vialit säilytettiin pakasti- messa, kunnes niitä analysoitiin.

4.1.2 Lineaarisuusnäytteet

Valmistettiin lineaarisuusnäytteitä 10 ml:n mittapuloihin lisäämällä deuterioitua sisäistä standardia n-heksadekaania-d₃₄ eri pitoisuuksissa näytematriiseihin. Molemmista näyte- matriisista tehtiin oma ajosarja (kaasuöljy a ja dieselöljy b). Lineaarisuusnäytteitä tehtiin

kuusi eri pitoisuustasoa, joihin lisättiin n-heksadekaania-d₃₄ ja näytematriisia seuraavien taulukoiden 5 ja 6 mukaisesti:

Taulukko 5. Kaasuöljyn lineaarisuusnäytteiden punnitustulokset ja pitoisuudet.

Pitoisuustaso	1	2	3	4	5	6
Näytteen pitoisuus (m - %)	0	2	4	6	8	10
n-heksadekaani (mg)	0	14,8	39,6	45,0	81,6	98,7
Kaasuöljy (mg)	1001,8	985,1	960,5	941,6	920,3	897,3

Taulukko 6. Dieselin lineaarisuusnäytteiden punnitustulokset ja pitoisuudet.

Pitoisuustaso	1	2	3	4	5	6
Näytteen pitoisuus (m - %)	0	2	4	6	8	10
n-heksadekaani (mg)	0	18	42,2	61	77,7	101,4
Dieselöljy (mg)	993,0	981,2	959,5	940,0	920,1	899,3

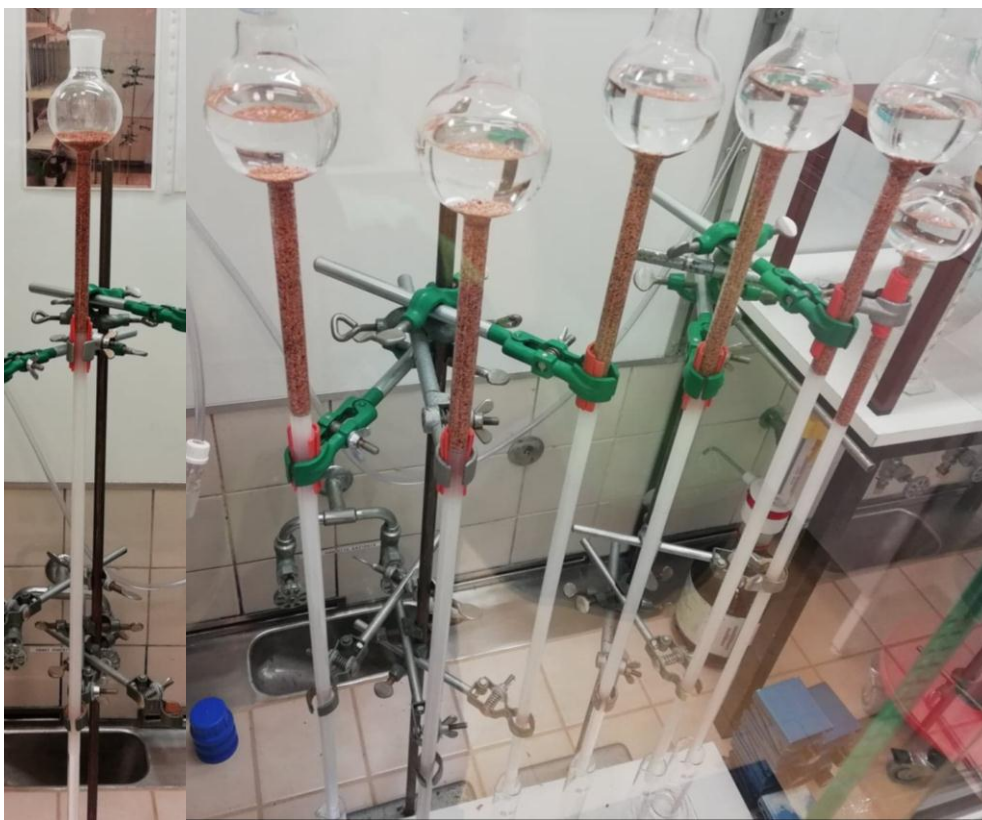
Näytematriisien ja n-heksadekaani-d₃₄:n punnitsemisen jälkeen mittapullot täytettiin dikloorimetaanilla merkkiin asti. Näyteliuokset sekoitettiin vortex - sekoittimella, jonka jälkeen ne siirrettiin 1,5 ml:n vialeihin. Näytesarjat (1a–6a ja 1b–6b) analysoitiin GCMS-laitteella saman päivän aikana. Jokaisesta pitoisuustasosta analysoitiin aina replikaatti samasta vialista. Ajon alussa, näytesarjojen välissä ja lopussa ajettiin puhdas dikloorimetaani.

Sisäistä standardia käytettiin vain lineaarisuusnäytteissä. Varsinaisiin validointinäytteisiin ei lisätty sisäistä standardia, koska näytteiden fraktioinnissa se olisi mennyt tyydyt-tyneeseen fraktioon eikä siten vastaisi sisäisen standardin käyttäytymistä.

4.2 Fraktiointi pylväskromatografialla

Valmistetut validointinäytteet fraktioitiin tyydyttyneisiin ja aromaattisiin fraktioihin modifioidun standardin ASTM D 2549 mukaisesti pylväsfraktioinnilla. Pylväsfraktioinnissa käytettiin lasista valmistettua 76 cm pitkä kolonni (kuva 10). Kolonni täytettiin aktivoitulla silikageelillä ja bauksiitilla, jotka toimivat fraktioinnissa stationääri- faasina. Aktivoitusta silikageelistä ja bauksiitista on poistettu kaikki mahdollinen kosteus pois (0 - % H₂O). Silikageeli aktivoitiin lämpöuunissa 177 °C:ssa 24 tunnin ajan ja bauksiitti aktivoitiin uunissa 538 °C:ssa 16 tunnin ajan. Aktivoinnin jälkeen silikageeli ja bauksiitti säilytettiin

eksikaattorissa ilman kosteudelta suojattuina. Bauksiitissa on alumiinioksidia (Al_2O_3), johon aromaattiset yhdisteet tarttuvat (taulukko 3).



Kuva 10. Näytteiden fraktioinnissa käytetyt lasipylväät.

Kun pylväät on täytetty stationäärifaaseilla, ne kiinnitetään statiiviin kouran avulla. Näytettä punnitaan kahden millilitran ruiskuun, jolloin näytteen massa on noin 1,8 g. Kolonni kostutetaan 10 ml:lla pentaania. Näyte lisätään kolonniin vasta kun pentaanikerros on imeytynyt täysin bauksiittiin. Fraktioinnin aikana täytyy huolehtia, että stationäärifaasi ei pääse kuivumaan. Näytteen imeytyttyä kolonniin lisätään 20 ml pentaania pienissä erissä pylvään reunaan pitkin, jotta pylväs huuhtoutuisi hyvin. Näytteen aromaattiset yhdisteet jäävät kiinni bauksiittiin ja tyydyttyneet yhdisteet kulkeutuvat pentaanin mukana kolonnin läpi. Kun 20 ml pentaania on imeytynyt bauksiittiin, pylvääseen lisätään 80 ml pentaania. Pentaanikerroksen imeytyttyä pylvääseen lisätään dietyylieetteriä ensin 20 ml pienissä erissä ja sitten loput 60 ml. Kun pylvään alle asetettuun mittalasiin on kerätty 80 ml pentaania, pylvään kärki huuhdotaan pienellä määrällä pentaania ja mittalasi vaihdetaan toiseen astiaan. Kerättyyn 80 ml:n pentaaniin on tällöin eluotunut näytteen tyydyttyneet yhdisteet. Eetterin lisäyksen jälkeen pylvään hiososaan kiinnitetään paineka-

suvirtaus, jotta aromaattiset yhdisteet eluoituisivat nopeammin. Eetterikerroksen imeytyttyä bauksiittiin, pylvääseen lisätään 100 ml kloroformia, joista ensimmäiset 20 ml pistetään pienissä erissä. Liuottimien lisäyksen ja vaihdon aikana painekaasuvirtaus otetaan väliaikaisesti pois ja pistetään sitten takaisin. Kun kloroformi kerros on imeytynyt pylvääseen, lisätään lopuksi 75 ml etanolia. Etanolin annetaan tippua kaasuvirtauksen avulla kunnes pylväs on kuiva. Näin samaan astiaan on kerätty dietyylieetteri, kloroformi ja etanoli liuottimet, joihin aromaattiset yhdisteet ovat eluoituneet.

Standardin mukaan eluoidut fraktiot haihdutetaan huoneen lämmössä tai vesihauteen avulla. Koska käytetty menetelmä on hieman muokattu alkuperäisestä standardista, haihdutusta on korvattu tislauksella. Molemmista fraktioista tislataan liuotin pois, jonka jälkeen loppuliuotin haihdutetaan rotavaporilla typpivirtauksen avulla. Näytettä haihdutetaan rotavaporilla pienissä jaksoissa, jonka jälkeen näyte punnitaan. Kun näytteen punnitustulokset eroavat alle 20 mg:n verran, haihdutus voidaan lopettaa.

