



Osaamista
ja oivallusta
tulevaisuuden
tekemiseen

Ira Lehtonen

Kloorifenolien kvantitatiivinen määrittäminen maa- ja sedimenttinäytteistä

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Laboratorioanalytiikka (AMK)

Laboratorioanalytiikka

Opinnäytetyö

22.10.2020

Tekijä Otsikko	Ira Lehtonen Kloorifenolien kvantitatiivinen määrittäminen maa- ja sedimenttinäytteistä
Sivumäärä Aika	33 sivua + 5 liitettä 22.10.2020
Tutkinto	laboratorioanalyttikko (AMK)
Tutkinto-ohjelma	laboratorioanalytiikka
Ohjaajat	lehtori Mia Ruismäki kemisti Timo Lukkarinen laboratoriopäällikkö Sonja Latvakoski
<p>Opinnäyte tehtiin Metropolilab Oy:n orgaanisen kemian yksikössä. Opinnäytetyön tavoitteena oli käyttöönottaa ja validoida kloorifenolien kvantitatiivinen määrittäminen maa- ja sedimenttinäytteille. Metropolilabissa oli ennestään käytössä vastaava menetelmä, joka koettiin työlääksi ja paljon reagensseja kuluttavaksi, minkä takia oli tarve kehittää uusi menetelmä.</p> <p>Menetelmää kehittäessä haasteiksi havaittiin sakan ja emulsion muodostuminen erotussuppiloon, näytteen konsentroidin menetelmä, näytteisiin epätasaisesti jakautunut analyytti sekä eri yhdisteiden yhdistyneet piikit kromatogrammissa.</p> <p>Menetelmä kehitettiin onnistuneesti analyysille sopivaksi. Määritettävät validoinnin parametrit olivat lineaarisuus, toteamis- ja määrittämissrajat, toistettavuus, uusittavuus, oikeellisuus ja mittausepävarmuus. Validoinnin tulokset täyttivät niille asetetut hyväksymiskriteerit ja menetelmän todettiin olevan luotettava ja tarkka. Laajennettu mittausepävarmuus 95 %:n luottamustasolla oli pitoisuusvälillä 0,05–0,1 mg/kg eri yhdisteillä 9–30 %, paitsi 2,3,4-trikloorifenolilla, jonka laajennettu mittausepävarmuus oli 44 %.</p> <p>Uusi menetelmä todettiin myös nopeammaksi ja vähemmän reagensseja kuluttavaksi kuin aiemmin käytössä ollut menetelmä, ja se voitiin ottaa käyttöön Metropolilabilla.</p>	
Avainsanat	kloorifenoli, kaasukromatografia-massaspektrometria, GC-MS, validointi

Author Title	Ira Lehtonen Quantitative Determination of Chlorophenols in Soil and Sediment Samples
Number of Pages Date	33 pages + 5 appendices 22 October 2020
Degree	Bachelor of Laboratory Services
Degree Programme	Laboratory Sciences
Instructors	Mia Ruismäki, Senior Lecturer Timo Lukkarinen, Chemist Sonja Latvakoski, Laboratory Manager
<p>This thesis study was performed in Metropolilab Oy's organic chemistry department. The purpose of this study was to introduce and validate a quantitative determination method for chlorophenols in soil and sediment samples. Metropolilab has a pre-existing corresponding method which was considered laborious and reagent consumptive, which is why there was a need to develop a new method.</p> <p>Challenges that were observed during the method development were: the formation of a precipitate and emulsion in a separatory funnel, the method of concentrating the sample, the uneven distribution of the analyte in samples, and the combined peaks of the various compounds in the chromatogram. The method was successfully developed to be suitable for the analysis.</p> <p>The validation parameters of determination were linearity, limit of detection and quantification, repeatability, reproducibility, accuracy, and measurement uncertainty. The results of validation met the acceptance criteria set for them and the method was found to be reliable and accurate. The expanded measurement uncertainty at the concentration range of 0.05 to 0.1 mg/kg for the various compounds was 9–30 %, except for 2,3,4-trichlorophenol, for which the expanded measurement uncertainty was 44 % at a 95 % confidence level.</p> <p>The new method was also found to be faster and to consume less reagents than the previously used method, and it could be taken into use at Metropolilab.</p>	
Keywords	chlorophenol, gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS, validation

Sisällys

Lyhenteet

1	Johdanto	1
2	Kloorifenolit	1
3	Analyysitekniikat	3
3.1	Näytteen käsittely	3
3.1.1	Sisäinen standardi	3
3.1.2	Uutto	3
3.1.3	Asetylointi	4
3.2	Kaasukromatografia-massaspektrometria	4
3.2.1	Kaasukromatografia	4
3.2.2	Massaspektrometria	6
4	Laitteet ja reagenssit	7
5	Menetelmän käyttöönotto	8
6	Validointi	12
6.1	Lineaarisuus	12
6.2	Toteamis- ja määrittämissrajat	14
6.3	Toistettavuus ja uusittavuus	15
6.4	Oikeellisuus	21
6.5	Mittausepävarmuus	25
7	Menetelmien vertailu	29
8	Yhteenveto	30
	Lähteet	32
	Liitteet	
	Liite 1. Kloorifenolien määritysmenetelmän ohje	
	Liite 2. Kloorifenolistandardien mitatut pitoisuudet	

Liite 3. Toistettavuus- ja uusittavuusnäytteiden pitoisuudet

Liite 4. Oikeellisuusnäytteiden pitoisuudet

Liite 5. Laajennetun mittausepävarmuuden näytteiden pitoisuudet ja tulokset

Lyhenteet

FINAS	Finnish Accreditation Service, Suomen kansallinen akkreditointielin
GC-MS	Gas chromatography-mass spectrometry, kaasukromatografia-massaspektrometria
RMS	Root mean square, neliöllinen keskiarvo
rpm	Rounds per minute, kierrosta minuutissa
RSD	Relative standard deviation, suhteellinen keskihajonta eli variaatiokerroin

1 Johdanto

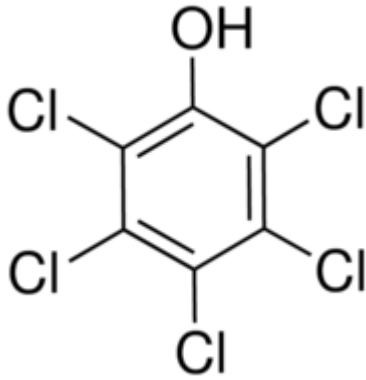
Opinnäytetyön tavoitteena oli kehittää ja validoida kloorifenolien kvantitatiivinen määrittäminen maa- ja sedimenttinäytteille. Opinnäytetyö tehtiin Metropolilab Oy:n orgaanisen kemian yksikössä haitta-aine-osastolle. Metropolilab Oy on FINAS:in akkreditoima Helsingissä sijaitseva kaupallinen laboratorio (T058, vuodesta 1996), joka tarjoaa elintarvike-, ympäristö- ja vesianalyseja.

Kloorifenolit ovat terveydelle haitallisia fenoliyhdisteitä, joissa yksi tai useampi vetyatomi on korvautunut klooriatomilla. Suomessa näitä yhdisteitä on käytetty erityisesti puutavaran sinistymisen estoon. [1, s. 217.] Metropolilabissa kloorifenoleja tutkittiin maa- ja sedimenttinäytteistä ISO 14154:2005-menetelmän mukaisesti. Menetelmä koettiin hitaaksi ja reagensseja liiallisesti kuluttavaksi, ja käyttöön haluttiin ottaa ISO/TS 17182:2014:n mukainen menetelmä. Molemmat menetelmät käyttivät näytteen analysointiin kaasukromatografi-massaspektrometriä (GC-MS). Molemmissa menetelmissä näytteen esikäsittely sisälsi kiinteä-nesteuuton, neste-nesteuuton ja asetyloinnin. Ennen analysointia näytteet konsentroidiin 0,1 ml:n tilavuuteen kromatogrammin vasteen parantamiseksi. Lisäksi näytteisiin lisättiin sisäistä standardia analyysin tarkkuuden parantamiseksi.

Menetelmän validoinnilla osoitetaan uuden menetelmän sopivuus ja suorituskky aiottuun käyttötarkoitukseen [2]. Menetelmässä validoitavia parametrejä olivat lineaarisuus, toteamis- ja määrittämissrajat, toistettavuus, uusittavuus ja mittausepävarmuus.

2 Kloorifenolit

Kloorifenolit ovat fenoleja, joiden aromaattisen renkaan vetyatomeista yksi tai useampi on korvautunut klooriatomilla. Ne ovat synteettisesti valmistettuja orgaanisia yhdisteitä, jotka havaittiin ensimmäisen kerran kivihiihtervaa kloorattaessa vuonna 1836. Kloorifenoliyhdisteitä tunnetaan 19 erilaista, jotka ovat mono-, di-, tri-, tetra- ja pentakloorifenoleja. [1, s. 271; 3, s. 2.] Kuvassa 1 on esitetty pentakloorifenolin rakennekaava.



Kuva 1. Pentakloorifenoli [4].

Teollisuudessa kloorifenoleilla on ollut merkittävä vaikutus niiden laaja-alaisen mikrobeja tuhoavan vaikutuksen takia. Niitä on käytetty esimerkiksi sienten, kasvien, hyönteisten ja levien torjunta-aineina sekä säilöntäaineena esimerkiksi puuhun, liimoihin, maaleihin ja nahkaan. Maailmanlaajuisesti 80–90 % kloorifenolien tuotannosta on käytetty maatalouden kemikaaleihin. [3, s. 1, 6.] Suomessa kloorifenoleja käytettiin eniten puun suoja- valmisteissa, joista yleisin oli tri-, tetra- ja pentakloorifenolien natriumsuoloja sisältävä Ky5-valmiste, jota käytettiin tuoreen sahatavaran sinistymisen estoon. Valmiste asetettiin käyttökieltoon vuonna 1989 sen terveyshaittojen vuoksi. [1, s. 271.] Pentakloorifenolin sekä sen suolojen ja estereiden sekä niitä yli 0,1 painoprosenttia sisältävien kemikaalien markkinoille luovuttaminen ja käyttö on kielletty Suomessa vuonna 2000 [5].

Kloorifenolit voivat imeytyä elimistöön hengitysteiden ja ihon läpi. Voimakas altistuminen aiheuttaa hengitysvaikeuksia, hikoilua, kuumetta tai vatsavaivoja. Kloorifenolien syöpävaarallisuudesta on vain rajallista näyttöä, mutta sosiaali- ja terveysministeriö on luokitellut pentakloorifenolin ja sen suolat sekä 2,4,6-trikloorifenolin syöpää aiheuttaviksi. [1, s. 272.]

3 Analyysitekniikat

3.1 Näytteen käsittely

3.1.1 Sisäinen standardi

Sisäinen standardi on yhdiste, jota lisätään jokaiseen analysoitavaan näytteeseen, standardiliuokset mukaan lukien, sama määrä. Sisäisen standardin tulee olla mahdollisimman paljon tutkittavan analyysin kaltainen, mutta kuitenkin riittävän erilainen, että sen antama vaste eroaa selvästi analyytistä. Sisäisen standardin yhdiste ei saa luonnostaan esiintyä näytteessä. [6, s. 188.]

Näytteen antamaa vastetta verrataan sisäisen standardin vasteeseen. Sisäistä standardia käytetään kvantitatiivisen analyysin tarkkuuden parantamiseksi. Sen avulla voidaan korjata satunnaisista tai systemaattisista virheistä johtuvat vääristymät. Sisäisen standardin käyttäminen on suositeltavaa, jos analyysimenetelmässä on riskinä menettää analyyttiä näytteenkäsittelyn aikana. [7, s. 109.]

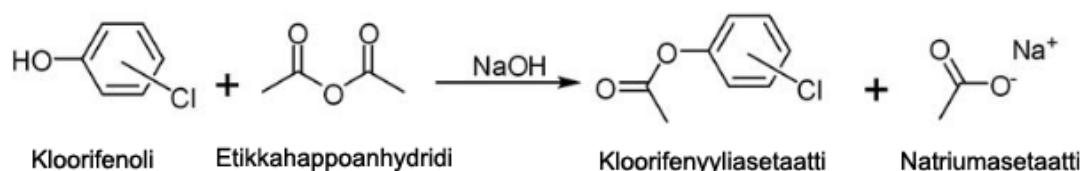
3.1.2 Uutto

Kiinteä-nesteuutto on näytteenkäsittelymenetelmä, jossa kiinteästä näyteaineesta uuteaan tutkittava analyytti liuottimen avulla. Uutossa liuotin tunkeutuu ja hajottaa kiinteää materiaalia vapauttaen samalla tutkittavan analyysin liuottimeen. Joissakin tapauksissa analyytti on jakautunut kiinteän materiaalin sisälle niin, ettei se liukene liuottimeen. Tällaisessa tapauksessa kiinteä aine murskataan ennen uuttoa, jolloin analyytti vapautuu uutettavaksi. [8, s. 502.]

Neste-nesteuutto on näytteenkäsittelymenetelmä, jossa analyytti siirtyy kahden toisiinsa sekoittumattoman nesteen, esimerkiksi veden ja heksaanin, välillä. Uutto suoritetaan esimerkiksi erotussuppilossa, joissa nesteet muodostavat kaksi selvästi toisistaan erottuvaa nestekerrosta. Analyysin vesiliukoiset komponentit siirtyvät vesikerrokseen ja heksaaniliukoiset komponentit heksaaniin. [9.]

3.1.3 Asetylointi

Derivatisointi on prosessi, jossa analysoitavan yhdisteen rakennetta muutetaan kemiallisesti niin, että muodostuu uusi yhdiste, jonka ominaisuudet ovat sopivammat johonkin tiettyyn analyysimetodiin. Yksi kaasukromatografille sopiva derivatisointimenetelmä on asetointi. Asetointireaktiossa (kuva 2) yhdisteeseen liitetään asetyyliryhmä. [10; 11.]



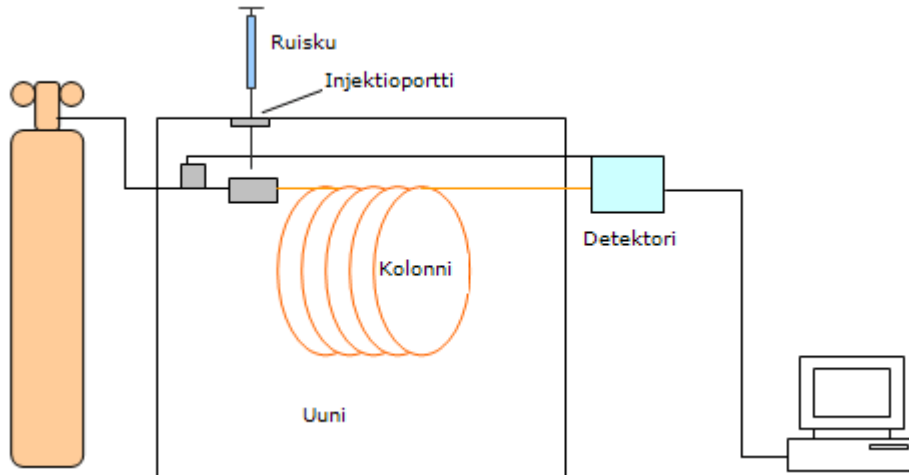
Kuva 2. Kloorifenolin asetointi etikkahappoanhydridillä natriumhydroksidin läsnä ollessa [12, s. 565].

