



Osaamista
ja oivallusta
tulevaisuuden
tekemiseen

Tervonen Rebekka

Kalorimetrillä hajotettujen rasvanäytteen analysointi ionikromatografilla

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Laboratorioanalyttikko (AMK)

Laboratorioanalytiikka

Opinnäytetyö

17.8.2019

Tekijä Otsikko Sivumäärä Aika	Rebekka Tervonen Kalorimetrillä hajotettujen rasvanäytteiden analysointi ionikromatografilla 38 sivua + 2 liitettä 17.8.2019
Tutkinto	Laboratorioanalytiikka (AMK)
Tutkinto-ohjelma	Laboratorioanalytiikka
Ohjaajat	Tutkija Minna Pietilä Lehtori Mia Ruismäki
<p>Opinnäytetyö tehtiin Neste Oyj:n Tutkimus- ja kehitysyksikön epäorgaanisessa laboratoriossa Kilpilahdessa. Opinnäytetyön tarkoituksena oli käyttöönottaa isoperibolinen IKA C6000 -kalorimetri, joka oli tullut näytteiden esikäsittelyä varten Parrin happisynterinterin tilalle. Näytteet esikäsiteltiin happikaasun ja paineen avulla polttaen vesiliukoiseen muotoon, jotta ne olivat analysoitavissa ionikromatografisesti ICS-2100:lla. Tarkoituksena oli saada mittausepävarmuuden sisällä olevat tulokset ja vertailla tuloksia aikaisempaan menetelmään. Lisäksi selvitettiin, oliko suodoksen tilavuutta mahdollista kasvattaa määritysrajojen kärsimättä.</p> <p>Näytteinä oli erilaisia rasvoja: eläinrasva, käytetty paistorasva ja pyrolyysiöljy. Lisäksi analysoitiin kaupallista referenssinäytettä CRM-1964:ää, synteettistä referenssiä ja nollanäytteenä toiminutta mineraaliöljyä. Näytteistä analysoitiin tarvittavat anionit: fluoridi, kloridi, bromidi ja sulfaatti. Validoinnissa määritettiin toteamis- ja määritysrajat, lineaarisuus, toistettavuus, uusittavuus, oikeellisuus, saantokokeet, spesifisyys ja mittausepävarmuus. Lisäksi uutta ja vanhaa menetelmää verrattiin kahden otoksen t-testillä.</p> <p>Tarkastellut parametrit ovat käyttökelpoisia pääosin bromidin ja kloridin osalta. Määritysraja bromidille oli 0,47 mg/kg ja kloridille 15 mg/kg. Kyseisten analytytien mittausepävarmuus oli 8–12 %:a 95%:n luottamustasolla. Kloridin ja bromidin määritykset ovat lineaarisia, spesifisiä ja oikeellisia. Toistettavuutta ja uusittavuutta tutkittaessa näytteissä olisi ollut tarpeen olla suuremmat pitoisuudet tutkittavia analyyttejä, jotta tulokset olisivat luotettavia. Fluoridin ja sulfaatin määrityksissä esiintyi kontaminaatiota, joka häiritsevi analysointia. Kontaminaation välttämiseksi tehtiin tarvittavia toimenpiteitä, joilla tuloksia saatiin parannettua. Menetelmä vaatii kuitenkin vielä lisätutkimuksia fluoridi- ja sulfaattianalyysien osalta. Lineaarisuus oli soveltuva fluoridin ja sulfaatin määrityksissä. Kalorimetrinen menetelmä antaa vähintään yhtä luotettavia tuloksia bromidin ja kloridin osalta kuin aiemmin käytössä ollut menetelmä. Lisäksi uusi menetelmä on turvallisempi ja ergonomisempi kuin aiempi menetelmä.</p>	
Avainsanat	Validointi, ionikromatografia, kalorimetri

Author Title	Rebekka Tervonen Analysis of Calorimetric Digested Fat Samples by Ion Chromatography
Number of Pages Date	38 pages + 2 appendices 17 August 2019
Degree	Bachelor of Laboratory Services
Degree Programme	Laboratory Sciences
Instructors	Minna Pietilä, Researcher Mia Ruismäki, Senior Lecturer
<p>This study was carried out at the inorganic laboratory of Neste Oyj Research and Development Unit in Kilpilahti. The purpose of this thesis work was to introduce the IKA C6000 Isoperibolic Calorimeter, which has replaced the Parr's Oxygen Cylinder for sample preparation. Samples were pretreated by burning them with oxygen gas and pressure into a water-soluble form, so that they could be analyzed by ion chromatography on ICS-2100. The purpose was to obtain results within the measurement uncertainty and to compare the results with the previous method. It was further investigated, whether it was possible to increase the volume of the filtrate without exceeding the assay limits.</p> <p>The samples consisted of different fats: animal fat, used cooking oil and pyrolysis oil. In addition, a commercial reference sample CRM-1964, a synthetic reference and a blank mineral oil were analyzed. The samples were analyzed for the required anions: fluoride, chloride, bromide and sulfate. Limit of detection, limit of quantification, linearity, repeatability, the reproducibility, accuracy, recovery tests, specificity and uncertainty of measurements were determined in the validation. In addition, a two-sample t-test was used to compare the new and old methods.</p> <p>The parameters considered are mainly applicable to bromide and chloride. The limit of determination for bromide was 0.47 mg/kg and for chloride 15 mg/kg. The measurement uncertainty of these analytes was 8–12%. Chloride and bromide assays are linear, specific and accurate. As concerns repeatability and reproducibility studies, higher concentrations of the analyte would have been required in the samples for the results to be reliable. The fluoride and sulphate assays showed contamination, which hindered the analysis. Necessary measures were taken to improve the results to avoid contamination. However, the method still requires further research on fluoride and sulfate analyses. Linearity was applicable in fluoride and sulfate assays. The calorimetric method gives at least as reliable results for bromide and chloride, as the previously used method. In addition, the new method is safer and more ergonomic than the previous method.</p>	
Keywords	Validation, Ion Chromatography, Calorimeter

Sisällys

1	Johdanto	1
2	Näytteen esikäsittely	2
2.1	Näytteen hajotus	2
2.2	Parrin happisylinteri	2
2.3	Kalorimetri	3
3	Ionikromatografia	4
3.1	Toimintaperiaate	4
3.2	Laitteisto	5
3.2.1	Eluentti	6
3.2.2	Pumppu	6
3.2.3	Injektori	7
3.2.4	Kolonni	7
3.2.5	Esikolonnit	8
3.2.6	Supressori	9
3.2.7	Detektori	10
4	Vaihtoehtoiset analyysimenetelmät	11
5	Reagenssit ja näytteet	12
5.1	Reagenssit	12
5.2	Näytteet	12
6	Validointi	13
6.1	Menetelmän häiriöalttiuden testaus	14
6.2	Näytteiden esikäsittely analysoitavaan muotoon	17
6.3	Analysointi ionikromatografilla	19
7	Tulosten käsittely	19
7.1	Mittausalue	20
7.2	Lineaarisuus	21

7.3	Toistettavuus	24
7.4	Uusittavuus	25
7.5	Oikeellisuus	26
7.6	Saantokokeet	28
7.7	Spesifisyys	29
7.8	Mittausepävarmuus	32
7.9	Vertailu vanhaan menetelmään	33
7.10	Kontaminaation tutkiminen	34
8	Yhteenveto	35
	Lähteet	37
	Liitteet	
	Liite 1. Analyysitulokset	
	Liite 2. Näytteiden kromatogrammit	

1 Johdanto

Opinnäytetyö toteutettiin Neste Oyj:n Tutkimus- ja kehitysyksikön epäorgaanisessa laboratoriossa Porvoon teknologiakeskuksessa. Neste Oyj on perustettu vuonna 1948 huolehtimaan Suomen öljyhuollosta. Nykyisin se toimii kuitenkin maailman suurimpana uusiutuvan dieselin tuottajana, joka jalostaa öljyn jätteistä ja tähteistä. Nesteellä kehitetään vastuullisia ratkaisuja yrittäjille, kuluttajille sekä liikenteeseen. Neste sijoittui tänä vuonna kolmanneksi maailman 100 vastuullisimman yrityksen Global 100 -listalla. [Tietoa meistä 2019.]

Opinnäytetyön aiheena oli kalorimetrisen hajotusmenetelmän validointi ionikromatografisesti. Yritykseen tuli näytteiden hajotusta varten uusi isoperibolinen IKA C6000 -kalorimetri, jonka tarkoituksena oli saada tasalaatuisempia tuloksia automaation avulla. Ionikromatografisia määrittämiä varten tutkittavat näytteet tulee saada vesiliukoiseen muotoon hajottamalla yhdiste. Näytteet oli hajotettu aiemmin Parrin happisylinterissä happikaasun ja paineen avulla polttaen. Uutta menetelmää varten haluttiin tehdä tarpeellinen validointi, jolla varmistettiin menetelmän luotettavuus. Tarkoituksena oli määrittää mitausepävarmuudet, ja saatuja tuloksia verrattiin aikaisempaan menetelmään. Lisäksi selvitettiin, onko suodoksen tilavuutta mahdollista kasvattaa määritysrajojen kärsimättä. Näytteistä määritettiin ionikromatografisesti anionit F^- , Cl^- , Br^- ja SO_4^{2-} .

Atomit ja molekyylit hajotetaan ionimuotoon, jotta ne ovat määritettävissä ionikromatografisesti. Fluoria, klooria, rikkiä ja bromia analysoidaan näytteistä, koska ne ovat haitallisia öljynjalostusprosessissa. Ne voivat lisätä päästöjä ja olla vahingollisia monille katalyyttisille kemiallisille prosesseille ja johtaa korroosioon. Halogeenejä, kuten fluoria, klooria ja bromia, ei saa päätyä lopputuotteeseen, joten niitä täytyy analysoida syöttöaineista. [Pietilä 2019.]

2 Näytteen esikäsittely

2.1 Näytteen hajotus

Ionikromatografisia määrittäviä varten kiinteät ja rasvaliukoiset näytteet tulee saada vesiliukoiseen muotoon. Tämän vuoksi näytteet poltetaan happikaasun ja paineen avulla suljetussa astiassa, jonka jälkeen ne kerätään talteen.

Hapetuksella tapahtuva palaminen suljetussa astiassa on hyväksytty standardimenetelmäksi kiinteiden ja nestemäisten palavien näytteiden muuttamiseksi liukoiseen muotoon kemiallista analyysiä varten. Se on luotettava menetelmä, jonka tehokkuus johtuu sen kyvystä käsitellä näytteitä nopeasti ja kätevästi suljetussa järjestelmässä menettämättä yhtään näytettä tai sen palamistuotteita. Kaikki hiilivedyt hapetetaan reaktiolla hiilidioksidiksi ja vedeksi, ja rikin hapettuneet palamistuotteet muuttuvat rikkihapoksi, joka analysoidaan sulfaattina. Tuotteet absorboituvat pieneen määrään vettä, joka on sijoitettu astian pohjalle. Orgaaniset klooriyhdisteet muutetaan suolahapoksi ja klorideiksi. Kaikki mineraaliset ainesosat pysyvät tuhkana, mutta muut epäorgaaniset elementit, kuten arseeni, boori ja kaikki halogeenit, otetaan talteen huuhtelemalla sylinteriä ionivaihdetulla vedellä, joka analysoidaan. Koko menettely on yksinkertainen ja suoraviivainen verrattuna muihin näytteenvalmistusmenetelmiin. [Oxygen Combustion Vessels 2019.]

2.2 Parrin happisylinteri

Parrin happisylinterissä (kuva 1) voidaan käsitellä näytteitä täydellä näytteen talteenotolla. Sitä käytetään näytteen esikäsittelyssä yhdisteen hajottamiseen vesiliukoiseen muotoon, jolloin yhdisteen anionit ovat analysoitavissa ionikromatografisesti. Sylinteri sisältää

- näytekipon, johon asetetaan näyte
- elektrodit, joiden välille asetetaan noin 10 senttimetriä pitkä Iridium-sytytyslanka
- 2901-sytytysyksikön, joka antaa sähkövirran Parrin happisylinterin polttamiseen

- ulosvirtausventtiiliin, josta paineet tasataan.



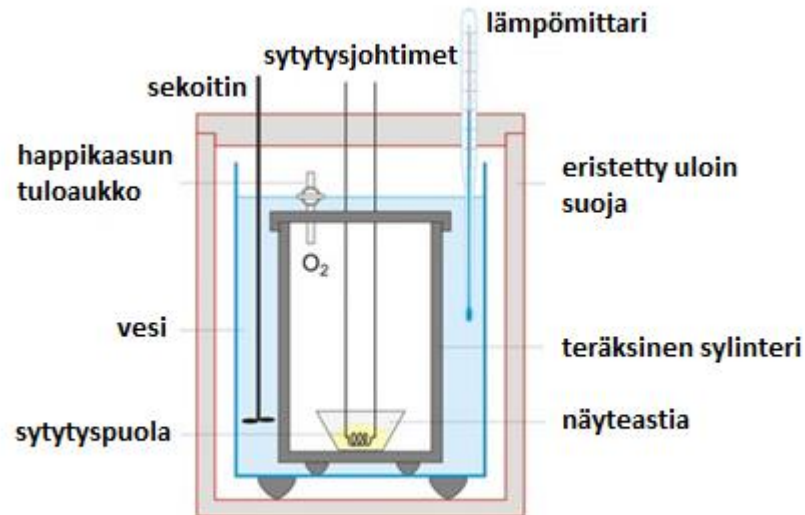
Kuva 1. Parrin happisylinteri [Oxygen Combustion Vessels 2019.]

2.3 Kalorimetri

Kalorimetri on laite, jolla voidaan mitata vapautuva energia, kun näyte poltetaan vakiotilavuudessa suljetussa astiassa. Vapautuvan energian lämpöarvo voidaan laskea näytteen ympärillä olevan aineen lämpötilan muutoksesta.

Käytössä oli isoperibolinen IKA C6000 -kalorimetri, jota käytettiin lähinnä vain näytteen esikäsitteilyyn eli polttamiseen. Kyseinen laite yhdistää nykyaikaisen teknologian, muunneltavuuden ja automaation yhteen instrumenttiin. Kuvassa 2 näkyy kalorimetrin rakenne, joka sisältää

- sylinterin, jossa voidaan polttaa palavia näytteitä
- eristysvaipan, joka suojaa säiliötä ohimenevältä lämpöjännitykseltä palamisprosessin aikana
- lämpömittarin tai anturin, joka mittaa lämpötilan muutosta. [Bomb Calorimeter 2018.]



Kuva 2. Kalorimetrin rakenne [Bomb Calorimeter 2018.]