4.3 Näyteliuosten valmistus

Tyydyttyneen ja aromaattisen fraktion haihdutuksen jälkeen fraktioista valmistettiin näyteliuokset analysointia varten. Tyydyttynyttä fraktiota punnittiin 500 ± 50 mg 5 ml:n mittapulloon ja täytettiin merkkiin dikloorimetaanilla. Aromaattista fraktiota saatiin vähemmän, jolloin sitä punnittiin 200 ± 20 mg 2 ml:n mittapulloon ja täytettiin merkkiin dikloorimetaanilla. Tällöin näytteiden pitoisuudeksi saadaan 100 mg/ml.

4.4 Mittausten suoritus

Kun kaikki kahdeksan näytereplikaattia on fraktioitu, ja valmistettu niistä näyteliuoksia, ne voidaan analysoida yhtenä sarjana. Valmistetut näyteliuokset jaettiin 1,5 ml:n vialeihin. Jokaista näyteliuosta pipetoitiin noin yksi millilitra kahteen näytevialiin. Tällöin saadaan kaksi identtistä ajosarjaa: sarja a ja sarja b. A-sarja analysoitiin uudella GCMS-laitteella ja b-sarja analysoitiin vanhalla GCMS-laitteella, jolloin voidaan vertailla tuloksia keskenään. Uudella laitteella näytesarja analysoitiin yhden päivän aikana, mutta vanhalla laitteella koko näytesarjaa ei voitu analysoida samana päivänä, koska näytteet piti syöttää manuaalisesti. Vanhalla laitteella näytesarja analysoitiin kahtena tai kolmena peräkkäisenä päivänä.

4.5 Kokonaistypen ja rikin määrittäminen

Kaasuöljystä ja dieselöljystä teetettiin kokonaistyyppi ja rikkipitoisuus. Typen ja rikin määrittäminen näytteistä on tärkeää sillä, jos näytteissä esiintyy suuria määriä typpi- tai rikkiyhdisteitä ne saattavat häiritä mittaustuloksia. Typpi ja rikkiyhdisteet ovat polaarisia, kun taas kaikki muut näytematriisien yhdisteet ovat poolittomia. Tämä polarisuus saattaa vaikuttaa pylväsfraktiointiin ja antaa siten epämääräisiä tuloksia. Toinen aiheutuva ongelma typpi- ja rikkiyhdisteistä on, että ne sisältävät samoja ioneja, kuin näytematriisien hiilivety ionit, jolloin ne virheellisesti lisäävät joidenkin yhdisteiden pitoisuutta. Saatua rikki- ja typpipitoisuuksia voidaan verrata standardin antamiin rajoihin ja päätellä, onko niillä vaikutusta tuloksiin vai ei.

4.6 Kiehuma-alueiden määrittäminen

Kaasuöljystä ja dieselöljystä (ei lisäysnäytteitä) määritettiin kiehumatilat simuloidulla tislauksella. Määritettyjen kiehumatilojen perusteella varmistetaan, että näytteet kiehuvat ASTM D2425-standardin menetelmään mukaisesti. Tuloksista nähdään, että kuinka monta prosenttia näytteestä on kiehunut tietyssä lämpötilassa ja sen avulla varmistetaan, että kiehuvatko näytematriisien komponentit oikeissa lämpötiloissa vai onko tuloksissa eroja.

5 Tulokset

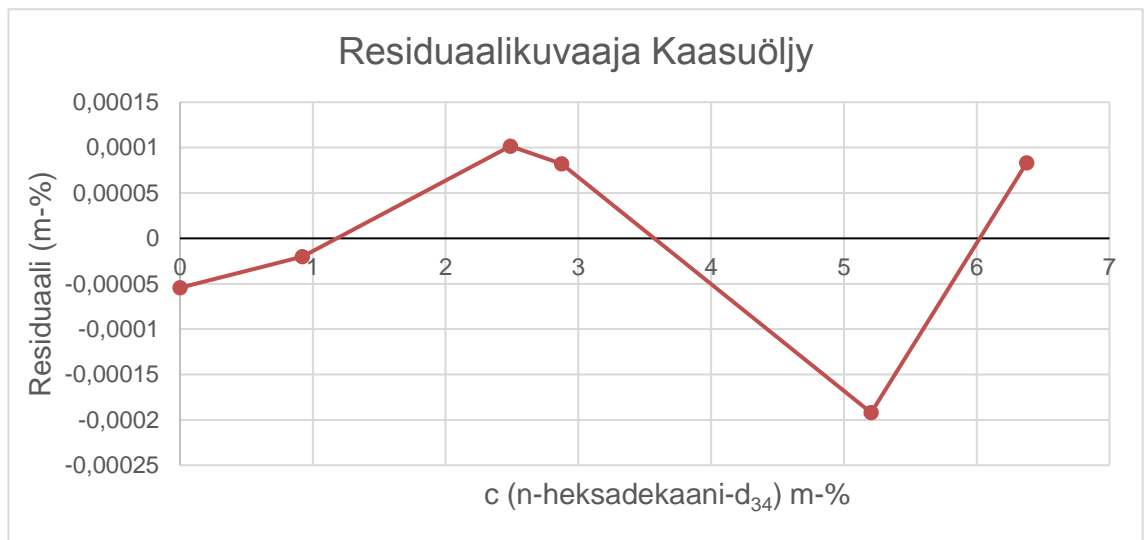
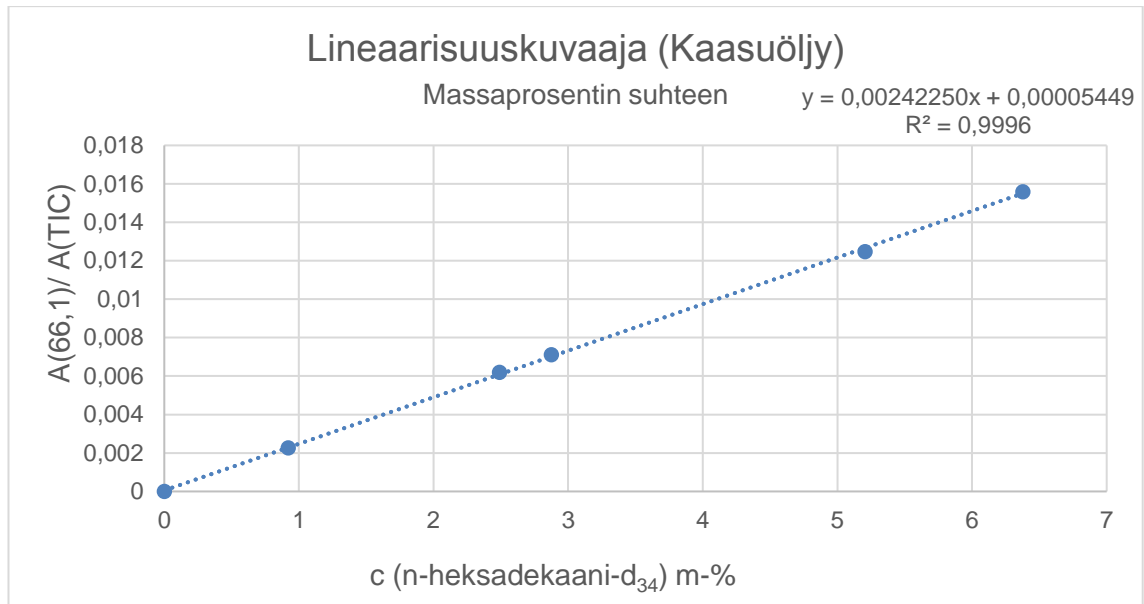
Kaikki mitatut rinnakkais tulokset testattiin Grubbsin-testillä, jonka mukaan todettiin, että tuloksissa ei ole harha arvoja. Vaikka joissakin yhdisteryhmissä esiintyi harha-arvoja, mittaustulosta ei hylätty. Tulosta ei hylätty, koska kyseisen yhdisteryhmän rinnakkaismittausten toistettavuus oli hyvin pieni, kun taas saman näytteen toisen yhdisteryhmän tuloksissa ei esiintynyt harha-arvoja, vaikka rinnakkais tuloksissa oli huomattavasti suurempi hajonta. Validoinnissa pyritään saamaan hyviä toistettavuusarvoja, jotka ovat sitä parempia, mitä pienempiä arvot ovat.

5.1 Lineaarisuus

Massaspektrometrin lineaarisuutta on määritetty mittaamalla dieselöljyä ja kaasuöljyä, joihin on lisätty n-heksadekaani- d_{34} kuudessa eri pitoisuustasossa ja tutkittu niiden käyttäytymistä. Vaikka kaasuöljyssä ja dieselöljyssä on monia erilaisia hiilivetyjä, oletetaan että niiden massaspektrometrinen vaste on samanlainen, kuin deuterioitu n-heksadekaani- d_{34} . Lineaarisuus määritettiin suhteuttamalla deuterioidun n-heksadekaanin- d_{34} massaspektriä koko yhdisteen summaspektriin.