Analyytin derivatisointi on usein tarpeellista kaasukromatografisessa analyysissä toistettavien kromatografisten tulosten saavuttamiseksi. Derivatisointi voi lisätä yhdisteiden erottumista ja retentioaikaa sekä parantaa kromatogrammin piikkien muotoa ja vasteaikaa. [10.]

3.2 Kaasukromatografia-massaspektrometria

3.2.1 Kaasukromatografia

Kaasukromatografia on haihtuvien yhdisteiden erotteluun, tunnistamiseen ja kvantitatiiviseen määrittämiseen soveltuva analyysimenetelmä. Näyte syötetään kaasukromatografian injektoriin kaasumaisessa tai nestemäisessä muodossa ja höyrystetään tarvittaessa. Liikkuvana faasina toimiva inertti kantajakaasu kuljettaa höyrystyneen näytteen kuumentetun kolonnin läpi detektoriin. Kolonnin sisäpinnalla on stationääri faasi, joka on yleensä neste. Kolonnissa näytteen komponentit liikkuvat erilaisilla nopeuksilla. Mitä alhaisempi kiehumispiste yhdisteellä on, sitä nopeammin se liikkuu kolonnissa. Lisäksi stationääri faasin ominaisuudet voivat muuttaa eluutumisjärjestystä. [13; 14, s. 183.] Kaasukromatografilaitteisto on esitetty kuvassa 3.



Kuva 3. Kaasukromatografialaitteisto [13].

Kantajakaasu voi periaatteessa olla mikä tahansa riittävän puhdas ja inertti kaasu. Puh-
tauden tulisi olla vähintään 99,995 %. Epäpuhtauksista erityisesti vesi ja happi voivat
heikentää stationäärifaasin stabiilisuutta tai detektorin toimintaa. Epäpuhtaudet poista-
taan adsorbenttipatruunoilla, jotka on asennettu kaasulinjoihin. Sopivia kantajakaasuja
ovat esimerkiksi helium, typpi ja vety, joista helium on yleisimmin käytetty. [6, s. 156; 14,
s. 184.]

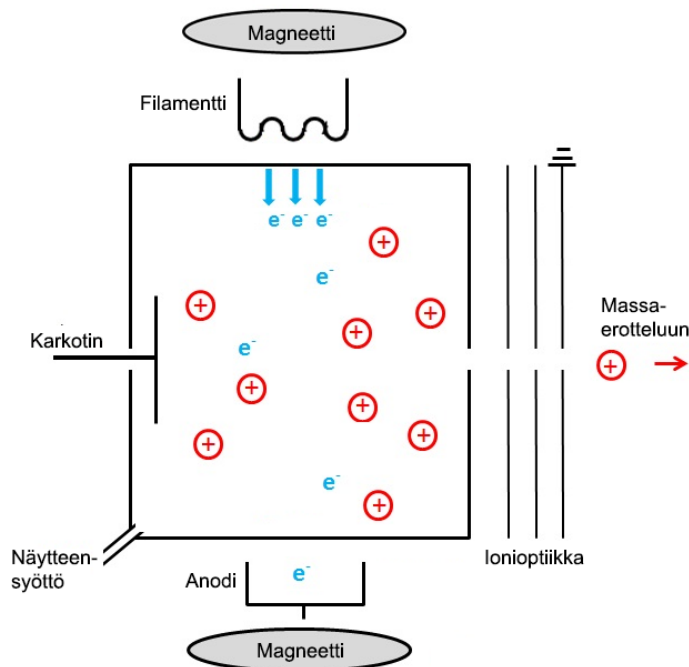
Kaasukromatografiassa käytetään tavallisesti synteettisestä piioksidista valmistettuja
kapillaarikolonneja, joiden ulkopinta päällystetään polyimidillä sen kestävyuden paranta-
miseksi. Kolonnien pituudet ovat 15–30 metriä ja sisähalkaisijat 0,2–0,7 mm. Kolonnin
sisäpinnalla on 0,1–1 µm:n paksuinen kerros stationäärifaasia. Stationäärifaasi on inertti
neste, joka kestää hajoamatta ja höyrystymättä korkeita lämpötiloja, eikä sen tule siirtyä
kantajakaasun mukana. Stationäärifaasit ovat polymeerejä, joista yleisimmin käytetyt
ovat polysiloksaanit, polyfenolieetterit ja polyetyleeniglykolit. [6, s. 156; 14, s. 190–191.]

Kolonnia valittaessa on huomioitava, että kolonnin pituus on verrannollinen analyysiai-
kaan ja resoluutioon. Kolonnin pituuden vaikutus yhdisteiden retentioaikaan on kuitenkin
pieni lämpötilaohjelmaa käytettäessä, joten yleensä kannattaa käyttää mahdollisimman
lyhyttä kolonnia nopean analyysin saavuttamiseksi. Resoluution parantamiseksi voidaan
käyttää esimerkiksi kapeampaa kolonnia. [6, s. 158.]

3.2.2 Massaspektrometria

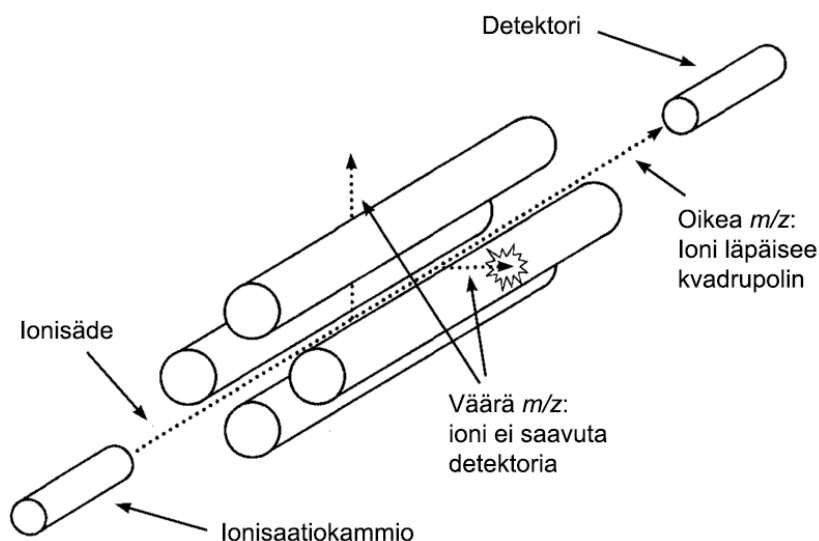
Yhdisteiden analysoinnin ja identifioinnin varmistamiseksi kaasukromatografi voidaan liittää massaspektrometriin. Massaspektrometria on analyysimenetelmä, jolla tutkitaan atomien, molekyylien tai niiden osien massaa. Massaspektrometrin saamiseksi kaasukromatografilta saapuvat aineet ionisoidaan, ionit kiihdytetään sähkökentässä ja erotetaan niiden massa-varaus-suhteen (m/z) perusteella. [7, s. 502.]

Yleisin massaspektrometriassa käytettävistä ionisaatiotekniikoista on elektroni-ionisaatio (kuva 4). Analyyytti johdetaan kaasumaisessa muodossa kaasukromatografिन kolonnilta ionisaatiokammioon. Filamenttilankaa kuumentamalla saadaan aikaan tunnetun energian ja intensiteetin omaavia elektroneja, jotka kulkeutuvat kohti vastapäätä olevaa anodia. Analyyttimolekyylit kulkevat elektronisuihkun läpi, jolloin elektronit törmäilevät siihen ja analyyytti menettää elektronin muodostaen molekyyli-ionin M^+ . Syntyneeseen molekyyli-ioniin jää ylimääräistä energiaa, minkä seurauksena sen sidokset voivat katketa muodostaen positiivisesti varautuneen sekä neutraalin massafragmentin. Nämä fragmentit voivat hajota edelleen pienemmiksi osiksi, jos niillä on tarpeeksi energiaa. [6, s. 54–55; 14, s. 124.]



Kuva 4. Elektroni-ionisaatiokammio [15].

Erityisesti kaasukromatografiassa yleisesti käytetty massa-analysointilaitte on kvadrupolimassaspektrometri (kuva 5). Se koostuu neljästä yhdensuuntaisesta metallisauvasta, joista vastakkaiset on kytketty sähköisesti toisiinsa. Sauvoihin kohdistuu tasajännite ja radiotaajuudella muuttuva vaihtojännite. [7, s. 513; 14, s. 125–126.]



Kuva 5. Kvadrupolimassaspektrometri [16].

Värähtelevä sähkökenttä saa ionit kulkeutumaan kvadrupolin läpi kohti detektoria. Tasa- ja vaihtojännitteiden perusteella tietyn m/z -suhteen ionit lentävät kvadrupolin läpi muiden ionien törmätessä sauvoihin. Kevyet ionit kulkeutuvat detektorille pienillä jännitteillä ja raskaat ionit suurilla jännitteillä. [14, s.125–126.]

4 Laitteet ja reagenssit

Validoinnissa käytetyt laitteet olivat tarkkuudeltaan menetelmään sopivat. Käytetyt reagenssit olivat laadultaan analyysipuhtaita.

Työssä käytetyt laitteet:

- Agilent 7890B -kaasukromatografi
- Agilent 7010B -kolmoiskvadrupoli
- Agilent 7693A -automaattinen näytteensyöttäjä

- Eppendorf Multipette ® stream -elektroninen annostelija
- TurboVap ® II -typpihaidutinlaitteisto.

Työssä käytetyt reagenssit:

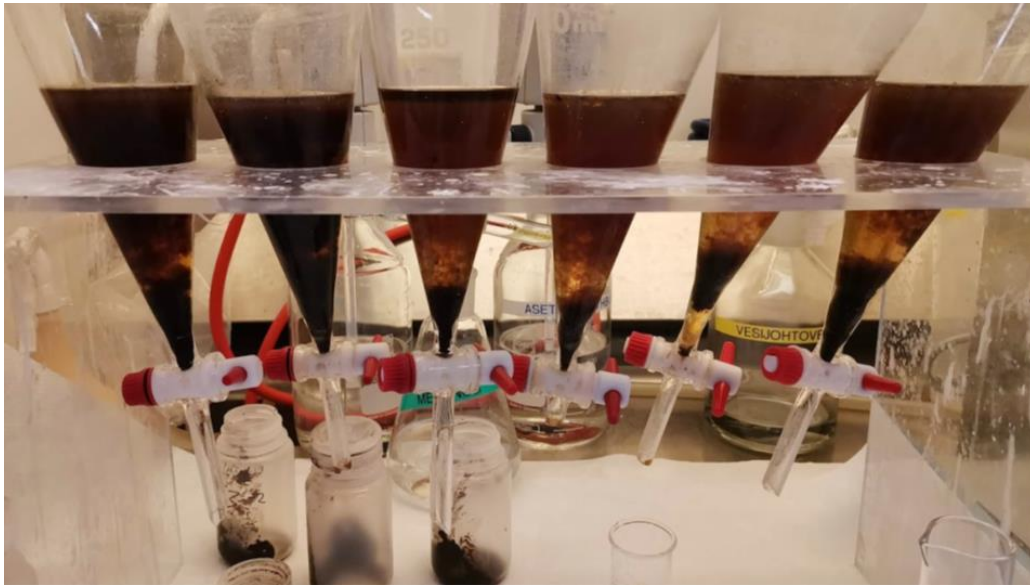
- etikkahappoanhydridi (CH₃CO₂)₂O kidevedetön, 98,5 %, Emsure
- heksaani, C₆H₁₄, 97 %, Chromasolv
- 0,1 M kaliumkarbonaattiliuos, K₂CO₃, 99 %, Emsure
- metanoli, CH₃OH, 99,9 %, Chromasolv
- 0,5 M natriumhydroksidiliuos, NaOH, 99 % Emsure
- natriumsulfaatti, Na₂SO₄ kidevedetön, Merck 6649
- suolahappo, HCl, 37 %
- Phenol Mix 10, 50 ng/ul, Dr. Ehrenstorfer
- 2,4,6-tribromofenoli, TBrF (sisäinen standardi), 10 ng/ul Dr. Ehrensdorfer
- typpikaasu (5.0)
- puhdas vesi.

5 Menetelmän käyttöönotto

MetropoliLabissa aiemmin käytössä ollut kloorifenolien kvantitatiivinen määrittäminen pohjautui standardiin ISO 14154:2005 Soil quality – Determination of some selected chlorophenols – Gas-chromatographic method with electron-capture detection. Menetelmä koettiin työlääksi ja se kulutti paljon reagensseja. Lisäksi tiskin määrä oli merkittävä. Uusi käyttöönotettava menetelmä pohjautui standardiin ISO/TS 17182:2014 Soil quality – Determination of some selected phenols and chlorophenols – Gas chromatographic method with mass spectrometric detection. Käyttöönotetun menetelmän suoritusohje on esitetty liitteessä 1.

Uutta menetelmää kehitettiin ennen kuin sitä voitiin validoida ja käyttöönottaa. Aiemmin käytössä olleessa menetelmässä kiinteä-nesteuutossa muodostunut uute siirrettiin kokonaisuudessaan erotussuppiloon neste-nesteuuttoa varten. Uudessa menetelmässä oli tavoitteena vastaavasti siirtää uute kokonaisuudessaan kiinteä-nesteuutosta erotussuppiloon, jolloin analysointivaiheessa saataisiin suurempi vaste. Tämä ei kuitenkaan

ollut mahdollista, sillä uute muodosti merkittävän sakan erotussuppilossa [kuva 6]. Sakka tukki erotussuppilon hanan ja esti kerroksia erottumasta toisistaan.



Kuva 6. Näytteen muodostamaa sakkaa erotussuppilossa.

Sakan muodostuminen estettiin siirtämällä kiinteä-nesteuuton jälkeinen uute 50 ml:n sentrifugiputkeen ja sentrifugoimalla sitä 3000 rpm 5 minuuttia, minkä jälkeen sitä pipetoitiin 10 ml erotussuppiloon neste-nesteuuttoa varten.

Toinen menetelmän haaste oli maanäytteiden aiheuttama emulsio neste-nesteuuton aikana. Analysointi suoritetaan uuton jälkeen heksaanista kaasukromatografilla, joten on tärkeää, ettei siihen ole jäänyt emulsiosta aiheutuvaa kosteutta. Emulsio heksaanikerroksessa on esitetty kuvassa 7.



Kuva 7. Emulsio ylemmässä heksaanikerroksessa erotussuppilossa.

