



Osaamista
ja oivallusta
tulevaisuuden
tekemiseen

Annika Penttinen

Akryyliamidin määrittäminen talousvedestä UHPLC-MS-menetelmällä

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Laboratorioanalytiikka (AMK)

Laboratorioanalytiikka

Opinnäytetyö

2.3.2021

Tekijä Otsikko Sivumäärä Aika	Annika Penttinen Akryyliamidin määrittäminen talousvedestä UHPLC-MS-menetelmällä 45 sivua + 2 liitettä 2.3.2021
Tutkinto	laboratorioanalyttikko (AMK)
Tutkinto-ohjelma	laboratorioanalytiikka
Ohjaajat	kemisti Jaana Saukko yliopettaja Jukka Niiranen tiimipäällikkö, Kemisti Sonja Latvakoski
<p>Akryyliamidi on vesiliukoinen orgaaninen yhdiste, jota käytetään esimerkiksi teollisuudessa eri tuotantoprosesseissa. Sitä voi esiintyä talousvedessä pieninä pitoisuuksina hyvän vesiliukoisuutensa vuoksi, ja sitä muodostuu korkeissa lämpötiloissa ruuan valmistuksen aikana joissakin elintarvikkeissa. Akryyliamidi on todettu eläinkokeissa eläimille mutageeniseksi ja karsinogeeniseksi aineeksi, minkä vuoksi sen on todettu olevan sitä mahdollisesti myös ihmisille. Tästä syystä akryyliamidin määrää halutaan seurata esimerkiksi päivittäisissä elintarvikkeissa.</p> <p>Tämä opinnäytetyö tehtiin Metropolilab Oy:lle ja siihen kuuluva laboratoriotyöskentely suoritettiin Metropolilabin orgaanisen kemian osastolla. Työn aiheena oli talousveden akryyliamidimääritys UHPLC-MS-menetelmällä, sen kehitys ja validointi. Tavoitteena oli muuttaa esikäsittelymenetelmää kylmäkuivauksesta automatisoituun kiinteäfaasiuuttoon, joka vähentäisi esikäsittelyyn kuluva aikaa huomattavasti. Tarkoituksena oli testata kolmea erilaista uuttopatruunaa ja valita niistä testien perusteella paras, joka validoitaisiin menetelmän käyttöön.</p> <p>Uuttopatruunoiden testauksessa ilmeni erilaisia ongelmia, kuten uuton aikana sisäisessä standardissa tapahtuva hävikki, ja näytteiden sekä asetonitriili-injektoiden kromatogrammeissa esiintyvät häiriöt. Ongelmien syyt ei monien testien jälkeenkään saatu selvitettyä, mutta syyksi epäiltiin esimerkiksi laitteiden tai liuosten kontaminaatiota, talousvedessä esiintyvää akryyliamidia tai epäoptimaalista uuttomenetelmää.</p> <p>Menetelmää ei saatu toistettavaksi ja luotettavasti toimivaksi, joten validointia ei voitu suorittaa. Menetelmän kehitystä ja esikäsittelymenetelmän optimointia täytyy jatkaa, jotta ongelmien syyt saadaan selvitettyä ja menetelmä saadaan luotettavasti toimivaksi.</p>	
Avainsanat	akryyliamidi, kiinteäfaasiuutto, SPE, HPLC-MS

Author Title	Annika Penttinen Determination of Acrylamide in Domestic Water by UHPLC-MS
Number of Pages Date	45 pages + 2 appendices 2 March 2021
Degree	Bachelor of Laboratory Services
Degree Programme	Laboratory Sciences
Instructors	Jaana Saukko, Chemist Jukka Niiranen, Principal Lecturer Sonja Latvakoski, Team leader, Chemist
<p>Acrylamide is a water-soluble organic compound, which is used for example in various production processes in industry. It can be present in domestic water in small amounts due to its good water solubility and it can be formed in foods during preparation at high temperatures. Acrylamide has been found to be mutagenic and carcinogenic to animals in animal experiments, which is why it might be that to humans as well. For this reason, the amount of acrylamide is desired to be monitored in daily foodstuff.</p> <p>This thesis work was made for Metropolilab Oy and its practical tests were made at Metropolilab's department of organic chemistry. The purpose of the work was the method development for the determination of acrylamide in domestic water by UHPLC-MS, and its validation. The aim was to change the pretreatment method from freeze-drying to automated solid phase extraction, which would significantly reduce the pretreatment time. The intention was to test three different extraction cartridges and choose the best one based on the tests and validate it for the method.</p> <p>Various problems appeared during testing of the extraction, such as the loss in the internal standard during extraction and disturbance in the chromatograms of the samples and of the acetonitrile injections. The causes of the problems could not be determined even after many tests, but suspected causes were contamination of equipment or solutions, acrylamide in domestic water or suboptimal extraction method.</p> <p>The method could not be performed neither repeatedly nor reliably, which is why the validation could not be performed. The method development and the optimization of the pretreatment method must be continued in order to solve the causes of the problems of the method and to make the method work reliably.</p>	
Keywords	acrylamide, solid-phase extraction, SPE, HPLC-MS

Sisällys

Lyhenteet

1	Johdanto	1
2	Akryyliamidi	2
2.1	Akryyliamidi talousvedessä	4
2.2	Akryyliamidi elintarvikkeissa	4
3	Esikäsittely- ja analysointimenetelmät	5
3.1	Kylmäkuivaus	5
3.2	Kiinteäfaasiuutto	6
3.3	Tuettu nesteuutto	7
3.4	Korkean erotuskyvyn nestekromatografia-massaspektrometria	8
4	Materiaalit ja laitteistot	13
4.1	Reagenssit	13
4.2	Uuttopatruunat	14
4.3	Uuttomenetelmät	15
4.4	Laitteet ja parametrit	17
5	Työn toteutus	19
5.1	Liuosten valmistus	19
5.2	Näytteiden valmistus	20
5.3	Toteutus	21
6	Tulokset ja tulosten tarkastelu	26
6.1	Tulokset	26
6.2	Tulosten tarkastelu	38
7	Yhteenveto ja johtopäätökset	40
	Lähteet	43
	Liitteet	

Liite 1. Sähköpostit

Liite 2. Ajojen tulokset

Lyhenteet

ACN	Acetonitrile. Asetonitrilli.
CONTAM	The Panel on Contaminants in the Food Chain. Elintarvikeketjun vierasaineita käsittelevä tiedelautakunta.
C18	Octadecylsilane. Oktadekyylisilaani.
EFSA	European Food Safety Authority. Euroopan elintarviketurvallisuusviranomainen.
ESI	Electrospray Ionization. Sähkösumutusionisointi.
ETY	Euroopan talousyhteisö.
EU	European Union. Euroopan unioni.
FINAS	Finnish Accreditation Service. Suomen kansallinen akkreditointielin.
GC-MS	Gas Chromatography-Mass Spectrometry. Kaasukromatografia-massaspektrometria.
IARC	International Agency for Research on Cancer. Kansainvälinen syöväntutkimuslaitos.
ISTD	Internal Standard. Sisäinen standardi.
LLE	Liquid-Liquid Extraction. Neste-nesteuutto.
MRM	Multiple Reaction Monitoring.
MS	Mass Spectrometry. Massaspektrometria.

m/z	Mass-to-Charge Ratio. Massa-varaussuhde.
SLE	Supported Liquid Extraction. Tuettu nesteutto.
SPE	Solid-Phase Extraction. Kiinteäfaasiutto.
UHPLC	Ultra High Performance Liquid Chromatography. Erittäin korkean erotuskyvyn nestekromatografia.
UHPLC-MS	Ultra High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. Erittäin korkean erotuskyvyn nestekromatografia-massaspektrometria.
WHO	World Health Organization. Maailman terveysjärjestö.