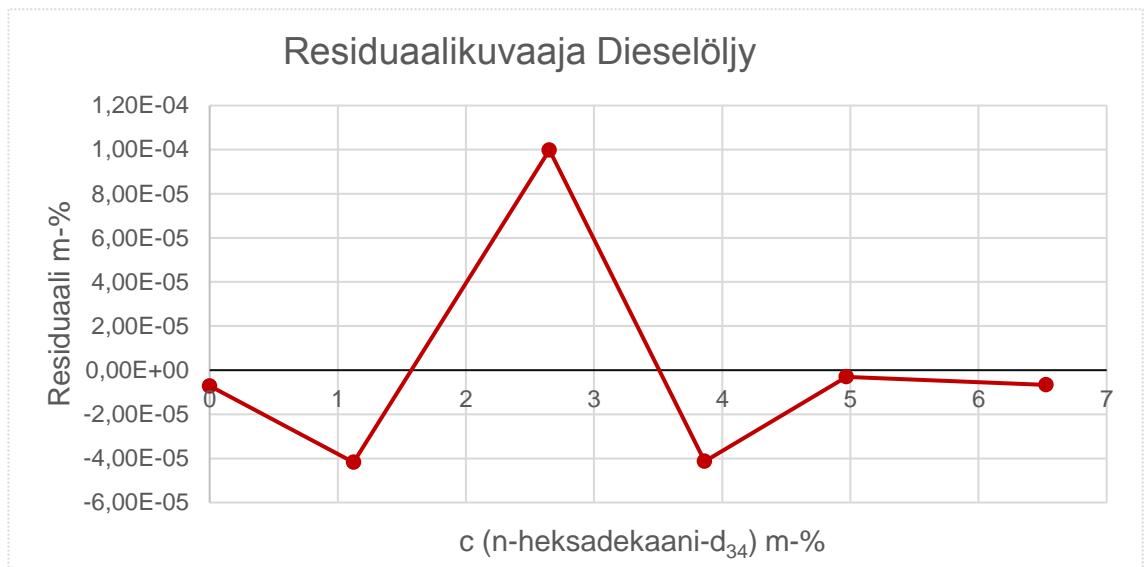
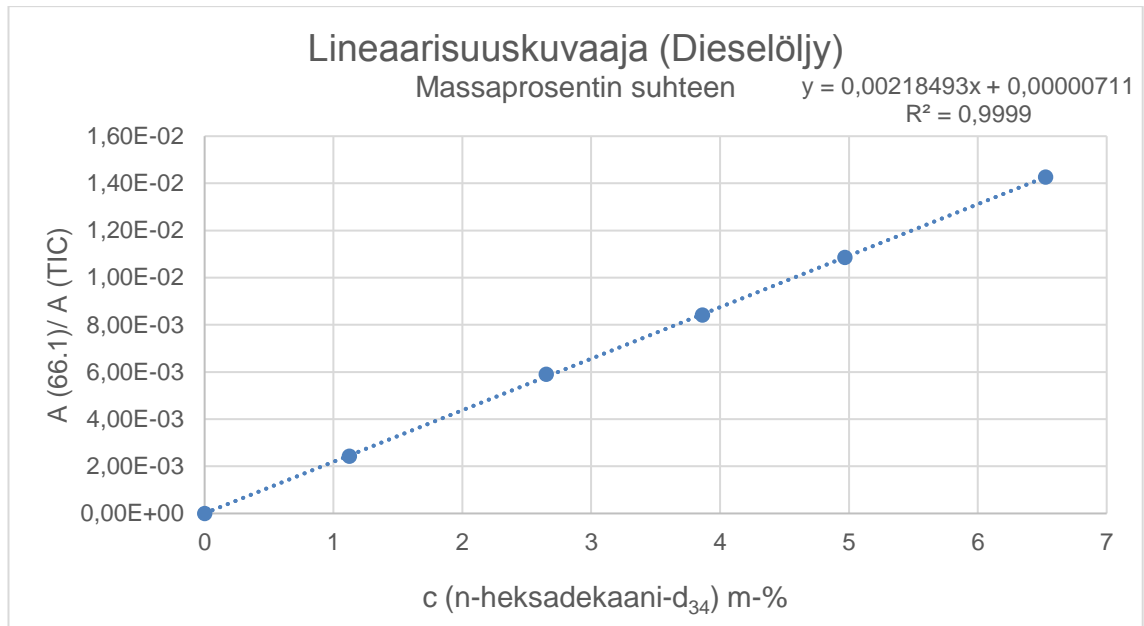
Mitatuista lineaarisuusnäytteistä laskettiin aina replikaattien n-heksadekaani- d_{34} :n 66,1 selektiivisen ionin kromatogrammin piikin pinta-alan keskiarvo sekä kokonaisionikromatogrammin pinta-alan keskiarvo. Lasketut keskiarvot suhteutettiin toisiinsa ja verrattiin n-heksadekaani- d_{34} :n massaprocenttiin. Lineaarisuussuorat (kuvat 11 ja 12) piirrettiin pinta-alojen suhteiden ja n-heksadekaani- d_{34} :n massaprocenttien perusteella.

Lineaarisuuskuvaajista tehtiin myös residuaalikuvaaja, jotta voidaan varmistaa suorien lineaarisuus. Residuaalikuvaajan y-akselin arvot laskettiin kaavan (2) mukaisesti ja x-akseliin tuli sisäisen standardin (n-heksadekaani- d_{34}) massaprocentit.



Kuva 11. Kaasuöljyn lineaarisuus- ja residuaalikuvaajat. Lineaarisuuskuvaajan y-akselin arvot ovat n-heksadekaani-d₃₄:n selektiivisen 66,1-ionin kromatogrammien piikkien pinta-alojen keskiarvon sekä kokonaisonikromatogrammin pinta-alojen keskiarvon suhde.

Suora on lineaarinen, kun residuaalikuvaajan pisteet jakautuvat satunnaisesti nollatason molemmille puolille eikä niissä esiinny selkeää trendiä. Kaasuöljyn residuaalikuvaajasta huomataan tämä satunnainen jakautuminen, jolloin voidaan todeta, että suora on lineaarinen.



Kuva 12. Dieselöljyn lineaarisuus- ja residuaalikuvaajat. Lineaarisuuskuvaajan y-akselin arvot ovat n-heksadekaani-d₃₄:n selektiivisen 66,1-ionin kromatogrammien piikkien pinta-alojen keskiarvon sekä kokonaisonikromatogrammin pinta-alojen keskiarvon suhde.

Dieselöljyn residuaalikuvaajan perusteella voidaan myös todeta, että lineaarisuussuora on lineaarinen.

5.2 Toteamis- ja määrittämissrajat

Toteamis- ja määrittämissrajat määritettiin analysoimalla normaalinäytteitä (ei lisäsnäytteitä) kahdeksan kertaa saman päivän aikana. Mitatuista tuloksista laskettiin keskiarvo ja keskihajonta ja määritettiin, mitä yhdisteryhmää esiintyy vähiten kummassakin näytematriisissa. Koska ei ole olemassa sellaista polttoainetta, jossa olisi kaikkia hiilivetyjä niin pieni määrä, joka kuvaisi nollanäytettä, toteamis- ja määrittämissrajat lasketaan siitä yhdisteryhmästä, jota esiintyy näytematriisissa vähiten. Toteamis- ja määrittämissrajat laskettiin kaavojen 3 ja 4 mukaisesti. Lasketut LOD ja LOQ-arvot oletetaan olevan samoja kaikille näytematriisin yhdisteryhmille, koska kaikista hiilivetyryhmistä ei voida määrittää erikseen LOD ja LOQ-arvoja. Taulukoissa 7 ja 8 on esitetty lasketut keskiarvot, keskihajonnat ja lasketut rajat.

Taulukko 7. Kaasuöljyn toteamis- ja määrittämissrajat laskettuina asenaftyleeni ja C_nH_{2n-16}-yhdisteryhmien pitoisuudesta.

Kaasuöljy				
	Keskiarvo (m- %)	Keskihajonta (m- %)	LOD (m- %)	LOQ (m- %)
Asenaftyleeni + C_nH_{2n-16} yhdisteet	0,46	0,01	0,04	0,14

Taulukko 8. Dieselöljyn toteamis- ja määrittämissrajat laskettuina triaromaattiyhdisteiden pitoisuudesta.