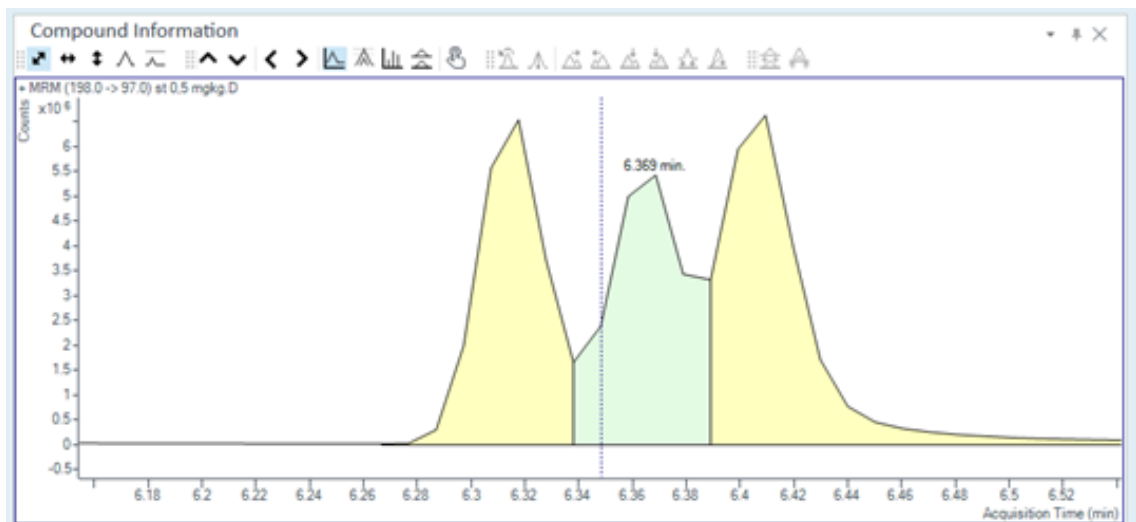
Emulsion hajottamiseen kokeiltiin etanolia, joka hajotti emulsion erinomaisesti. Etanolin molekulaarinen rakenne kuitenkin vaikeutti sen käyttöä menetelmässä. Etanolin hydroksiryhmä on poolinen, mutta sen etyyliiryhmä pooliton, minkä seurauksena se kykenee sekoittumaan sekä vesi- että heksaanikerrokseen [17]. Analyysivaiheessa etanolia ei saa olla sekoittuneena heksaaniin.

Emulsion muodostuminen estettiin siirtämällä emulsio kokonaisuudessaan 15 ml:n sentrifugiputkeen ja sentrifugoimalla sitä 3000 rpm 5 minuuttia, minkä jälkeen emulsio oli erottunut heksaanista erilliseksi kerrokseksi. Heksaaniliuos kerättiin sen jälkeen puhtaaseen 15 ml:n sentrifugiputkeen, jossa se kuivattiin kidevedettömällä natriumsulfaatilla.

Aiemmin käytössä olleessa menetelmässä näytteet konsentroidiin 0,1 ml:n tilavuuteen ennen analysointia vasteen parantamiseksi. Uudessa menetelmässä näyte haluttiin vastaavasti konsentroida. Aiemmassa menetelmässä tämä tehtiin haihduttamalla näytettä typpellä 15 ml:n sentrifugiputkessa. Uudella menetelmällä haihdutettavan liuoksen määrä oli kaksinkertainen, eikä sama haihdutustapa ollut ideaalinen ajankäytön kannalta. Näytettä päädyttiin haihduttamaan TurboVap II -tyypihaihdutinlaitteistolla 0,5 ml:n tilavuuteen ja sen jälkeen näytepullossa 0,1 ml:n tilavuuteen.

Lisäksi uudessa menetelmässä havaittiin kaksi haastetta, jotka oli havaittu jo aiemmin käytössä olleessa menetelmässä. Yksi haaste oli näytteen esikäsittelyssä. Jos tutkittava näyte oli peräisin maaperästä, oli mahdollista, että siinä olevat kloorifenolijäämät eivät olleet jakautuneet tasaisesti. Tällöin rinnakkaisissa näytteissä pitoisuudet saattoivat vaihdella merkittävästi. Tämä voitaisiin ratkaista esimerkiksi murskaamalla maanäyte hyvin hienoksi jauheeksi.

Toinen haaste oli tulosten käsittelyssä. Tulosten käsittelyyn käytetty Agilent MassHunter-ohjelma integroi kromatogrammin piikit itse, mutta osa yhdisteistä ei erottunut kromatografissa täysin toisistaan. Ohjelma saattoi integroida eri näytteille piikit eri tavalla tai yhdistää useamman piikin yhdeksi. Näytteet vaativat usein manuaalista integrointia, mikä voi vaikuttaa tuloksiin, sillä manuaalinen integrointi voi erota merkittävästi automaattisesti integroinnista. Kuvassa 8 on esitetty 2,3,5-, 2,3,4- ja 2,3,6-trikloorifenolien integroidut piikit kromatogrammissa.



Kuva 8. Kromatogrammi Agilent MassHunter-ohjelmassa 2,3,5-, 2,3,4- ja 2,3,6-trikloorifenoleille.

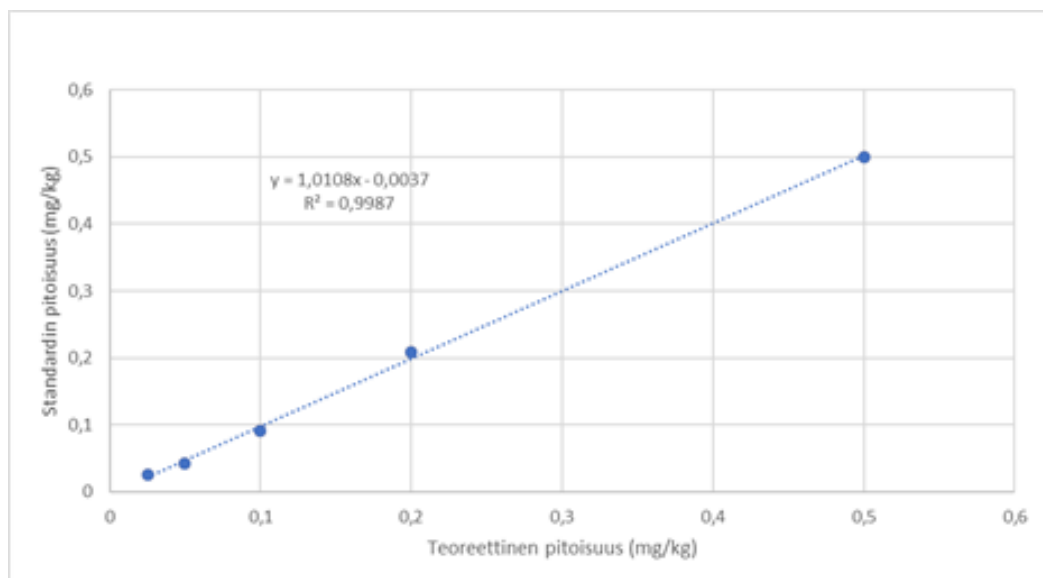
Yhdistyneet piikit kromatogrammissa oli 3- ja 4-kloorifenoleilla, 2,3,5,6- ja 2,3,4,5-tetra-kloorifenoleilla sekä 2,3,5-, 2,3,4- ja 2,3,6-trikloorifenoleilla. Yhdistyneet piikit ovat olleet haaste jo aiemmassa menetelmässä, joten sitä ei yritetty ratkaista uudessa käyttöön-otettavassa menetelmässä.

6 Validointi

6.1 Lineaarisuus

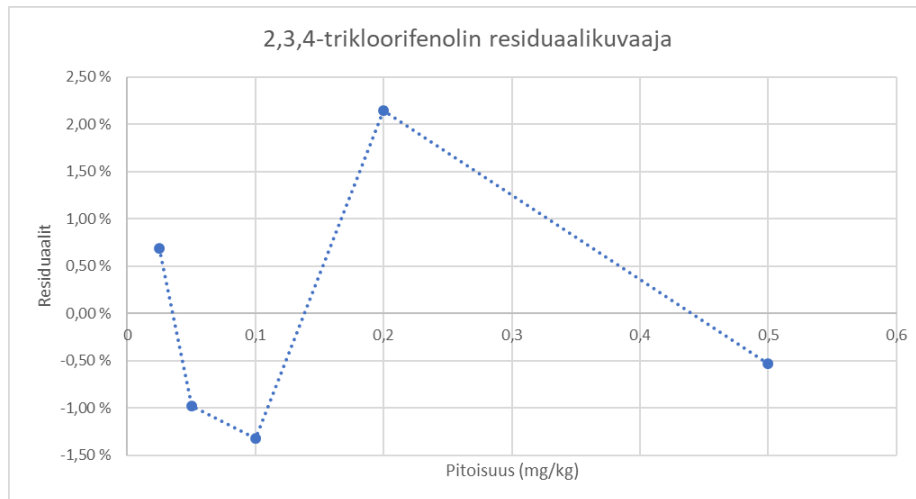
Lineaarisuuden arvioinnissa pyritään selvittämään se mittausalueen pitoisuusalue, jossa standardisuora täyttää lineaarisuuden ehdot. Ensisijaisesti pyritään käyttämään ensimmäisen asteen yhtälöä standardisuoran sovittamisessa. Mikäli se ei sovellu pistejoukkoon, sitä voidaan sovittaa toisen tai korkeamman asteen yhtälöön. [18, s. 16–17.]

Kloorifenolistandardien mitatut pitoisuudet on ilmoitettu liitteessä 2. Kuvassa 9 on esitetty 2,3,4-trikloorifenolistandardipisteiden suora.



Kuva 9. 2,3,4-trikloorifenolin standardisuora.

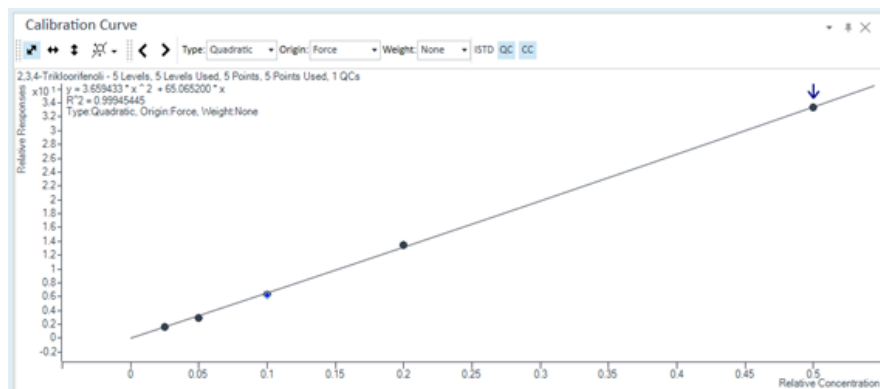
2,3,4-trikloorifenolin standardisuorasta havaitaan, että sen selitysaste R^2 on 0,9987, jota voidaan pitää hyvänä. Standardipisteiden tulisi sijoittua satunnaisesti suoran nollatason molemmiin puolin, jotta ensimmäisen asteen yhtälö olisi suoralle sopiva. Kuvassa 10 on esitetty 2,3,4-trikloorifenolin residuaalikuvaaja.



Kuva 10. 2,3,4-trikloorifenolin standardisuoran residuaalikuvaaja.

Residuaalikuvaajasta havaitaan, että 2,3,4-trikloorifenolistandardisuoran pisteet osuvat satunnaisesti nollatason molemmille puolille eikä selvää käyrää ole havaittavissa. Suoran voidaan todeta olevan lineaarinen.

MetropoliLabissa tulosten käsittelyssä käytettävä Agilentin MassHunter-ohjelma luo standardipisteistä automaattisesti suoran. MassHunter-ohjelman luoma suora on esitetty kuvassa 11.



Kuva 11. Agilent MassHunter-ohjelmalla luotu standardisuora 2,3,4-trikloorifenolille.

Kloorifenoliyhdisteiden standardisuorien lineaarisuutta ei ole tämän validoinnin kannalta oleellista tutkia enempää. MassHunter-ohjelma on MetropoliLabissa asetettu sovittamaan suora automaattisesti toisen asteen yhtälöön eli ns. epälineaariseen suoraan.

6.2 Toteamis- ja määrittysrajat

Toteamisraja (limit of detection, LOD) on pienin pitoisuus, jolla voidaan luotettavasti todeta, onko näytteessä tutkittavaa yhdistettä vai ei. Pitoisuuden on erottava nollanäytteestä merkittävästi. [18, s. 29]

Määrittysraja (limit of quantification, LOQ) on pienin pitoisuus, joka voidaan määrittää hyväksyttävällä tarkkuudella ja täsmällisyydellä. Tällöin voidaan 95 %:n todennäköisyydellä sanoa, että näytteessä oleva pitoisuus poikkeaa merkittävästi nolasta. [18, s. 29]

MetropoliLabissa määrittysraja lasketaan kaavalla 1:

$$LOQ = \bar{x} + 6s \quad (1)$$

jossa \bar{x} on näytteiden keskiarvo

s on keskihajonta.

Toteamisraja lasketaan kaavalla 2:

$$LOD = \bar{x} + 3s \quad (2)$$

Määrittys- ja toteamisraja laskettiin näytteestä, johon oli lisätty pieni pitoisuus tutkittavia analyyttejä. Tulosten laskemiseen käytettiin MetropoliLabin omaa laskentakaaviota, jonka tulokset on esitetty taulukossa 1.

Taulukko 1. Kloorifenolien toteamis- ja määrittäysrajat sekä aiemmin käytössä olleen menetelmän määrittäysrajat.

	Toteamisraja (mg/kg)	Määrittäysraja (mg/kg)	Aiempi menetelmä
			Määrittäysraja (mg/kg)
2-kloorifenoli	0,01	0,03	0,06
3-kloorifenoli	0,02	0,04	0,04
4-kloorifenoli	0,02	0,03	0,04
2,6-dikloorifenoli	0,01	0,02	0,05
3,5-dikloorifenoli	0,01	0,03	0,06
2,4- ja 2,5-dikloorifenoli	0,01	0,02	0,03
2,3-dikloorifenoli	0,01	0,03	0,06
3,4-dikloorifenoli	0,02	0,03	0,03
2,3,5-trikloorifenoli	0,01	0,02	0,06
2,3,4-trikloorifenoli	0,02	0,04	0,06
2,3,6-trikloorifenoli	0,02	0,03	0,05
3,4,5-trikloorifenoli	0,01	0,02	0,04
Pentakloorifenoli	0,02	0,03	0,06
2,3,5,6-tetrakloorifenoli	0,01	0,02	0,09
2,3,4,5-tetrakloorifenoli	0,02	0,03	0,05
2,3,4,6-tetrakloorifenoli	0,02	0,03	
2,4,5-trikloorifenoli	0,02	0,03	0,03
2,4,6-trikloorifenoli	0,01	0,02	0,11

Aiemmin käytössä olleessa menetelmässä 2,3,4,5- ja 2,3,4,6-tetrakloorifenolit oli validoitu yhdessä. Taulukosta havaitaan, että kaikkien kloorifenoliyhdisteiden määrittäysrajat ovat uudessa menetelmässä joko aiempaa paremmat tai samanarvoiset.

Määrittäysraja on toteamisrajaa merkittävämpi tekijä Metropolilabissa, sillä sen avulla ilmoitetaan asiakkaalle pienin mahdollinen pitoisuus, joka näytteestä voidaan luotettavasti mitata.

6.3 Toistettavuus ja uusittavuus

Toistettavuudella tarkoitetaan mittaustulosten samankaltaisuutta, kun mittaukset tehdään samoissa olosuhteissa, samoilla laitteilla ja henkilöstöllä lyhyen aikavälin sisällä. Uusittavuudella tarkoitetaan mittaustulosten samankaltaisuutta, kun yksittäiset mittaukset suoritetaan joko eri aikana, eri laitteella tai ne tekee eri henkilö. [18, s. 40.]

Menetelmän toistettavuus ja uusittavuus lasketaan variaatiokerroimen RSD kaavalla 3:

$$RSD = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100\% \quad (3)$$

Toistettavuuden ja uusittavuuden laskuihin käytettyjen näytteiden pitoisuudet on esitetty liitteessä 3. Kahdesta pitoisuudesta, 0,05 ja 0,1 mg/kg, tehtiin kahtena eri päivänä rinnakkaiset mittaukset.

Taulukossa 2 on ensimmäisenä päivänä analysoitujen 12 rinnakkaisen 0,05 mg/kg -lisäysnäytteen laskettu toistettavuus. Hyväksyttävässä toistettavuustuloksessa variaatiokerroin on alle 20 %.