1 Johdanto

Akryyliamidi on vesiliukoinen orgaaninen yhdiste, jota käytetään esimerkiksi teollisuudessa väriaineiden, liimojen ja raakaöljyn tuotantoprosesseissa, paperin valmistuksessa, sekä jäte- ja talousveden käsittelyssä. Akryyliamidia esiintyy myös tupakan savussa, ja sitä muodostuu tietyissä elintarvikkeissa niissä esiintyvien ainesosien, sokereiden ja aminohappojen, vaikutuksesta, kun ruokaa valmistetaan korkeissa lämpötiloissa. [1; 2.]

EFSA:n (European food safety authority) eli Euroopan elintarviketurvallisuusviranomaisen alaisena toimiva vierasaineita käsittelevä tiedelautakunta CONTAM on antanut ke- säkuussa 2015 lausunnon, jonka mukaan elintarvikkeissa esiintyvä akryyliamidi saattaa lisätä kuluttajien riskiä sairastua syöpään. Nykyinen ruokavaliosta saatava akryyliamidin määrä ja sille altistuminen aiheuttaa huolta ihmisille aiheutuvista karsinogeenisistä vaikutuksista. Tämän vuoksi Euroopan komissio on tehnyt akryyliamidiasetuksen (2017/2158) 11. marraskuuta 2017, jonka mukaan elintarvikealan toimijoiden on pyrittävä omalla toiminnallaan vähentämään akryyliamidin pitoisuutta elintarvikkeissa. Suomessa esimerkiksi sosiaali- ja terveysalan lupa- ja valvontavirasto Valvira on talousvesi- asetuksessaan asettanut talousvedessä esiintyvän akryyliamidin enimmäisarvoksi 0,10 µg/l:ssa [3]. [2; 4.]

Tämä opinnäytetyö tehtiin Metropolilab Oy:n orgaanisen kemian osastolla. Metropolilab Oy on Helsingin, Espoon, Vantaan ja Kauniaisen omistuksessa oleva elintarvike-, vesi- ja ympäristölaboratorio. Se on aloittanut toimintansa vuonna 1884, ja nykyinen laboratorio on muodostunut Vantaan ja Helsingin ympäristölaboratorioiden yhdistyttyä vuonna 2008. Metropolilab Oy on FINASin (Finnish Accreditation Service) eli Suomen kansallisen akkreditointielimen akkreditoima laboratorio, joka toimii akkreditointivaatimuksen, standardin SFS-EN ISO/IEC 17025, mukaan. Laboratoriolla on laajin Suomessa tehtävien analyysien pätevyysalue, ja se on saanut toiminnastaan avainlipun merkinä suomalaisesta työstä. [5.]

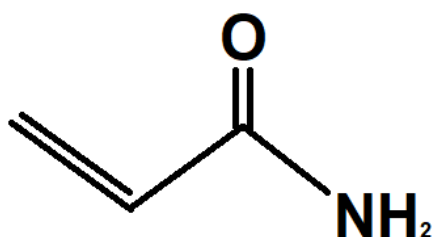
Opinnäytetyön aiheena oli akryyliamidimäärittämisen menetelmän kehitys, kun näytematriisina toimi talousvesi. Tavoitteena oli kehittää jo olemassa olevan

analysointimenetelmän esikäsittelyä aiempaa nopeammaksi eli muuttaa esikäsittelyä kylmäkuivauksesta automatisoituun kiinteäfaasiuuttoon.

Tässä opinnäytetyössä testattiin kolmea erilaista kiinteäfaasiuuttoon tai tuettuun nesteuuttoon perustuvaa uuttopatruunaa akryyliamidin määrittämisessä talousvedestä. Testien tulosten perusteella oli tarkoitus valita parhaaksi osoittautunut uuttopatruuna ja validoida se menetelmän käyttöön.

2 Akryyliamidi

Akryyliamidi on ulkomuodoltaan hajutonta ja väritöntä tai valkoista kiinteää kiteistä ainetta, jolla on hyvä liukoisuus veteen. Se ärsyttää voimakkaasti silmiä ja ihoa, on haitallinen hengitettynä ja joutuessaan iholle, on myrkyllistä nieltynä sekä vahingoittaa elimiä pitkäaikaisessa tai toistuvassa altistumisessa. Akryyliamidi on luokiteltu Euroopan parlamentin ja neuvoston asetuksen (EY) N:o 1272/2008 aineluettelossa syöpäsairauden vaaraa aiheuttavissa ja perimää vaurioittavissa aineissa kategoriaan 1B. Lisääntymiselle vaarallisten aineiden aineluettelossa akryyliamidi on luokiteltu kategoriaan 2. Kategorian 1B ja 2 aineisiin tulee suhtautua niin kuin ne olisivat syöpää aiheuttavia, perimää vaurioittavia ja lisääntymiselle vaarallisia aineita. Akryyliamidia on saatavilla kiinteänä kiteisenä jauheena tai 40–50-prosenttisena vesiliuoksena. (Kuva 1.) [1.]



Kuva 1. Akryyliamidin rakennekaava.

Akryyliamidista valmistetaan vesiliukoisia polymeereja, joita käytetään teollisuudessa eri tuotantoprosesseissa sekä apuaineina paperin valmistuksessa ja jäte- ja talousveden käsittelyssä. Akryyliamidimonomeeria käytetään rakennusteollisuudessa

injektointimassojen tuotannoissa. Injektointimassaa käytetään injektoinnissa, jossa nestemäistä kovettuvaa massaa pumpataan maan, kallion tai betonirakenteiden sisään tarkoituksena vahvistaa ja lujittaa injektoinnin kohteena olevaa rakennetta [6]. Akryyliamidia käytetään myös laboratorioissa esimerkiksi polyakryyliamidigeelin valmistukseen. Polyakryyliamidigeeliä käytetään deoksiribonukleiinihapon eli DNA:n molekyylien ja fragmenttien erotteluun [7]. [1.]

Akryyliamidin pöly, sumu ja roiskeet ärsyttävät silmiä, limakalvoja ja ihoa. Laajan alueen altistuminen esimerkiksi roiskeelle voi aiheuttaa myrkytyksen, ja vakavasta myrkytyksestä voi seurata pysyviä keskushermostovaurioita. Toistuva altistuminen aiheuttaa keskus- ja ääreishermostossa toiminnallisia häiriöitä, ja vauriot voivat olla lopulta palautumattomia. Akryyliamidin on todettu eläinkokeissa olevan mutageeninen ja karsinogeeninen aine, minkä perusteella kansainvälinen syöväntutkimuslaitos IARC (International Agency for Research on Cancer) on arvioinut akryyliamidin olevan todennäköisesti syöpää aiheuttava aine myös ihmisille. [1.]