3 Ionikromatografia

3.1 Toimintaperiaate

Kromatografia perustuu aineiden erottelamiseen. Se kehitettiin 1900-luvun alussa, kun venäläinen tutkija Tswett erotteli kasvien väriaineita kromatografisesti lasiputkessa, joka sisälsi liitujauhoa. Tästä menetelmää on kehitetty, ja nykyään tutkittavat aineet voivat olla värittömiä, jotka havaitaan erilaisten detektorien avulla. [Kortesharju 2001.]

Kromatografiassa liikkuva faasi, joka voi olla kaasu tai neste, kulkee stationäärifaasin läpi, joka taas voi olla kiinteä aine tai neste. Liikkuva faasi kuljettaa tutkittavan näytteen eri aineita niin nopeasti kuin niiden ominaisuudet sallivat. Osa näytteistä kulkee liikkuvan faasin mukana todella nopeasti, ja jotkut taas kiinnittyvät stationäärifaasiin jatkuvasti. Kromatografisilla menetelmillä puhdistetaan, erotellaan ja tunnistetaan tutkittavan näytteen eri aineita. Erotetut aineet tunnistetaan vertaamalla niitä tunnettuihin standardeihin. [History of chromatography.]

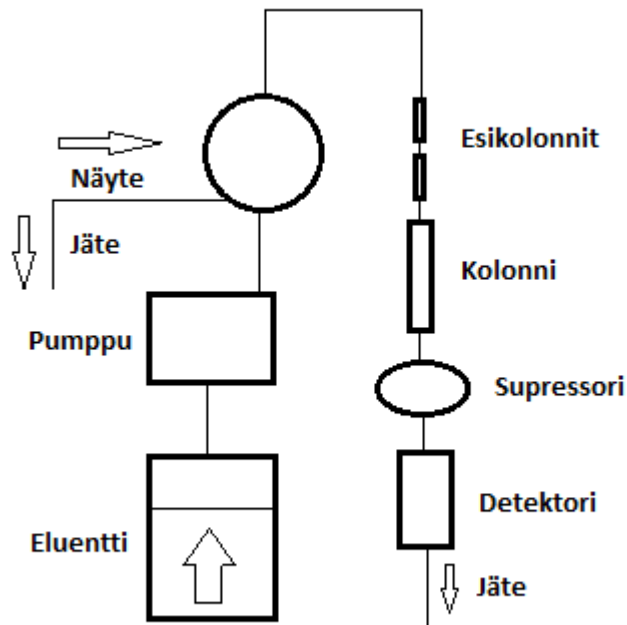
Ionikromatografiassa erotellaan anionit tai kationit hyödyntäen nestekromatografian ioninvaihtomenetelmää. Kromatografia erottelee eri ionit näytteessä. Anionin tai kationin määrä voidaan mitata johtavuuden muutoksella, kun näyte kulkee detektorin läpi. [Jaarinen & Niiranen 2005: 149, 158.]

Näyteliuos kulkee järjestelmän läpi liikkuvaan faasiin liuenneena. Eluentin erilaiset ionit erotetaan kolonnissa, joka on pakattu ioninvaihtohartsilla, joka toimii stationäärifaasina. Hartsilla on ohut pintakerros aktiivisesta materiaalista, jossa on ioninvaihtokohtat. Anioneja analysoitaessa aktiivisilla paikoilla on kiinteä positiivinen varaus anionien houkuttelemiseksi. Kationianalyysin hartsilla taas on negatiivinen varaus. Yksittäiset ionit kiinnittyvät ja irtoavat hartsista nopeudella, joka riippuu spesifisen ionin affiniteetista aktiivisiin kohtiin. Ionit, joilla on suurempi affiniteetti, säilyvät kolonnissa pidempään kuin ne, joilla on vähemmän affiniteettia stationäärifaasiin. [Ion Chromatography (IC).]

Kyseisen periaatteen vuoksi erilaiset ionit poistuvat kolonnista kyseiselle ionille ominaisen kapean aikavyöhykkeen sisällä. Kolonnin jälkeen oleva detektori mittaa jatkuvasti eluentin johtokykyä eluoituvien ionien määrän määrittämiseksi ajan funktiona. Piikin sijainti kromatogrammissa on ominaista spesifiselle ionille. Huipun koko on funktio, joka riippuu mainitun piikin edustaman ionin pitoisuudesta. [Ion Chromatography (IC).]

3.2 Laitteisto

Ionikromatografisia määrittämiä varten käytössä oli Dionex ICS-2100 -ionikromatografi. Tämä on ensimmäinen reagenssivapaa ionikromatografijärjestelmä, jossa on elektrolyttiset näytteen ja eluentin valmistumisjärjestelmät. Ne on suunniteltu suorittamaan elektrolyttisesti tuotettuja isokraattisia ja gradienttisiä ionikromatografisia ajoja hyödyntämällä johtokykymittausta. Kuvassa 3 on esitetty laitteiston eri komponentit. [Thermo Scientific ICS 2100.]



Kuva 3. Ionikromatografian kaavakuva

3.2.1 Eluentti

Eluentin tehtävänä on kuljettaa näytettä systeemin läpi. Pumppu pumpkaa sitä tasaisella nopeudella systeemiin. Se toimii myös liikkuvana faasina, ja osallistuu näin erottelemaan ionit toisistaan yhdessä stationäärifaasin kanssa. Puskurikapasiteetti, konsentraatio, pH ja yhteensopivuus detektorin kanssa on huomioitava eluentin valinnassa. [Fritz & Gjerde 2009: 24] Tässä menetelmässä eluenttina oli kaliumhydroksidiliuos, jonka pitoisuus nousi 10 mM:stä 52:een mM 40 minuutin aikana, koska kyseessä oli gradient-tiajo.

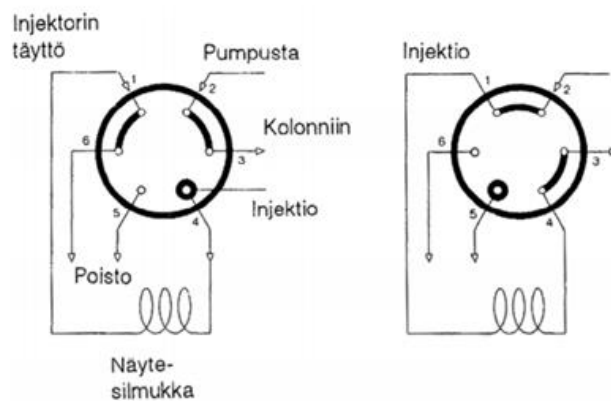
3.2.2 Pumppu

Pumpun tarkoitus on pumpata eluointiliuosta tasaisella nopeudella laitteistoon. Sen täytyy toimia tarkasti ja kestää suuria paineita. Se on valmistettu mahdollisimman inertistä teräksestä. Yleisin pumpun ongelma on ilmakupla, joka aiheuttaa painevaihtelua.

Tästä voi aiheutua virtauksen vaihtelua ja retentioaikojen pidentymistä. [Jaarinen & Niiranen 2005: 152.] Tässä työssä käytetyssä laitteistossa oli kaksoismäntäpumppu.

3.2.3 Injektori

Injektorilla syötetään näyte korkeapaineiseen eluenttiin. Injektorissa on näytesilmukka, jonka tilavuus on vakio. Tällöin näytettä saadaan joka kerta täsmälleen sama määrä. Näytesilmukka ottaa oman tilavuutensa, ja loppu kulkeutuu jäteastiaan. Injektoreita on olemassa automaattisia ja käsikäyttöisiä. Käsikäyttöiset injektorit ovat Rheodyne-näytesilmukkainjektoreita (kuva 4). Automaattiset injektorit toimivat vastaavalla periaatteella. Automaattinen injektorin mahdollistaa erisuuret injektointitilavudet, mikä on erona käsikäyttöiseen injektoriin. [Jaarinen & Niiranen 2005: 154.] Dionex ICS-2100 -ionikromatografissa oli käytössä automaattinen injektorin.



Kuva 4. Rheodyne-näytesilmukkainjektori [Jaarinen & Niiranen 2005: 154.]

3.2.4 Kolonni

Kolonni on laitteen komponenteista tärkein, ja siellä tapahtuu aineiden erottelu. Se on yleensä 5–30 senttimetriä pitkä, ja sen sisähalkaisija on vain 5–9 millimetriä. Kolonnin sisällä on stationäärifaasi, joka koostuu pienistä yhdenmuotoisista partikkeleista. Stationäärifaasin täytyy olla inertti ja mekaanisesti kestävä. Kolonnin pituudella ja stationäärifaasin partikkeleiden koolla vaikutetaan aineiden erottumisen tehokkuuteen. Mitä

enemmän aineilla on erotteluun käytössä olevaa pinta-alaa, sitä tehokkaampaa erottuminen on ja sitä pitempään analyysissä kestää. [Jaarinen & Niiranen 2005: 158.]

Anionimäärityksissä stationääri faasi koostuu ioninvaihtohartsista. Ne ovat muoveja, jotka sisältävät negatiivisesti tai positiivisesti varautuneita ryhmiä. Tässä tapauksessa käytössä oli anioninvaihtoharts, joka sisältää positiivisesti varautuneita ryhmiä, jotka ovat yleensä tertiäärisiä amiineja. Anioninvaihtohartsit jaotellaan kahteen ryhmään käyttöalueen pH:n mukaan: vahvoihin ja heikkoihin anioninvaihtajiin. [Jaarinen & Niiranen 2005.]

Ionikromatografissa oli IonPac AS18 -analyysikolonne. Se on suunniteltu epäorgaanisten aineiden analysointiin. AS18 on yhteensopiva orgaanista ainetta sisältävän eluentin ja pH-arvon 0-14 kanssa. Kolonnin suurin sallittu käyttöpaine on 4000 psi. Kolonne oli termostoitu 30 °C:n lämpötilaan. [Dionex IonPac AS18 2002.]

3.2.5 Esikolonnit

Kolonnin edessä on yleensä myös esikolonne. Sen tarkoitus on estää analyttisen kolonnin likaantuminen. Esikolonneja on erilaisia. Tässä laitteistossa oli käytössä kaksi esikolonna ennen analyysikolonna.

Ensimmäinen esikolonne oli Dionex IonPac NG1. Se poistaa orgaanisia aineita näytteestä ennen ionikromatografista analyysiä. Näin analyysikolonne säilyttää paremmin kapasiteetin ja erotuskyvyn. [Dionex™ NG1 Hydrophobic Organics Removal Kit 2019.]

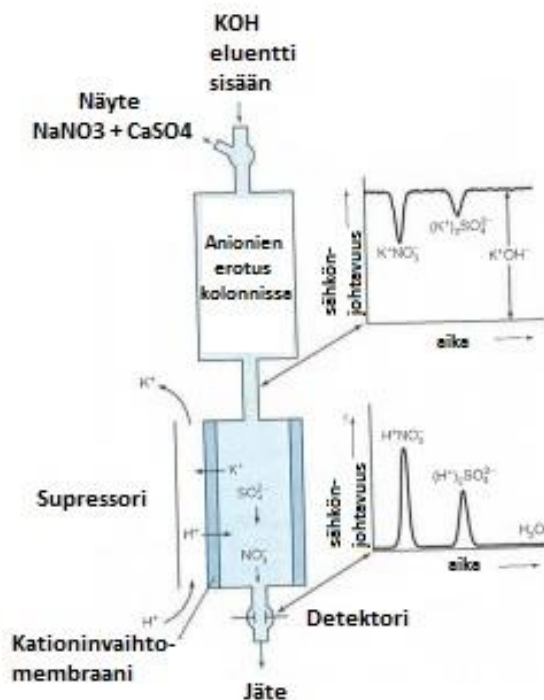
Toinen esikolonne oli Dionex IonPac AG18. Sitä käytetään tavallisesti AS18-analyysikolonnin kanssa. Retentioajat kasvavat noin 3 %, kun AG18-kolonna käytetään AS18-kolonnin edessä. Se suojaa analyysikolonna, ja se on helpompi puhdistaa ja vaihtaa kuin analyysikolonne. Näin voidaan pidentää AS18-analyysikolonnin käyttöikä. [Dionex IonPac AS18 2002.]

3.2.6 Supressori

Supressori on komponentti, joka sijoittuu kolonnin ja detektorin väliin. Sen tarkoituksena on poistaa eluointiliuoksen puskuri-ionit ioninvaihtimella. Anionimäärittelyssä se poistaa kationit eluentistä ja korvaa ne vetyionilla. Tämän vuoksi itse eluentti ei johda paljon sähköä, joten ionien aiheuttama sähkönjohtavuus näkyy paremmin pientä taustaa vastaan. Supressori parantaa signaalin ja kohinan suhdetta. Vaikka supressorin käyttö ei ole välttämätöntä, niin sillä voidaan saada huomattavia etuja, esimerkiksi erot kolonnien kapasiteeteissa ja erikoisten eluenttien käyttämisessä. [What's Suppression in Ion Chromatography all about? Theoretical Aspects and Practical Benefits Explained 2014.]

Ionikromatografissa oli Dionex DRS 600 -supressori. Se toimii vakiojännitemoodissa ja perinteisessä vakiovirtatilassa sekä ohjaa sähkövirtaa niin kauan kuin vakiojännitettä käytetään. Se parantaa signaalin ja kohinan suhdetta gradientteluenttiin mukauttamalla dynaamisesti muuttuvan eluenttikoostumuksen yhteensopivaksi useissa eri sovelluksissa. [Thermo Scientific ICS 2100.]

Kuvassa 5 havainnollistetaan supressorin toiminta [Harris 2016: 721.], ja sen vaikutus resoluutioon. Esimerkissä KOH-eluentin K^+ -ionit vaihdetaan H^+ -ioneiksi.



Kuva 5. Supressorin toimintaperiaate [Harris 2016: 721.]

3.2.7 Detektori

Erottelen jälkeen yhdisteet tulevat lopulta detektoriin, joka havaitsee yhdisteet. Nestekromatografiassa käytetään useita erilaisia detektoreita, joista valitaan menetelmään sopiva. Detektorin tehtävänä on havaita yhdisteiden signaalit ja piirtää niistä kromatogrammit ajan funktiona. Tässä laitteistossa oli käytössä johtokykydetektori, joka on sopiva ionikromatografisille anionimäärityksille.

Johtokykydetektori mittaa sähkönjohtavuutta eluointiliuoksesta. Se koostuu kahdesta elektrodista, joiden väliin jää sähkökenttä. Detektori mittaa liuoksen sähkönjohtavuutta ionien liikkuvuuden perusteella, kun liikkuva faasi kulkee elektrodien välistä. Liuoksessa olevien ionien koko ja sähkövaraus vaikuttavat johtokykyyn. [Jaarinen & Niiranen 2005:158.]