Taulukko 2. Ensimmäisen päivän 0,05 mg/kg -lisäysnäytteiden (12 kpl) keskiarvo, keskihajonta ja variaatiokerroin (RSD).

	\bar{x}	s	RSD (%)
2-kloorifenoli	0,05	0,003	6,558
3-kloorifenoli	0,04	0,007	16,19
4-kloorifenoli	0,05	0,004	8,493
2,6-dikloorifenoli	0,05	0,003	5,798
3,5-dikloorifenoli	0,05	0,004	9,360
2,4- ja 2,5-dikloorifenoli	0,05	0,003	5,627
2,3-dikloorifenoli	0,05	0,005	9,829
3,4-dikloorifenoli	0,05	0,004	8,721
2,3,5-trikloorifenoli	0,05	0,003	5,443
2,3,4-trikloorifenoli	0,06	0,006	10,20
2,3,6-trikloorifenoli	0,05	0,005	11,09
3,4,5-trikloorifenoli	0,05	0,003	4,972
Pentakloorifenoli	0,05	0,002	3,107
2,3,5,6-tetrakloorifenoli	0,05	0,002	4,099
2,3,4,5-tetrakloorifenoli	0,05	0,002	4,651
2,3,4,6-tetrakloorifenoli	0,05	0,002	4,022
2,4,5-trikloorifenoli	0,05	0,002	4,616
2,4,6-trikloorifenoli	0,05	0,003	6,241

Taulukosta havaitaan, että kaikkien kloorifenoliyhdisteiden variaatiokerroin on alle 20 %. 3-kloorifenoli, 2,3,4- ja 2,3,6-trikloorifenoleissa havaitaan muita korkeampia variaatiokerroimia. Nämä yhdisteet esiintyivät kromatogrammissa toisten yhdisteiden kanssa

yhteisinä piikkeinä, joten piikkien manuaalinen integrointi voi selittää variaatiokertoimen suuruutta.

Taulukossa 3 on esitetty toisena päivänä analysoitujen 8 rinnakkaisen 0,05 mg/kg -lisäysnäytteen laskettu toistettavuus.

Taulukko 3. Toisen päivän 0,05 mg/kg -lisäysnäytteiden (8 kpl) keskiarvo, keskihajonta ja variaatiokerroin (RSD).

	\bar{x}	s	RSD (%)
2-kloorifenoli	0,05	0,001	2,329
3-kloorifenoli	0,05	0,004	7,641
4-kloorifenoli	0,05	0,002	4,474
2,6-dikloorifenoli	0,05	0,001	3,000
3,5-dikloorifenoli	0,05	0,004	7,165
2,4- ja 2,5-dikloorifenoli	0,05	0,002	3,840
2,3-dikloorifenoli	0,05	0,002	4,642
3,4-dikloorifenoli	0,05	0,002	4,046
2,3,5-trikloorifenoli	0,05	0,002	4,029
2,3,4-trikloorifenoli	0,05	0,003	6,277
2,3,6-trikloorifenoli	0,05	0,002	4,888
3,4,5-trikloorifenoli	0,05	0,002	3,260
Pentakloorifenoli	0,05	0,001	1,912
2,3,5,6-tetrakloorifenoli	0,05	0,002	3,891
2,3,4,5-tetrakloorifenoli	0,05	0,001	2,901
2,3,4,6-tetrakloorifenoli	0,05	0,001	2,283
2,4,5-trikloorifenoli	0,05	0,002	3,929
2,4,6-trikloorifenoli	0,05	0,002	3,241

Taulukosta havaitaan, että toisena päivänä kaikkien kloorifenoliyhdisteiden variaatiokerroin on merkittävästi alle 20 %. Tulokset vahvistavat sitä, että manuaalinen integrointi voi vaikuttaa tulosten toistettavuuteen.

Taulukossa 4 on esitetty ensimmäisenä päivänä analysoitujen 12 rinnakkaisen 0,1 mg/kg -lisäysnäytteen laskettu toistettavuus.

Taulukko 4. Ensimmäisen päivän 0,1 mg/kg -lisäysnäytteiden (12 kpl) keskiarvo, keskihajonta ja variaatiokerroin (RSD).

	\bar{x}	s	RSD (%)
2-kloorifenoli	0,1	0,004	4,346
3-kloorifenoli	0,1	0,005	4,924
4-kloorifenoli	0,1	0,004	4,707
2,6-dikloorifenoli	0,1	0,004	3,740
3,5-dikloorifenoli	0,1	0,005	5,286
2,4- ja 2,5-dikloorifenoli	0,1	0,003	3,468
2,3-dikloorifenoli	0,1	0,004	4,801
3,4-dikloorifenoli	0,1	0,003	3,463
2,3,5-trikloorifenoli	0,1	0,003	2,813
2,3,4-trikloorifenoli	0,1	0,003	2,536
2,3,6-trikloorifenoli	0,1	0,003	2,777
3,4,5-trikloorifenoli	0,1	0,003	3,179
Pentakloorifenoli	0,1	0,002	1,815
2,3,5,6-tetrakloorifenoli	0,1	0,001	1,449
2,3,4,5-tetrakloorifenoli	0,1	0,002	1,898
2,3,4,6-tetrakloorifenoli	0,1	0,002	1,898
2,4,5-trikloorifenoli	0,1	0,002	2,321
2,4,6-trikloorifenoli	0,1	0,003	3,145

Taulukosta havaitaan, että kaikkien kloorifenoliyhdisteiden variaatiokerroin on merkittävästi alle 20 %. Suuremmissa pitoisuuksissa kloorifenoliyhdisteiden vaste kromatogrammissa on suurempi, jolloin manuaalinen integrointi ei vaikuta tuloksiin yhtä voimakkaasti.

Taulukossa 5 on esitetty toisena päivänä analysoitujen 4 rinnakkaisen 0,1 mg/kg -lisäysnäytteen laskettu toistettavuus.

Taulukko 5. Toisen päivän 0,1 mg/kg -lisäysnäytteiden (4 kpl) keskiarvo, keskihajonta ja variaatiokerroin (RSD).

	\bar{x}	s	RSD (%)
2-kloorifenoli	0,1	0,004	4,043
3-kloorifenoli	0,1	0,008	7,391
4-kloorifenoli	0,1	0,004	4,093
2,6-dikloorifenoli	0,1	0,004	3,741
3,5-dikloorifenoli	0,1	0,004	3,691
2,4- ja 2,5-dikloorifenoli	0,1	0,007	6,780
2,3-dikloorifenoli	0,1	0,004	3,766
3,4-dikloorifenoli	0,1	0,005	4,830
2,3,5-trikloorifenoli	0,1	0,010	9,297
2,3,4-trikloorifenoli	0,1	0,002	2,491
2,3,6-trikloorifenoli	0,1	0,005	4,765
3,4,5-trikloorifenoli	0,1	0,007	6,467
Pentakloorifenoli	0,1	0,008	7,344
2,3,5,6-tetrakloorifenoli	0,1	0,005	4,738
2,3,4,5-tetrakloorifenoli	0,1	0,004	4,066
2,3,4,6-tetrakloorifenoli	0,1	0,010	8,982
2,4,5-trikloorifenoli	0,1	0,009	8,302
2,4,6-trikloorifenoli	0,1	0,005	5,247

Taulukosta havaitaan, että toisena päivänä kaikkien kloorifenoliyhdisteiden variaatiokerroin on merkittävästi alle 20 %. Tuloksista voi päätellä, että menetelmä on toistettava molemmilla pitoisuustasoilla.

Taulukossa 6 on esitetty 0,05 mg/kg -lisäysnäytteiden toistettavuustuloksista laskettu uusittavuus. Hyväksyttävässä uusittavuustuloksessa variaatiokerroin on alle 20 %.

Taulukko 6. Pitoisuuden 0,05 mg/kg toistettavuustuloksien keskiarvo, keskihajonta ja variaatiokerroin (RSD).

	\bar{x}	s	RSD (%)
2-kloorifenoli	0,05	0,002	4,430
3-kloorifenoli	0,05	0,007	15,32
4-kloorifenoli	0,05	0,003	6,080
2,6-dikloorifenoli	0,05	0,000	0,359
3,5-dikloorifenoli	0,05	0,003	6,295
2,4- ja 2,5-dikloorifenoli	0,05	0,001	2,125
2,3-dikloorifenoli	0,05	0,002	4,316
3,4-dikloorifenoli	0,05	0,001	1,603
2,3,5-trikloorifenoli	0,05	0,001	2,747
2,3,4-trikloorifenoli	0,05	0,008	15,08
2,3,6-trikloorifenoli	0,05	0,002	4,288
3,4,5-trikloorifenoli	0,05	0,002	3,666
Pentakloorifenoli	0,05	0,003	6,813
2,3,5,6-tetrakloorifenoli	0,05	0,002	3,941
2,3,4,5-tetrakloorifenoli	0,05	0,004	8,345
2,3,4,6-tetrakloorifenoli	0,05	0,003	6,630
2,4,5-trikloorifenoli	0,05	0,002	4,688
2,4,6-trikloorifenoli	0,05	0,001	1,801

Taulukosta havaitaan, että kaikkien kloorifenoliyhdisteiden variaatiokerroin on alle 20 %. 3-kloorifenolilla ja 2,3,4-trikloorifenolilla on muita yhdisteitä suurempi variaatiokerroin, minkä pääteltiin johtuvan manuaalisesti integroinnista.

Taulukossa 7 on esitetty 0,1 mg/kg -lisäysnäytteiden toistettavuustuloksista laskettu uussittavuus.

Taulukko 7. Pitoisuuden 0,1 mg/kg toistettavuustuloksien keskiarvo, keskihajonta ja variaatiokerroin (RSD).

	\bar{x}	s	RSD (%)
2-kloorifenoli	0,1	0,002	2,278
3-kloorifenoli	0,1	0,005	4,547
4-kloorifenoli	0,1	0,006	6,117
2,6-dikloorifenoli	0,1	0,003	3,138
3,5-dikloorifenoli	0,1	0,002	1,638
2,4- ja 2,5-dikloorifenoli	0,1	0,005	5,170
2,3-dikloorifenoli	0,1	0,004	4,135
3,4-dikloorifenoli	0,1	0,003	2,934
2,3,5-trikloorifenoli	0,1	0,008	7,976
2,3,4-trikloorifenoli	0,1	0,002	2,508
2,3,6-trikloorifenoli	0,1	0,002	2,527
3,4,5-trikloorifenoli	0,1	0,002	1,933
Pentakloorifenoli	0,1	0,000	0,076
2,3,5,6-tetrakloorifenoli	0,1	0,001	1,371
2,3,4,5-tetrakloorifenoli	0,1	0,001	1,392
2,3,4,6-tetrakloorifenoli	0,1	0,003	3,253
2,4,5-trikloorifenoli	0,1	0,005	4,317
2,4,6-trikloorifenoli	0,1	0,004	3,754

Taulukosta havaitaan, että kaikkien kloorifenoliyhdisteiden variaatiokerroin on merkittävästi alle 20 %. Tuloksista voi päätellä, että menetelmän uusittavuus on hyvä molemmilla pitoisuustasoilla.

6.4 Oikeellisuus

Oikeellisuudella tarkoitetaan useista mittauksista saatavien tulosten keskiarvon yhtäpitävyyttä mitattavan suureen tunnetun arvon kanssa. Oikeellisuutta voidaan arvioida saantokokeella standardin lisäyksen avulla. Saantokokeen tarkoituksena on osoittaa, onko analysoitavassa näytteessä määritystä häiritseviä yhdisteitä. [18, s. 34.]

Saantoprosentti R lasketaan kaavalla 4:

$$R = \frac{S-U}{C} \cdot 100\% \quad (4)$$

jossa S on lisäyksen sisältävän näytteen mitattu pitoisuus

U on näytteen alkuperäinen mitattu pitoisuus

C on lisätyn standardiliuoksen tunnettu pitoisuus.

Yksittäisten oikeellisuusnäytteiden mitatut pitoisuudet sekä rinnakkaisten näytteiden keskiarvot alkuperäisen näytteen pitoisuuden vähennyksen jälkeen on ilmoitettu liitteessä 4. Taulukossa 8 on esitetty likaisen maan rinnakkaisten 0,1 mg/kg -lisäysnäytteiden pitoisuuksien keskiarvoista lasketut saantoprosentit.

Taulukko 8. Likaiseen maahan tehtyjen rinnakkaisten lisäysnäytteiden (0,1 mg/kg) saantoprosentit.

	Saanto-%				\bar{x}	s
2-kloorifenoli	95,6	92,6	92,4	96,2	94,2	2,0
3-kloorifenoli	101,9	96,5	99,2	106,3	101,0	4,2
4-kloorifenoli	96,2	94,0	95,6	91,0	94,2	2,3
2,6-dikloorifenoli	100,2	98,8	100,2	88,8	97,0	5,5
3,5-dikloorifenoli	92,8	94,0	91,2	94,2	93,0	1,4
2,4- ja 2,5-dikloorifenoli	104,3	105,0	107,8	107,7	106,2	1,8
2,3-dikloorifenoli	99,0	97,6	93,5	95,2	96,3	2,4
3,4-dikloorifenoli	98,0	96,6	97,5	99,5	97,9	1,2
2,3,5-trikloorifenoli	103,5	104,3	111,1	111,2	107,5	4,2
2,3,4-trikloorifenoli	107,3	108,4	105,7	96,1	104,4	5,7
2,3,6-trikloorifenoli	101,2	100,6	100,5	102,7	101,3	1,0
3,4,5-trikloorifenoli	103,2	102,2	105,4	103,3	103,5	1,4
Pentakloorifenoli	108,5	146,5	107,0	105,6	116,9	19,8
2,3,5,6-tetrakloorifenoli	111,9	108,9	109,7	100,7	107,8	4,9
2,3,4,5-tetrakloorifenoli	103,1	103,1	103,7	101,1	102,7	1,1
2,3,4,6-tetrakloorifenoli	99,9	104,4	107,3	109,8	105,3	4,3
2,4,5-trikloorifenoli	107,4	112,1	113,5	112,4	111,3	2,7
2,4,6-trikloorifenoli	101,0	100,3	101,5	99,8	100,6	0,7

Koska likaisen maan näytteitä ei ollut riittävästi oikeellisuuden määrittämiseksi, tehtiin loput tarvittavat näytteet lisäyksenä puhtaaseen maahan. Taulukossa 9 on esitetty puhtaan maan rinnakkaisten 0,1 mg/kg -lisäysnäytteiden pitoisuuksien keskiarvoista lasketut saantoprosentit.

Taulukko 9. Puhtaaseen maahan tehtyjen rinnakkaisten lisäysnäytteiden (0,1 mg/kg) saantoprosentit.