Ilmaan joutuneen akryyliamidin puoliintumisajaksi on arvioitu 6–8 tuntia. Se hajoaa ilmassa esiintyvien hydroksyyliiradikaalien vaikutuksesta nopeasti. Hydroksyyliiradikaalit ovat hapestä ja vedystä koostuvia lyhytikäisiä molekyyliä, jotka reagoivat herkästi ilmakehässä esiintyvien saasteiden kanssa [8]. Hyvin vesiliukoinen akryyliamidi voi huuhtoutua sateen mukana ilmasta maahan ja kulkeutua maaperässä helposti eteenpäin. Akryyliamidin puoliintumisajaksi maaperässä on arvioitu noin kuukausi, joten se on kohtalaisen nopeasti hajoava aine aerobisissa olosuhteissa. Se voi kuitenkin kulkeutua ympäristössä sellaisiin olosuhteisiin, jossa sen hajoaminen ei ole mahdollista. Akryyliamidin hajoaminen riippuu maaperän laadusta, pH:sta ja lämpötilasta. Parhaimmat hajoamisolosuhteet sille ovat korkea lämpötila ja pH. [1.]

Vesiliukoisena yhdisteenä akryyliamidin haihtuminen pintavedestä on epätodennäköistä. Pieninä alle 2 mg/l:ssa pitoisuuksina akryyliamidi on nopeasti biologisesti hajoaava (100 % / 28 vrk), mutta jo 5 mg/l:ssa pitoisuutena sen hajoaminen hidastuu puolella (53 % / 28 vrk). Suurempina pitoisuuksina akryyliamidi on hajottajamikrobeille myrkyllistä, ja sen vuoksi hajoaminen hidastuu entisestään tai jopa täysin pysähtyy. Akryyliamidi on haitallista vesielioille, mutta voimassa olevien kriteerien perusteella sitä ei ole

luokiteltu ympäristölle vaaralliseksi, eikä sen ole todettu merkittävästi biokonsentroituvan luontoon joutuessaan [4]. [1.]

2.1 Akryyliamidi talousvedessä

Vesiliukoisuutensa vuoksi akryyliamidia voi joutua talousveteen esimerkiksi jäte- ja talousveden käsittelyn seurauksena, sillä sitä esiintyy saostuksessa käytettävissä polyakryyliamidipohjaisissa apuaineissa epäpuhtautena. Akryyliamidia voi joutua talousveteen myös esimerkiksi polyakryyliamidia sisältävistä injektointimassoista. [3.]

Maailman terveysjärjestö WHO:n (World Health Organization) terveysperusteinen enimmäispitoisuussuositus akryyliamidille mitattaessa vedestä on 0,50 µg/l:ssa. Talousvedelle asetettu enimmäisarvo on 0,10 µg/l:ssa, joka lasketaan polymeerin annostelumäärän perusteella, kun tunnetaan polymeeristä tuoteselosteen mukaan enimmillään irtoava tai liukeneva akryyliamidin määrä. [3.]

2.2 Akryyliamidi elintarvikkeissa

Akryyliamidia esiintyy myös elintarvikkeissa. Sitä muodostuu elintarvikkeisiin niissä luonnostaan esiintyvistä ainesosista, asparagiinista ja sokereista, kun ruokaa valmistetaan yli 120 °C:n lämpötiloissa. Akryyliamidia esiintyy etenkin viljoissa, perunoissa ja kahvipavuisissa, sillä ne sisältävät runsaasti sen esiasteita. [2; 9.]

EFSA on arvioinut tieteellisen riskinarvioinnin perusteella akryyliamidin saattavan lisätä kuluttajien riskiä sairastua syöpään. Akryyliamidia esiintyy monissa päivittäin kulutettavissa elintarvikkeissa, joten riskin on katsottu koskevan kaikkia kuluttajia. [9.]

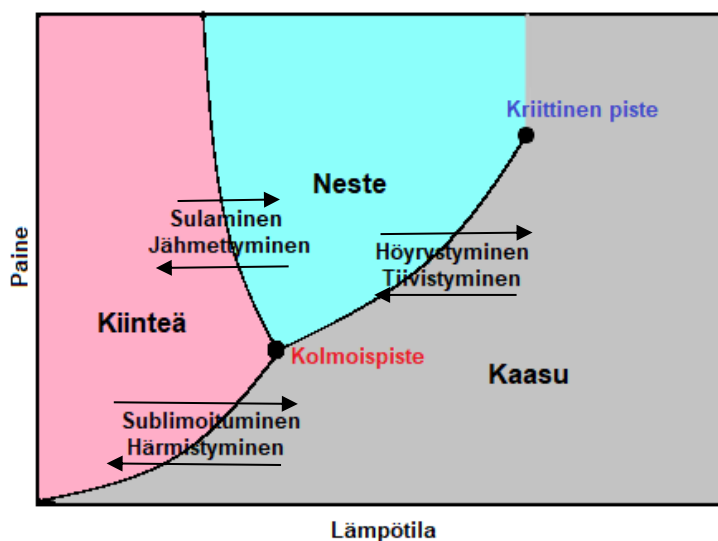
Riskinarvioinnin perusteella Euroopan komissio on tehnyt akryyliamidiasetuksen, joka käsittelee akryyliamidin vähentämistoimenpiteitä ja vertailuarvoja elintarvikkeissa. Asetus on velvoittava, ja sitä sovelletaan kaikissa jäsenvaltioissa. Tulevaisuudessa on mahdollista, että akryyliamidille tullaan asettamaan tarkat ja sitovat enimmäismäärät tietyissä elintarvikkeissa neuvoston asetuksen (ETY) N:o 315/93 mukaisesti. Keskustelut

enimmäismääristä ovat käynnistyneet Euroopan komissiossa jo akryyliamidiasetuksen voimaantulon jälkeen. [9.]

3 Esikäsittely- ja analysointimenetelmät

3.1 Kylmäkuivaus

Kylmäkuivaus on menetelmä materiaalin kuivaukseen sublimoitumista hyödyntäen. Sublimoitumisessa kiinteä aine muuttuu suoraan kaasuksi kulkematta nestefaasin kautta. Kylmäkuivauksessa näyte jäähdytetään pakastamalla, jonka jälkeen se siirretään kylmäkuivuriin. Kylmäkuivuriin luodaan alipaine, jonka täytyy olla matalampi kuin veden kolmoispisteessä, jossa veden kiinteä-, neste- ja kaasufaasi voivat esiintyä samanaikaisesti (kuva 2). Kun paine on veden kolmoispisteen olosuhteita matalampi, vesi voi muuttua kiinteästä muodostaan suoraan kaasuksi. [10.]