Dieselöljy				
	Keskiarvo (m- %)	Keskihajonta (m- %)	LOD (m- %)	LOQ (m- %)
Triaromaatit	0,18	0,02	0,07	0,24

5.3 Oikeellisuus

Oikeellisuus on määritetty saantokokeiden avulla, koska ei ollut sopivaa referenssimateriaalia, että oikeellisuus olisi voitu määrittää biasina. Näytteisiin lisättiin kahteen yhdis-

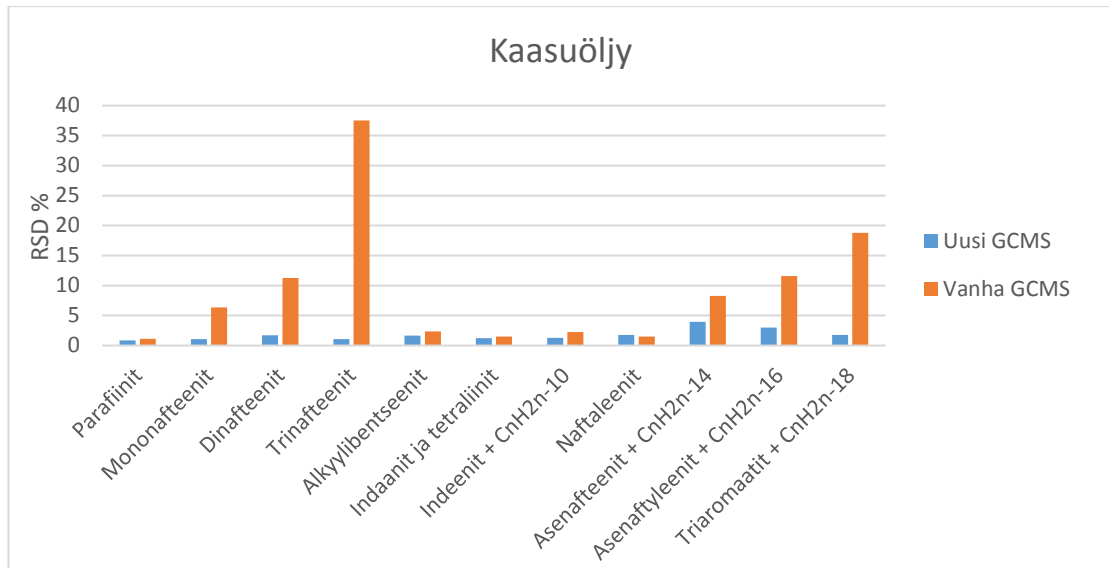
teryhmään kuuluvia hiilivetyjä, jotka olivat parafiinit ja alkyylibentseenit. Näytematriiseihin lisättiin juuri näitä hiilivetyjä, koska ne esiintyvät luontaisesti näytematriiseissa ja niiden pitoisuus näytteissä on suurempi kuin muut hiilivedyt, jotka esiintyvät näytteissä. Lisättyjen hiilivetyjen rakenne ei ole täysin samanlainen, kuin näytematriiseissa luonnostaan esiintyvien hiilivetyjen rakenne. Näytematriiseissa esiintyvät komponentit ovat rakenteeltaan monimutkaisempia ja haaroittuneita, kun taas lisätyt hiilivedyt olivat hyvin puhtaita ja suoraketjuisia. Tämä erilaisuus saattaa vaikuttaa saatuihin tuloksiin. Lisäysnäytteistä määritettyjen saantojen avulla laskettiin oikeellisuusarvot kaavan 5 mukaisesti, jolloin saatiin taulukossa 9 esitetyt arvot.

Taulukko 9. Parafiinien ja alkyylibentseenien oikeellisuusarvot uudella ja vanhalla laitteella.

Oikeellisuus R (%)		
	Parafiinit (%)	Alkyylibentseenit (%)
Kaasuöljy uusi GC-MS	114	94
Kaasuöljy vanha GC-MS	107	91
Dieselöljy uusi GC-MS	105	83
Dieselöljy vanha GC-MS	94	86

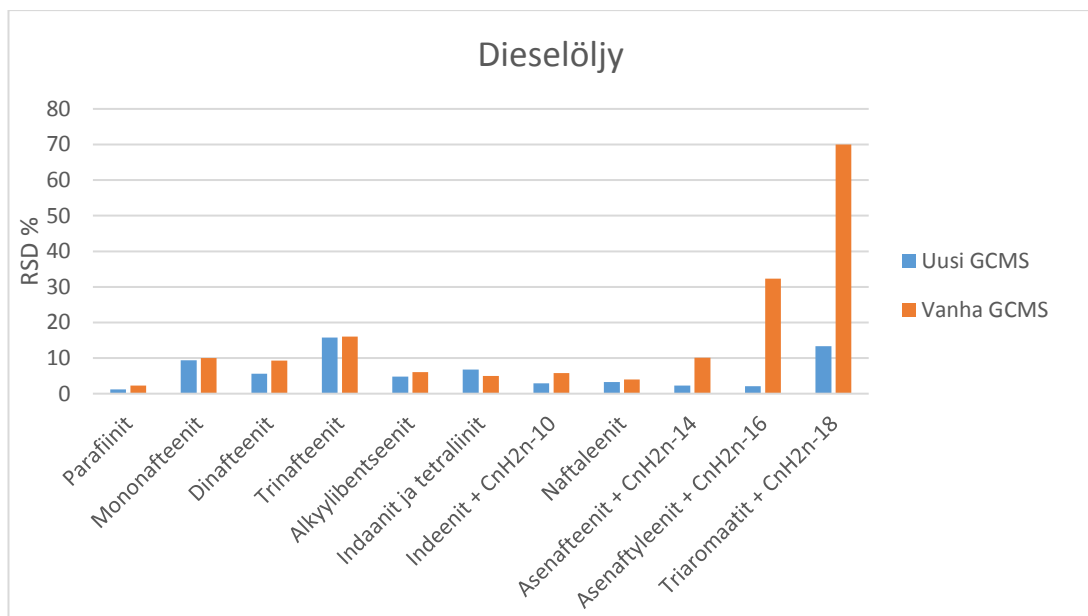
5.4 Täsmällisyys

Täsmällisyyttä määritettiin toistettavuusmittausten avulla. Toistettavuutta määritettiin mittaamalla kahdeksan rinnakkaisnäytettä kaasuöljystä ja dieselöljystä. Uudella GC-MS laitteella näytteet mitattiin saman päivän aikana, mutta vanhalla laitteella näytteiden mitaus tapahtui kahden tai kolmen päivän aikana manuaalisesta injektoinnista johtuen. Näytteiden fraktioinnit tehtiin kuitenkin eri päivinä, eli kaikki kahdeksan näytettä ei fraktioitu saman päivän aikana. Toistettavuutta määritettiin fraktioiden yhteissummasta sekä kummastakin tyydyttyneestä, että aromaattisesta fraktiosta erikseen. Jokaisesta hiilivety-yhdisteryhmästä määritettiin toistettavuus suhteellisen keskihajonnan (RSD %) (kaava 6) avulla. Kuvissa 13 ja 14 on esitetty pylväsdiagrammeja, jotka kuvaavat uudesta ja vanhasta laitteesta saatuja RSD % -arvoja.



Kuva 13. Kaasuöljynäytteen hiilivetyjen suhteelliset keskihajonnat uudella ja vanhalla kaasukromatografi-massaspektrometrillä.

Pylväsdiagrammista huomataan, että uudella GCMS:lla saadaan huomattavasti pienemmät hajonnat kuin vanhalla laitteella. Kaasuöljynäytteessä kaikkien hiilivetyryhmien pitoisuudet ovat yli määritysrajan (0,14 m-%), jolloin suuret hajonnat eivät johdu yhdisteryhmän pienestä pitoisuudesta.



Kuva 14. Dieselöljynäytteen hiilivetyjen suhteelliset keskihajonnat uudella ja vanhalla kaasukromatografi-massaspektrometrillä.

Dieselöljynäytteessä toistettavuudet ovat suuremmalta osin lähellä toisiaan uudella ja vanhalla GCMS:lla, paitsi asenaftyleenissä ja triaromaateissa, joissa on huomattavasti suurempi hajonta vanhan laitteen tuloksissa. Triaromaattihiilivedyistä saadaan huono toistettavuus, koska niiden pitoisuus näytteessä on alle määritysrajan, kun kaikkien muiden yhdisteiden pitoisuus dieselnäytteessä on yli määritysrajan.

Tuloksista laskettiin myös toistettavuusrajat (r) kaavan 7 mukaisesti ja verrattiin niitä standardissa oleviin arvoihin. Taulukoissa 10 ja 11 on esitetty lasketut toistettavuusarvot vanhalla ja uudella laitteella ja rajat verrattuna standardin arvoihin.

Taulukko 10. Uuden laitteen r -arvot tyydyttyneestä ja aromaattisesta fraktiosta. KA_S ja DI_S kuvaavat lisäsnäytteitä.

Tyydyttyneet hiilivedyt	r (KA)	r (KA_S)	r (DI)	r (DI_S)	Standardin r - arvot
Alkyylibentseenit	0,1	1,1	0,3	0,03	0,2
Parafiinit	1,0	1,9	1,4	0,6	0,5
1- renkaiset nafteenit	0,7	0,6	5,0	0,4	1,1
2- renkaiset nafteenit	0,5	0,5	2,4	0,3	0,7
3- renkaiset nafteenit	0,1	0,1	2,6	0,1	0,3
Aromaattiset hiilivedyt	r (KA)	r (KA_S)	r (DI)	r (DI_S)	Standardin r - arvot
Parafiinit	0,04	0,1	0,1	0,1	0,4
1-renkaiset nafteenit	0,04	0,03	0,1	0,1	0,5
Alkyylibentseenit	0,4	0,9	0,9	0,6	0,3
Indaani, tetraliini	0,2	0,2	1,1	0,2	0,3
Indeenit + C_nH_{2n-10}	0,1	0,2	0,2	0,1	0,3
Naftaleenit	0,2	0,1	0,2	0,1	0,3
Asenafteenit, C_nH_{2n-14}	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Asenaftyleeni, C_nH_{2n-16}	0,04	0,03	0,03	0,04	0,3
Triaromaatit + C_nH_{2n-18}	0,02	0,02	0,1	0,01	0,1

Taulukko 11. Vanhan laitteen r-arvot tyydyttyneestä ja aromaattisesta fraktiosta.