	Saanto-%							\bar{x}	s
2-kloorifenoli	93,7	90,0	90,0	92,6	95,4	88,0	98,7	92,6	3,7
3-kloorifenoli	93,6	93,2	95,1	92,9	99,4	88,6	109,9	96,1	6,9
4-kloorifenoli	92,9	88,6	85,5	88,4	94,3	86,6	103,7	91,4	6,3
2,6-dikloorifenoli	96,5	94,5	96,1	96,1	98,4	92,2	101,5	96,5	2,9
3,5-dikloorifenoli	97,8	93,1	96,7	94,4	98,5	90,0	99,4	95,7	3,4
2,4- ja 2,5-dikloorifenoli	96,3	96,2	98,8	98,1	99,6	95,1	108,0	98,9	4,3
2,3-dikloorifenoli	94,9	90,1	89,2	92,4	96,1	87,2	100,7	92,9	4,6
3,4-dikloorifenoli	96,4	94,0	95,0	95,5	98,3	91,3	102,8	96,2	3,6
2,3,5-trikloorifenoli	94,2	96,2	99,0	96,4	99,2	94,6	112,5	98,9	6,3
2,3,4-trikloorifenoli	98,3	100,1	102,6	100,6	102,5	99,4	97,5	100,1	2,0
2,3,6-trikloorifenoli	96,1	96,2	96,0	96,6	100,3	95,1	112,4	98,9	6,2
3,4,5-trikloorifenoli	99,9	99,9	95,6	99,7	102,3	98,6	105,0	100,1	2,9
Pentakloorifenoli	104,6	104,1	103,7	103,1	104,4	104,6	107,3	104,6	1,3
2,3,5,6-tetrakloorifenoli	99,7	99,8	100,9	98,3	99,4	98,1	101,7	99,7	1,3
2,3,4,5-tetrakloorifenoli	100,2	99,7	98,6	99,1	100,9	98,7	103,7	100,1	1,8
2,3,4,6-tetrakloorifenoli	102,6	102,2	103,4	102,4	103,0	102,2	111,9	103,9	3,5
2,4,5-trikloorifenoli	100,0	101,3	103,9	101,1	102,7	100,8	112,0	103,1	4,1
2,4,6-trikloorifenoli	94,9	95,5	95,5	94,9	99,7	93,3	104,0	96,8	3,7

Keskivirhe S_R lasketaan kaavalla 5:

$$S_R = \frac{s}{\sqrt{m}} \quad (5)$$

jossa s on keskihajonta

m on sarjojen määrä.

Yhdisteiden todellinen saanto arvioidaan t-testillä. Yhdelletoista näytteelle 10 vapausasteella todellinen saanto 95 %:n todennäköisyydellä lasketaan kaavalla 6 [18, s. 36]:

$$R \pm (1,812 \cdot S_R) \quad (6)$$

jossa R on saantoprosentti

S_R on keskivirhe

1,812 on t-jakauman arvo.

Taulukossa 10 on esitetty puhtaan ja likaisen maan 0,1 mg/kg -lisäysnäytteiden todellinen saanto 95 %:n todennäköisyydellä. Tulosten tavoiteväli on 95–105 %.

Taulukko 10. Puhtaan ja likaisen maan saantoprosenttien (R) keskiarvo, keskihajonta, keskivirhe ja todellinen saanto.

	\bar{x}	s	S_R	\pm	Tulos (%)	Min (%)	Max (%)
2-kloorifenoli	93,4	3,1	0,9	1,6	93,4 ± 1,6	91,8	95
3-kloorifenoli	97,7	6,0	1,7	3,2	97,7 ± 3,2	94,5	100,8
4-kloorifenoli	92,8	5,1	1,5	2,7	92,8 ± 2,7	90,1	95,4
2,6-dikloorifenoli	97,1	3,9	1,1	2,1	97,1 ± 2,1	95	99,1
3,5-dikloorifenoli	94,9	3,0	0,9	1,6	94,9 ± 1,6	93,4	96,5
2,4- ja 2,5-dikloorifenoli	101,9	5,0	1,5	2,6	101,9 ± 2,6	99,3	104,6
2,3-dikloorifenoli	94,8	4,5	1,3	2,3	94,8 ± 2,3	92,4	97,1
3,4-dikloorifenoli	97,1	3,1	0,9	1,6	97,1 ± 1,6	95,5	98,7
2,3,5-trikloorifenoli	102,3	6,7	1,9	3,5	102,3 ± 3,5	98,8	105,8
2,3,4-trikloorifenoli	102,4	4,6	1,3	2,4	102,4 ± 2,4	100	104,8
2,3,6-trikloorifenoli	100,1	4,8	1,4	2,5	100,1 ± 2,5	97,6	102,6
3,4,5-trikloorifenoli	101,6	2,9	0,8	1,5	101,6 ± 1,5	100,1	103,1
Pentakloorifenoli	109,0	12,5	3,8	6,8	109,0 ± 6,8	102,2	115,9
2,3,5,6-tetrakloorifenoli	103,4	5,4	1,5	2,8	103,4 ± 2,8	100,5	106,1
2,3,4,5-tetrakloorifenoli	101,2	2,0	0,6	1,0	101,2 ± 1,0	100,2	102,3
2,3,4,6-tetrakloorifenoli	104,9	3,8	1,1	2,0	104,9 ± 2,0	102,9	106,9
2,4,5-trikloorifenoli	106,4	5,3	1,5	2,8	106,4 ± 2,8	103,6	109,2
2,4,6-trikloorifenoli	98,6	3,5	1,0	1,9	98,6 ± 1,9	96,7	100,4

Taulukosta havaitaan, että kloorifenoliyhdisteet eivät ole merkittävästi tavoitevälin 95–105 % ulkopuolella. 4-kloorifenolin tulos on hieman alle tavoitevälin. Tämä voidaan

selittää kromatogrammin piikkien manuaalisella integroinnilla. Pentakloorifenolin tulos on yli tavoitevälin. Tämä voidaan selittää sillä, että kloorifenoleista pentakloorifenolia on usein näytteissä eniten. Pentakloorifenoli ei ole välttämättä jakautunut tasaisesti koko maanäytteeseen, mikä selittää rinnakkaisten näytteiden toisistaan eroavat pentakloorifenolipitoisuudet. Näytteissä, jotka sisälsivät pentakloorifenolia pieniä määriä, ei pitoisuuseroa rinnakkaisten välillä havaittu. Menetelmässä ei todettu olevan systemaattista virhettä.

6.5 Mittausepävarmuus

Mittausepävarmuudella ilmaistaan mittaustulosten luotettavuutta. Sen avulla ilmoitetaan rajat, joiden sisällä mittauksen todellinen arvo on valitulla todennäköisyydellä. Mittausepävarmuus muodostuu systemaattisesta ja satunnaisesta virheestä. Analysoitava matriisi ja pitoisuustaso vaikuttavat menetelmän mittausepävarmuuteen. [18, s. 53.]

Mittaustuloksen poikkeama (bias) lasketaan kaavalla 7:

$$\text{bias (\%)} = \frac{x_{ref} - x_i}{x_{ref}} * 100\% \quad (7)$$

jossa x_{ref} on teoreettinen saanto

x_i on rinnakkaismääritysten keskiarvo.

Suhteellinen keskihajonta (RSD) lasketaan kaavalla 8:

$$RSD (\%) = \frac{s}{\bar{x}} * 100\% \quad (8)$$

Laboratorion sisäinen uusittavuus ($u(R_w)$) lasketaan kaavalla 9:

$$u(R_w) = \sqrt{s_{R_w}^2 + s_r^2} \quad (9)$$

jossa s_{R_w} on kontrollinäytteen keskihajonta

s_r on mittaussarjan keskihajonta.

Mittaustuloksen harha ($u(RMS_{bias})$) lasketaan kaavalla 10:

$$u(RMS_{bias}) = \sqrt{\frac{\sum bias_i^2}{n}} \quad (10)$$

jossa n on rinnakkaisten näytteiden lukumäärä.

Saantokokeilla arvioitu epävarmuus ($u(Cref)$) lasketaan kaavalla 11:

$$u(Cref) = \frac{s_R}{\sqrt{n}} \quad (11)$$

jossa s_R on mittausten uusittavuuden suhteellinen keskihajonta.

Menetelmän systemaattinen virhe ($u(bias)$) lasketaan kaavalla 12:

$$u(bias) = \sqrt{RMS_{bias}^2 + u(Cref)^2} \quad (12)$$

Menetelmän yhdistetty standardiepävarmuus (u_c) lasketaan kaavalla 13:

$$u_c = \sqrt{u(R_w)^2 + (u(bias))^2} \quad (13)$$

Menetelmän laajennettu mittausepävarmuus (U) 95 %:n todennäköisyydellä lasketaan kaavalla 14:

$$U = 2 * u_c \quad (14)$$

Laajennettu mittausepävarmuus laskettiin Metropolilabin Excel-pohjaisella laskukaavilla, joka perustuu Nordtestin oppaaseen TR537. Mittausepävarmuus määritettiin kontrollinäytteiden rinnakkaismäärittämisinä. Rinnakkaismäärittäysten pitoisuudet ja mittausepävarmuuden laskemiseen käytetyt tulokset on esitetty liitteessä 5. Laajennettu

mittausepävarmuus on laskettu 95 %:n luottamustasolla. 0,05 mg/kg -lisäysnäytteiden laajennettu mittausepävarmuus on esitetty taulukossa 11.

Taulukko 11. Kloorifenoliyhdisteiden laajennettu mittausepävarmuus 95 %:n luottamustasolla (U) 0,05 mg/kg -lisäysnäytteille.

	bias (%)	RSD %	u (R _w)	u(RMS _{bias})	u(Cref)	u(bias)	u _c	U (%)
2-kloorifenoli	2,5	5,3	0,004	5,7	1,5	5,9	5,9	11,8
3-kloorifenoli	0,6	14,7	0,011	14,2	4,3	14,8	14,8	29,6
4-kloorifenoli	6,7	5,1	0,004	8,5	1,5	8,6	8,6	17,2
2,6-dikloorifenoli	1,4	4,5	0,003	4,5	1,3	4,7	4,7	9,4
3,5-dikloorifenoli	1,6	6,4	0,005	6,4	1,8	6,7	6,7	13,4
2,4- ja 2,5-dikloorifenoli	4,3	4,1	0,003	6,0	1,2	6,1	6,1	12,2
2,3-dikloorifenoli	6,6	5,2	0,004	8,5	1,5	8,6	8,6	17,2
3,4-dikloorifenoli	4,1	5,2	0,004	6,6	1,5	6,8	6,8	13,6
2,3,5-trikloorifenoli	3,1	5,9	0,004	6,3	1,7	6,6	6,6	13,1
2,3,4-trikloorifenoli	13,4	15,6	0,013	21,6	4,5	22,0	22,0	44,1
2,3,6-trikloorifenoli	1,9	7,7	0,005	7,5	2,2	7,8	7,8	15,6
3,4,5-trikloorifenoli	2,8	5,9	0,004	6,5	1,7	6,7	6,7	13,4
Pentakloorifenoli	1,6	6,4	0,005	6,4	1,8	6,7	6,7	13,3
2,3,5,6-tetrakloorifenoli	3,9	3,4	0,003	5,2	1,0	5,3	5,3	10,5
2,3,4,5-tetrakloorifenoli	0,4	8,6	0,006	8,3	2,5	8,7	8,7	17,3
2,3,4,6-tetrakloorifenoli	4,3	7,0	0,005	8,2	2,0	8,5	8,5	16,9
2,4,5-trikloorifenoli	1,8	6,6	0,005	6,6	1,9	6,9	6,9	13,8

Laajennettu mittausepävarmuus on 2,3,4-trikloorifenolilla korkea. Tämän voidaan päätellä johtuvan kromatogrammin piikkien manuaalisesta integroinnista.

0,1 mg/kg -lisäysnäytteiden laajennettu mittausepävarmuus on esitetty taulukossa 12.

Taulukko 12. Kloorifenoliyhdisteiden laajennettu mittausepävarmuus 95 %:n luottamustasolla (U) 0,1 mg/kg -lisäysnäytteille.

	bias (%)	RSD %	u (R_w)	u(RMS_{bias})	u(Cref)	u(bias)	u_c	U (%)
2-kloorifenoli	5,1	4,4	0,006	6,4	1,3	6,6	6,6	13,1
3-kloorifenoli	2,1	4,9	0,007	5,1	1,4	5,3	5,3	10,5
4-kloorifenoli	7,3	4,7	0,006	8,4	1,4	8,5	8,5	17,1
2,6-dikloorifenoli	4,4	3,7	0,005	5,6	1,1	5,7	5,7	11,3
3,5-dikloorifenoli	4,9	5,3	0,007	6,8	1,5	7,0	7,0	14,0
2,4- ja 2,5-dikloorifenoli	2,6	3,5	0,005	4,2	1,0	4,3	4,3	8,6
2,3-dikloorifenoli	6,6	4,8	0,006	7,9	1,4	8,0	8,0	16,0
3,4-dikloorifenoli	3,9	3,5	0,005	5,1	1,0	5,2	5,2	10,3
2,3,5-trikloorifenoli	3,3	2,8	0,004	4,2	0,8	4,3	4,3	8,6
2,3,4-trikloorifenoli	0,6	2,5	0,004	2,5	0,7	2,6	2,6	5,2
2,3,6-trikloorifenoli	3,3	2,8	0,004	4,2	0,8	4,3	4,3	8,5
3,4,5-trikloorifenoli	0,7	3,2	0,005	3,1	0,9	3,2	3,2	6,5
Pentakloorifenoli	4,1	1,8	0,003	4,5	0,5	4,5	4,5	9,0
2,3,5,6-tetrakloorifenoli	0,5	1,5	0,002	1,5	0,4	1,5	1,5	3,0
2,3,4,5-tetrakloorifenoli	0,5	1,9	0,003	1,9	0,6	2,0	2,0	3,9
2,3,4,6-tetrakloorifenoli	2,6	1,9	0,003	3,2	0,6	3,3	3,3	6,6
2,4,5-trikloorifenoli	1,6	2,3	0,003	2,8	0,7	2,9	2,9	5,7
2,4,6-trikloorifenoli	4,4	3,2	0,004	5,2	0,9	5,3	5,3	10,6

Taulukosta havaitaan, että yhdenkään kloorifenoliyhdisteen laajennettu mittausepävarmuus ei ole merkittävän suuri.

0,05 ja 0,1 mg/kg -lisäysnäytteiden laskennalliset laajennetut mittausepävarmuudet 95 %:n luottamustasolla verrattuna standardissa ilmoitettuun laajennettuun mittausepävarmuuteen on esitetty taulukossa 13.

Taulukko 13. Kloorifenoliyhdisteiden laajennettu mittausepävarmuus 95 %:n luottamustasolla (U).

	U (%)	Tavoite U (%)
	0,05–0,1 mg/kg	
2-kloorifenoli	12	30
3-kloorifenoli	30	30
4-kloorifenoli	17	30
2,6-dikloorifenoli	11	30
3,5-dikloorifenoli	14	30
2,4- ja 2,5-dikloorifenoli	12	30
2,3-dikloorifenoli	17	30
3,4-dikloorifenoli	14	30
2,3,5-trikloorifenoli	13	30
2,3,4-trikloorifenoli	44	30
2,3,6-trikloorifenoli	16	30
3,4,5-trikloorifenoli	13	30
Pentakloorifenoli	13	30
2,3,5,6-tetrakloorifenoli	10	30
2,3,4,5-tetrakloorifenoli	17	30
2,3,4,6-tetrakloorifenoli	17	30
2,4,5-trikloorifenoli	14	30
2,4,6-trikloorifenoli	12	30

Taulukosta havaitaan, että pitoisuusalueella 0,05–0,1 mg/kg 2,3,4-trikloorifenolin laajennettu mittausepävarmuus ylittää tavoitearvon, mutta muut kloorifenoliyhdisteet ovat sen rajoissa. 2,3,4-trikloorifenolille ilmoitettiin laajennetuksi mittausepävarmuudeksi 95 %:n luottamustasolla 44 % ja muille yhdisteille 30 %.

7 Menetelmien vertailu

Onnistuneen validoinnin jälkeen haluttiin varmistaa, että käyttöönotettava menetelmä on myös resursseiltaan kannattava. Vanhaa ja uutta menetelmää on vertailtu taulukossa 14.