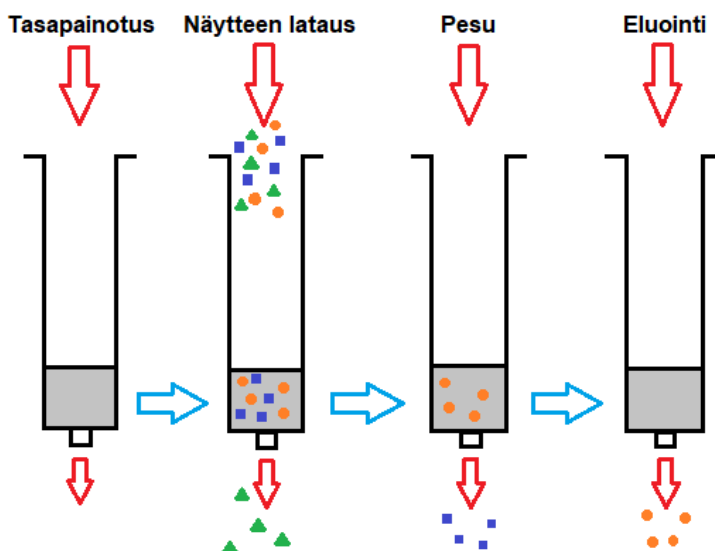
Kuva 2. Veden faasikaavio.

Lopuksi alipaineiseen kammioon lisätään lämpöenergiaa, joka saa näytteen haihtumaan. Näytteestä haihdutetaan ylimääräinen näytematriisi pois sublimoitumisen avulla,

jolloin astiaan jää jäljelle tutkittavat analyytit. Kylmäkuivattu näyte liuotetaan uudestaan haluttuun liuottimeen, jossa näyte analysoidaan. [10.]

3.2 Kiinteäfaasiuutto

SPE (solid phase extraction) eli kiinteäfaasiuutto on yleinen näytteen puhdistus- ja konsentroitimenetelmä (kuva 3). Kiinteäfaasiuutossa yleensä nestemäinen näyte ajetaan pienen kertakäyttöisen kolonnin läpi, jossa se puhdistuu ja konsentroituu. Kolonnit ovat kemiallisilta ominaisuuksiltaan vastaavanlaisia kuin nestekromatografiassa, esimerkiksi käänteisfaasi-, normaalifaasi- tai ioninvaihtokolonneja, mutta myös spesifisiä erikoismateriaaleja on saatavilla. Kiinteäfaasiuuton periaatteena on saada tutkittavat analyytit sitoutumaan kolonniin, jolloin matriisihäiriöt pestään pois näytteestä. Tämän jälkeen tutkittava analyytti eluoidaan kolonnista ja eluentti kerätään talteen. Kiinteäfaasiuutto toimii myös niin, että matriisihäiriöt sidotaan kolonniin ja tutkittavat analyytit eluoidaan kolonnista. Jotta kiinteäfaasiuutto toimisi, tutkittavan aineen kemiaan täytyy perehtyä ja sen avulla valita aineelle sopiva kolonni ja liuotin. [11.]



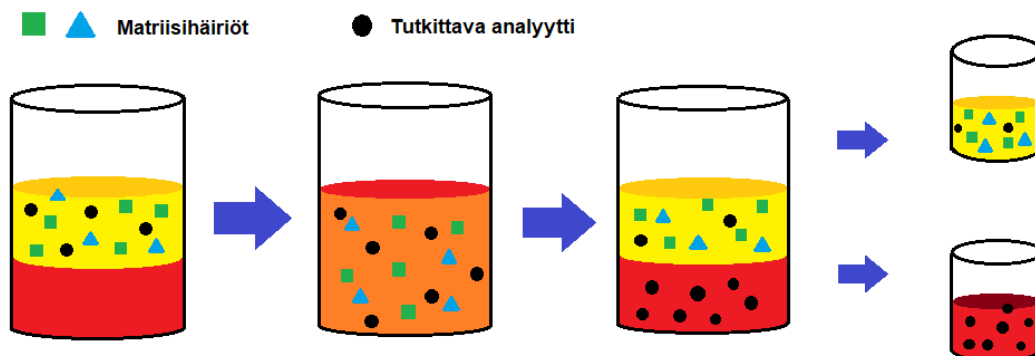
Kuva 3. Kiinteäfaasiuuton periaate kuvattuna neljän uuttovaiheen avulla. Ensimmäisenä tasapainotus, jossa kolonnin olosuhteet luodaan sopiviksi näytteen lisäystä varten. Toisena näytteen lataus, jossa näyte ladataan kolonniin. Kolmantena pesu, jossa näytteestä pestään matriisihäiriöt, ja lopuksi eluointi, jossa tutkittavat analyytit eluoidaan kolonnista.

Kiinteäfaasiuutossa on neljä vaihetta, jotka ovat kolonnin tasapainotus, näytteen lataus, pesu ja eluointi. Tyypillinen kiinteäfaasiuuttomenetelmä koostuu näiden vaiheiden yhdistelmästä. Kukin vaihe voi esiintyä uuttomenetelmässä useammin kuin kerran, riippuen menetelmästä ja sen tavoitteesta (kuva 3). [12.]

Tasapainotuksessa kolonnin kuiva pakkausmateriaali kostutetaan ja aktivoidaan sopivalla liuottimella, jolla luodaan samalla kolonnin olosuhteet sopiviksi näytteen latausta ja puhdistusta varten. Näytteen lataus -vaiheessa haluttu määrä näytettä pumpataan kolonnin läpi, ja tavoitteena on saada aikaan matriisihäiriöiden poisto ja tutkittavan analyysin kvantitatiivinen sitoutuminen. On mahdollista käyttää myös harvemmin esiintyvää vaihtoehtoa, jossa tutkittavat analyytit eluovutuvat ja matriisihäiriöt sitoutuvat kolonniin. Pesuvaiheessa tutkittavat analyytit on saatu kiinnittymään kolonnin sorbenttiin, jolloin kolonnista pestään matriisihäiriöt pois. Kun tutkittavat analyytit jäävät kolonniin, häiriöt eluovutuvat ja näyte puhdistuu. Kiinteäfaasiuuton prosessin viimeinen vaihe on analyysin kvantitatiivinen eluointi kolonnista. Tässä vaiheessa tutkittavat analyytit eluoidaan halutulla liuottimella kolonnista ja eluentti kerätään talteen. Eluointi voidaan suorittaa yhdessä tai useammassa vaiheessa, yhteen tai useampaan keräysputkeen. [12.]

3.3 Tuettu nesteuutto

SLE (supported liquid extraction) eli tuettu nesteuutto on SPE:n tapainen näytteen puhdistus- ja konsentroidintimenetelmä, mutta uuttojen periaate poikkeaa hieman toisistaan. Tuetussa nesteuutossa nestemäinen näyte ajetaan pienen kertakäyttöisen kolonnin läpi, jolloin näyte leviää tukimateriaalin huokoiselle pinnalle, jolloin sen reaktiopinta-ala lisääntyy. SLE:n tukimateriaali on itsessään inerttiä, eikä reagoi analyysin kanssa, kuten SPE-uutossa. Näytteen leviäminen tukimateriaalin pinnalle vastaa neste-nesteuuton sekoi-tusta, jossa neste hajoaa pisaroiksi, jolloin sen reaktiopinta-ala lisääntyy (kuva 4). Kun näyte on ajettu kolonnin läpi, tutkittavat analyytit eluoidaan inertin tukimateriaalin pinnalta sopivalla liuottimella ja eluentti otetaan talteen. Myös tuetussa nesteuutossa on mahdollista valita sitoutuvatko matriisihäiriöt vai tutkittavat analyytit kolonniin. Tuettu nesteuutto on nopeampi ja vaivattomampi näytteen puhdistus- ja konsentroidintimenetelmä kuin neste-nesteuutto. [13; 14.]