Tyydyttyneet hiilivedyt	r (KA)	r (KA_S)	r (DI)	r (DI_S)	Standardin r - arvot
Alkyylibentseenit	0,3	0,9	0,5	0,8	0,2
Parafiinit	1,3	1,3	2,6	3,4	0,5
1- renkaiset nafteenit	4,4	1,4	6,2	5,8	1,1
2- renkaiset nafteenit	2,7	1,3	4,0	5,6	0,7
3- renkaiset nafteenit	1,3	0,3	2,2	1,3	0,3
Aromaattiset hiilivedyt	r (KA)	r (KA_S)	r (DI)	r (DI_S)	Standardin r - arvot
Parafiinit	0,1	0,04	0,04	0,05	0,4
1-renkaiset nafteenit	0,1	0,1	0,1	0,1	0,5
Alkyylibentseenit	0,5	1,2	1,1	0,6	0,3
Indaani, tetraliini	0,2	0,2	0,8	0,3	0,3
Indeenit + C_nH_{2n-10}	0,2	0,1	0,3	0,1	0,3
Naftaleenit	0,2	0,1	0,2	0,1	0,3
Asenafteenit, C_nH_{2n-14}	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1
Asenaftyleni, C_nH_{2n-16}	0,2	0,1	0,5	0,5	0,3
Triaromaatit + C_nH_{2n-18}	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1

Tuloksista huomataan, että suurin osa vanhan laitteen r-arvoista ylittävät standardin arvoja. Tyydyttyneessä fraktiossa esiintyy enemmän ylityksiä, kuin aromaattisessa fraktiossa. Dieselnäytteen aromaattisessa fraktiossa parafiinien, yksirenkaisten nafteenien ja triaromaattien pitoisuudet ovat alle määritysrajan, mikä selittää niiden huonot r-arvot. Kaasuöljynäytteessä kaikki hiilivetyryhmät, joiden r-arvot ylittävät standardin arvon, ovat yli LOQ-rajan. Suuret hiilivetyryhmien pitoisuuden kaasuöljynäytteessä eivät selitä, miksi r-arvot ovat huonot.

Koska standardissa ei ole kerrottu, miten toistettavuutta on määritelty ja miten on päästy noin pieniin r-arvoihin, kokeiltiin mitata toistettavuutta toisen kerran, mutta eri tavalla. Toistettavuutta määriteltiin analysoimalla jokaisesta näytteestä kahdeksan rinnakkaismittausta siten, että replikaatit injektoidaan, aina samasta vialista. Saaduista tuloksista (liite 4) huomataan, että tulokset ovat paljon pienempiä, kuin standardin arvot. Ensimmäisen ja toisen analyysitavan perusteella ei voida sanoa varmaksi, miten standardissa on määritetty toistettavuus.

5.5 Näytteiden kiehumatilat sekä rikki- ja typpipitoisuudet

Simuloidulla tislauksella mitatut kaasuöljyn ja dieselöljyn kiehumatilat vastasivat suuremmalta osin ASTM D2425:n määriteltyjä kiehumatiloita. Standardin mukaan näytteiden komponentit täytyy kiehua 204 - 343 °C välillä niin, että 204 °C:ssa on kiehunut viisi prosenttia näytteestä ja 343 °C:ssa on kiehunut 95 % näytteestä. Mitatuissa kiehumatiloissa (liite 5) oli pieniä eroja, mutta niillä ei ollut suurta vaikutusta.

Mitatut rikki- ja typpipitoisuudet kaasuöljy- ja dieselöljynäytteistä olivat pieniä, ja osa tuloksista jäi alle standardin antaman arvon. Standardin mukaan, jos rikkiyhdisteiden pitoisuus on yli 0,25 m-%, niin sillä alkaa olla vaikutusta näytteiden käyttäytymiseen esimerkiksi fraktioinnissa. Rikkipitoisuudeksi saatiin kaasuöljylle 0,41 m-% ja dieselöljylle alle 0,001 m-%. Molempien näytematriisien typpipitoisuus jäi alle 40 mg/l.

5.6 Tilastolliset testit

Koska validoinnissa verrattiin kahden eri laitteen tuloksia toisiinsa, tuloksista tehtiin myös tilastollisia f- ja t-testejä. Laitteiden tuloksien variansseja verrattiin toisiinsa kaksisuuntaisella f-testillä ja keskiarvoja kahden otoksen t-testillä. Tulosten oikeellisuutta tutkittiin yhden otoksen t-testillä.

5.6.1 Kaksisuuntainen f-testi.

Tutkitaan esiintyykö laitteiden tulosten variansseissa eroja.

Esimerkkilasku:

Parafiinit (kaasuöljynäyte)

Hypoteesit: $H_0: \sigma_1 = \sigma_2$ ja $H_1: \sigma_1 \neq \sigma_2$

$F_{laskettu} = \frac{s_1^2}{s_2^2}$, jossa s_1 = on suurempi keskihajonta ja s_2 = pienempi keskihajonta

$F_{kriittinen} = F.INV(1 - \alpha; n_1 - 1; n_2 - 1)$, jossa $\alpha = 0,05$
 n = näytteiden lukumäärä

Lasketuiksi arvoiksi saatiin:

$$F_{\text{laskettu}} = 1,54$$

$$F_{\text{kriittinen}} = 4,99$$

Johtopäätökset:

$F_{\text{laskettu}} = 1,54 < 4,99 = F_{\text{kriittinen}}$, joten H_0 ei hylätä. Varianssit eivät eroa tilastollisesti merkitsevästi toisistaan luottamustasolla 95 %.

Kaikille hiilivety-yhdisteryhmille laskettiin testisuureet ja verrattiin kriittiseen arvoon, jolloin saatiin taulukossa 12 esitetyt tulokset:

Taulukko 12. Lasketut $f_{\text{testisuureet}}$ jokaiselle hiilivety-yhdisteryhmälle kaasuöljynäytteestä.

	Testisuure, F_{laskettu}
Parafiinit	1,54
Mononafteenit	45,54
Dinafteenit	33,64
Trinafteenit	467,26
Alkylibentseenit	2,20
Indaanit ja tetraliinit	1,48
Indeenit + C_nH_{2n-10}	2,61
Naftaleenit	0,85
Asenafteenit + C_nH_{2n-14}	3,29
Asenaftyleenit + C_nH_{2n-16}	18,50
Triaromaatit	31,27

Punaisella merkityt arvot kuvaavat kriittisen arvon (4,99) ylittäneitä arvoja, jolloin tuloksissa on tilastollisesti merkitsevä ero. Liitteessä 2 on muiden näytteiden tulokset.

5.6.2 Kahden otoksen t-testi

Tulosten keskiarvoja tutkittiin kahden otoksen t- testillä sen mukaan erosivatko tulosten varianssit toisistaan vai ei. Esimerkkilaskut laskettiin kaasuöljynäytteen tulosten avulla.

Esimerkkilasku:

Parafiinit

Tutkitaan kahden otoksen t- testillä, kun varianssit ovat yhtä suuret.

Hypoteesit: $H_0: \mu_1 = \mu_2$ ja $H_1: \mu_1 \neq \mu_2$

Testisuure

$$s_{pooled} = \sqrt{\frac{s_1^2 (n_1 - 1) + s_2^2 (n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2}}, \text{ jossa } \begin{array}{l} s = \text{keskihajonta} \\ n = \text{mittausten lukumäärä} \\ \bar{x} = \text{mittausten keskiarvo} \\ s_{pooled} = \text{yhdistetty varianssi} \end{array}$$

$$T_{laskettu} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s_{pooled}} * \sqrt{\frac{n_1 * n_2}{n_1 + n_2}}$$

$$T_{kriittinen} = T.INV(1 - \frac{\text{alfa}}{2}; n_1 + n_2 - 2)$$

Lasketuiksi arvoiksi saatiin:

T_laskettu: 7,26
T_kriittinen: 2,14

Johtopäätökset:

$T_{laskettu} = 7,26 > 2,14 = T_{kriittinen}$, joten H_0 hylätään. Keskiarvot eroavat tilastollisesti merkitsevästi toisistaan luottamustasolla 95 %.

Mononafteenit

Tutkitaan kahden otoksen t-testillä, kun varianssit eroavat toisistaan.

Hypoteesit samat, kuin parafiiniesimerkissä.

$$T_{laskettu} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

$$Vapausasteet = \frac{\left(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right)^2}{\frac{\left(\frac{s_1^2}{n_1}\right)^2}{n_1 - 1} + \frac{\left(\frac{s_2^2}{n_2}\right)^2}{n_2 - 1}}$$

$$T_{kriittinen} = T.INV(1 - \frac{\text{alfa}}{2}; n_1 + n_2 - 2)$$

Lasketuiksi arvoiksi saatiin:

$$T_{\text{laskettu}} = 6,26$$

$$T_{\text{kriittinen}} = 2,36$$

Johtopäätökset:

$T_{\text{laskettu}} = 6,26 > 2,36 = T_{\text{kriittinen}}$, joten H_0 hylätään. Keskiarvot eroavat tilastollisesti merkitsevästi toisistaan luottamustasolla 95 %.