4 Vaihtoehtoiset analyysimenetelmät

Kloridin, bromidin, fluoridin ja sulfaatin määrittämiseen öljyistä voidaan käyttää monia vaihtoehtoisia menetelmiä. Anioneja voidaan määrittää erilaisilla kromatografisilla menetelmillä sekä potentiometrisesti ioniselektiivisen elektrodin avulla fluoridin ja kloridin osalta. Myös ICP:tä (induktiivisesti kytketty plasma) voidaan soveltaa analysoinnissa, jonka alkuainetuloksista anionit voidaan laskea. Taulukossa 1 on vertailtu XPREP C-IC -menetelmää työssä käytettyihin menetelmiin. XPREP C-IC on polttoionikromatografi, jossa näytteen hajotus ja analysointi ovat integroituja. Näyte poltetaan polttoyksikössä, josta kaasumaiset yhdisteet johdetaan absorptioliuokseen. Ionikromatografi analysoi absorptioliuoksen automaattisesti.

Taulukko 1. Laitteiston vertailu [D7359-18; SFS-EN ISO 16994.]

	Kalorimetri + IC	Parrin happisylinteri + IC	XPREP C-IC
Näytemäärä	0,5 g	1 g	<100 mg
Analyysiaika	15 min + 46 min	20 min + 46 min	25-40 min
Kaasut	happi	happi	happi + argon
Helppous	puoliautomatoitu	manuaalinen	täysautomatoitu
Hinta	kallis	halvin	kallis
Huollot	säännöllinen huolto	säännöllinen huolto	säännöllinen huolto
Hajuhaitta	ei	kyllä	ei
Ergonomia	hyvä	huono	hyvä
Hajotusastian paino	1,6 kg	3,5 kg	-
Hajotusastian kiertet	1,5 kierrosta	3-5 kierrosta	-
Turvallisuus	Hyvä, näytemäärän kontrollointi Δt :n avulla, automaattinen paineen säätö	Lämpötilannousua ei pysty kontrolloimaan, manuaalinen paineen säätö	Hyvä, näytemäärät pieniä
Perustuu standardiin	EN ISO 16994	EN ISO 16994	D7359-18

5 Reagenssit ja näytteet

5.1 Reagenssit

Työssä käytetyt reagenssit olivat Neste Oyj:n hallussa pitämiä. Taulukossa 2 on esitetty käytetyt reagenssit ja niiden käyttötarkoitukset.

Taulukko 2. Reagenssit

Reagenssi	Käyttötarkoitus	Laatu	Valmistaja
Bentsoehappo C ₇ H ₆ O ₂	Kalorimetrin kalibrointi	-	IKA
Etanoli C ₂ H ₆ O	Nollanäyte ja paloa edistävä reagenssi Parrin happisylin-terissä.	Aa-laatu	ETAX
Element Blank Oil	Nollanäyte kalorimetrihajo- tuksiin	-	Conostan
Fluoride Ion chroma- tography standard	Ionikromatografian standar- dien valmistus	Standardilaatu	Accustandard
Bromide Ion chroma- tography standard	Ionikromatografian standar- dien valmistus	Standardilaatu	Accustandard
Chloride Ion chroma- tography standard	Ionikromatografian standar- dien valmistus	Standardilaatu	Alfa Aesar Specpure
Sulfate Ion chromato- graphy standard	Ionikromatografian standar- dien valmistus	Standardilaatu	Alfa Aesar Specpure
3-fluorobenzoehappo, C ₇ H ₅ FO ₂	Synteettisen referenssin val- mistus	Synteesisilaatu	Merck
4-bromoacetanilide, C ₈ H ₈ BRNO	Synteettisen referenssin val- mistus	≥98 %	Merck
Dibentsothiophene, C ₁₂ H ₈ S	Synteettisen referenssin val- mistus	≥98 %	Merck
Selluloosa	Synteettisen referenssin val- mistus	-	Fluka Analyti- cal

5.2 Näytteet

Tutkittavat näytteet olivat rasvanäytteitä, joista osa oli kiinteässä olomuodossa huoneen-lämmössä. Näytteet olivat hieman hankalia käsitellä, koska osa jähmettyi heti huoneen-

lämpöön tuotaessa. Referenssinäytteet olivat jauhemaisia. Toinen oli kaupallinen ja toinen itse valmistettu synteettinen referenssi. Taulukossa 3 on esitetty työssä käytetyt näytteet.

Kaupallisena referenssinä oli CRM-1964, jossa sertifikaatin mukaan kloridia oli 1271 mg/kg. Sulfaatile, fluoridille ja bromidille ei ollut kaupallista referenssiä, joten niitä varten valmistettiin synteettinen referenssi. Tarkoista punnitustuloksista pystyttiin laskemaan analyyttien teoreettiset pitoisuudet. Näytettä sekoitettiin pitkään tasoravistelijalla, jotta se olisi mahdollisimman tasaisesti sekoitettu. Taulukossa 4 näkyy punnitut määrät ja lasketut anionipitoisuudet.

Taulukko 3. Näytetiedot

Näyte	Kuvaus
Pyrolyysiöljy	Tarkkaa aineidentiteettiä ei ole vahvistettu. Öljy voi sisältää bentseeniä (<5 %), tolueenia, n-heksaania, fenolia (<2 %) tai aniliinia (<2 %). Näyte on huoneenlämmössä kiinteässä olomuodossa.
Eläinrasvat	Nautaeläinten, lampaiden ja vuohien teurastuksen leikkaamisen yhteydessä syntyvää sivutuotetta, jota ei saa käyttää elintarvikkeena eikä rehuna. Näyte on huoneenlämmössä kiinteässä olomuodossa.
Käytetty paistorasva	Näyte on huoneenlämmössä nestemäisessä olomuodossa.
Nollanäyte	Parrin happisylinterihajotuksissa käytössä etanoli. Kalorimetrillä tehtävissä hajotuksissa käytössä mineraaliöljy.
Referenssiaine kivihiili	CRM-1964, jossa kloridin pitoisuus on 1271 mg/kg.
Synteettinen referenssi	3-fluorobentsoehapon, 4-bromoasetanilidin, dibentsotiofeenin ja selluloosan sekoitus, jossa on laskennallisesti fluoridia 362 mg/kg, bromidia 460 mg/kg ja sulfaattia 666 mg/kg.

6 Validointi

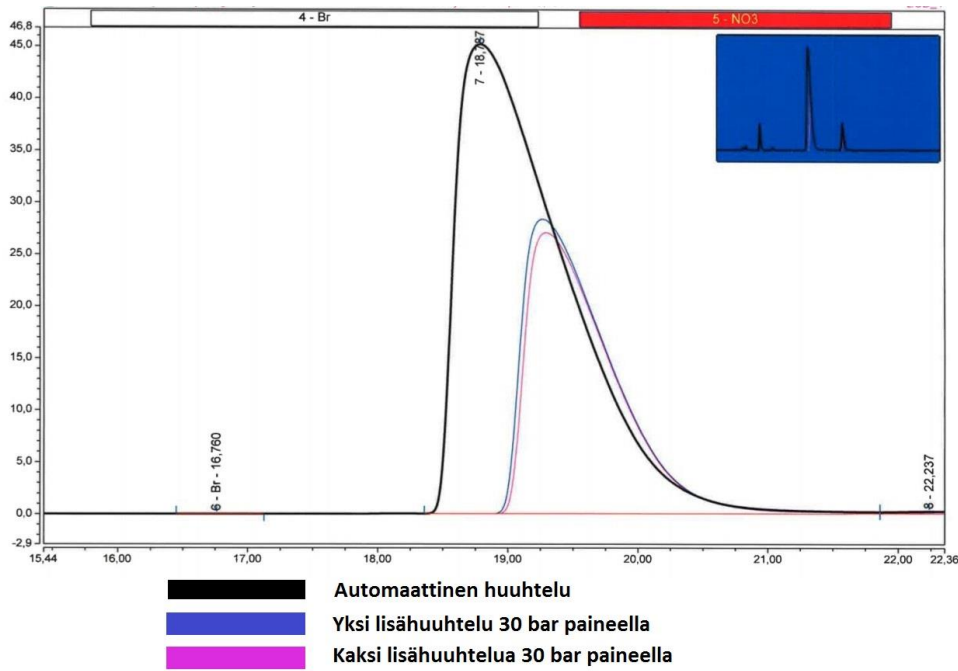
Kemiallisen mittausmenetelmän validointi tarkoittaa oikeellisuuden ja tulostason tarkistusta. Sillä voidaan osoittaa, että menetelmä on sopiva aiottuun käyttötarkoitukseen. Validoinnilla siis parannetaan ja varmennetaan laboratorioanalyysien laatua. Sillä pyritään tuottamaan vertailuarvoja niille suureille, joilla kuvataan menetelmän luotettavuutta. Validoinnille asetettavat vaatimukset määritellään tapauskohtaisesti, koska ne vaihtelevat menetelmän ja sen käyttötarkoituksen mukaan. Laajimman validoinnin vaativat itsekehityt sisäiset menetelmät.

Validointi on nelivaiheinen projekti. Se sisältää validointisuunnitelman, mittaukset, tulosten tilastollisen arvioinnin ja dokumentoinnin. Siitä laaditaan vielä lopuksi validointiraportti, jossa jäljitettävyys on varmistettava. Validoinnissa tutkittavia parametrejä ovat toistettavuus ja uusittavuus, oikeellisuus, saantokokeet, toteamis- ja määrittämissuorat, lineaarisuus ja mittausalue, mittausepävarmuus, spesifisyys ja selektiivisyys sekä häiriökkestävyys.

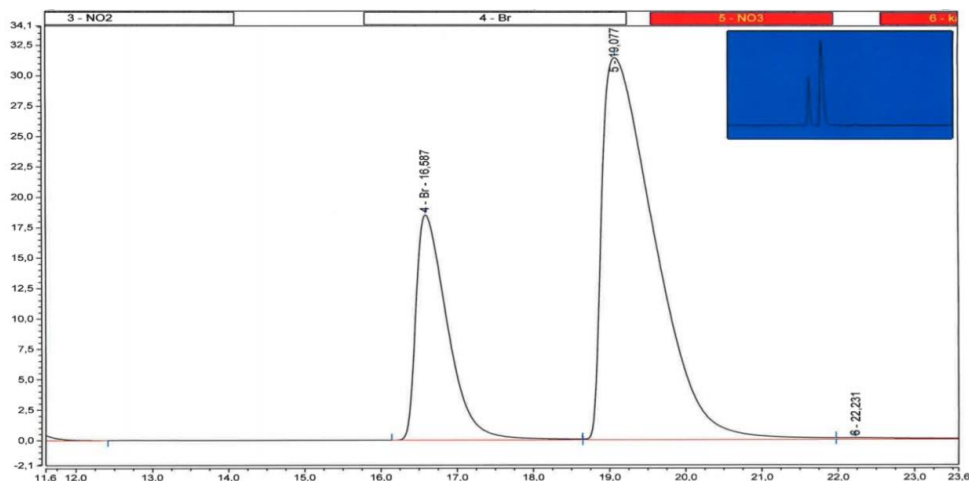
Neste Oyj:lla käytössä olevat menetelmät ovat validoituja. Validoinnilla lisätään tulosten luotettavuutta. Asiakkaat voivat hyödyntää tuloksia jatkokäsitellessä niihin liittyviä mittausepävarmuuksia. Nesteellä laatua seurataan myös monilla muilla tavoilla. Analyysituloksia seurataan esimerkiksi kaupallisilla referenssiaineilla, joiden pitoisuudet tiedetään tarkasti. Lisäksi Neste osallistuu pätevyyskokeisiin, joissa tehdään laboratorioiden välistä tulosten vertailua.

6.1 Menetelmän häiriöalttiuden testaus

Bromidin analysointia varten täytyi selvittää, häiritseekö ilman typpi bromidin määrittämisestä. Bromidin ja nitraatin retentioajoissa on vain pieni ero, joten oli tarpeellista selvittää, ettei bromidipiikki jää nitraattipiikin alle sen ollessa huomattavan suuri. Sylinteri huuhtoutui automaattisesti kahdella huuhtelukerralla 5–10 baarin happipaineella. Huuhteluista tehtiin vertailu, että pienenkö nitraatin kokonaismäärä, jos sylinteri huuhdottiin manuaalisesti 30 baarin lisähuuhteluilla. Kuvassa 6 näkyy nitraatti- ja bromidipiikit kromatogrammissa ilman lisähuuhtelua ja lisähuuhteluiden kanssa. Huuhtelua testattiin vielä lisäämällä bromidin määrää (kuva 7), ja siitä tarkasteltiin, etteivät nitraatti- ja bromidipiikki kasva yhteen.



Kuva 6. Happihuhtelun vaikutus nitraattipikein kokoon



Kuva 7. Kromatogrammi, jossa näkyy bromidi- ja nitraattipikeit

Kuvasta 6 voitiin päätellä, että nitraattipikeä saa tarvittaessa pienemmäksi lisäämällä 30 barin happihuhtelu, joka syrjäyttää sylinteristä ilman typen. Yhden lisähuhtelun jälkeen sylinteriin ei juurikaan jää enää typpeä, koska vertaamalla yhtä ja kahta lisähuhtelua on nitraatin määrässä vain hyvin pieni ero. Kuvassa 7 näkyy, että bromidipeike ei

jää nitraattipiikin alle, vaikka bromidipitoisuus olisi yli kalibrointisuorien. Havaintoihin perustuen sylinterin happihuuhteluita ei lisätty, vaan suoritettiin vain kaksi automaattista huuhtelua 5–10 barin paineella.

Bromidin ja nitraatin resoluutio laskettiin kaavalla (1).