Kuva 4. Neste-nesteuuton periaate. Kaksi toisiinsa liukenematonta nestettä yhdistetään ja sekoitetaan, jolloin tutkittavat analyytit liukenevat haluttuun nesteeseen. Lopuksi nesteiden annetaan erottua, jonka jälkeen ne erotellaan.

Neste-nesteuutossa (liquid-liquid extraction, LLE) näyte puhdistetaan ja konsentroidaan kahden toisiinsa liukenemattoman nestefaasin avulla. Näytteessä esiintyvä analyytti siirtyy nestefaasista toiseen liukoisuuserojen mukaan, nesteiden ollessa kontaktissa toisiinsa. Neste-nesteuutto tehdään usein erotussuppilolla, jossa näytettä ravistellaan, jolloin analyytti liukenee haluttuun liuottimeen. Ravistelun jälkeen nestefaasien annetaan erottua ja lopuksi haluttu faasi eluoidaan ja kerätään talteen. Näytettä voidaan tällä tapaa puhdistaa useita kertoja peräkkäin, jolloin varmistetaan, että näyte puhdistuu. Neste-nesteuuton huonoja puolia ovat kalliit uuttovälineet, suuret orgaanisten liuottimien määrät sekä huonot takaisinsaannot epätarkan faasierotuksen vuoksi. [15; 16.]

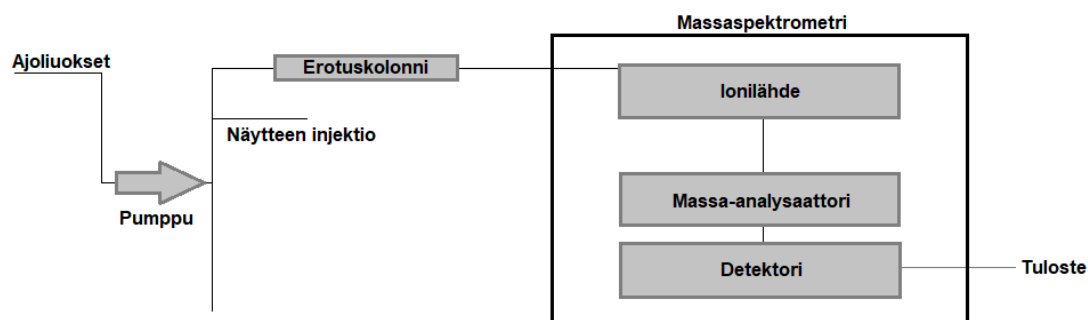
3.4 Korkean erotuskyvyn nestekromatografia-massaspektrometria

Kromatografiassa näytteen analyysiin kuuluu sen jakaminen komponentteihin tunnistamista varten, jonka jälkeen näytteen pitoisuus määritetään. Näytteen yhdisteiden erottuminen perustuu tasapainoihin ja tapahtuu kromatografiakolonnissa. Kaksi toisiinsa liukenematonta faasia, liikkuva faasi ja stationäärifaasi, ovat vuorovaikutuksessa toisiinsa. Näytemolekyylit liikkuvat toistuvasti faasien välillä, ja osa molekyyleistä tarttuu stationäärifaasiin muita molekyylejä voimakkaammin, osa heikommin. Näytemolekyylit liikkuvat ainoastaan ollessaan liikkuvassa faasissa. Heikosti stationäärifaasiin sitoutuvat yhdisteet kulkeutuvat kolonnin läpi nopeammin, sillä ne viettävät suuremman osan ajastaan

liikkuvassa faasissa. Voimakkaasti stationäärifaasiin sitoutuneet yhdisteet kulkeutuvat kolonnin läpi hitaammin, sillä ne viettävät suuremman osan ajastaan sitoutuneena stationäärifaasiin. Erilaisilla yhdisteillä on erilainen tasapaino liikkuvan ja stationäärifaasin välillä, ja yhdisteiden erottuminen perustuu tämän tasapainon jakautumiseen. Komponentit kulkeutuvat kolonnin läpi eri nopeuksilla, jolloin ne voidaan erottaa toisistaan. [11, s. 140]

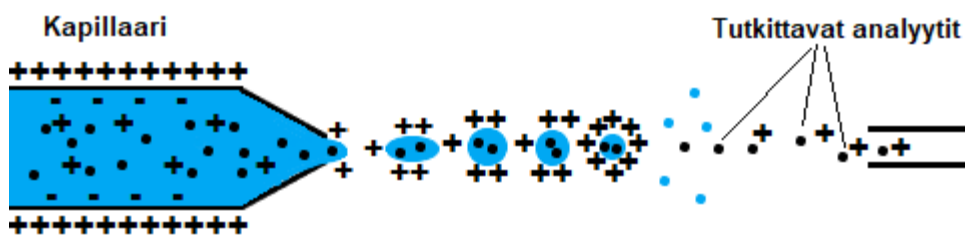
UHPLC (ultra high performance liquid chromatography) eli erittäin korkean erotuskyvyn nestekromatografia on laajasti käytetty analyysitekniikka, jota käytetään orgaanisten ja epäorgaanisten yhdisteiden tutkimiseen. HPLC-tekniikka on korvaamaton tekniikka suurien molekyylien analysoinnissa, ja sen ainoa edellytys on näytteen liukeneminen johonkin liuottimeen. [11, s. 153]

Nestekromatografiassa muutamien kymmenien mikrolitrojen kokoinen näyte syötetään injektorin kautta korkeapaineisissa ohuissa kapillaareissa liikkuvaan nestefaasiin. Näyte kulkee kapillaareissa pumpun avulla nestefaasin mukana kolonniin, joka on täytetty kiinteällä stationäärifaasilla. Stationäärifaasi koostuu pienikokoisista partikkeleista, jotka vuorovaikuttavat näytteen yhdisteiden kanssa. Mitä pienempiä partikkeleita kolonnissa käytetään, sitä suurempi on kolonnin reaktiopinta-ala ja näin ollen myös parempi erotuskyky. Näyte jakaantuu eri komponenteiksi kulkiessaan kolonnin läpi, ja komponentit tulevat vuorotellen tasapainonsa mukaan nestefaasin mukana ulos kolonnista. Nestefaasin täytyy kulkea tasaisena virtana kolonnissa, joten pumpun täytyy pystyä pumppaamaan nestefaasia tasaisesti korkeaa painetta vastaan. Kolonnista eluoituneet komponentit tulevat detektorille, joka mittaa näytteen antamaa signaalia ajan funktiona. Detektori havaitsee komponentit ja muodostaa yhdisteistä kuvaajan eli näytteen kromatogrammin. (Kuva 5.) [11, s. 154.]