Kaikille hiilivety-yhdisteryhmille laskettiin testisuureet ja verrattiin kriittiseen arvoon, jolloin saatiin taulukossa 13 esitetyt tulokset:

Taulukko 13. Kahden otoksen t-testillä lasketut $t_{\text{testisuureet}}$ jokaiselle hiilivety-yhdisteryhmälle kaasuöljynäytteestä.

	Testisuure, T_{laskettu}
Parafiinit	7,26
Mononafteenit	6,26
Dinafteenit	3,46
Trinafteenit	4,52
Alkylibentseenit	2,44
Indaanit ja tetraliinit	0,85
Indeenit + C_nH_{2n-10}	10,58
Naftaleenit	7,41
Asenaftteenit + C_nH_{2n-14}	4,53
Asenaftyleenit + C_nH_{2n-16}	2,53
Triaromaatit	13,27

Punaisella merkityt ovat kriittisen arvon ylittäneitä arvoja, jolloin keskiarvoissa on tilastollisesti merkitsevä ero. Liitteessä 2 on esitetty muiden näytteiden tulokset.

5.6.3 Yhden otoksen t-testi

Keskiarvon vertaaminen tunnettuun arvoon.

Lasketaan saantonäytteiden ja normaalinäytteiden (ei lisäystä) tulosten väline erotus, jolloin saadaan mitattu massa. Saaduista replikaattien massoista lasketaan keskiarvo ja keskihajonta, joita käytetään t_{laskettu} kaavassa. Testissä verrataan mitattua lisäyksen massaa lisättyyn massaan.

Hypoteesit: $H_0: \mu = \mu_0$ ja $H_1: \mu \neq \mu_0$

Testisuure

$$T_{\text{laskettu}} = \frac{|\bar{x} - \mu_0|}{s/\sqrt{n}}$$

, jossa

\bar{x} = replikaattien lisäysnäytteen ja ei lisäysnäytteen massojen (mg) erotusten keskiarvo

μ_0 = tunnettu arvo -> lisäyksen massa, parafiinien tai alkyylibentseenien yhteismassa

s = lisäys- ja normaalinäytteen massojen erotusten keskihajonta

n = replikaattien lukumäärä

$$T_{\text{kriittinen}} = T.INV(1 - \frac{\text{alfa}}{2}; n - 1)$$

Taulukossa 14 on esitetty lasketut t_{laskettu} arvot ja $t_{\text{kriittiset}}$ arvot.

Taulukko 14. Molemmille näytematriiseille lasketut oikeellisuusarvot parafiini ja alkyylibentseeniyhdisteryhmille. Tulokset laskettu molempien laitteiden tuloksista.

Keskiarvon vertaaminen tunnettuun arvoon				
Oikeellisuus				
	KA uusi laite		KA vanha laite	
	Parafiinit	Alkyylibentseenit	Parafiinit	Alkyylibentseenit
T_laskettu	12,62	4,59	4,30	4,38
T_kriittinen	2,36	2,36	2,36	2,36
	DI uusi laite		DI vanha laite	
	Parafiinit	Alkyylibentseenit	Parafiinit	Alkyylibentseenit
T_laskettu	6,17	8,75	1,59	5,14
T_kriittinen	2,36	2,36	2,36	2,36

Tuloksista huomataan, että kaikki t_{laskettu} arvot ylittävät $t_{\text{kriittisen}}$ arvon, paitsi vanhalla laitteella mitatun dieselnäytteen parafiinifraktion t_{laskettu} arvo. Toisin sanoen kaikkien näytteiden keskiarvot eroavat tunnetusta arvosta paitsi vanhalla laitteella mitatun dieselnäytteen parafiinifraktio. Kun tarkastellaan vanhalla laitteella analysoidun dieselnäytteen tuloksia (liite 1), huomataan, että tuloksissa on huomattavasti suurempi suhteellinen hajonta (RSD %), kuin uudella laitteella saatujen tulosten suhteelliset hajonnat. Suuret hajonnat vaikuttavat siihen, että t_{laskettu} on alle $t_{\text{kriittisen}}$ arvon dieselnäytteen parafiinifraktiossa. Analyysimenetelmällä on kuitenkin tarkoitus saada toistettavia tuloksia. T-testin perusteella saatu hyväksyttävä tulos dieselin parafiinifraktiolle ei voida pitää hyvänä huonon toistettavuuden takia.

6 Johtopäätökset

Tarkoituksena oli validoida analyysimenetelmä uudella GC-MS:lla ja vertailla tuloksia vanhan GC-MS:n tulosten kanssa.

Uudella laitteella saadaan hyvin lineaarisia tuloksia, joita voidaan todeta residuaalikuvaajien pisteiden satunnaisesta jakautumisesta nollatason molemmille puolille ilman, että tuloksissa esiintyy selkeää trendiä. Menetelmän toteamis- ja määritysrajoiksi saatiin kaasuoöljylle LOD 0,04 m-% ja LOQ 0,14 m-%, ja dieselöljylle LOD 0,07 m-% ja LOQ 0,24 m-%. Näytteiden täsmällisyysarvot vaihtelivat alle prosentista 15 prosenttiin, mutta suurin osa tuloksista olivat alle prosentin ja 5 prosentin välillä. Dieselöljyssä triaromaattihilivetyjen pitoisuus on alle määritysrajan, mikä selittää niiden suuremman hajonnan. Pienien toistettavuusarvojen perusteella voidaan todeta, että saadut oikeellisuusarvot parafiineille 105 - 114 % ja alkyylibentseeneille 83 - 94 % ovat luotettavia ja vastaavat menetelmän oikeita arvoja.

Vertailtaessa vanhan ja uuden laitteen tuloksia tilastollisilla testeillä huomataan, että suuremmissa osassa tuloksia on merkitseviä eroja 95 %:n luottamustasolla. Tulosten eroavaisuus ei kerro kumpi laitteista antaa parempia tuloksia, mutta tarkasteltaessa f - testin tuloksia, jolla vertailtiin tulosten variansseja toisiinsa, huomataan, että uusi laite antaa pienempiä variansseja kuin vanha laite. Pienet hajonnat selittävät myös miksi t - testillä lasketut laitteiden tulosten keskiarvot eroavat toisistaan. Tutkiessa tulosten oikeellisuutta vertaamalla sitä tunnettuun arvoon yhden otoksen t - testillä saadaan myös poikkeavia tuloksia, joiden perusteella tulokset eivät ole oikeellisia. Kaikissa tilastollisissa testeissä suurin osa tuloksista on hylätty kriittisen arvon perusteella, mikä tarkoittaa, että tuloksissa on merkitsevä ero eivätkä täsmää toistensa kanssa. Tulosten eroavaisuus selittyy tulosten pienten hajontojen perusteella, jolloin pienikin ero tulosten välillä huomataan merkitsevänä erona tilastollisessa tutkimuksessa.

Oikeellisuusarvot ovat lähes samaa luokkaa uudella ja vanhalla GCMS:lla. Uuden GCMS-laitteen tulokset ovat välillä parempia ja välillä huonompia, kuin vanhan GCMS:n tulokset. Uuden laitteen huonoihin tuloksiin saattaa vaikuttaa laitteen epätasaiset viritysarvot. Ennen näytteiden analysointia uudelle laitteelle on tehty aina viritys, josta on huomattu, että tuloksissa on eroja tarkasteltaessa eri päivien arvoja. Vaikka laitteiden tulokset eroavat hieman toisistaan, niiden oikeellisuusarvot ovat hyvin samaa luokkaa, jonka

perusteella voidaan todeta, että uusi GCMS-laite antaa oikeellisia arvoja, vaikka t - testillä saatiin päinvastaiset tulokset. Mitattuja arvoja ei voitu verrata ASTM D2425-standardiin, koska standardissa ei ole määritelty oikeellisuutta. Standardin mukaan menetelmästä ei edellytetä minkäänlaista tarkkuutta.

Kaasuöljy ja dieselöljy näytteistä mitattujen rikki- ja typpiyhdisteiden pitoisuuksien perusteella typpiyhdisteillä ei ole vaikutusta matriiseihin, koska typpiyhdisteiden pitoisuus molemmissa näytteissä oli alle 40 mg/l, eli alle määräysrajan. Rikkiyhdisteiden pitoisuudeksi saatiin kaasuöljylle 0,41 m-% ja dieselöljylle < 0,001 m-%. Dieselöljyn rikkiyhdisteiden pitoisuus on hyvin pieni, jolloin yhdisteillä ei ole vaikutusta matriisiin, mutta kaasuöljyssä rikkiyhdisteillä saattaa olla vähän vaikutusta, rikkiyhdisteiden poolisuuden takia. Kaasuöljyn suurempi rikkiyhdisteiden pitoisuus selittyy sillä, että näyte ei ole loppuun jalostettu tuote vaan raakaöljyn jae, josta ei ole välttämättä poistettu kaikkia rikkiyhdisteitä.

Saatujen tulosten perusteella menetelmä voidaan todeta validoiduksi, sillä oikeellisuusarvot ovat hyvät ja niiden luotettavuus voidaan perustella menetelmän hyvän toistettavuuden perusteella. Myös laitteen hyvä lineaarisuus ja pienet LOD- ja LOQ-rajat takaavat validoinnin onnistumisen.