Taulukko 14. Aiemmin käytössä olleen ja käyttöönotettavan kloorifenolien määrittämenetelmän erot.

	Vanha menetelmä	Uusi menetelmä
Näytteen käsittelyyn kuluva aika/näyte	n. 130 min (ravistelu 30 min)	n. 110 min (ultraäänihaude 10 min + ravistelu 30 min)
Näytteen käsittelyyn kuluva aika/5 näytettä	n. 250 min (ravistelu 30 min)	n. 130 min (ultraäänihaude 10 min + ravistelu 30 min)
Reagenssien kulutus/näyte	37,5 ml asetonia 142,5 ml heksaania 80 ml 0,1 M NaOH-liuosta 70 ml 0,1 M K ₂ CO ₃ -liuosta 2 ml etikkahappoanhydriidiä 0,5 ml suolahappoa	75 ml metanolia 10 ml heksaania 2 ml 0,5 M NaOH-liuosta 50 ml 0,1 M K ₂ CO ₃ -liuosta 1 ml etikkahappoanhydriidiä 0,5 ml suolahappoa
Tiski/näyte	4 kpl erotussuppilaa	1 kpl erotussuppilo 1 kpl haihdutinastia
Jätteen määrä/näyte	2 kpl 15 ml PP-sentrifugiputkia 327,5 ml liuoksia	1 kpl 50 ml PP-sentrifugiputki 2 kpl 15 ml PP-sentrifugiputkia 128,5 ml liuoksia

Taulukosta havaitaan, että yksittäisen kloorifenolinäytteen käsittelyyn kuluva aika ei merkittävästi poikkea menetelmissä. Jokaisessa näytesarjassa on oltava vähintään kolme näytettä (nolla-, lisäys- ja varsinainen näyte), jolloin ajankäyttö poikkeaa menetelmien välillä. Viiden näytteen sarjassa uudella menetelmällä ajankäyttö on jo noin puolet aiemmin käytössä olleeseen menetelmään verrattuna.

Uusi menetelmä kuluttaa myös huomattavan paljon vähemmän reagensseja kuin aiempi menetelmä. Aiemmalla menetelmällä yhdestä näytteestä jätteeseen päätyy kaikki liuokset yhteenlaskettuna 327,5 ml. Uudella menetelmällä vastaava luku on 128,5 ml. Eroa on 199 ml:n verran. Viiden näytteen sarjassa vanhalla menetelmällä jätteeseen päätyy lähes litra enemmän liuoksia kuin uudella. Lisäksi tiskiä syntyy vähemmän uudella menetelmällä.

8 Yhteenveto

Opinnäytetyössä käyttöönotettiin ja validoitiin ISO/TS 17182:2014:n mukainen kloorifenolien kvantitatiivinen määrittämenetelmä maa- ja sedimenttinäytteille. Menetelmä

saatiin validoitua ja käyttöönotettua onnistuneesti. Menetelmälle luotiin valmis työohje laadunvarmistusosiota lukuun ottamatta.

Uutta käyttöönotettavaa menetelmää validoitaessa haluttiin selvittää tietyt parametrit, jotka olivat lineaarisuus, toteamis- ja määrittämiss raja, toistettavuus, uusittavuus, oikeellisuus ja mittausepävarmuus. Tavoitteena oli, että validoinnin tulokset olisivat vähintään yhtä hyvät tai paremmat kuin aiemmassa menetelmässä ja tämä myös saavutettiin. Saatujen tulosten perusteella menetelmä soveltuu analyysiin ja validointi täyttää sille asetetut vaatimukset. Uusi menetelmä osoittautui myös aiempaa menetelmää nopeammaksi ja vähemmän reagensseja ja tiskiä kuluttavaksi.

Validoinnin ongelmaksi muodostuivat ne kloorifenolihdisteet, jotka eivät erottuneet toisistaan omiksi piikeikseen kromatogrammissa. Näillä yhdisteillä havaittiin muita yhdisteitä huonompia validointituloksia toistettavuudessa, mittausepävarmuudessa ja oikeellisuudessa. Validointitulokset olivat kuitenkin myös näiden yhdisteiden osalta riittävän hyvät menetelmän käyttöönottoon.

Menetelmää kehittäessä havaittiin, että kloorifenolihdisteet eivät ole välttämättä tasaisesti jakautuneet maa-ainekseen. Maanäytteen murskaaminen hienoksi jauheeksi voisi parantaa kloorifenolihdisteiden uuttumista, mutta tärkeämmäksi koettiin selvittää näytteen kloorifenolihdisteiden pitoisuustason suuruusluokka kuin rinnakkaisten näytteiden yhdenmukaisuus.

Sekä vanhassa että uudessa menetelmässä näyte konsentroidaan lopuksi 0,1 ml:n tilavuuteen. Uudessa menetelmässä näytettä päädyttiin haihuttamaan TurboVap II -tyyppihaihdutinlaitteistolla 0,5 ml:n tilavuuteen ja sitten näytepullosta 0,1 ml:n tilavuuteen. Tulevaisuudessa tämän vaiheen voisi korvata Genevac-haihduuttimella, joka haihuttaa näytteen haluttuun tilavuuteen vaatimatta ihmisen valvontaa. Se vaatii kuitenkin ensin laitteen käyttöönoton.

Lähteet

- 1 Lindroos, Lasse. 2005. Kloorifenolit. Teoksessa Työterveyslaitos. Kemikaalit ja työ. Selvitys työympäristön kemikaaliriskeistä. Vammala: Vammalan Kirjapaino Oy.
- 2 Validointi ja verifiointi. Verkkoaineisto. Labquality. <https://www.labquality.fi/vieritestisuositus/luotettava_vieritesti/validointi_verifiointi/>. Luettu 11.10.2020.
- 3 Caillard, Liliane & Muller, François. 2011. Chlorophenols. Teoksessa Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. 7th ed. New York: John Wiley & Sons.
- 4 Pentachlorophenol. Verkkoaineisto. Sigma-Aldrich. <<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/p2604>>. Luettu 30.10.2020.
- 5 Valtioneuvoston päätös pentakloorifenolin sekä eräiden difenyyli-metaanien markkinoille luovuttamisen ja käytön kieltämisestä. 2000. 143/10.2.2000.
- 6 Ketola, Raimo; Kostianen, Risto; Kotiaho, Tapio & Vainiotalo, Pirjo. 2012. Massaspektrometrian perusteet. 2. painos. Helsinki: Hakapaino.
- 7 Harris, Daniel C. 2010. Quantitative Chemical Analysis. 8th ed. United States of America: First Printing.
- 8 Backhurst, J. R.; Harker, J. H. & Richardson, J. F. 2002. Chemical Engineering. 5th ed. Great Britain: Elsevier.
- 9 Erotusmenetelmät. Verkkoaineisto. Opetushallitus. <http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/analyysimenetelmat_2-1_yleista_erotusmenetelmista.html>. Luettu 12.10.2020.
- 10 Sellers, Kristi. 2010. Why Derivatize? Improve GC Separations with Derivatization. Verkkoaineisto. Restek. <<https://www.restek.com/pdfs/CFTS1269.pdf>>. Luettu 8.9.2020.
- 11 Mandal, Ananya MD. 2019. What is Acetylation? Verkkoaineisto. News Medical. <<https://www.news-medical.net/health/What-is-Acetylation.aspx>>. Luettu 13.8.2020.
- 12 Al-Janabi, Khalid Waleed S.; Alazawi, Fatin Nafea; Ibrahim Mohammed, M.; Kadhum, Abdul Amir H. & Mohamad, Abu Bakar. 2012. Direct Acetylation and Determination of Chlorophenols in Aqueous Samples by Gas Chromatography Coupled with an Electron-Capture Detector. Journal of Chromatographic Science 25.4.2012, s. 564–568.

- 13 Kaasukromatografia. Verkkoaineisto. Opetushallitus. <http://www03.edu.fi/oppi-materiaalit/laboratorio/analyysimenetelmat_2-5_kaasukromatografia.html>. Luettu 20.9.2020.
- 14 Jaarinen, Soile & Niiranen, Jukka. 2008. Laboratorion analyysitekniikka. 5.–6. painos. E-kirja. Edita Publishing Oy.
- 15 Electron Ionization. Verkkoaineisto. Creative Proteomics. <<https://www.creative-proteomics.com/support/electron-ionization.htm>>. Luettu 30.10.2020.
- 16 John Honour. Quadrupole mass spectrometry. Verkkoaineisto. ResearchGate. <https://www.researchgate.net/figure/Quadrupole-mass-spectrometry_fig3_8997538>. Luettu 11.10.2020.
- 17 Ethanol as a Solvent. Verkkoaineisto. EasyChem. <<https://easychem.com.au/production-of-materials/renewable-ethanol/ethanol-as-a-solvent/>>. Luettu 26.9.2020.
- 18 Marjanen, Jari J.; Mäkinen, Irma; Niemi, Ritva; Saares, Riitta & Suortti, Anna-Mari. 1996. Ohjeita ympäristönäytteiden kemiallisten analyysimenetelmien validointiin. Helsinki: Suomen ympäristökeskus.

Liite 1. Kloorifenolien määrittämismenetelmän ohje

Mittausten suoritus

Uutto:

- Punnitse näytettä vähintään 10 g 125 ml:n PP-pulloon.
- Lisää 50 µl ISTD-käyttöliuosta, 75 ml metanolia ja 0,5 ml HCl.
- Uuta näytettä ensin ultraäänihauhteessa 10 min ja sitten ravistelijassa 30 min.
- Anna näytteen laskeutua tai sentrifugoi näytettä 50 ml:n PP-sentrifugiputkessa 5 min 3000 rpm.
- Siirrä 10 ml näytettä erotussuppiloon, johon on lisätty 50 ml 0,1 M K_2CO_3 -liuosta.

Asetylointi:

- Lisää erotussuppiloon 2 ml 0,5 M NaOH-liuosta ja 1 ml etikkahappoanhydridiä, ravista voimakkaasti 2 min ja laske syntynyttä painetta pois.
- Anna liuoksen seistä 10 min välillä ravistaen.
- Lisää 10 ml heksaania, ravista ja anna faasien erottua. Mikäli heksaanifaasiin muodostuu emulsiota, sentrifugoi 15 ml:n PP-sentrifugiputkessa 5 min 3000 rpm.
- Kuivaa heksaanifaasi 15 ml:n PP-sentrifugiputkessa, jossa on 2g Na_2SO_4 , sekoita ja sentrifugoi 5 min 3000 rpm.
- Konsentroi heksaanifaasi 0,1 ml ja säilytä n. 4 C:ssä, analysoi 2 vrk sisällä tai siinä ajassa kuin näyte pysyy selvästi muuttumattomana.

Liite 2. Kloorifenolistandardien mitatut pitoisuudet

	st 0,025 mg/kg	st 0,05 mg/kg	st 0,1 mg/kg	st 0,2 mg/kg	st 0,5 mg/kg
	Konsentraatio (mg/kg)				
2-kloorifenoli	0,0334	0,0509	0,0894	0,207	0,4992
3-kloorifenoli	0,0285	0,0475	0,0861	0,2093	0,4991
4-kloorifenoli	0,0343	0,0507	0,0893	0,2071	0,4992
2,6-Dikloorifenoli	0,0308	0,0483	0,0888	0,2072	0,4992
3,5-Dikloorifenoli	0,0352	0,0481	0,0923	0,2038	0,4997
2,4- ja 2,5-Dikloorifenoli	0,0285	0,0469	0,088	0,2088	0,499
2,3-Dikloorifenoli	0,0308	0,0467	0,0889	0,2078	0,4991
3,4-Dikloorifenoli	0,0322	0,0451	0,0902	0,2073	0,4992
2,3,5-Trikloorifenoli	0,0299	0,0502	0,0882	0,207	0,4993
2,3,4-Trikloorifenoli	0,025	0,0419	0,0907	0,2092	0,499
2,3,6-Trikloorifenoli	0,0282	0,0482	0,0909	0,2063	0,4993
3,4,5-Trikloorifenoli	0,0304	0,0483	0,0951	0,2028	0,4997
Pentakloorifenoli	0,0293	0,05	0,093	0,2026	0,5002
2,3,5,6-tetra kloorifenoli	0,0321	0,0441	0,0897	0,2077	0,4992
2,3,4,5-tetra kloorifenoli	0,0278	0,0495	0,0926	0,2048	0,4995
2,3,4,6-terakloorifenoli	0,0286	0,0477	0,0908	0,2063	0,4994
2,4,5-Trikloorifenoli	0,0291	0,0478	0,0887	0,2076	0,4992
2,4,6-Trikloorifenoli	0,0293	0,0468	0,0905	0,2069	0,4992

Liite 3. Toistettavuus- ja uusittavuusnäytteiden pitoisuudet

Pitoisuus (mg/kg)	0,05											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Päivämäärä	8.7.2020											
2-Kloorifenoli	0,0500	0,0482	0,0484	0,0489	0,0441	0,0453	0,0518	0,0558	0,0503	0,0449	0,0498	0,0499
3-Kloorifenoli	0,0427	0,0389	0,0426	0,0436	0,0341	0,0406	0,0443	0,0557	0,0379	0,0375	0,0570	0,0490
4-Kloorifenoli	0,0488	0,0489	0,0460	0,0476	0,0419	0,0465	0,0512	0,0553	0,0500	0,0496	0,0551	0,0563
2,6-Dikloorifenoli	0,0494	0,0482	0,0489	0,0493	0,0447	0,0462	0,0512	0,0545	0,0506	0,0487	0,0536	0,0528
3,5-Dikloorifenoli	0,0444	0,0442	0,0452	0,0506	0,0390	0,0416	0,0481	0,0501	0,0485	0,0488	0,0528	0,0535
2,4- ja 2,5-Dikloorifenoli	0,0500	0,0492	0,0479	0,0489	0,0462	0,0472	0,0517	0,0544	0,0511	0,0495	0,0550	0,0536
2,3-Dikloorifenoli	0,0479	0,0487	0,0442	0,0481	0,0437	0,0431	0,0516	0,0541	0,0520	0,0510	0,0569	0,0579
3,4-Dikloorifenoli	0,0484	0,0482	0,0439	0,0494	0,0430	0,0462	0,0513	0,0539	0,0513	0,0505	0,0566	0,0562
2,3,5-Trikloorifenoli	0,0480	0,0470	0,0474	0,0491	0,0439	0,0455	0,0496	0,0517	0,0495	0,0473	0,0527	0,0519
2,3,4-Trikloorifenoli	0,0628	0,0490	0,0615	0,0511	0,0593	0,0594	0,0656	0,0667	0,0652	0,0643	0,0552	0,0684
2,3,6-Trikloorifenoli	0,0435	0,0512	0,0418	0,0527	0,0406	0,0410	0,0462	0,0470	0,0464	0,0452	0,0581	0,0488
3,4,5-Trikloorifenoli	0,0512	0,0504	0,0496	0,0518	0,0478	0,0488	0,0532	0,0534	0,0537	0,0512	0,0559	0,0557
Penta kloorifenoli	0,0527	0,0536	0,0493	0,0521	0,0511	0,0518	0,0541	0,0518	0,0556	0,0540	0,0533	0,0533
2,3,5,6-tetrakloorifenoli				0,0506	0,0474	0,0473	0,0504	0,0530	0,0508	0,0492	0,0526	0,0519
2,3,4,5-tetrakloorifenoli	0,0508	0,0488	0,0503	0,0523	0,0488	0,0494	0,0551	0,0539	0,0554	0,0528	0,0532	0,0545
2,3,4,6-tera kloorifenoli	0,0528	0,0534	0,0508	0,0540	0,0511	0,0506	0,0552	0,0538	0,0563	0,0549	0,0555	0,0572
2,4,5-Trikloorifenoli	0,0511	0,0497	0,0498	0,0521	0,0478	0,0492	0,0530	0,0540	0,0527	0,0512	0,0552	0,0552
2,4,6-Trikloorifenoli	0,0489	0,0480	0,0485	0,0500	0,0453	0,0473	0,0517	0,0539	0,0524	0,0509	0,0552	0,0549