Kuva 5. Yksinkertainen kaavakuva nestekromatografista, jonka detektorina toimii massaspektrometri.

HPLC voidaan jakaa erotuskolonnin stationäärifaasin perusteella normaalifaasi-, käänteisfaasi- ja ioninvaihtokromatografiaan. Normaalifaasikromatografiassa erotuskolonnin stationäärifaasissa käytetään usein silikaa, jolla on vapaita hydroksyyliiryhmiä (OH), joista osa voi ionisoitua O^- -ryhmäksi riippuen nestefaasin pH:sta, tai aluminaa, jolla on Al-O-Al-sidoksia. Kolonnin stationäärifaasi on voimakkaasti poolinen, ja liikkuvana faasina käytetään poolittomia ja vedettömiä liuottimia. Poolittomat yhdisteet eluoituvat kolonnista ensimmäisinä, sillä ne viettävät suuremman osan ajastaan liikkuvassa faasissa. Käänteisfaasikromatografiassa stationäärifaasin ja liikkuvan faasin poolisuudet ovat niimensä mukaisesti vastakkaiset normaalifaasikromatografiaan verrattuna. Stationäärifaasin materiaalina käytetään usein oktadekyyilisilaania (C18), jossa silikapohjaisen faasin hydroksyyliiryhmät on korvattu 18 hiiliatomia sisältävillä hiiliketjuilla, mikä tekee faasista voimakkaasti poolittoman. Pooliset yhdisteet eluoituvat kolonnista ensimmäisinä, sillä ne viettävät suuremman osan ajastaan liikkuvassa faasissa. Ioninvaihtokromatografiassa stationäärifaasin pohjamateriaalina käytetään usein hartsia tai silikaa, johon on sidottu ionisia ryhmiä. Tyypillisiä ioniryhmiä anioninvaihtokolonneissa on positiivisesti varautuneet tertiääriset amiinit ja aminoryhmät ja kationinvaihtokolonneissa negatiivisesti varautuneet sulfoni- ja karboksyylihapporyhmät. Nestefaasin pH vaikuttaa stationäärifaasin kykyyn sitoa ioneja, ja sitä säätämällä voidaan myös vaikuttaa yhdisteiden eluotumiseen. Anioninvaihtokolonnit pidättävät negatiivisesti varautuneita yhdisteitä, jolloin positiivisesti varautuneet yhdisteet eluoituvat ensimmäisinä kolonnista, kationinvaihtokolonnit toimivat päinvastoin. [11, s. 155–158.]

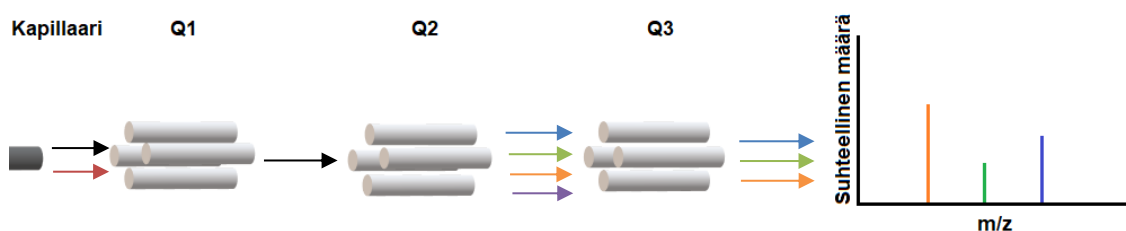


Kuva 6. Sähkösumutusionisaation periaate. Eluointiliuoksesta muodostuu pieniä pisaroita kapillaarin jännitteen avulla. Pisarot haihtuvat ja lopulta hajoavat sähköisen poistovoiman vaikutuksesta, jolloin yhdisteet vapautuvat tutkittavaksi.

Yleisin massa-analysaattori on kvadrupolianalyisaattori, joka koostuu neljästä yhdensuuntaisesta sauvasta, joiden tuottama värähtelevä sähkökenttä ohjaa ioneja. Sopivalla tasa- ja vaihtojännitteellä tietyn massa-varaussuhteen omaavat ionit lentävät sauvaston läpi, ja muut ionit törmäävät analysaattorin sauvoihin, eivätkä etene detektorille. Ionien lentoaika vaikuttaa niiden erottumiseen, mitä kauemmin ionit viipyvät analysaattorissa, sitä paremmin ne erottuvat. [11, s. 125–127.]

Massaspektrometrejä voidaan yhdistää toisiinsa useampi, jos halutaan erottaa yhdisteet, joilla on samantyyppiset massaspektrit ja retentioajat. Ensimmäisessä laitteessa valittu äiti-ioni törmäytetään kaasuun, jonka seurauksena se fragmentoituu, jolloin törmäyksessä syntyneet fragmentit, tytärionit, mitataan seuraavalla laitteella. Näin voidaan vertailla eri yhdisteiden fragmenttien spektrejä keskenään ja erottaa ne toisistaan. [11, s. 213–214.]

Kolmoiskvadrupolimassaspektrometrissa ensimmäinen kvadrupoli valitsee äiti-ionin, joka törmäytetään toisessa kvadrupolissa pienipaineiseen kaasuun, jolloin äiti-ioni fragmentoituu. Syntyneet fragmentit, analysoidaan kolmannella kvadrupolilla, joka muodostaa lopulta havainnoistaan kuvaajan tietokoneelle. (Kuva 7.) [11, s.213–214.]



Kuva 7. Kolmoiskvadrupolin periaate. Ensimmäinen kvadrupoli valitsee äiti-ionin, joka fragmentoidaan toisessa kvadrupolissa. Syntyneet fragmentit analysoidaan kolmannella kvadrupolilla, joka muodostaa havainnoista kuvaajan.

Massaspektrometrin detektorina käytetään usein elektronimonistinta. Elektronimonistimessa ionit törmäävät monistimen seinämään, joka irrottaa sen pinnasta elektroneja. Irronneet elektronit jatkavat matkaansa ja törmäävät toiseen seinämään. Toisessa törmäyksessä vapautuu jälleen suurempi määrä elektroneja ja näiden elektronien luoma signaali vahvistetaan. Vahvistettu signaali on verrannollinen analysoitavien ionien määrään. Ylimääräisten molekyylien pääsy detektorille estetään poikkeutuslevyn avulla, joka ohjaa positiivisesti varautuneet ionit detektoriin, jolloin muut molekyylit jatkavat matkaansa detektorin ohi. [11, s. 128.]

4 Materiaalit ja laitteistot

4.1 Reagenssit

Työssä käytettiin seuraavia reagensseja:

- asetonitriili Honeywell, CAS 75-05-8, Lot K1330
- muurahaishappo (puhtausaste vähintään 95 %) VWR Chemicals, CAS 64-18-6, Lot 18K204004
- talousvesi
- puhdistettu vesi
- typpikaasu (5.0, kaasuverkko)
- akryyliamidi 99,9 % LGC, CAS 79-06-1, C10045300, Lot 40722

- akryyliamidi 99,9 % LGC, CAS 79-06-1, DRE-C10045300, Lot G1040012
- akryyliamidi-d3 liuos 500 mg/l ISTD Fluka Analytical, CAS 122775-19-3, 72834-5ML-F, Lot BCBC7636
- akryyliamidi-d3 ISTD LGC, CAS 122775-19-3, DRE-C10045301, Lot 1054534.