Kehittämistoimenpiteitä analyysimenetelmälle ovat laitteen virityksen optimointi ja menetelmän lineaarisuuden määrittäminen näytteillä, jotka kulkevat koko menetelmän läpi. Analyysinäytteisiin voidaan lisätä sisäistästandardia, jotta voidaan huomata tapahtuneet muutokset tuloksissa helpommin, kun tarkkaillaan sisäisen standardin käyttäytymistä.

Lähteet

1. Hästbacka, Kaj (toim.). 1992. Neste öljystä muoveihin. 3. painos. Espoo: Frenckellin Kirjanpaino Oy.
2. Napari, Pirjo. 1999. Orgaaninen kemia. 2.-4.painos. Helsinki: Oy Edita Ab.
3. Fractional distillation. Verkkoaineisto. Earth site education. <<http://www.earth-site.co.uk/Education/fractional-distillation/>>. Luettu 26.10.18.
4. The process of crude oil refining. Verkkoaineisto. <<https://www.e-education.psu.edu/eme801/node/470>>. Luettu 15.8.18.
5. Jokela, Reija & Niinistö, Lauri. 1999. Orgaanisen kemian perusteet ja sovellukset. 2. painos. Helsinki: Valopaino Oy.
6. Riistama, Kyösti; Laitinen, Jorma & Vuori, Merja. 2003. Suomen kemianteollisuus. Tampere: Tammer-Paino Oy.
7. Middle distillates. 2018. Verkkoaineisto. Bomin. <<https://www.bomin.com/en/news-info/glossary/details/term/middle-distillates.html>>. Luettu 13.8.18.
8. Rand, Sakvatore J. 2008. Significance of tests for petroleum products. 7. painos.
9. Jaarinen, Soili & Niiranen, Jukka. 2008. Laboratorion analyysitekniikka. 5-6.painos. Helsinki: Edita Prima Oy.
10. Harris, Daniel C. 2016. Quantitative chemical analysis. 9. painos. New York: W.H. Freeman and Company.
11. Altgelt, K.H & Gouw, T.H. 1979. Chromatography in Petroleum Analysis.
12. Standard test method for separation of representative aromatics and nonaromatics fractions of high-boiling oils by elution chromatography. ASTM D 2549

13. Standard test method for hydrocarbon types in middle distillates by mass spectrometry. ASTM D 2425.
14. Ikonen, Elias. 2018. Tutkija, Neste Oyj, Porvoo. Keskustelu 13.6.18.
15. Ketola, Raimo; Kostianen, Risto; Kotiaho, Tapio & Vainiotalo, Pirjo. 2010. Massaspektrometrian perusteet. Helsinki: Hakapaino.
16. Riekkola, Marja-Liisa & Hyötyläinen, Tuulia. 2000. Kolonnikromatografia ja kapillaarielektromigraatiotekniikat. Helsinki: Yliopistopaino.
17. Opetushallitus. Kaasukromatografia. Verkkoaineisto. <http://www03.edu.fi/oppi-materiaalit/laboratorio/analyysimenetelmat_2-5_kaasukromatografia.html>. Luettu 24.10.18.
18. Hiltunen, E.; Linko, L.; Hemminki S.; Hägg, M.; Järvenpää, E.; Saarinen, P.; Simonen, S. & Kärhä P. Laadukkaan mittaamisen perusteet. 2011. Metrologian Neuvottelukunta. Verkkoaineisto. <<https://www.vtt.fi/inf/pdf/MIKES/2011-J4.pdf>>. Luettu 16.10.18.
19. The fitness of purpose of analytical methods. 2014. Verkkoaineisto. Eurachem. 2. painos. <https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_EN.pdf>. Luettu 1.11.18
20. Ruismäki, Mia. 2016. Analyysimenetelmän validointi. Luentomateriaali. Metropolia Ammattikorkeakoulu.
21. Miller, James N & Miller, Jane C. 2010. Statistics and chemometrics for analytical chemistry. 6. painos. Gosport, UK: Ashford Colour Press Ltd.
22. Karjalainen, Leila. 2010. Tilastotieteen perusteet. 1. painos. Keuruu: Otavan kirjapaino Oy.
23. Heikkilä, Tarja. 2014. Tilastollinen tutkimus. 9. painos. Porvoo: Bookwell Oy.

Uusi GCMS, dieselöljy lisäysnäyte												
	DI_S1	DI_S2	DI_S3	DI_S4	DI_S5	DI_S6	DI_S7	DI_S8	Keskiarvo (m-%)	Keskihajonta	RSD (%)	
PARAFIINIT	48,49	48,31	47,95	47,88	48,33	48,21	47,93	47,92	48,13	0,24	0,49	
MONONAFTEENIT	13,30	13,45	13,35	13,41	13,54	13,57	13,68	13,46	13,47	0,12	0,91	
DINAFTEENIT	12,60	12,49	12,52	12,52	12,72	12,61	12,77	12,59	12,60	0,10	0,78	
TRINAFTEENIT	5,32	5,28	5,26	5,26	5,37	5,30	5,37	5,30	5,31	0,04	0,83	
ALKYYLIBENTSEENIT	10,64	10,49	10,99	10,94	10,49	10,51	10,65	10,89	10,70	0,21	1,95	
INDAANIT+ TETRALIINIT	5,07	5,17	5,20	5,25	5,03	5,11	5,05	5,19	5,14	0,08	1,59	
INDEENIT+CnH2n-10	1,89	1,98	1,95	1,97	1,88	1,94	1,89	1,94	1,93	0,04	1,98	
NAFTALEENIT	1,49	1,54	1,52	1,54	1,47	1,50	1,47	1,51	1,50	0,03	1,89	
ASENAFTEENIT+ CnH2n-14	0,63	0,67	0,67	0,65	0,62	0,66	0,62	0,63	0,64	0,02	3,49	
ASENAFTYLEENIT+ CnH2n-16	0,40	0,43	0,41	0,41	0,39	0,40	0,39	0,39	0,40	0,01	3,35	
TRIAROMAATIT	0,17	0,19	0,18	0,18	0,17	0,18	0,17	0,18	0,18	0,005	2,77	
Vanha GCMS, dieselöljy lisäysnäyte												
	DI_S1	DI_S2	DI_S3	DI_S4	DI_S5	DI_S6	DI_S7	DI_S8	Keskiarvo (m-%)	Keskihajonta	RSD (%)	
PARAFIINIT	46,52	45,58	43,78	44,09	45,27	46,76	45,93	47,21	45,64	1,23	2,70	
MONONAFTEENIT	19,62	17,32	17,83	18,38	14,42	14,19	14,97	18,31	16,88	2,06	12,23	
DINAFTEENIT	10,41	11,42	13,70	12,14	15,21	14,09	14,34	9,73	12,63	2,00	15,81	
TRINAFTEENIT	3,72	5,19	4,09	4,68	4,74	4,64	4,72	4,47	4,53	0,45	9,88	
ALKYYLIBENTSEENIT	10,35	11,00	10,96	11,07	11,08	11,02	10,91	10,94	10,92	0,24	2,16	
INDAANIT+ TETRALIINIT	4,90	5,02	5,12	5,06	4,86	4,86	4,88	4,90	4,95	0,10	2,02	
INDEENIT+CnH2n-10	1,80	1,80	1,90	1,81	1,85	1,82	1,79	1,75	1,81	0,05	2,51	
NAFTALEENIT	1,36	1,43	1,47	1,43	1,33	1,40	1,36	1,42	1,40	0,05	3,26	
ASENAFTEENIT+ CnH2n-14	0,54	0,53	0,76	0,59	0,69	0,55	0,52	0,55	0,59	0,08	14,35	
ASENAFTYLEENIT+ CnH2n-16	0,70	0,63	0,32	0,62	0,33	0,61	0,38	0,71	0,54	0,17	30,73	
TRIAROMAATIT	0,07	0,07	0,08	0,13	0,21	0,05	0,19	0,01	0,10	0,07	67,73	

Tilastollisten testien tulokset

F- testin tulokset

Punaisella merkityt arvot kuvaavat F_laskettuja arvoja, jotka ovat ylittäneet F_kriittisen arvon, jolloin tuloksissa on merkitsevä ero.

Kaasuöljy lisäysnäyte	
	Testisuure, F_lask
Parafiinit	2,23
Mononafteenit	5,62
Dinafteenit	7,53
Trinafteenit	9,99
Alkyylibentseenit	1,12
Indaanit ja tetraliinit	1,54
Indeenit + CnH2n-10	1,85
Naftaleenit	1,78
Asenaftteenit + CnH2n-14	6,49
Asenaftyleenit + CnH2n-16	19,00
Triaromaatit	56,22
Dieselöljy	
	Testisuure, F_lask
Parafiinit	3,33
Mononafteenit	1,50
Dinafteenit	2,76
Trinafteenit	1,42
Alkyylibentseenit	1,61
Indaanit ja tetraliinit	1,87
Indeenit + CnH2n-10	3,25
Naftaleenit	1,19
Asenaftteenit + CnH2n-14	14,10
Asenaftyleenit + CnH2n-16	292,32
Triaromaatit	6,33
Dieselöljy lisäysnäyte	
	Testisuure, F_lask
Parafiinit	27,06
Mononafteenit	284,56
Dinafteenit	413,95
Trinafteenit	0,01
Alkyylibentseenit	1,28
Indaanit ja tetraliinit	0,67
Indeenit + CnH2n-10	1,43
Naftaleenit	2,58
Asenaftteenit + CnH2n-14	14,31
Asenaftyleenit + CnH2n-16	150,51
Triaromaatit	199,47

T- testin tulokset

Punaisella merkityt arvot kuvaavat T_laskettuja arvoja, joka ovat ylittäneet T_kriittisen arvon, jolloin tuloksissa on merkitsevä ero.