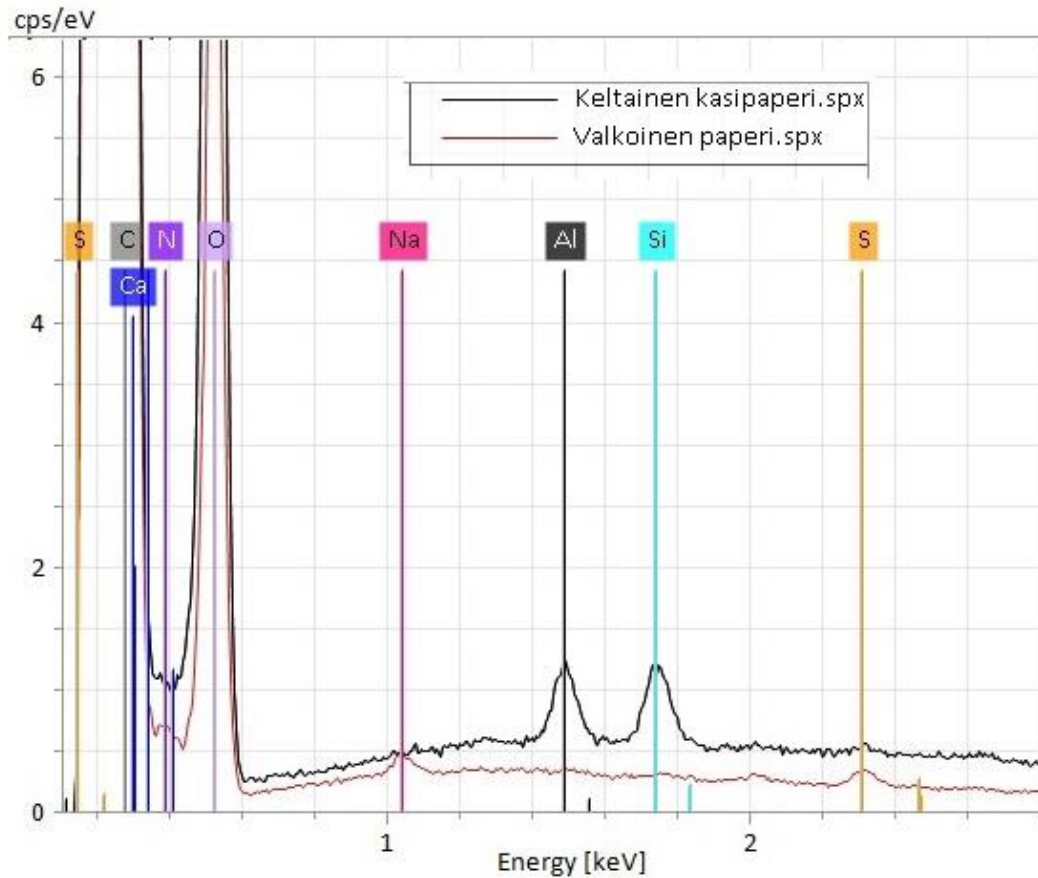
$$R_s = \frac{(t_{r2} - t_{r1})}{0,5(W_1 - W_2)} \quad (1)$$

$$R_s = \frac{(19,077 \text{ min} - 16,587 \text{ min})}{0,5(2,55 \text{ min} - 1 \text{ min})}$$

$$R_s = 3,21$$

Resoluutio on riittävän suuri, ja se takaa piikkien täydellisen erottumisen. Muiden piikkien erottaminen oli vielä selkeämpää, joten niillä oli vielä suuremmat resoluutiot.

Sulfaatin kontaminaatioepäilyn vuoksi sylinterin kuivaamiseen käytössä ollut valkoinen paperi analysoitiin SEM/EDS:llä (pyyhkäisyelektronimikroskooppi, johon yhdistetty energiadiispersiivinen spektrometri). Kuvassa 8 näkyy valkoisen käsipaperin osalta pieni pitoisuus rikkiä. Kuivauspaperi vaihdettiin tavalliseen valkaisemattomaan käsipaperiin, jotta välttyttäisiin sulfaattikontaminaatiolta.



Kuva 8. Kuivauspaperien vertailu SEM/EDS:llä. Keltainen käsipaperi sisälsi vähemmän rikkiä kuin valkaistu paperi.

Taulukko 4. Synteettinen referenssi

	Punnittu	Anionimäärä (mg/kg)
Fluoridi	0,147 g $C_7H_5FO_2$	362
Bromidi	0,0684 g C_8H_8BRNO	460
Sulfaatti	0,0709 g $C_{12}H_8S$	666
Selluloosa	55,0 g	-

6.2 Näytteiden esikäsittely analysoitavaan muotoon

Työ aloitettiin kalorimetrin kalibroinnilla. Kalibrointi suoritettiin jokaiselle sylinterille erikseen mittaamalla kolme kertaa bentsoehappoa gramman verran. Tämän jälkeen laite kalibroi itsensä automaattisesti.

Kaikki näytteet ja referenssinäytteet esikäsiteltiin kalorimetrillä hajottamalla näyte liukoiseen muotoon. Näyte asetettiin kalorimetrin näyteastiaan, johon viritettiin puuvillainen sytytyslanka. Sylinterin pohjalle laitettiin kaksi millilitraa ionivaihdettua vettä, johon näyte absorboituu sen palaessa. Sylinteri asetettiin kalorimetriin, jonka jälkeen laite käynnistettiin. Laite suoritti happihuuhtelun typen poistamiseksi. Sen jälkeen sylinteriin lisättiin happikaasua 34 baaria ja sytytettiin puuvillalanka, joka sytytti näytteen. Palamisen jälkeen näyte huuhdottiin huolellisesti mittapulloon.

Näytteiden punnitusmäärät ja laimentamistilavuudet näkyvät taulukossa 5. Punnitusmäärät arvioitiin siten, että kalorimetrillä mitattu lämpötilan muutos olisi 1,5–3,5 °C.

Taulukko 5. Näytteiden punnitusmäärät ja laimentamistilavuudet

Näyte	Punnitusmäärä (g)	Laimentamistilavuus (ml)	Lämpötilan muutos (Δt)
Pyrolyysiöljy	0,4	25	~ 2,4 °C
UCO	0,4	25	~ 2 °C
Eläinrasva	0,4	25	~ 2 °C
Nollanäyte:	0,3	25 ja 50	~ 1,7 °C
Referenssiaine: kivihiili	0,1	100	~ 1,6 °C
Synteettinen referenssi	0,25	25	~ 1,7 °C

Lisäksi referenssiaineena toiminut kaupallinen kivihiili CRM-1964 esikäsiteltiin myös Parrin happisylinterissä 10 kertaa, ja analysoitiin sen jälkeen ionikromatografilla. Parrin happisylinterin näyteastiaan punnittiin 100 milligrammaa referenssinäytettä, ja sen yläpuolelle viritettiin Iridium-sytytyslanka. Tämän jälkeen suljettu sylinteri huuhdottiin manuaalisesti kolme kertaa 20 baarin happipaineella. Sylinteriin asetettiin sytytysjohdot, ja se asetettiin vesiastiaan. Näyte sytytettiin sytytysyksiköstä, jonka jälkeen odotettiin viisi minuuttia, jotta voitiin varmistua näytteen täydellisestä absorboitumisesta sylinterin pohjalla olleeseen veteen. Lopuksi sylinteristä poistettiin manuaalisesti happipaine, ja näyte huuhdeltiin huolellisesti 100 millilitran mittapulloon.

6.3 Analysointi ionikromatografilla

Esikäsittelyn jälkeen kaikki näytteet analysoitiin ionikromatografilla. Kalibroitisuoria oli kaksi: 0,5–5 mg/l ja 5–30 mg/l. Ajo-olosuhteet näkyvät taulukossa 6.

Taulukko 6. Ionikromatografian ajo-olosuhteet

Analyysiaika	46 minuuttia
Pumpun paine	~ 2100 psi
Eluentin johtokyky	0,200–0,400 μ S
Virtausnopeus	0,25 ml/min
Injektio-tilavuus	40 μ l
Eluentin KOH-pitoisuus	10–52 mM, gradienttiajo

Näytteet olivat hyvin likaisia, joten kaikki näytteet suodatettiin 45 mikrometrin PVDF-ruis-kusuodattimilla. Jokaisen näytteen välissä analysoitiin yksi vesinäyte, jotta välttyttiin näytteiden kontaminaatiolta. Laadun seuraamiseksi analysoitiin tasaisin väliajoin laadunohjausnäytteitä, joiden pitoisuudet tiedettiin. Näin pystyttiin seuraamaan, että laite antaa jatkuvasti luotettavia tuloksia. Kaikkia näytteitä analysoitiin 10 kertaa saman päivän aikana ja yhdeksän kertaa eri päivinä.

7 Tulosten käsittely

Liitteessä 1 on esitetty kaikki analysoidut näytteet ja niiden mittaustulokset. Näytteistä analysoitiin yhdeksän rinnakkaista näytettä eri päivinä sekä 10 rinnakkaista näytettä samana päivänä. Tuloksista määritettiin mitta-alue, lineaarisuus, toistettavuus, uusittavuus, oikeellisuus, saantokokeet, spesifisyys ja mittausepävarmuus. Lisäksi uutta ja vanhaa menetelmää verrattiin kahden otoksen t-testillä.

7.1 Mittausalue

Toteamisraja eli LOD (Limit of Detection) on alin määritettävä pitoisuus, joka voidaan todeta luotettavasti. Se eroaa jo merkittävästi nollanäytteen arvosta. Raja selvitettiin laskemalla keskihajonta (s) vain vähän mitattavia analyyttejä sisältävän näytteen rinnakkaismääritysten tuloksista kaavalla (2). [Laadukkaan mittaamisen perusteet 2011.]

$$LOD = 3s \quad (2)$$

Määritysraja eli LOQ (Limit of Quantitation) on pitoisuusalaraja kvantitatiiviselle määrittämiselle, kun se mitataan matriisissa. Pitoisuus voidaan määrittää hyväksyttävällä täsmällisyydellä ja tarkkuudella, ja sille voidaan esittää epävarmuusarvio. Raja selvitettiin laskemalla keskihajonta (s) vain vähän mitattavia analyyttejä sisältävän näytteen rinnakkaismääritysten tuloksista kaavalla (3). [Laadukkaan mittaamisen perusteet 2011.]

$$LOQ = 10s \quad (3)$$

Taulukoissa 7 ja 8 on esitetty määritettyjen anionien toteamis- ja määritysrajat. Näyttemääränä oli sama 0,4 grammaa. Sille tehtiin vertailu laimentamalla se 25 millilitraan ja 50 millilitraan.

Taulukko 7. Anionien lasketut toteamis- ja määritysrajat 25 millilitran tilavuuteen laimennetuille näytteille.

	Fluoridi	Kloridi	Bromidi	Sulfaatti
Keskihajonta (mg/l)	0,55	0,024	0,00075	0,25
Toteamisraja (mg/kg)	100	4,5	0,14	48
Määritysraja (mg/kg)	340	15	0,47	160

Taulukko 8. Anionien lasketut toteamis- ja määritysrajat 50 millilitran tilavuuteen laimennetuille näytteille

	Fluoridi	Kloridi	Bromidi	Sulfaatti
Keskihajonta (mg/l)	0,10	0,029	0,00063	0,11
Toteamisraja (mg/kg)	38	11	0,24	42
Määritysraja (mg/kg)	130	38	0,79	140

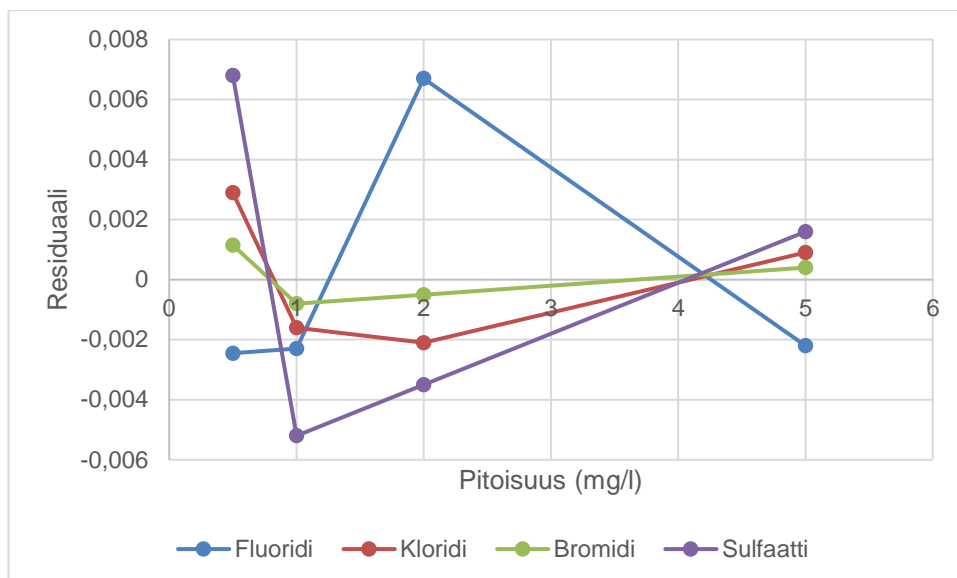
Näytteen täydellistä keräämistä sylinteristä helpottaisi, jos näyte huuhdottaisiin 25 millilitran mittapullon sijasta 50 millilitran mittapulloon. Tämä kuitenkin aiheuttaisi huomattavan nousun toteamis- ja määritysrajoille, koska laimennuskerroin kasvaisi vielä kaksinkertaisesti. Korkeisiin rajoihin vaikuttaa punnittava näytemäärä, laimennuskerroin sekä ionikromatografian säädöt, esimerkiksi injektiomäärä.

Fluoridin ja sulfaatin korkeisiin määritysrajoihin vaikuttaa kontaminaatio-ongelmat, jonka vuoksi tulokset eivät ole luotettavia.

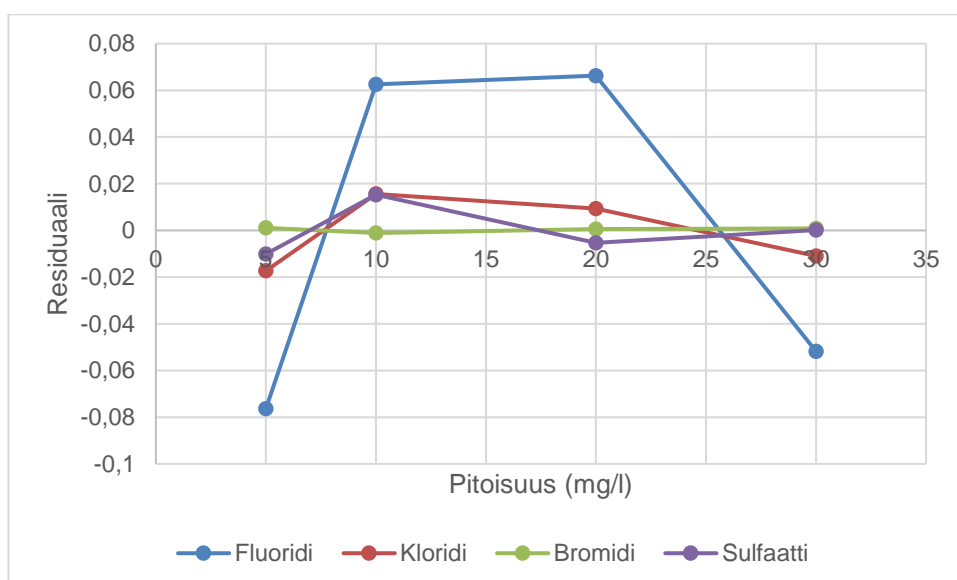
7.2 Lineaarisuus

Kalibrintisuoran (kuvat 11 ja 12) sopivuutta voidaan arvioida mitattujen kalibrintipisteiden ja pienimmän neliösumman menetelmällä laskettujen kalibrintisuoran pisteiden erotuksen eli residuaalin avulla. Kalibrintisuoran epälineaarisuus voidaan havaita graafisesti, kun residuaalit esitetään kalibrintiliuosten pitoisuuden funktiona. [Regressioanalyysi 2008.]