4.2 Uuttopatruunat

Uuttopatruunoiksi menetelmän testaukseen oli valittu kolme erilaista patruunaa, jotka esiintyivät akryyliamidin määrittämisessä eri lähteissä (17; 18; 19). Kahden uuttopatruunan kemia perustui kiinteäfaasiuuttoon ja yhden tuettuun nesteuuttoon. (Kuva 8.)



Kuva 8. Uuttopatruunat vasemmalta oikealle; 1.Oasis MCX 6 cc 150 mg; 2. Resprep SPE Carboprep 200, 500 mg 6 ml; 3. Novum SLE 6 cc.

Oasis MCX 6 cc 150 mg (Waters, Lot 015039203B) on kiinteäfaasiuuttopatruuna, joka on valmistettu sekoitetusta polymeerisorbentista. Sen kemia perustuu käänteisfaasi- ja

ioninvaihtokromatografian yhdistelmään ja se on optimoitu emäksisten yhdisteiden uuttoa varten kationinvaihtoryhmillä. [20.]

Resprep SPE Carboprep 200, 500 mg 6 ml (Restek, Lot #4/4084/G-7263059-1 ja Lot #4/4084/G-7260550) on kiinteäfaasiuuttopatruuna, joka on valmistettu grafitoidusta vähähuokoisesta hiilestä. Sen kemia perustuu Londonin dispersiovoimiin, jotka ovat hetkellisistä molekyylien elektronitiheyksien muutoksista johtuvien dipolien välisiä vetovoimia [21]. Resprep-patruunat ovat yleisesti hyvä vaihtoehto polaaristen ja orgaanisten yhdisteiden uuttamiseen. (Liite 1.) [22; 23.]

Novum SLE 6 cc (Phenomenex, Lot S19-002529) on tuetun nesteuuton uuttopatruuna, jonka kemia perustuu neste-nesteuuttoon. Se sisältää kiinteää synteettistä tukimateriaalia, joka avustaa neste-nesteuuttoa. Tukimateriaali on inerttiä, eikä se itsessään vuorovaikuta näytteen kanssa. (Liite 1.) [14.]

4.3 Uuttomenetelmät

Patruunoiden uuttomenetelminä käytettiin lähteiden (17; 18; 19) perusteella tehtyjä menetelmiä, jotka sisälsivät pieniä muutoksia (taulukot 1 ja 2). Lähteissä käytettiin samoja uuttomenetelmiä ja -patruunoita akryyliamidin määrittämiseen eri näytteistä kuin tähän testaukseen oli valittu.

Taulukko 1. Kiinteäfaasiuuttomenetelmät Oasis- ja Resprep-patruunoille.

Uuton vaiheet	SPE-testi 1 [19.]	SPE-testi 2 [18.]
Tasapainotus	-	2 ml asetoni 2 ml 2 % HCOOH vedessä
Näytteen lataus	150 ml, 10 ml/min	150 ml, 10 ml/min
Näytteen pesu	2 % HCOOH vedessä	- ilmakeivaus 3 min
Näytteen eluointi	4 ml metanoli	2 ml asetoni

Kiinteäfaasiuutolle tarkoitetut uuttomenetelmät testattiin Oasis- ja Resprep-patruunoilla.

Taulukko 2. Tuetun nesteuuton uuttomenetelmä Novum-patruunalle.

Uuton vaiheet	Novum-testi [19.]
Näytteen lataus	150 ml, 10 ml/min
Näytteen pesu	ilmakuivaus 5 min
Näytteen eluointi	2 x 2 ml etyyliasettaatti:tetrahydrofuraani 1:1

Tuetulle nesteuutolle tarkoitettu uuttomenetelmä testattiin Novum-patruunalla.

4.4 Laitteet ja parametrit

Puhdasaineiden punnitukseen käytettiin Precisa AG HF 125 SM-FR -vaakaa. Näytteiden uuttoon käytettiin automatisoitua Horizon technology SmartPrep II Extractor System -uuttolaitteistoa (kuva 9).



Kuva 9. Automaattinen kiinteäfaasiuuttolaitteisto. Valkoisessa telineessä vastaanottoputket, pyöreässä telineessä uuttopatruunat (kolonnit), oikealla näytepulloja.

Näytteiden analysointiin käytettiin Agilent Technologies UHPLC Infinity 1290 II (G7167B) -korkean erotuskyvyn nestekromatografia ja 6495 Triple Quad LC/MS (G6495A) -kolmoiskvadrupolimassaspektrometria.

Nestekromatografian ajoliuksina käytettiin 0,05-prosenttista muurahaishappoa vedessä (A) ja asetonitriiliä (B) suhteessa 1:1 isokraattisesti. Ajoliuosten virtausnopeutena pidettiin 0,4 ml/min. Esikolonnina käytettiin Agilent UHPLC Guard Zorbax SB-C18 2,1 x 5 mm, 1,8 µm ja erotuskolonnina Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, RRHD 2,1 x 50 mm, 1,8 µm käänteisfaasikolonnina. Kolonniuunin lämpötila oli 40°C ja näytteen kokonaisajoaika 8 minuuttia.

Massaspektrometrin ionisointina käytettiin sähkösumutusionisaatiota (ESI) positiivisella puolella. Yhdisteet analysoitiin MRM-menetelmällä (multiple reaction monitoring), jossa valitun massaluvun äiti-ioni fragmentoitiin tytärioneiksi, joista valittujen massalukujen

fragmenteja seurattiin. Massa-analysoijan seurattavat m/z-luvut olivat 72 > 72, 55, 44 m/z akryyliamidille ja 75 > 58 m/z sisäiselle standardille.

5 Työn toteutus

5.1 Liuosten valmistus

Akryyliamidin ja sisäisenä standardina (internal standard, ISTD) käytetyn deuteroidun akryyliamidin kantaliuokset valmistettiin liuottamalla kiinteää puhdasainetta talousveteen niin, että kantaliuosten pitoisuuksiksi saatiin 1000 mg/l:ssa. Akryyliamidin kantaliuoksesta valmistettiin kolmea eri laimennosta 10,1 ja 0,1 mg/l:ssa, joista 1 ja 0,1 mg/l:ssa vahvuisia liuoksia käytettiin käyttöliuoksina. Deuteroidun akryyliamidin kantaliuoksesta valmistettiin 500 mg/l:ssa vahvuinen käyttöliuos.