Pitoisuus (mg/kg)	0,05							
Päivämäärä	13.7.2020							
	1	2	3	4	5	6	7	8
2-kloorifenoli	0,0497	0,0528	0,0517	0,0528	0,0532	0,0520	0,0534	0,0513
3-kloorifenoli	0,0476	0,0556	0,0546	0,0575	0,0559	0,0553	0,0592	0,0484
4-kloorifenoli	0,0531	0,0548	0,0556	0,0559	0,0561	0,0535	0,0560	0,0490
2,6-Dikloorifenoli	0,0463	0,0504	0,0502	0,0498	0,0502	0,0495	0,0513	0,0489
3,5-Dikloorifenoli	0,0448	0,0546	0,0503	0,0546	0,0482	0,0518	0,0555	0,0533
2,4- ja 2,5-Dikloorifenoli	0,0483	0,0519	0,0532	0,0517	0,0537	0,0514	0,0547	0,0506
2,3-Dikloorifenoli	0,0497	0,0542	0,0552	0,0531	0,0521	0,0495	0,0552	0,0556
3,4-Dikloorifenoli	0,0462	0,0518	0,0514	0,0521	0,0515	0,0507	0,0530	0,0517
2,3,5-Trikloorifenoli	0,0433	0,0478	0,0476	0,0480	0,0480	0,0472	0,0480	0,0443
2,3,4-Trikloorifenoli	0,0445	0,0486	0,0483	0,0490	0,0487	0,0481	0,0492	0,0557
2,3,6-Trikloorifenoli	0,0475	0,0512	0,0512	0,0504	0,0515	0,0496	0,0521	0,0449
3,4,5-Trikloorifenoli	0,0455	0,0493	0,0503	0,0499	0,0505	0,0491	0,0502	0,0493
Pentakloorifenoli	0,0471	0,0471	0,0478	0,0480	0,0496	0,0475	0,0471	0,0488
2,3,5,6-tetrakloorifenoli	0,0491	0,0540	0,0548	0,0557	0,0541	0,0536	0,0531	0,0516
2,3,4,5-tetrakloorifenoli	0,0438	0,0456	0,0466	0,0464	0,0477	0,0453	0,0473	0,0477
2,3,4,6-terakloorifenoli	0,0468	0,0486	0,0493	0,0493	0,0508	0,0490	0,0485	0,0493
2,4,5-Trikloorifenoli	0,0449	0,0495	0,0494	0,0490	0,0505	0,0494	0,0486	0,0461
2,4,6-Trikloorifenoli	0,0461	0,0500	0,0500	0,0497	0,0501	0,0495	0,0512	0,0479

Pitoisuus (mg/kg)	0,1											
Päivämäärä	5.8.2020											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2-kloorifenoli	0,0982	0,0958	0,0934	0,0931	0,0941	0,0926	0,0928	0,0991	0,1052	0,0922	0,0925	0,0901
3-kloorifenoli	0,0979	0,0976	0,0939	0,1008	0,0968	0,1016	0,0952	0,0989	0,1080	0,0990	0,0977	0,0876
4-kloorifenoli	0,0981	0,0943	0,0918	0,0920	0,0890	0,0887	0,0888	0,0945	0,1032	0,0919	0,0897	0,0902
2,6-Dikloorifenoli	0,0977	0,0953	0,0945	0,0944	0,0951	0,0971	0,0936	0,0987	0,1046	0,0921	0,0927	0,0916
3,5-Dikloorifenoli	0,0993	0,0964	0,0971	0,0893	0,0914	0,1021	0,0897	0,0993	0,1027	0,0945	0,0889	0,0913
2,4- ja 2,5-Dikloorifenoli	0,0977	0,0949	0,0946	0,0978	0,0987	0,0990	0,0973	0,0989	0,1061	0,0931	0,0960	0,0943
2,3-Dikloorifenoli	0,0975	0,0957	0,0944	0,0893	0,0901	0,0918	0,0901	0,0982	0,1030	0,0927	0,0883	0,0895
3,4-Dikloorifenoli	0,0985	0,0962	0,0970	0,0929	0,0945	0,0976	0,0942	0,0988	0,1038	0,0949	0,0926	0,0920
2,3,5-Trikloorifenoli	0,0952	0,0933	0,0960	0,0964	0,0975	0,1005	0,0959	0,0971	0,1030	0,0955	0,0954	0,0940
2,3,4-Trikloorifenoli	0,0999	0,0967	0,0994	0,1008	0,1003	0,1049	0,1002	0,1011	0,1060	0,0989	0,0993	0,0995
2,3,6-Trikloorifenoli	0,0986	0,0937	0,0978	0,0945	0,0942	0,0979	0,0943	0,0988	0,1026	0,0979	0,0942	0,0960
3,4,5-Trikloorifenoli	0,1023	0,0975	0,1025	0,0973	0,0971	0,0941	0,0971	0,1023	0,1052	0,0993	0,0977	0,0995
Pentakloorifenoli	0,1046	0,1046	0,1042	0,1041	0,1011	0,1064	0,1017	0,1044	0,1045	0,1043	0,1017	0,1076
2,3,5,6-tetra-kloorifenoli	0,1004	0,0992	0,0994	0,1005	0,0992	0,1029	0,0984	0,0984	0,1010	0,0982	0,0980	0,0986
2,3,4,5-tetra-kloorifenoli	0,1005	0,0999	0,0982	0,1012	0,0957	0,1015	0,0984	0,0999	0,1024	0,0994	0,0972	0,1001
2,3,4,6-terakloorifenoli	0,1028	0,1025	0,1013	0,1030	0,1008	0,1060	0,1013	0,1034	0,1042	0,1018	0,0991	0,1054
2,4,5-Trikloorifenoli	0,1016	0,0984	0,0991	0,1034	0,1020	0,1059	0,0999	0,1023	0,1055	0,1000	0,1002	0,1013
2,4,6-Trikloorifenoli	0,0953	0,0945	0,0978	0,0932	0,0936	0,0975	0,0935	0,0963	0,1034	0,0960	0,0944	0,0922

Pitoisuus (mg/kg)	0,1			
	1	2	3	4
Päivämäärä	11.8.2020			
	1	2	3	4
2-kloorifenoli	0,0952	0,0974	0,0958	0,1038
3-kloorifenoli	0,0978	0,0978	0,1097	0,1123
4-kloorifenoli	0,0963	0,0990	0,1054	0,1034
2,6-Dikloorifenoli	0,0960	0,1008	0,0983	0,1047
3,5-Dikloorifenoli	0,0946	0,0959	0,0963	0,1027
2,4- ja 2,5-Dikloorifenoli	0,0953	0,1076	0,1041	0,1120
2,3-Dikloorifenoli	0,0946	0,1001	0,0979	0,1034
3,4-Dikloorifenoli	0,0941	0,1009	0,0996	0,1059
2,3,5-Trikloorifenoli	0,0935	0,1142	0,1100	0,1151
2,3,4-Trikloorifenoli	0,0957	0,0976	0,0947	0,1002
2,3,6-Trikloorifenoli	0,0936	0,1010	0,1014	0,1050
3,4,5-Trikloorifenoli	0,0923	0,1060	0,1064	0,1037
Pentakloorifenoli	0,0928	0,1084	0,1053	0,1094
2,3,5,6-tetrakloorifenoli	0,0959	0,1066	0,0993	0,1041
2,3,4,5-tetrakloorifenoli	0,0954	0,1031	0,1031	0,1045
2,3,4,6-terakloorifenoli	0,0935	0,1125	0,1089	0,1149
2,4,5-Trikloorifenoli	0,0951	0,1129	0,1091	0,1151
2,4,6-Trikloorifenoli	0,0940	0,1013	0,1013	0,1069

Liite 4. Oikeellisuusnäytteiden pitoisuudet

Teoreettinen pitoisuus (mg/kg)	Likaisen maan pitoisuudet (mg/kg)							
	Näyte 1	Näyte 2	Näyte 3	Näyte 4				
0,1								
2-kloorifenoli	0,0946	0,0967	0,0952	0,0901	0,0918	0,0930	0,0954	0,0970
3-kloorifenoli	0,1031	0,1006	0,0986	0,0944	0,0984	0,0999	0,0897	0,1230
4-kloorifenoli	0,0950	0,0974	0,0947	0,0932	0,0949	0,0964	0,0803	0,1018
2,6-Dikloorifenoli	0,0993	0,1011	0,1009	0,0967	0,0997	0,1006	0,0861	0,0914
3,5-Dikloorifenoli	0,0896	0,0959	0,0913	0,0966	0,0903	0,0920	0,0923	0,0961
2,4- ja 2,5-Dikloorifenoli	0,1034	0,1052	0,1065	0,1034	0,1071	0,1085	0,1047	0,1107
2,3-Dikloorifenoli	0,0964	0,1016	0,0985	0,0967	0,0927	0,0943	0,0938	0,0966
3,4-Dikloorifenoli	0,0949	0,1011	0,0961	0,0971	0,0964	0,0986	0,0965	0,1025
2,3,5-Trikloorifenoli	0,1022	0,1047	0,1043	0,1042	0,1158	0,1065	0,1088	0,1135
2,3,4-Trikloorifenoli	0,1067	0,1080	0,1080	0,1088	0,0988	0,1126	0,0942	0,0979
2,3,6-Trikloorifenoli	0,1007	0,1017	0,1000	0,1012	0,1013	0,0998	0,1011	0,1042
3,4,5-Trikloorifenoli	0,1022	0,1041	0,1022	0,1022	0,1047	0,1062	0,1005	0,1061
Pentakloorifenoli	0,1089	0,1081	0,1222	0,1707	0,0962	0,1178	0,1033	0,1080
2,3,5,6-tetraakloorifenoli	0,1120	0,1118	0,1086	0,1092	0,1079	0,1116	0,0991	0,1024
2,3,4,5-tetraakloorifenoli	0,1037	0,1024	0,1014	0,1047	0,1012	0,1062	0,1007	0,1016
2,3,4,6-terakloorifenoli	0,0995	0,1003	0,1015	0,1072	0,1073	0,1072	0,1072	0,1124
2,4,5-Trikloorifenoli	0,1075	0,1073	0,1114	0,1128	0,1135	0,1134	0,1091	0,1156
2,4,6-Trikloorifenoli	0,0995	0,1025	0,1017	0,0989	0,1007	0,1023	0,0976	0,1019

	Näyte 1	Näyte 2	Näyte 3	Näyte 4
2-kloorifenoli	0,0956	0,0926	0,0924	0,0962
3-kloorifenoli	0,1018	0,0965	0,0992	0,1063
4-kloorifenoli	0,0962	0,0940	0,0956	0,0910
2,6-dikloorifenoli	0,1002	0,0988	0,1002	0,0888
3,5-dikloorifenoli	0,0928	0,0939	0,0912	0,0942
2,4- ja 2,5-dikloorifenoli	0,1043	0,1050	0,1078	0,1077
2,3-dikloorifenoli	0,0990	0,0976	0,0935	0,0952
3,4-dikloorifenoli	0,0980	0,0966	0,0975	0,0995
2,3,5-trikloorifenoli	0,1035	0,1043	0,1111	0,1112
2,3,4-trikloorifenoli	0,1073	0,1084	0,1057	0,0961
2,3,6-trikloorifenoli	0,1012	0,1006	0,1005	0,1027
3,4,5-trikloorifenoli	0,1032	0,1022	0,1054	0,1033
Pentakloorifenoli	0,1085	0,1465	0,1070	0,1056
2,3,5,6-tetrakloorifenoli	0,1119	0,1089	0,1097	0,1007
2,3,4,5-tetrakloorifenoli	0,1031	0,1030	0,1037	0,1011
2,3,4,6-tetrakloorifenoli	0,0999	0,1044	0,1073	0,1098
2,4,5-trikloorifenoli	0,1074	0,1121	0,1135	0,1124
2,4,6-trikloorifenoli	0,1010	0,1003	0,1015	0,0998

Teoreettinen pitoisuus (mg/kg)	0,1
--------------------------------	-----

	Nollamaan pitoisuus (mg/kg)													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
2-kloorifenoli	0,0949	0,0924	0,0901	0,0898	0,0908	0,0893	0,0895	0,0958	0,1019	0,0889	0,0892	0,0868	0,0946	0,1027
3-kloorifenoli	0,0937	0,0935	0,0897	0,0967	0,0927	0,0974	0,0911	0,0947	0,1039	0,0949	0,0936	0,0835	0,1086	0,1112
4-kloorifenoli	0,0949	0,0910	0,0886	0,0887	0,0857	0,0854	0,0855	0,0912	0,0999	0,0886	0,0864	0,0869	0,1046	0,1027
2,6-Dikloorifenoli	0,0977	0,0953	0,0945	0,0944	0,0951	0,0971	0,0936	0,0987	0,1046	0,0921	0,0927	0,0916	0,0983	0,1047
3,5-Dikloorifenoli	0,0992	0,0963	0,0971	0,0892	0,0913	0,1020	0,0896	0,0992	0,1026	0,0944	0,0888	0,0912	0,0963	0,1026
2,4- ja 2,5-Dikloorifenoli	0,0977	0,0949	0,0946	0,0978	0,0987	0,0989	0,0972	0,0989	0,1060	0,0931	0,0960	0,0943	0,1040	0,1120
2,3-Dikloorifenoli	0,0958	0,0940	0,0926	0,0876	0,0883	0,0901	0,0884	0,0965	0,1012	0,0910	0,0865	0,0878	0,0979	0,1034
3,4-Dikloorifenoli	0,0975	0,0952	0,0960	0,0919	0,0935	0,0966	0,0932	0,0978	0,1028	0,0939	0,0916	0,0910	0,0996	0,1059
2,3,5-Trikloorifenoli	0,0951	0,0932	0,0959	0,0964	0,0975	0,1005	0,0959	0,0970	0,1030	0,0954	0,0953	0,0939	0,1099	0,1151
2,3,4-Trikloorifenoli	0,0999	0,0967	0,0994	0,1008	0,1003	0,1049	0,1001	0,1011	0,1060	0,0989	0,0993	0,0994	0,0947	0,1002
2,3,6-Trikloorifenoli	0,0986	0,0937	0,0978	0,0945	0,0942	0,0979	0,0943	0,0988	0,1026	0,0979	0,0942	0,0960	0,1095	0,1153
3,4,5-Trikloorifenoli	0,1023	0,0975	0,1025	0,0973	0,0971	0,0941	0,0971	0,1023	0,1052	0,0993	0,0977	0,0995	0,1063	0,1036
Penta-kloorifenoli	0,1046	0,1046	0,1042	0,1041	0,1011	0,1064	0,1017	0,1044	0,1045	0,1043	0,1017	0,1076	0,1053	0,1094
2,3,5,6-tetrakloorifenoli	0,1003	0,0991	0,0993	0,1004	0,0991	0,1027	0,0983	0,0982	0,1008	0,0980	0,0978	0,0984	0,0983	0,1041
2,3,4,5-tetrakloorifenoli	0,1005	0,0999	0,0982	0,1011	0,0957	0,1015	0,0983	0,0999	0,1023	0,0994	0,0972	0,1001	0,1031	0,1044
2,3,4,6-tera-kloorife noli	0,1028	0,1025	0,1013	0,1030	0,1008	0,1060	0,1013	0,1034	0,1042	0,1018	0,0991	0,1053	0,1089	0,1149
2,4,5-Trikloorifenoli	0,1016	0,0984	0,0991	0,1034	0,1020	0,1059	0,0999	0,1023	0,1055	0,1000	0,1002	0,1013	0,1090	0,1150
2,4,6-Trikloorifenoli	0,0953	0,0945	0,0978	0,0932	0,0935	0,0975	0,0935	0,0963	0,1034	0,0960	0,0944	0,0922	0,1012	0,1068