Lineaarisuutta tutkittiin selvittämällä, miten hyvin kalibrintipisteet osuivat kalibrintisuoralle. Mittaukset tehtiin standardiliuoksista kahdelle eri pitoisuusalueelle 0,5–5 mg/l ja 5–30 mg/l. Kuvissa 9 ja 10 näkyy kalibrintipisteiden residuaalikuvaajat.

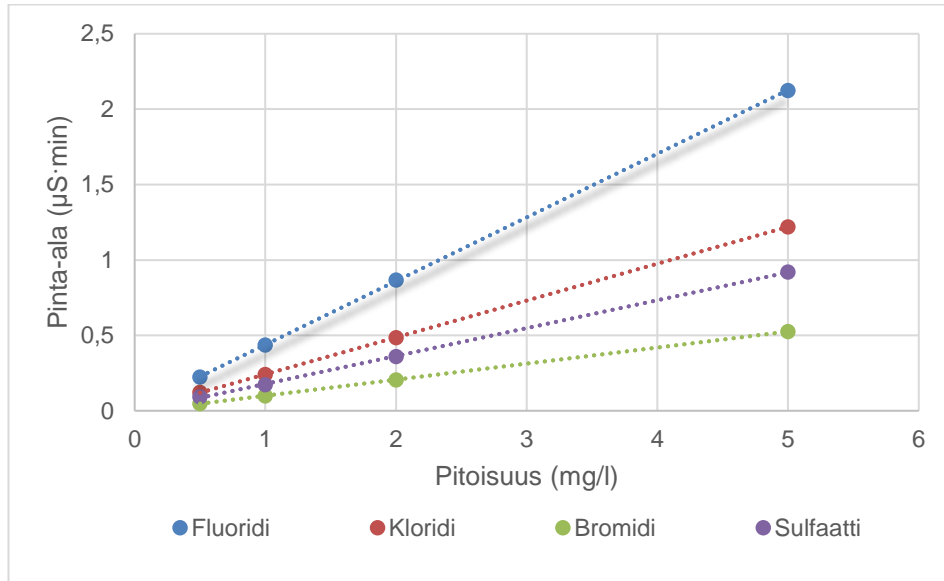


Kuva 9. Pienemmän pitoisuustason kalibrintisuoran residuaalikuvaaja

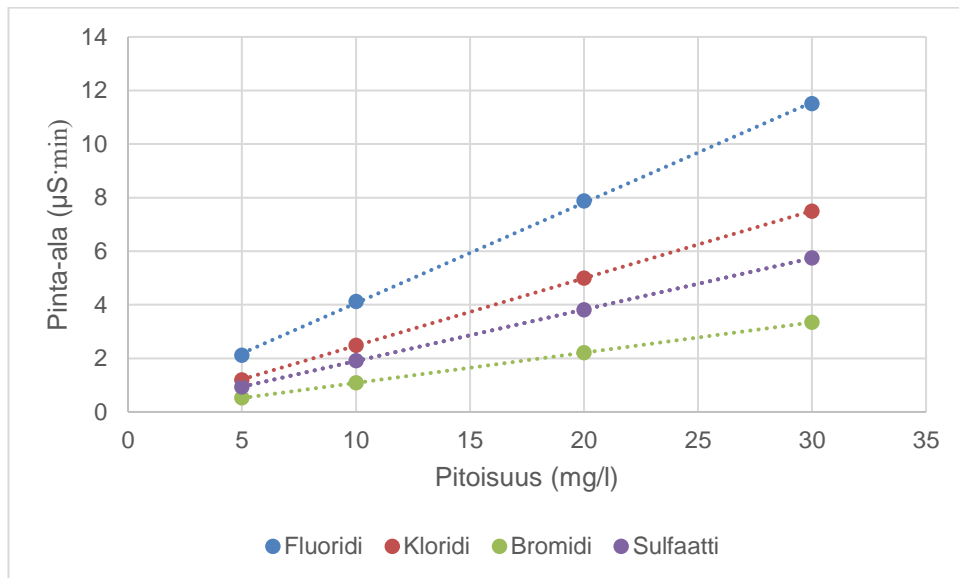


Kuva 10. Suuremman pitoisuustason kalibrintisuoran residuaalikuvaaja

Kuvia 9 ja 10 tutkiessa voidaan todeta, että pisteet osuvat riittävän satunnaisesti molemmille puolille nollassa, kun huomioidaan molemmat kalibrintisuorat. Tällöin kalibrointipisteitä on 8, jolloin tulos on luotettavampi, kuin katsottaessa vain pientä tai isoa kalibrointisuoraa, jolloin kalibrointipisteitä on vain neljä. Näin ollen kalibrointisuorien kuvaajat (kuvat 11 ja 12) ovat lineaarisia.



Kuva 11. Pienemmän pitoisuustason kalibrintisuora



Kuva 12. Suuremman pitoisuustason kalibrintisuora

Lineaarisuutta tutkittiin myös selitysasteen ja korrelaatiokertoimen avulla. Taulukoissa 9 ja 10 näkyy suorien selitysasteet (r^2) ja korrelaatiokertoimet (r).

Taulukko 9. Pienten kalibrointisuorien selitysasteet (r^2) ja korrelaatiokertoimet (r)

	Fluoridi	Kloridi	Bromidi	Sulfaatti
r^2	0,99998	0,99998	0,99998	0,998
r	0,99998	0,99998	0,99998	0,998

Taulukko 10. Isojen kalibrointisuorien selitysasteet (r^2) ja korrelaatiokertoimet (r)

	Fluoridi	Kloridi	Bromidi	Sulfaatti
r^2	0,9997	0,99997	0,999999	0,99997
r	0,9998	0,99998	0,99995	0,99998

Korrelaatiokertoimen tavoitteellinen arvo on $\geq 0,995$, joka saavutettiin mittauksilla.

7.3 Toistettavuus

Toistettavuus eli s_r tarkoittaa täsmällisyyttä, joka saavutetaan, kun sama henkilö analysoi samanlaiset näytteet useita kertoja samassa laboratoriossa käyttäen samaa mittauslaitteistoa. Toistettavuus määritettiin tekemällä samana päivänä 10 rinnakkaismäärittystä referenssinäytteistä, joiden pitoisuudet tiedettiin. Toistettavuus laskettiin kaavalla (4). [Laudukkaan mittaamisen perusteet 2011.]

$$RSD\% = \frac{\text{keskihajonta}}{\text{keskiarvo}} \cdot 100 \% \quad (4)$$

Taulukossa 11 näkyy referenssinäytteiden lasketut tulokset. Fluoridi, bromidi ja sulfaatti laskettiin synteettisen referenssin tuloksista, ja kloridi laskettiin CRM-1964:n tuloksista.

Taulukko 11. Toistettavuusarvot referenssinäytteille

	Fluoridi	Kloridi	Bromidi	Sulfaatti
Keskiarvo (mg/kg)	340	1200	480	530
Keskihajonta (mg/kg)	26	95	28	72
RSD%	7,6	7,9	5,7	14

Fluoridin, kloridin ja bromidin osalta päästiin tavoitteelliseen $<10\%$ tuloksiin.

Toistettavuusarvot laskettiin myös kaikille eri näytematriiseille. Tulokset näkyvät taulukossa 12.

Taulukko 12. Toistettavuusarvot eri näytematriiseille
*) Pitoisuus alle määrittärajän

	Fluoridi (RSD%)	Kloridi (RSD%)	Bromidi (RSD%)	Sulfaatti (RSD%)
Pyrolyysiöljy	110*	33*	4,3	100*
Eläinrasva	100*	85*	1,6	18*
Käytetty paistorasva	110*	26*	1,8	27*

Korkeisiin RSD%-arvoihin vaikuttaa, että näytteistä mitattujen anionien määrä on hyvin alhainen, esimerkiksi eläinrasvan kloridipitoisuudet ovat reilusti alle määrittärajän. Luotettava RSD%-arvo täytyisi mitata näytteistä, joissa tutkittavat yhdisteet olisivat yli määrittärajöjen.

7.4 Uusittavuus

Analysoitaessa näytettä vaihtelevissa olosuhteissa voidaan tutkia uusittavuutta (s_R). Työssä arvioitiin laboratorion sisäistä uusittavuutta eri päivinä analysoitavien näytteiden tulosten perusteella. Rinnakkaisia näytteitä analysoitiin yhdeksänä eri päivänä. Tulokset laskettiin kaavalla (5).

$$RSD\% = \frac{\text{keskihajonta}}{\text{keskiarvo}} \cdot 100\% \quad (5)$$

Taulukossa 13 näkyy lasketut tulokset. Fluoridi, bromidi ja sulfaatti laskettiin synteettisen referenssin tuloksista, ja kloridi laskettiin CRM-1964:n tuloksista.

Taulukko 13. Uusittavuusarvot referenssinäytteille

	Fluoridi	Kloridi	Bromidi	Sulfaatti
Keskiarvo (mg/kg)	330	1200	440	410
Keskihajonta (mg/kg)	17	47	13	47
RSD%	5,2	3,9	3,0	11

Sulfaatin osalta laskuista jätettiin pois 24.5.2019 analysoitu näyte, jonka tulos oli 1646,62 mg/kg, koska se poikkesi muista tuloksista huomattavasti.

Fluoridin, kloridin ja bromidin osalta päästiin tavoitteelliseen <10 % tuloksiin. Kloridin ja bromidin osalta tulokset ovat jopa <5 %, mikä kertoo siitä, etteivät vaihtelevat olosuhteet vaikuta analyysituloksiin.

Uusittavuusarvot laskettiin myös kaikille eri näytematriiseille. Tulokset näkyvät taulukossa 14.

Taulukko 14. Uusittavuusarvot eri näytematriiseille
*) Pitoisuus alle määritysrajan

	Fluoridi (RSD%)	Kloridi (RSD%)	Bromidi (RSD%)	Sulfaatti (RSD%)
Pyrolyysiöljy	56*	26*	16	63*
Eläinrasva	69*	47*	10	3,7*
Käytetty paistorasva	89*	36*	38	68*

Näytteistä mitattujen anionien määrä on hyvin alhainen, mikä aiheuttaa huomattavan nousun RSD%-arvoihin, esimerkiksi eläinrasvan kloridipitoisuudet ovat selvästi alle määritysrajan. Yleensä uusittavuusarvot ovat korkeampia kuin toistettavuusarvot. Tässä tapauksessa referenssinäytteiden osalta oli huomioitu kontaminaation mahdollisuus. Kontaminaatio pienensi eri päivinä tehtyjen rinnakkaisnäytteiden referenssinäytteiden keskihajontoja.

7.5 Oikeellisuus

Oikeellisuutta tutkittiin mittaamalla useasti näytettä, jonka pitoisuus tiedettiin varmasti. Se laskettiin kaavalla (6).

$$\text{Bias} - \% = \frac{(X - \mu)100\%}{\mu}, \text{ jossa} \quad (6)$$

μ = todellinen arvo (odotusarvo)

X = määrittämällä saatu arvo

Taulukossa 15 näkyvät referenssinäytteille lasketut bias-%:t.

Taulukko 15. Analyyteille määritetyt bias-%:t

Analyytti	Bias-%
Kloridi	-5,2
Bromidi	4,9
Fluoridi	-5,8
Sulfaatti	-20,5

Bias-%:t ovat hyviä kloridin, bromidin ja fluoridin osalta. Sulfaatin osalta tulos on hieman alhainen. Sulfaatin bias-% määritettiin synteettisestä referenssistä, jonka kaikki rinnakkaiset pitoisuudet olivat alhaisia suhteessa laskettuun arvoon. Siitä voidaan päätellä, että valmistettaessa synteettistä referenssiä on voinut esiintyä punnitusvirhettä tai reagenssi ei ole sekoittunut tarpeeksi hyvin tasoravistelijassa.

Referenssinäytteille tehtiin myös t-testi, jossa tuloksia verrattiin tunnettuun arvoon.

Hypoteesit:

$$H_0: \mu = \mu_0$$

$$H_1: \mu \neq \mu_0$$

Taulukossa 16 näkyvät lasketut testisuureet.

Taulukko 16. Referenssinäytteelle lasketut testisuureet

Analyytti	t_{laskettu}	$t_{\text{kriittinen}}$
Kloridi	2,84	2,12
Bromidi	2,59	2,26
Fluoridi	2,53	2,26
Sulfaatti	4,54	2,26

Kaikille analyyteille tulokseksi saatiin, että $t_{\text{laskettu}} > t_{\text{kriittinen}}$, joten H_0 hylätään, eli tulokset eroavat tilastollisesti merkitsevästi tunnetusta arvosta 95 %:n luottamustasolla. Muut analyytit analysoitiin itse valmistetusta referenssiaineesta, kun taas kloridi analysoitiin kaupallisesta referenssistä. Bromidi ja fluoridi ylittävät vain niukasti kriittisen rajan, joten

t_{laskettu} olisi mahdollista saada pienemmäksi esimerkiksi kaupallisella referenssiaineella tai valmistamalla uusi erä referenssiainetta. Kloridin referenssinäytteen pitoisuudet ovat eri suuruusluokkaa näytteiden kanssa. Pitoisuudet vaihtelevat prosentuaalisesti suurilla pitoisuuksilla saman verran kuin pienillä, joten keskihajontaa saisi pienemmäksi, jos määritykset tehtäisiin pienemmillä pitoisuusalueilla. Keskihajonnan pieneneminen taas vaikuttaisi $t_{\text{laskettuun}}$, jolloin tulokset saisi luotettavimmiksi kloridin osalta.

7.6 Saantokokeet

Saantokokeilla selvitettiin, sisältääkö näyte analyysiä häiritseviä yhdisteitä. Näytteeseen lisättiin tunnettu määrä tutkittavaa ainetta, ja se analysoitiin samalla tavalla kuin itse näyte. Tuloksesta laskettiin takaisinsaanto (%R) kaavalla (7). [Laadukkaan mittaamisen perusteet 2011: 16.]

$$\%R = \frac{(S-U)100\%}{C}, \text{ jossa} \quad (7)$$

C = lisätyn standardiliuoksen pitoisuus (tunnettu)

U = näytteen alkuperäinen pitoisuus (mitattu)

S = lisäyksen sisältävän näytteen pitoisuus (mitattu)

Saantokokeet tehtiin eri pitoisuustasoilla (taulukko 17), joista laskettiin saantoprosentit R%. Taulukossa 18 näkyvät pyrolyysiöljyn lasketut tulokset.