Kaasuöljy lisäysnäyte		
	Testisuure, T_lask	Kriittinen arvo, T_krit
Parafiinit	7,11	2,145
Mononafteenit	18,32	2,262
Dinafteenit	3,78	2,262
Trinafteenit	20,45	2,306
Alkyylibentseenit	0,16	2,145
Indaanit ja tetraliinit	2,43	2,145
Indeenit + CnH2n-10	6,29	2,145
Naftaleenit	15,30	2,145
Asenaftteenit + CnH2n-14	4,26	2,262
Asenaftyleenit + CnH2n-16	11,96	2,306
Triaromaatit	10,08	2,365
Dieselöljy		
	Testisuure, T_lask	Kriittinen arvo, T_krit
Parafiinit	3,04	2,14
Mononafteenit	2,81	2,14
Dinafteenit	0,18	2,14
Trinafteenit	2,40	2,14
Alkyylibentseenit	0,25	2,14
Indaanit ja tetraliinit	0,03	2,14
Indeenit + CnH2n-10	5,35	2,14
Naftaleenit	6,36	2,13
Asenaftteenit + CnH2n-14	5,41	2,31
Asenaftyleenit + CnH2n-16	0,76	2,36
Triaromaatit	4,09	2,26
Dieselöljy lisäysnäyte		
	Testisuure, T_lask	Kriittinen arvo, T_krit
Parafiinit	5,60	2,31
Mononafteenit	4,66	2,36
Dinafteenit	0,04	2,36
Trinafteenit	4,88	2,14
Alkyylibentseenit	1,96	2,14
Indaanit ja tetraliinit	4,03	2,14
Indeenit + CnH2n-10	5,52	2,14
Naftaleenit	5,52	2,14
Asenaftteenit + CnH2n-14	1,66	2,31
Asenaftyleenit + CnH2n-16	2,31	2,36
Triaromaatit	3,04	2,36

Näytteiden ja lisäysreagenssien massat

Kaasuöljynäytteen ja lisäysreagenssien massat			
	m (KA_0) mg	m (KA_S) mg	Lisäysreagenssien massat (mg), kun puhtaudet otettu huomioon
Kaasuöljy	19992,2	16007,8	
Undekaani, C11		349,9	347,3
Dodekaani, C12		358,8	356,8
Tridekaani, C13		346,8	345,8
Tetradekaani, C14		355,8	353,7
Pentadekaani, C15		345,7	342,4
Heksadekaani, C16		351,9	348,8
Heptadekaani, C17		344,3	341,2
Oktadekaani, C18		347,6	345,1
1,2,4,5- tetrametyylibentseeni		199,7	199,6
1,4-dietyylibentseeni		190,1	189,4
Pentametyylibentseeni		194,9	181,2
Pentyylibentseeni		199,9	198,3
1-fenyylloktaani		200,6	200,5
1-fenyylidekaani		191,1	188,5
Summa	19992,2	19984,9	19946,4
Dieselnäytteen ja lisäysreagenssien massat			
	m (DI_0) mg	m (DI_S) mg	Lisäysreagenssien massat (mg), kun puhtaudet otettu huomioon
Dieselöljy	20016,0	15803,2	
Undekaani, C11		243,9	242,1
Dodekaani, C12		254,9	253,5
Tridekaani, C13		244,6	243,9
Tetradekaani, C14		247,3	245,8
Pentadekaani, C15		251,9	249,5
Heksadekaani, C16		243,0	240,9
Heptadekaani, C17		250,4	248,2
Oktadekaani, C18		255,6	253,8
Nonadekaani, C19		265,6	263,3
Eikosaani, C20		247,9	247,3
Heneikosaani, C21		244,4	243,3
Dokosaani, C22		246,0	244,0
1,2,4,5- tetrametyylibentseeni		299,5	299,4
1,4-dietyylibentseeni		203,3	202,5
Pentametyylibentseeni		200,0	185,9
Pentyylibentseeni		195,5	193,9
1-fenyylloktaani		199,2	199,1
1-fenyylidekaani		194,8	192,2
Summa	20016,0	20091,0	15803,2

Simuloidun tislauksen tulokset

Mass vs BP (Kaasuöljy)					
Recovered mass (%)	BP (°C)	Recovered mass (%)	BP (°C)	Recovered mass (%)	BP (°C)
IBP	125.90	42.00	229.50	84.00	291.10
1.00	139.50	43.00	230.60	85.00	294.10
2.00	151.30	44.00	231.60	86.00	295.80
3.00	160.30	45.00	232.80	87.00	298.70
4.00	166.00	46.00	234.70	88.00	301.60
5.00	170.70	47.00	235.40	89.00	302.90
6.00	173.90	48.00	235.90	90.00	305.60
7.00	176.80	49.00	236.40	91.00	309.30
8.00	179.50	50.00	237.80	92.00	313.20
9.00	182.10	51.00	239.30	93.00	316.40
10.00	184.30	52.00	241.20	94.00	320.00
11.00	187.30	53.00	242.80	95.00	325.60
12.00	188.90	54.00	244.70	96.00	330.80
13.00	191.30	55.00	246.10	97.00	339.10
14.00	193.40	56.00	247.40	98.00	348.60
15.00	195.30	57.00	248.80	99.00	364.10
16.00	195.80	58.00	249.90	FBP	380.30
17.00	196.20	59.00	251.10		
18.00	197.10	60.00	252.30		
19.00	199.30	61.00	253.40		
20.00	201.10	62.00	254.00		
21.00	202.20	63.00	254.50		
22.00	203.60	64.00	255.60		
23.00	205.50	65.00	257.50		
24.00	207.00	66.00	259.60		
25.00	208.20	67.00	261.40		
26.00	209.50	68.00	263.10		
27.00	210.90	69.00	264.40		
28.00	212.40	70.00	265.50		
29.00	214.00	71.00	267.20		
30.00	215.40	72.00	269.20		
31.00	215.90	73.00	270.50		
32.00	216.20	74.00	271.10		
33.00	217.00	75.00	272.10		
34.00	218.50	76.00	274.40		
35.00	219.50	77.00	276.90		
36.00	221.10	78.00	278.90		
37.00	222.60	79.00	280.60		
38.00	224.30	80.00	282.60		
39.00	226.10	81.00	285.50		
40.00	227.40	82.00	286.90		
41.00	228.60	83.00	288.00		

Mass vs BP (Dieselöljy)					
Recovered mass (%)	BP (°C)	Recovered mass (%)	BP (°C)	Recovered mass (%)	BP (°C)
IBP	149.80	42.00	270.00	84.00	348.40
1.00	157.30	43.00	271.10	85.00	350.80
2.00	165.30	44.00	272.70	86.00	353.20
3.00	169.30	45.00	275.20	87.00	355.70
4.00	174.20	46.00	277.50	88.00	357.00
5.00	179.40	47.00	279.40	89.00	359.60
6.00	182.70	48.00	281.30	90.00	362.30
7.00	187.00	49.00	283.40	91.00	365.10
8.00	189.70	50.00	285.70	92.00	368.00
9.00	193.50	51.00	287.00	93.00	369.70
10.00	195.80	52.00	288.20	94.00	373.10
11.00	198.50	53.00	290.50	95.00	376.60
12.00	201.40	54.00	293.00	96.00	380.00
13.00	203.50	55.00	294.60	97.00	384.00
14.00	206.50	56.00	296.10	98.00	389.90
15.00	209.10	57.00	298.10	99.00	396.90
16.00	211.60	58.00	300.40	FBP	403.10
17.00	214.20	59.00	301.80		
18.00	216.00	60.00	302.60		
19.00	218.40	61.00	303.70		
20.00	221.00	62.00	305.80		
21.00	223.70	63.00	308.10		
22.00	226.30	64.00	309.70		
23.00	228.60	65.00	311.50		
24.00	230.70	66.00	313.70		
25.00	233.50	67.00	315.60		
26.00	235.50	68.00	316.50		
27.00	237.00	69.00	317.70		
28.00	239.60	70.00	319.40		
29.00	242.40	71.00	321.80		
30.00	245.00	72.00	323.80		
31.00	247.40	73.00	325.90		
32.00	249.40	74.00	328.30		
33.00	251.70	75.00	330.00		
34.00	253.60	76.00	331.00		
35.00	254.70	77.00	333.10		
36.00	257.00	78.00	335.70		
37.00	259.50	79.00	338.00		
38.00	261.80	80.00	340.20		
39.00	263.80	81.00	342.80		
40.00	265.50	82.00	344.10		
41.00	267.70	83.00	345.70		