	Näyte 1	Näyte 2	Näyte 3	Näyte 4	Näyte 5	Näyte 6	Näyte 7
2-kloorifenoli	0,0937	0,0900	0,0900	0,0926	0,0954	0,0880	0,0987
3-kloorifenoli	0,0936	0,0932	0,0951	0,0929	0,0994	0,0886	0,1099
4-kloorifenoli	0,0929	0,0886	0,0855	0,0884	0,0943	0,0866	0,1037
2,6-dikloorifenoli	0,0965	0,0944	0,0961	0,0961	0,0983	0,0922	0,1015
3,5-dikloorifenoli	0,0978	0,0931	0,0967	0,0944	0,0985	0,0900	0,0994
2,4- ja 2,5-dikloorifenoli	0,0963	0,0962	0,0988	0,0981	0,0996	0,0951	0,1080
2,3-dikloorifenoli	0,0949	0,0901	0,0892	0,0924	0,0961	0,0872	0,1007
3,4-dikloorifenoli	0,0964	0,0940	0,0950	0,0955	0,0983	0,0913	0,1028
2,3,5-trikloorifenoli	0,0942	0,0962	0,0990	0,0964	0,0992	0,0946	0,1125
2,3,4-trikloorifenoli	0,0983	0,1001	0,1026	0,1006	0,1025	0,0994	0,0975
2,3,6-trikloorifenoli	0,0961	0,0962	0,0960	0,0966	0,1003	0,0951	0,1124
3,4,5-trikloorifenoli	0,0999	0,0999	0,0956	0,0997	0,1023	0,0986	0,1050
Pentakloorifenoli	0,1046	0,1041	0,1037	0,1031	0,1044	0,1046	0,1073
2,3,5,6-tetrakloorifenoli	0,0997	0,0998	0,1009	0,0983	0,0994	0,0981	0,1017
2,3,4,5-tetrakloorifenoli	0,1002	0,0997	0,0986	0,0991	0,1009	0,0986	0,1037
2,3,4,6-tetrakloorifenoli	0,1026	0,1021	0,1034	0,1024	0,1030	0,1022	0,1119
2,4,5-trikloorifenoli	0,1000	0,1013	0,1039	0,1011	0,1027	0,1008	0,1120
2,4,6-trikloorifenoli	0,0949	0,0955	0,0955	0,0949	0,0997	0,0933	0,1040

Liite 5. Laajennetun mittausepävarmuuden näytteiden pitoisuudet ja tulokset

Teoreettinen pitoisuus (mg/kg)		0,05											
	Näyte 1	Näyte 2	Näyte 3	Näyte 4	Näyte 5	Näyte 6	Näyte 7	Näyte 8	Näyte 9	Näyte 10	Näyte 11	Näyte 12	
2-kloorifenoli	0,0532	0,0520	0,0534	0,0513	0,0518	0,0558	0,0503	0,0449	0,0498	0,0499	0,0497	0,0528	
3-kloorifenoli	0,0559	0,0553	0,0592	0,0484	0,0443	0,0557	0,0379	0,0375	0,0570	0,0490	0,0476	0,0556	
4-kloorifenoli	0,0561	0,0535	0,0560	0,0490	0,0512	0,0553	0,0500	0,0496	0,0551	0,0563	0,0531	0,0548	
2,6-Dikloorifenoli	0,0502	0,0495	0,0513	0,0489	0,0512	0,0545	0,0506	0,0487	0,0536	0,0528	0,0463	0,0504	
3,5-Dikloorifenoli	0,0482	0,0518	0,0555	0,0533	0,0481	0,0501	0,0485	0,0488	0,0528	0,0535	0,0448	0,0546	
2,4- ja 2,5-Dikloorifenoli	0,0537	0,0514	0,0547	0,0506	0,0517	0,0544	0,0511	0,0495	0,0550	0,0536	0,0483	0,0519	
2,3-Dikloorifenoli	0,0521	0,0495	0,0552	0,0556	0,0516	0,0541	0,0520	0,0510	0,0569	0,0579	0,0497	0,0542	
3,4-Dikloorifenoli	0,0515	0,0507	0,0530	0,0517	0,0513	0,0539	0,0513	0,0505	0,0566	0,0562	0,0462	0,0518	
2,3,5-Trikloorifenoli	0,0480	0,0472	0,0480	0,0443	0,0496	0,0517	0,0495	0,0473	0,0527	0,0519	0,0433	0,0478	
2,3,4-Trikloorifenoli	0,0487	0,0481	0,0492	0,0557	0,0656	0,0667	0,0652	0,0643	0,0552	0,0684	0,0445	0,0486	
2,3,6-Trikloorifenoli	0,0515	0,0496	0,0521	0,0449	0,0462	0,0470	0,0464	0,0452	0,0581	0,0488	0,0475	0,0512	
3,4,5-Trikloorifenoli	0,0505	0,0491	0,0502	0,0493	0,0532	0,0534	0,0537	0,0512	0,0559	0,0557	0,0455	0,0493	
Pentakloorifenoli	0,0496	0,0475	0,0471	0,0488	0,0541	0,0518	0,0556	0,0540	0,0533	0,0533	0,0471	0,0471	
2,3,5,6-tetrakloorifenoli	0,0541	0,0536	0,0531	0,0516	0,0504	0,0530	0,0508	0,0492	0,0526	0,0519	0,0491	0,0540	
2,3,4,5-tetrakloorifenoli	0,0477	0,0453	0,0473	0,0477	0,0551	0,0539	0,0554	0,0528	0,0532	0,0545	0,0438	0,0456	
2,3,4,6-terakloorifenoli	0,0508	0,0490	0,0485	0,0493	0,0552	0,0538	0,0563	0,0549	0,0555	0,0572	0,0468	0,0486	
2,4,5-Trikloorifenoli	0,0505	0,0494	0,0486	0,0461	0,0530	0,0540	0,0527	0,0512	0,0552	0,0552	0,0449	0,0495	
2,4,6-Trikloorifenoli	0,0501	0,0495	0,0512	0,0479	0,0517	0,0539	0,0524	0,0509	0,0552	0,0549	0,0461	0,0500	

Teoreettinen pitoisuus (mg/kg)	0,05
--------------------------------	------

	Keskiarvo	Keskiahajonta	Lukumäärä	Vapausaste	Luottamustaso	Keskivirhe	Vaihteluväli R	Studentt	Luottamusväli
2-kloorifenoli	0,0512	0,00269	12	11	0,95	0,001	0,011	2,2010	0,0018
3-kloorifenoli	0,0503	0,00740	12	11	0,95	0,002	0,022	2,2010	0,0049
4-kloorifenoli	0,0533	0,00273	12	11	0,95	0,001	0,007	2,2010	0,0018
2,6-Dikloorifenoli	0,0507	0,00226	12	11	0,95	0,001	0,008	2,2010	0,0015
3,5-Dikloorifenoli	0,0508	0,00324	12	11	0,95	0,001	0,011	2,2010	0,0021
2,4- ja 2,5-Dikloorifenoli	0,0522	0,00215	12	11	0,95	0,001	0,007	2,2010	0,0014
2,3-Dikloorifenoli	0,0533	0,00275	12	11	0,95	0,001	0,008	2,2010	0,0018
3,4-Dikloorifenoli	0,0521	0,00273	12	11	0,95	0,001	0,010	2,2010	0,0018
2,3,5-Trikloorifenoli	0,0484	0,00287	12	11	0,95	0,001	0,009	2,2010	0,0019
2,3,4-Trikloorifenoli	0,0567	0,00884	12	11	0,95	0,003	0,024	2,2010	0,0059
2,3,6-Trikloorifenoli	0,0490	0,00376	12	11	0,95	0,001	0,013	2,2010	0,0025
3,4,5-Trikloorifenoli	0,0514	0,00305	12	11	0,95	0,001	0,010	2,2010	0,0020
Penta-kloorifenoli	0,0508	0,00324	12	11	0,95	0,001	0,009	2,2010	0,0021
2,3,5,6-tetra-kloorifenoli	0,0520	0,00176	12	11	0,95	0,001	0,005	2,2010	0,0012
2,3,4,5-tetra-kloorifenoli	0,0502	0,00433	12	11	0,95	0,001	0,012	2,2010	0,0029
2,3,4,6-tera-kloorifenoli	0,0522	0,00365	12	11	0,95	0,001	0,010	2,2010	0,0024
2,4,5-Trikloorifenoli	0,0509	0,00334	12	11	0,95	0,001	0,010	2,2010	0,0022
2,4,6-Trikloorifenoli	0,0512	0,00273	12	11	0,95	0,001	0,009	2,2010	0,0018

Teoreettinen pitoisuus (mg/kg)	0,1
--------------------------------	-----

	Näyte 1	Näyte 2	Näyte 3	Näyte 4	Näyte 5	Näyte 6	Näyte 7	Näyte 8	Näyte 9	Näyte 10	Näyte 11	Näyte 12
2-kloorifenoli	0,0982	0,0958	0,0934	0,0931	0,0941	0,0926	0,0928	0,0991	0,1052	0,0922	0,0925	0,0901
3-kloorifenoli	0,0979	0,0976	0,0939	0,1008	0,0968	0,1016	0,0952	0,0989	0,1080	0,0990	0,0977	0,0876
4-kloorifenoli	0,0981	0,0943	0,0918	0,0920	0,0890	0,0887	0,0888	0,0945	0,1032	0,0919	0,0897	0,0902
2,6-Dikloorifenoli	0,0977	0,0953	0,0945	0,0944	0,0951	0,0971	0,0936	0,0987	0,1046	0,0921	0,0927	0,0916
3,5-Dikloorifenoli	0,0993	0,0964	0,0971	0,0893	0,0914	0,1021	0,0897	0,0993	0,1027	0,0945	0,0889	0,0913
2,4- ja 2,5-Dikloorifenoli	0,0977	0,0949	0,0946	0,0978	0,0987	0,0990	0,0973	0,0989	0,1061	0,0931	0,0960	0,0943
2,3-Dikloorifenoli	0,0975	0,0957	0,0944	0,0893	0,0901	0,0918	0,0901	0,0982	0,1030	0,0927	0,0883	0,0895
3,4-Dikloorifenoli	0,0985	0,0962	0,0970	0,0929	0,0945	0,0976	0,0942	0,0988	0,1038	0,0949	0,0926	0,0920
2,3,5-Trikloorifenoli	0,0952	0,0933	0,0960	0,0964	0,0975	0,1005	0,0959	0,0971	0,1030	0,0955	0,0954	0,0940
2,3,4-Trikloorifenoli	0,0999	0,0967	0,0994	0,1008	0,1003	0,1049	0,1002	0,1011	0,1060	0,0989	0,0993	0,0995
2,3,6-Trikloorifenoli	0,0986	0,0937	0,0978	0,0945	0,0942	0,0979	0,0943	0,0988	0,1026	0,0979	0,0942	0,0960
3,4,5-Trikloorifenoli	0,1023	0,0975	0,1025	0,0973	0,0971	0,0941	0,0971	0,1023	0,1052	0,0993	0,0977	0,0995
Pentakloorifenoli	0,1046	0,1046	0,1042	0,1041	0,1011	0,1064	0,1017	0,1044	0,1045	0,1043	0,1017	0,1076
2,3,5,6-tetrakloorifenoli	0,1004	0,0992	0,0994	0,1005	0,0992	0,1029	0,0984	0,0984	0,1010	0,0982	0,0980	0,0986
2,3,4,5-tetrakloorifenoli	0,1005	0,0999	0,0982	0,1012	0,0957	0,1015	0,0984	0,0999	0,1024	0,0994	0,0972	0,1001
2,3,4,6-terakloorifenoli	0,1028	0,1025	0,1013	0,1030	0,1008	0,1060	0,1013	0,1034	0,1042	0,1018	0,0991	0,1054
2,4,5-Trikloorifenoli	0,1016	0,0984	0,0991	0,1034	0,1020	0,1059	0,0999	0,1023	0,1055	0,1000	0,1002	0,1013
2,4,6-Trikloorifenoli	0,0953	0,0945	0,0978	0,0932	0,0936	0,0975	0,0935	0,0963	0,1034	0,0960	0,0944	0,0922

Teoreettinen pitoisuus (mg/kg)	0,1
--------------------------------	-----

	Keskiarvo	Keskiahajonta	Lukumäärä	Vapausaste	Luottamustaso	Keskivirhe	Vaihteluväli R	Student t	Luottamusväli
2-kloorifenoli	0,0949	0,00413	12	11	0,95	0,001	0,015	2,2010	0,0027
3-kloorifenoli	0,0979	0,00482	12	11	0,95	0,001	0,020	2,2010	0,0032
4-kloorifenoli	0,0927	0,00436	12	11	0,95	0,001	0,015	2,2010	0,0029
2,6-Dikloorifenoli	0,0956	0,00358	12	11	0,95	0,001	0,013	2,2010	0,0024
3,5-Dikloorifenoli	0,0952	0,00503	12	11	0,95	0,001	0,014	2,2010	0,0033
2,4- ja 2,5-Dikloorifenoli	0,0974	0,00338	12	11	0,95	0,001	0,013	2,2010	0,0022
2,3-Dikloorifenoli	0,0934	0,00448	12	11	0,95	0,001	0,015	2,2010	0,0030
3,4-Dikloorifenoli	0,0961	0,00333	12	11	0,95	0,001	0,012	2,2010	0,0022
2,3,5-Trikloorifenoli	0,0967	0,00272	12	11	0,95	0,001	0,010	2,2010	0,0018
2,3,4-Trikloorifenoli	0,1006	0,00255	12	11	0,95	0,001	0,009	2,2010	0,0017
2,3,6-Trikloorifenoli	0,0967	0,00269	12	11	0,95	0,001	0,009	2,2010	0,0018
3,4,5-Trikloorifenoli	0,0993	0,00316	12	11	0,95	0,001	0,011	2,2010	0,0021
Pentakloorifenoli	0,1041	0,00189	12	11	0,95	0,001	0,007	2,2010	0,0013
2,3,5,6-tetrakloorifenoli	0,0995	0,00144	12	11	0,95	0,000	0,005	2,2010	0,0010
2,3,4,5-tetrakloorifenoli	0,0995	0,00189	12	11	0,95	0,001	0,007	2,2010	0,0013
2,3,4,6-terakloorifenoli	0,1026	0,00195	12	11	0,95	0,001	0,007	2,2010	0,0013
2,4,5-Trikloorifenoli	0,1016	0,00236	12	11	0,95	0,001	0,007	2,2010	0,0016
2,4,6-Trikloorifenoli	0,0957	0,00301	12	11	0,95	0,001	0,011	2,2010	0,0020