Taulukko 17. Saantokoeliuosten valmistus

Lisäyksen pitoisuus	Alkuperäinen näytemäärä	Spiikkausmäärä 100 mg/l	Lopputilavuus
0,5 mg/l	4 ml	20 µl	4,02 ml
1 mg/l	4 ml	40 µl	4,04 ml
2 mg/l	4 ml	80 µl	4,08 ml
3 mg/l	4 ml	120 µl	4,12 ml
5 mg/l	4 ml	200 µl	4,20 ml

Taulukko 18. Pyrolyysiöljyllä tehdyt saantokokeet (R%:t)

Lisäysmäärä	Fluoridi	Kloridi	Bromidi	Sulfaatti
0,5 mg/l	0,34 %	93 %	105 %	90 %
1 mg/l	22 %	99 %	95 %	101 %
2 mg/l	139 %	116 %	95 %	86 %
5 mg/l	114 %	89 %	96 %	96 %

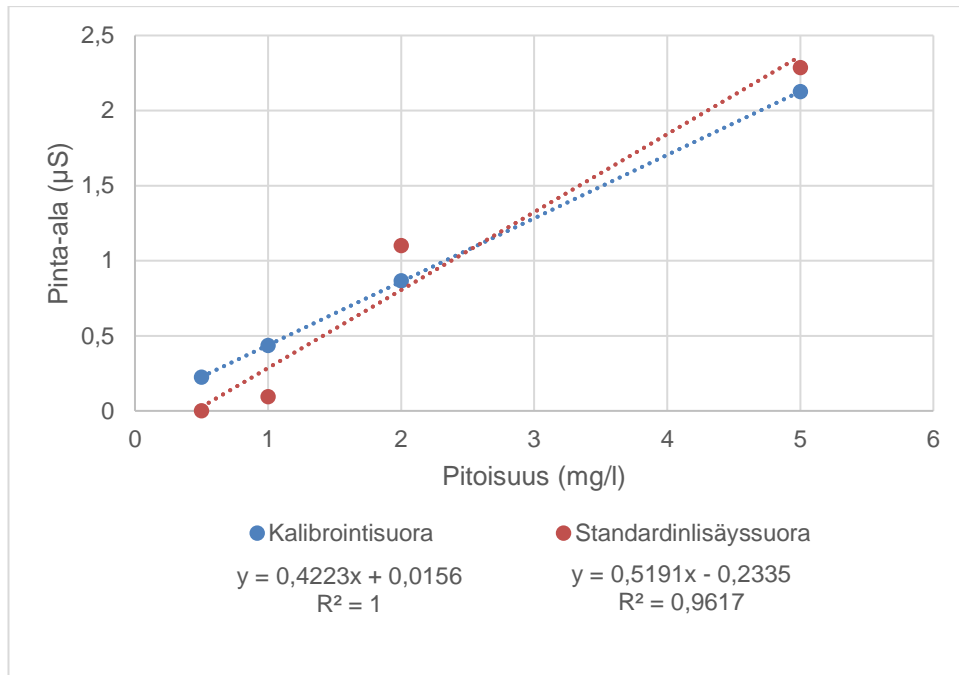
R%-arvot voidaan katsoa hyväksytyiksi kloridin ja bromidin ja sulfaatin osalta. Saantoprosentit eroavat noin 10 %, mikä ei ole kovin suurta, kun virheprosentit otetaan huomioon. Saantoprosenteille ei ole tarkkaa kriteeriä, vaan ne vaihtelevat laboratorioittain 80–120 % välillä, jopa 75–125 %. Ainoastaan fluoridin tulokset eivät yllä sille tasolle, mutta ne selittyvät toisen hajotukseen käytetyn sylinterin antamasta fluoridikontaminaatiosta.

7.7 Spesifisyys

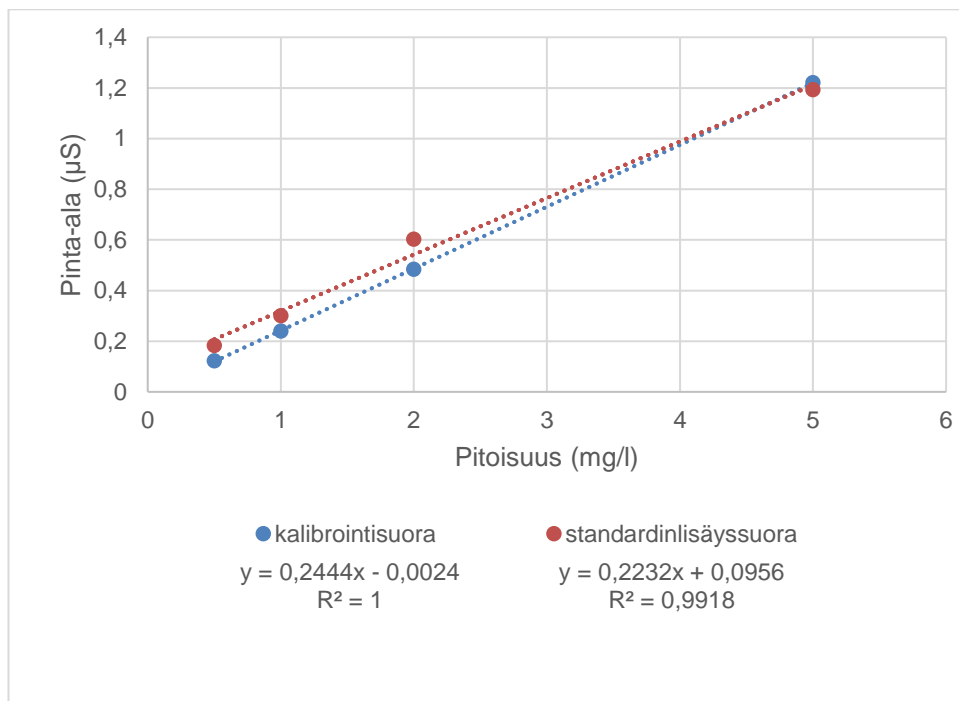
Spesifisyydellä havainnoidaan menetelmän kykyä mitata vain tarkoitettua analyyttiä ja tuottaa vaste vain sille. Spesifisyyskokeilla halutaan selvittää, muodostuiko laitteella saatu vaste vain yhdestä analyytistä.

Spesifisyyttä tutkittiin vertaamalla pienen kalibrintisuoran ja standardinlisäysuoran kulmakertoimia. Tutkimus suoritettiin pyrolyysiöljylle, koska se oli kaikista haastavin näyttematriisi.

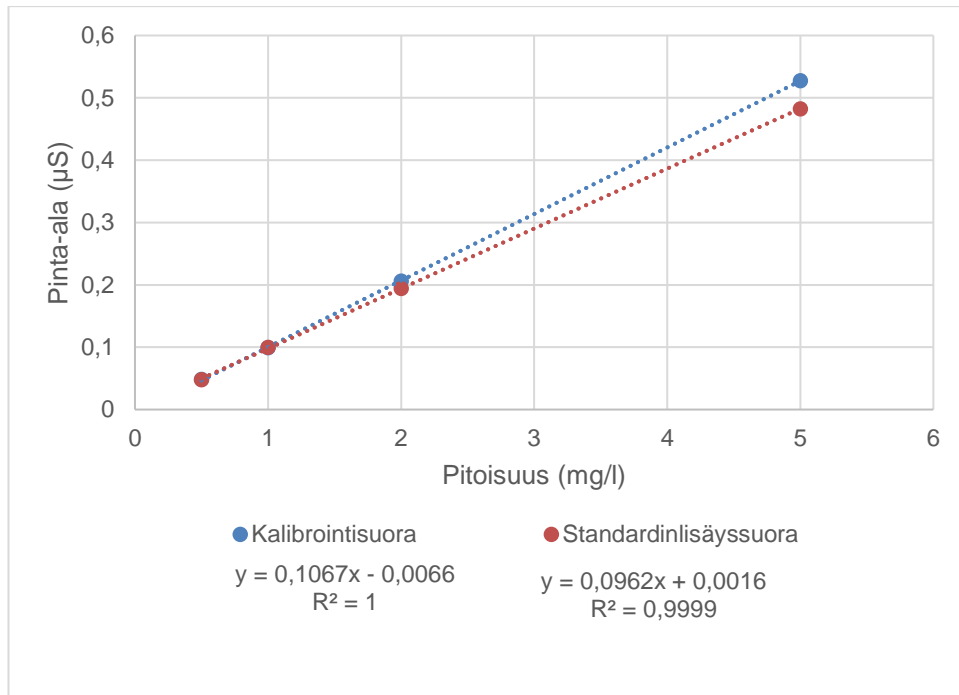
Kuvissa 13–16 näkyy kalibrintisuorien ja standardinlisäysuorien kuvaajat.



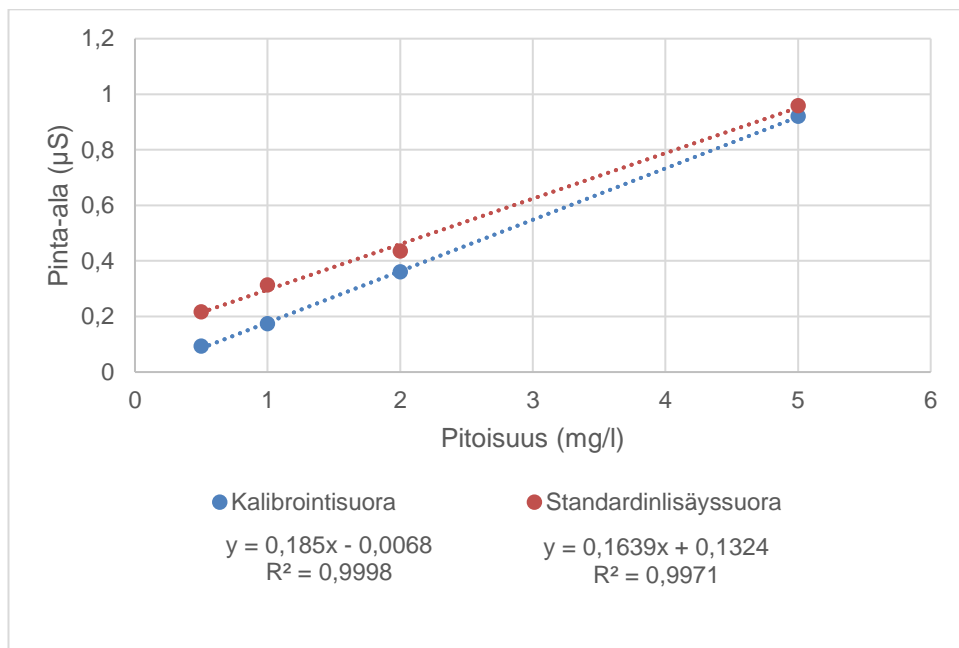
Kuva 13. Fluoridin kalibrinti- ja standardinlisäyssi



Kuva 14. Kloridin kalibrinti- ja standardinlisäyssi



Kuva 15. Bromidin kalibrointi- ja standardinlisäyssi-suora



Kuva 16. Sulfaatin kalibrointi- ja standardinlisäyssi-suora

Suorien kulmakertoimia verrattiin toisiinsa, ja tulokset ovat näkyvillä taulukossa 19.

Taulukko 19. Kalibrointisuoran ja standardinlisäyssiäsuorien kulmakertoimien eroavuudet

Analyytti	Eroavuus (%)
Fluoridi	23
Kloridi	9
Bromidi	10
Sulfaatti	11

Kaikkien määritettyjen analyyttien osalta tulokset ovat hyväksytyjä, eli noin 10-20 % luokkaa. Fluoridin mittausta olisi saanut varmasti vielä paremmaksi, mikäli kontaminaatio olisi poistettu aiemmin toisesta hajotukseen käytetystä sylinteristä.

7.8 Mittausepävarmuus

Mittausepävarmuus arvioitiin mittaamalla useita kertoja referenssinäytteitä, joiden pitoukset tiedettiin. Kloridille se laskettiin CRM-1964:n tuloksista, ja muille analyyteille synteettisen referenssin tuloksista. Mittausepävarmuus laskettiin kaavalla (8).

$$[\sqrt{(bias \%)^2 + (sisäinen\ uusittavuus \%)^2 + (liuoksen\ epävarmuus \%)^2}] \cdot 2 \quad (8)$$

Lasketut tulokset ovat näkyvillä taulukossa 20.

Taulukko 20. Mittausepävarmuudet

Analyytti	Mittausepävarmuus (%)
Kloridi	8
Bromidi	12
Fluoridi	16
Sulfaatti	160

Kloridin, bromidin ja fluoridin osalta mittausepävarmuudet ovat riittävän pieniä, noin 10-20 %. Jopa alle 30 %:n mittausepävarmuudet ovat halogeenihajotuksessa hyviä, koska analyysi koostuu niin monesta eri vaiheesta.

Lisäksi kaikille näytematriiseille laskettiin mittausepävarmuus 95 %:n luottamustasolla näytteiden (pyrolyysiöljy, eläinrasva ja käytetty paistorasva) rinnakkaisista tuloksista käyttäen apuna kaavoja (8, 9 & 10). [FINAS, S33/1966.]

$$dri - \% = \frac{n_1 - n_2}{keskiarvo} \cdot 100\% \quad (8)$$

$$Mittausepävarmuus (U) = \sqrt{\frac{(dri - \%)^2}{2 \cdot \text{näytemäärä}}} \quad (9)$$

$$Laajennettu mittausepävarmuus = 2 \cdot U \quad (10)$$

Fluoridille ja sulfaatille ei laskettu mittausepävarmuutta, koska tulokset eivät olleet luotettavia kontaminaatio-ongelmien vuoksi. Kloridin tulokset eivät ole käyttökelpoisia, koska pitoisuudet ovat alle määrittäysrajan. Taulukossa 21 näkyy bromidille lasketut mittausepävarmuudet.

Taulukko 21. Bromidin mittausepävarmuus

	Bromidi
Näytemäärä	25 kpl
summa, dri-%	-8 %
summa, (dri-%) ²	3500 %
Mittausepävarmuus, U	8 %
95 %:n luottamustasolla mittausepävarmuus, 2U	17 %

Bromidin osalta mittausepävarmuus 8 % ja laajennettu mittausepävarmuus 17 % olivat 95 %:n luottamustasolla tavoiteltuja tuloksia.

7.9 Vertailu vanhaan menetelmään

Referenssinäytettä, jonka pitoisuus tiedettiin tarkasti (1200 mg/kg), esikäsiteltiin useita kertoja Parrin happisylinterissä ja kalorimetrillä. Sekä Parrilla että kalorimetrillä hajotetuista näytteistä otettiin satunnaisesti 10 tuloksen joukko (taulukko 22), joille tehtiin parittainen kahden otoksen t-testi.

Hypoteesit:

$$H_0: \mu_d = 0$$

$$H_1: \mu_d \neq 0$$

Taulukko 22. CRM-1964:n mittaustulokset

Näyte	Parrin happisylinteri (mg/kg)	IKA kalorimetri C6000 (mg/kg)
1	1111,1	1138,53
2	1064,06	1179,06
3	1168,42	1220,11
4	1143,6	1129,06
5	1141,39	1183,19
6	1210,32	1199,19
7	1131,05	1146,51
8	1180,62	1163,67
9	1114,06	1158,92
10	1160,91	1153,7
Keskiarvo	1142,56	1167,19
Keskihajonta	41,02	28,26

Tulokseksi saatiin $t_{\text{laskettu}} = 0,30 \leq t_{\text{kriittinen}} = 2,36$, joten H_0 :aa ei hylätä, eli tulokset eivät eroa tilastollisesti merkitsevästi 95 % luottamustasolla.

Lisäksi haluttiin selvittää, saatiinko kalorimetrillä tasalaatuisempia tuloksia kuin Parrin happisylinterillä. Keskiarvo ja keskihajonta ovat kalorimetrillä saaduilla tuloksilla parempia, mikä tukee automaation tasalaatuisuutta.

7.10 Kontaminaation tutkiminen

Näytteiden hajotuksissa käytettiin kahta eri sylinteriä, jotka molemmat olivat uusia. Tulokset eivät olleet kuitenkaan lainkaan verrattavia kahden sylinterin välillä fluoridin osalta. Korkeita fluoridipitoisuuksia antanut sylinteri täytettiin ionivaihdetulla vedellä, joka analysoitiin. Tulokseksi kuitenkin saatiin, ettei sylinterin sisältä liukene fluoridia veteen.

Halogeenihajotuksissa sylinterin täytyisi puhdistautua anioneista ionivaihdetulla vedellä huuhdeltaessa. Toinen sylinteri antoi kuitenkin korkeita fluoridipitoisuuksia kymmenien eri näytteiden ajan. On aika selittämätöntä, että sylinteri ei huuhtoutunut fluoridista analysoitavia näytteitä huuhdeltaessa. Yhtenä mahdollisena syynä voisi olla tiivisterenkaat, jotka on valmistettu Viton-muovista. Viton-muovi sisältää fluoria. Työn alkuvaiheessa toisen sylinterin tiiviste oli viallinen, joten se vaihdettiin. On mahdollista, että sinne olisi jäänyt fluorijäämiä, jota pääsi sylinteriin esimerkiksi happihuuhtelun yhteydessä.

Sulfaattikontaminaatiota selvitellessä huomattiin, että sulfaattipitoisuudet olivat korkeita näytteissä, jotka oli hajotettu CRM-1964-näytteen jälkeen. CRM-1964-näyte sisältää huomattavan paljon rikkiä, joten selvitettiin jääkö se kontaminoimaan näytteitä, joissa on vain pieniä sulfaattipitoisuuksia. CRM-1964-näytteen jälkeiselle nollanäytteelle saatiin sulfaattipitoisuudeksi 12,59 mg/l. Se on todella korkea kontaminaatiopitoisuus, kun laimennuskerroin otetaan huomioon. Tämän huomion jälkeen CRM-1964 analysoitiin aina päivän viimeisenä näytteenä, jonka jälkeen analysoitiin sylinterin pesuna yksi nollanäyte. Sylinteri täytettiin yöksi ioninvaihdetulla vedellä, jotta sulfaatti liukenisi sylinteristä pois. Lisätyt pesut paransivat sulfaatin määritystuloksia kaikkien näytteiden rinnakkaisissa tuloksissa.

8 Yhteenveto

Tässä opinnäytetyössä otettiin käyttöön uusi menetelmä näytteenkäsittelyyn. Menetelmälle suoritettiin validointi neljän eri analyysin osalta. Käytössä oli Neste Oyj:n reagenssit ja laitteisto sekä sertifioituja ja ei-sertifioituja referenssiaineita. Validoinnissa tarkasteltiin lineaarisuutta, toistettavuutta, laboratorion sisäistä uusittavuutta, oikeellisuutta, saantokokeita, spesifisyyttä ja mittausepävarmuutta sekä määritettiin toteamis- ja määritysrajat. Lisäksi menetelmää vertailtiin aiemmin käytössä olleeseen hajotusmenetelmään.

Tarkasteltavat parametrit ovat käyttökelpoisia pääosin bromidin ja kloridin osalta. Fluoridin ja sulfaatin osalta oli kontaminaatio-ongelmia, jotka vaativat vielä lisätutkimuksia. Ainoastaan lineaarisuus oli soveltuva fluoridin ja sulfaatin määrittelyssä. Happihajotuksella esikäsiteltyjen näytteiden anionien määrittely ionikromatografisesti koostuu monista vaiheista. Pientä virhettä voi ilmaantua useassa eri vaiheessa, esimerkiksi punnitsemisen,

laimentamisen, näytteen palamisen tai injektioinnin yhteydessä. Tämän vuoksi tuloksissa voidaan hyväksyä noin 10 %:n erot. Lisäksi käytössä olevat näytematriisit ovat osittain tuntemattomia, joten näytteiden homogeenisuudesta ei ole 100 %:sta varmuutta. Näytteet olivat myös haastavia käsitellä, koska osa jähmettyi heti huoneenlämpöön tuotessa.

Uutta menetelmää verratessa aiemmin käytössä olleeseen hajotusmenetelmään voidaan todeta, että uusi menetelmä antaa vähintään yhtä luotettavia tuloksia, jos huomioidaan tuloksiin vaikuttaneet kontaminaatiot. Menetelmä on turvallisempi kalorimetrillä, koska näytemäärät voidaan arvioida Δt :n perusteella ja happipaineen täyttö ja tyhjennys ovat automaattisia. Kalorimetri on myös vähemmän työllistävä automaation vuoksi. Lisäksi ergonomia on huomattavasti parempi sylinterin kierteiden ja painon vuoksi.

Menetelmää voi vielä kehittää jatkossa. Punnittavia näytemääriä voi turvallisesti nostaa, mikä pienentää laimentamiskerrointa, jolloin toteamis- ja määritysrajat laskevat. Myös ionikromatografia voi kehittää niin, että ionikromatografian osuudelle saadaan pienemmät määritysrajat, esimerkiksi miettimällä eri kolonnivaihtoehtoja. Tällöin injektioilavuutta voisi kasvattaa. Itsevalmistetut referenssinäytteet eivät anna niin luotettavia tuloksia kuin sertifioidut referenssit. On tarpeellista miettiä, voisiko sertifioidun referenssin saada kaikille analyyteille, jotka olisivat samaa pitoisuustasoa kuin näytteet. Kontaminaatioiden välttämiseksi pesuja on tarpeellista tehostaa, ja tutkia tarvitseeko näytteiden välillä tehdä nollanäytteitä, jotka myös analysoidaan. Kaupallisen referenssin CRM-1964:n käyttämisessä täytyy olla erittäin huolellinen sulfaattikontaminaation kanssa, koska se sisältää huomattavan määrän rikkiä.

Työn haasteena oli näytteiden analysointi muiden tutkimusnäytteiden yhteydessä. Analyysi on huomattavan pitkä kokonaisuudessaan. Ionikromatografi oli päällä jatkuvasti. Se sammutettiin viikoittain vain suodattimen vaihdon yhteydessä. Ionikromatografian analyysimenetelmä on useita vuosia vanha, joten olisi hyvä selvittää, onko sitä mahdollista tehdä nopeammaksi eri kolonnivaihtoehtoja tai tekniikoita käyttämällä. Analyysiaikaa lyhentämällä aikaa jää rinnakkaisten näytteiden analysointiin.

Lähteet

Analyysimenetelmien validointi. 2019. Verkkoaineisto. AEL.

<<https://www.ael.fi/koulutustarjonta/analyysimenetelmien-validointi>> Luettu 27.5.2019

Bomb Calorimeter. 2018. Verkkoaineisto. Chemistry Glossary.

<<https://glossary.periodni.com/glossary.php?en=bomb+calorimeter>> Luettu 18.4.2019

Daniel C. Harris. 2016. Quantitative chemical analysis. 9. painos. W.H. Freeman.

Alberta.

Dionex IonPac AS18 Fast. Product Manual. 2002. Verkkoaineisto. Thermo Scientific.

<<https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/manuals/man-031878-ic-dionex-ionpac-as18-fast-man031878-en.pdf>> Luettu 29.4.2019

Dionex™ NG1 Hydrophobic Organics Removal Kit. Verkkoaineisto. Thermo Fisher Scientific.

<<https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/074513>> Luettu 29.4.2019

D7359-18. 2018. ASTM International. Standard Test Method for Total Fluorine, Chlorine and Sulfur Aromatic Hydrocarbons and Their Mixtures by Oxidative Pyrohydrolytic Combustion followed by Ion Chromatography Detection (Combustion Ion Chromatography-CIC)¹.

FINAS. S33/1966. Laskuesimerkkejä mittausepävarmuuden määrittämisestä kemian laboratoriossa.

Fritz, J. S. & Gjerde, D. T. 2009. Ion Chromatography. 4. painos. Weinheim: Wiley

VCH.

History of chromatography. Verkkoaineisto.

<<http://www.umich.edu/~orgolab/Chroma/chromahis.html>> Luettu 26.4.2019

Ion Chromatography (IC). Verkkoaineisto. MEE. Materials Evaluation and Engineering

inc. <<https://www.mee-inc.com/hamm/ion-chromatography-ic/>> Luettu 10.4.2019

Jaarinen, Soili & Niiranen, Jukka. 2005. Laboratorion analyysitekniikka. 5. uudistettu painos. Helsinki: Edit Prima Oy.

Kortesharju, Jaakko. 2001. Kromatografiaa. Verkkoaineisto.
<https://www.seepia.org/html/seepia2/kromatografia/kromatografia.shtml>> Luettu 26.4.2019

Laadukkaan mittaamisen perusteet. 2011. Verkkoaineisto. VTT. Mikes, Mittatekniikan keskus. Verkkodokumentti. <<https://www.vtt.fi/inf/pdf/MIKES/2011-J4.pdf>> Luettu 15.4.2019

Oxygen Combustion Vessels. 2019. Verkkoaineisto. Parr Instrument Company.
<<https://www.parrinst.com/products/sample-preparation/oxygen-combustion-bombs/>> Luettu 23.4.2019

Pietilä Minna. 2019. Tutkija. Neste Oyj. Kilpilahti. Keskustelu 28.5.2019

Regressioanalyysi. 2008. KvantiMOTV. Verkkoaineisto.
<<https://www.fsd.uta.fi/menetelmaopetus/regressio/analyysi.html>> Luettu 27.5.2019

SFS-EN 16994. 2006. Suomen standarditoimistoliitto SFS. Solid Biofuels. Determination of Total Content of Sulfur and Chlorine.

Thermo Scientific ICS 2100. Verkkoaineisto. Conque Scientific.
<<https://conquerscientific.com/product/thermo-scientificdionex-ics-2100/>> Luettu 27.5.2019

Tietoa meistä. Juuremme. Verkkoaineisto. Neste.
<<https://www.neste.com/fi/konserni/tietoa-meist%C3%A4/juuremme>> Luettu 10.4.2019

What's Suppression in Ion Chromatography all about? Theoretical Aspects and Practical Benefits Explained. 2014. Verkkoaineisto. Methorm.
<<https://www.metrohm.com/en/company/news/news-suppression-in-ic/>> Luettu 25.4.2019

Analyysitulokset

Taulukoissa 1–7 näkyvät kaikki analyysitulokset.

Taulukko 1. Pyrolyysiöljyjen mittaustulokset (mg/kg)

Päivämäärä	Fluoridi	Kloridi	Bromidi	Sulfaatti
13.5.2019	109,69	8,73	6,86	249,28
13.5.2019	8,43	13,13	6,89	577,45
13.5.2019	173,23	14,53	7,15	259,77
13.5.2019	4,95	8,6	6,27	264,71
13.5.2019	130,1	11,28	7,21	85,06
13.5.2019	3,17	12,16	6,63	82,04
13.5.2019	3,19	16,84	6,65	110,02
13.5.2019	138,22	16,43	6,94	61,22
13.5.2019	2,67	8,32	6,43	53,88
13.5.2019	73,46	9,15	6,5	52,54
13.5.2019	46,68	8,02	6,54	50,22
13.5.2019	0,11	5,37	6,8	42,19
22.5.2019	11,53	20,31	11,4	287,92
23.5.2019	23	26,18	11,35	207,25
24.5.2019	8,87	12,46	8,77	67,38
27.5.2019	17,15	14,89	9,44	216,86
28.5.2019	6,19	15,01	9,31	69,02
29.5.2019	17,61	16,58	11,15	83,24
31.5.2019	6,55	15,38	10,53	91,89
3.6.2019	9,90	16,60	9,79	79,02

Taulukko 2. UCO näytteiden analyysitulokset (mg/kg)

Päivämäärä	Fluoridi	Kloridi	Bromidi	Sulfaatti
15.5.2019	25,12	9,89	4,04	71,15
15.5.2019	1,12	8,46	3,81	71
15.5.2019	42,59	9,12	3,9	87,34
15.5.2019	0,22	14,82	3,89	121,02
15.5.2019	42,86	11,01	3,88	92,8
15.5.2019	0,21	15,93	3,95	114,26
15.5.2019	1,05	16,5	3,88	124,46
15.5.2019	71,39	14,27	3,87	95,53
15.5.2019	0	13,25	3,81	82,85
15.5.2019	55,63	8,52	3,97	46,94
22.5.2019	5,48	12,4	4,94	77
23.5.2019	24,53	14,47	3,93	208,21
24.5.2019	2,73	18,94	4,75	246,91
27.5.2019	4,35	26,61	4,46	82,23
28.5.2019	2,41	11,82	4,16	44,83
29.5.2019	15,91	14,3	3,84	284,33
31.5.2019	4,47	11,78	0,07	316,43
3.6.2019	7,85	10,37	3,90	418,42

Taulukko 3. Eläinrasvanäytteiden analyysitulokset (mg/kg)

Päivämäärä	Fluoridi	Kloridi	Bromidi	Sulfaatti
17.5.2019	12,01	0	3,96	256,72
17.5.2019	2,73	1,98	3,86	285,65
17.5.2019	23,37	1,3	3,88	353,2
17.5.2019	0,7	0	3,8	438,23
17.5.2019	19,97	6,32	3,84	372,7
17.5.2019	0,39	2,26	3,85	426,4
17.5.2019	19,64	3,96	3,82	467,54
17.5.2019	1,23	5,97	3,94	402,38
17.5.2019	32,58	1,89	3,97	418,36
17.5.2019	0,98	2,26	3,82	431,2
22.5.2019	4,47	2,96	3,92	276,65
23.5.2019	2,06	5,98	3,73	277,56
24.5.2019	6,65	4,62	3,91	282,52
27.5.2019	3,07	2,81	4,91	266,09
28.5.2019	3,88	4,85	4,74	301,29
29.5.2019	1,06	5,11	3,95	287,79
31.5.2019	9,05	9,74	4,02	295,05
3.6.2019	1,26	5,12	4,14	287,41

Taulukko 4. Synteettisen referenssin analyysitulokset (mg/kg)

Päivämäärä	Fluoridi	Bromidi	Sulfaatti
20.5.2019	312,86	526,35	528,8
20.5.2019	327,75	502,71	412,26
20.5.2019	369,61	508,79	520,39
20.5.2019	359,49	456,69	525,37
20.5.2019	338,32	461,55	612,24
20.5.2019	333,57	454,8	481,07
20.5.2019	370,5	504,99	558,33
20.5.2019	289,72	454,43	492,01
20.5.2019	351,01	495,34	671,87
20.5.2019	358,93	460,36	494,86
22.5.2019	298,34	443,64	394,07
23.5.2019	312,34	440,71	441,79
24.5.2019	339,81	415,29	1646,67
27.5.2019	319,87	450,86	443,35
28.5.2019	327,38	440,71	410,78
29.5.2019	334,32	452,54	389,16
31.5.2019	334,57	445,46	349,38
3.6.2019	328,67	430,06	369,8

Taulukko 5. Nollanäytteiden analyysitulokset 25 millilitran tilavuudessa (mg/l)

Päivämäärä	Fluoridi	Kloridi	Bromidi	Sulfaatti
14.5.2019	0,7	0,2	0,056	1,13
14.5.2019	0	0,23	0,0546	1,04
14.5.2019	0,76	0,26	0,055	0,67
14.5.2019	0	0,19	0,054	1,28
14.5.2019	1,11	0,22	0,053	0,6
14.5.2019	0,1	0,22	0,054	0,75
14.5.2019	1,21	0,18	0,053	0,56
14.5.2019	0,05	0,19	0,055	0,67
14.5.2019	1,29	0,21	0,054	0,58
14.5.2019	0	0,19	0,054	0,77
2.5.2019	-	0,49	0,06	5,48
6.5.2019	-	0,27	0,06	3,34
8.5.2019	4,3	0,31	0,07	19,14
13.5.2019	0,71	0,25	0,05	1,97
15.5.2019	0,01	0,28	0,06	1,42
17.5.2019	0,06	0,02	0,07	1,38
20.5.2019	0,09	0,34	0,07	2,26
24.5.2019	0,13	0,29	0,07	0,86
27.5.2019	0,37	0,38	0,06	2,74
22.5.2019	0,12	0,24	0,07	1,13
23.5.2019	0,04	0,3	0,07	1,22
28.5.2019	0,13	0,24	0,06	4,84
29.5.2019	0,02	0,24	0,07	0,71
31.5.2019	0,1	0,43	0,07	1,17
3.6.2019	0,08	0,39	0,08	1,65

Taulukko 6. Nollanäytteiden analyysitulokset 50 millilitran tilavuudessa (mg/l)

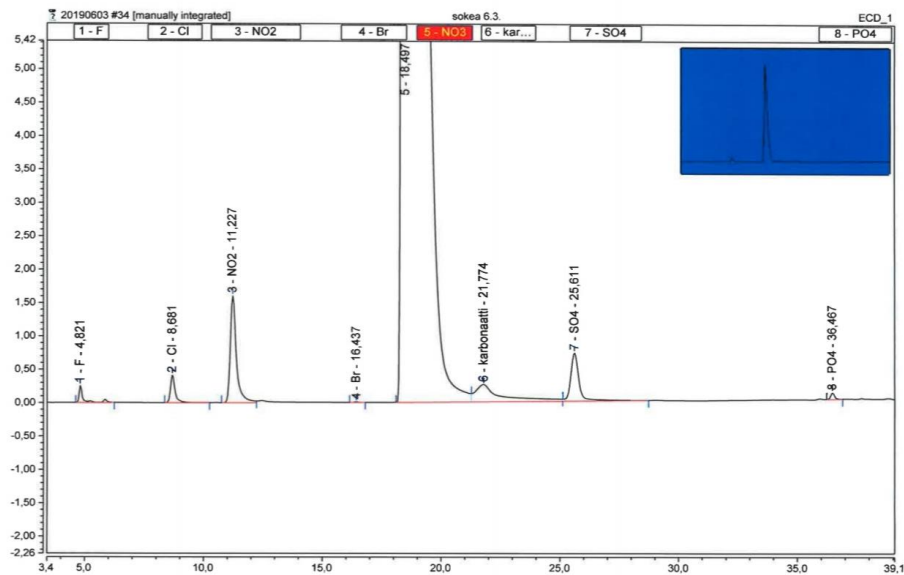
Päivämäärä	Fluoridi	Kloridi	Bromidi	Sulfaatti
16.5.2019	0	0,15	0,063	0,68
16.5.2019	0,2	0,16	0,0634	0,64
16.5.2019	0	0,13	0,064	0,73
16.5.2019	0,18	0,22	0,064	0,66
16.5.2019	0	0,12	0,063	0,44
16.5.2019	0,16	0,14	0,064	0,41
16.5.2019	0	0,15	0,065	0,6
16.5.2019	0,21	0,14	0,063	0,49
16.5.2019	0	0,12	0,063	0,47
16.5.2019	0,2	0,16	0,063	0,62

Taulukko 7. CRM-1964 näytteiden analyysitulokset (mg/kg)

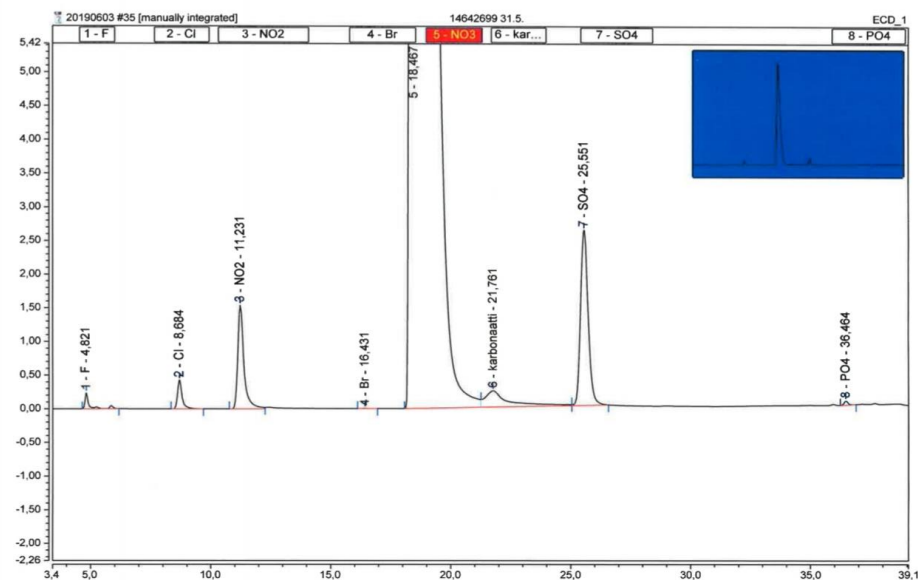
Päivämäärä	Kloridi
6.5.2019	1183,19
6.5.2019	1199,19
6.5.2019	1146,51
6.5.2019	1163,67
6.5.2019	1158,92
6.5.2019	1108,18
6.5.2019	1153,7
6.5.2019	1225,67
6.5.2019	1236,25
6.5.2019	1117,32
6.5.2019	1159,22
6.5.2019	1176,71
6.5.2019	1171,95
6.5.2019	1166,87
6.5.2019	1471,07
6.5.2019	1395,61
6.5.2019	1259,27
22.5.2019	1138,53
23.5.2019	1179,06
24.5.2019	1220,11
27.5.2019	1129,06
28.5.2019	1275,2
29.5.2019	1176,1
31.5.2019	1253,02
3.6.2019	1219,22

Näytteiden kromatogrammit

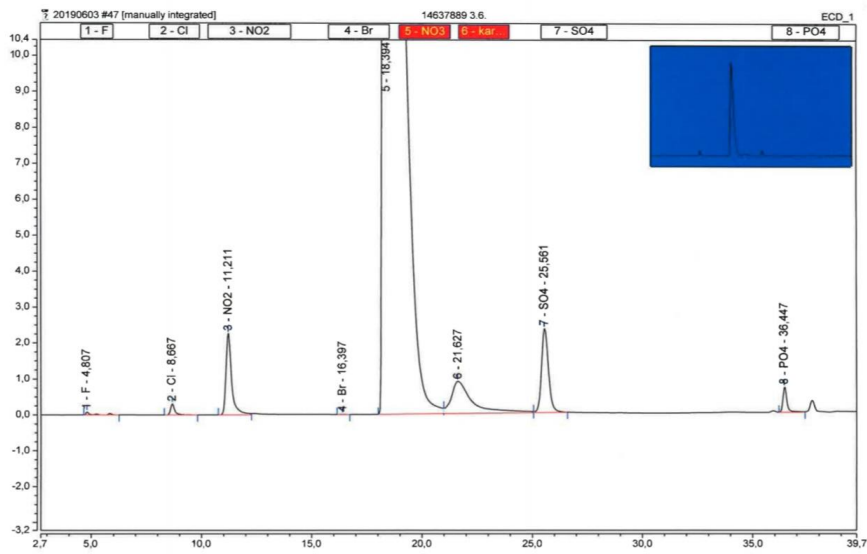
Kuvissa 17–22 näkyy esimerkit kaikkien näytteiden kromatogrammeista.



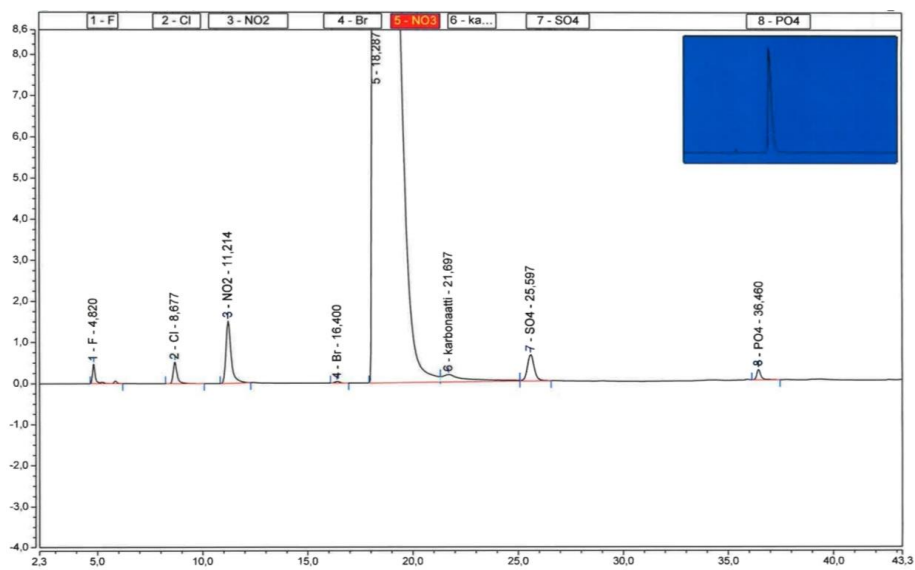
Kuva 17. Nollanäyte (25 ml)



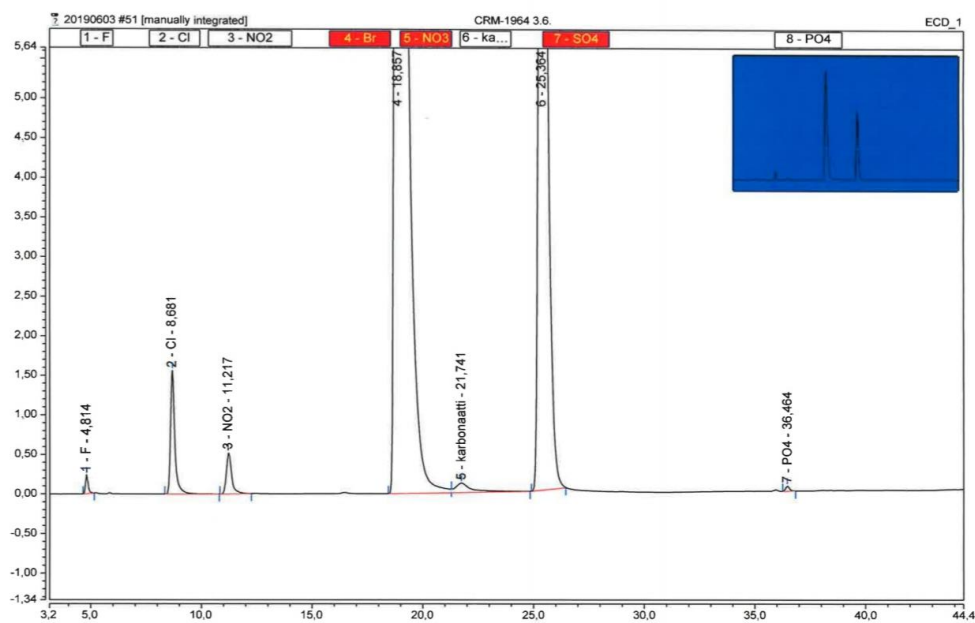
Kuva 18. Käytetty paistorasva



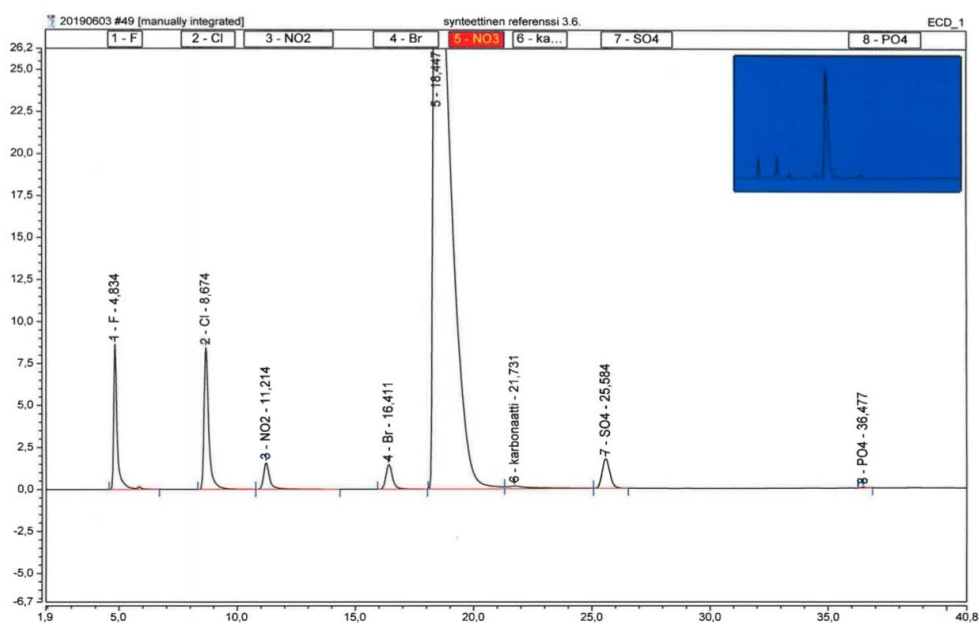
Kuva 19. Eläinrasva



Kuva 20. Pyrolyysiöljy



Kuva 21. CRM-1964



Kuva 22. Synteettinen referenssi