Kalibrintiliuoksissa ja näytteissä käytettiin sisäistä standardia, jota lisättiin näytteisiin tiedetty pitoisuus (5 µl). Sisäinen standardi käyttäytyy analyysissä tutkittavan analyytin tavoin, mutta eroaa esimerkiksi massaluvuiltaan tutkittavasta analyytistä, jolloin yhdisteet voidaan erottaa toisistaan. Sisäisen standardin antamaa vastetta verrataan tutkittavan analyytin antamaan vasteeseen, ja tämän kertoimen avulla saadaan selvitettyä tutkittavan analyytin pitoisuus näytteessä. [24.] (Kaava 1.)

$$\frac{(ISTD)c}{(ISTD)vaste} = \frac{(näyte)c}{(näyte)vaste} \rightarrow (näyte)c = \frac{(näyte)vaste}{(ISTD)vaste} \times (ISTD)c$$

(1)

Akryyliamidin kalibrintiliuokset valmistettiin lisäämällä akryyliamidin kantaliuosta ja sisäistä standardia asetonitrili:vesi (1:1) 0,05-prosenttinen muurahaishappo -liuokseen. Liuokset valmistettiin 2 ml:n tilavuuteen pitoisuuksilla 1,5, 2,5, 4,5, 12,0, 22,5, 37,5, 75,0 µg/l:ssa. Kalibrintiliuosten pitoisuuksissa oli huomioitu näytteiden konsentroidi 150 ml:sta 2 ml:aan. Pitoisuudet laskettiin näytteen ja konsentroidun näytteen tilavuuksien

suhteen avulla, esimerkiksi 0,3 µg/l:ssa näytteen pitoisuus oli konsentroidin jälkeen 22,5 µg/l:ssa. (Kaava 2, taulukko 3.)

$$\frac{\text{näytetilavuus}}{\text{konsentroidu tilavuus}} \times \text{näytteen pitoisuus} = \text{konsentroidun näytteen pitoisuus}$$

$$\frac{150\text{ml}}{2\text{ml}} \times 0,3\mu\text{g/l} = 22,5\mu\text{g/l}$$

(2)

Taulukko 3. Kalibrintiliuosten pitoisuudet (µg/l:ssa) 150 ja 2 ml:n näytteissä. Suluissa olevat kalibrintiliuokset olivat käytössä seitsemän kalibrintipisteen testisuorassa.

	Cal1	Cal2	Cal3	(Cal4)	Cal4/(Cal5)	(Cal6)	(Cal7)
150 ml	0,02	0,034	0,06	0,16	0,3	0,5	1,0
2 ml	1,5	2,5	4,5	12,0	22,5	37,5	75,0

5.2 Näytteiden valmistus

Näytteet valmistettiin lisäämällä akryyliamidin kantaliuosta ja sisäistä standardia talousveteen, nollanäytteet valmistettiin ilman akryyliamidin kantaliuoksen lisäystä. Lisäysnäytteitä tehtiin 150 ml:n tilavuuteen pitoisuuksilla 0,032, 0,06, 0,3 ja 1,0 µg/l:ssa, jotka konsentroiduina olivat 2, 3, 4 ja 7 kalibrintipisteen vahvuisia. Valmistetut näytteet uutettiin ja konsentroidtiin automatisoidulla kiinteäfaasiuuttolaitteistolla. Uuton eluentit haihdutettiin typpivirtauksella kuiviin, jolloin näytteistä saatiin poistettua eluointiliuos. Kuivatut näytteet

liuotettiin 2 ml:aan asetonitrili:vesi (1:1) 0,05-prosenttinen muurahaishappo -liuosta. Näyte jaettiin kahteen 1,5 ml:n näytepulloon, jonka jälkeen molemmat näytepullot analysoitiin rinnakkaisina korkean erotuskyvyn nestekromatografia-massaspektrometrilla. Analyysilaitte mittasi konsentroidun näytteen vasteen, mutta laski pitoisuuden myös 150 ml:n näytteelle automaattisen laskukaavan avulla.

5.3 Toteutus

Tarkoituksena oli testata kolmea erilaista uuttopatruunaa ja vertailla niiden tuloksia keskenään, jonka jälkeen menetelmälle paras patruuna olisi validoitu menetelmän käyttöön. Ensimmäisten testiuuttojen jälkeen huomattiin, etteivät uuttopatruunat toimi kunnolla, eikä haluttuja tuloksia saatu aikaiseksi. Tämän vuoksi näytteen esikäsittelymenetelmää yritettiin saada toimimaan erilaisilla testeillä menetelmän ongelmien selvittämiseksi.

Patruunoiden testaus aloitettiin kokeilemalla, toimivatko uuttopatruunat ja -menetelmät akryyliamidin määrittämisessä talousvesistä. Ensimmäiset lisäysnäytteet valmistettiin nelipisteisen kalibroitisuoran kolmannen pisteen vahvuiseksi (0,06 µg/l:ssa), eli menetelmän optimaaliselle mittausalueelle. Lisäysnäytteet valmistettiin litran näytepulloihin, joista uutettiin useampi näyte. Tuloksista huomattiin, että näytteiden sisäisen standardin vaste vaihteli ja näytteissä esiintyi häiriötä. Seuraavien lisäysnäytteiden pitoisuutta nostettiin, ja uudet lisäysnäytteet valmistettiin nelipisteisen kalibroitisuoran neljännen pisteen vahvuiseksi (0,3 µg/l:ssa). Sisäinen standardin jakautumista näytteisiin tutkittiin uutettamalla näytteitä sekä litran tilavuudesta että 150 ml:n tilavuudesta, jonka jälkeen sisäisen standardin vasteen vaihtelua tarkasteltiin.

Sisäisen standardin huonon vasteen vuoksi testattiin uuttopatruunien muokkauksen, näytemäärän lisäyksen ja analyysimenetelmän optimoinnin vaikutusta tuloksiin. Lisäysnäytteiden pitoisuus pidettiin edelleen neljännen kalibroitipisteen tasolla (0,3 µg/l:ssa). Uutettavan näytteen määrää lisättiin 150 ml:sta 250 ja 500 ml:aan. Kiinteäfaasiuuttopatruunoihin tehtiin muutoksia niin, että ne täsmäsivät suurelta osin käytettyjen lähdemateriaalien uuttopatruunoihin (taulukko 4 ja 5). Tuetun nesteuuton menetelmälle ei tehty muutoksia, sillä Novum-patruunan testaus keskeytettiin.

Taulukko 4. SPE-testi 1 -uuttomenetelmän päivitys, muutokset punaisella.

Uuton vaiheet	SPE-testi 1 [17.]	SPE-testi 4 [17.]
Tasapainotus	-	5 ml metanoli 5 ml vesi
Näytteen lataus	150 ml, 10 ml/min	150 ml, 10 ml/min
Näytteen pesu	2 % HCOOH vedessä	- 5 min ilmakeuhkaus
Näytteen eluointi	4 ml metanoli	8 ml metanoli

SPE-testi 1 -uuttomenetelmään lisättiin kolonnin tasapainotus metanolilla ja vedellä. Näytteen pesu -vaihe muutettiin ilmakeuhkukseksi ja eluoinnin määrää lisättiin kaksinkertaiseksi.

Taulukko 5. SPE-testi 2 -uuttomenetelmän päivitys, muutokset punaisella.

Uuton vaiheet	SPE-testi 2 [18.]	SPE-testi 3 [18.]
Tasapainotus	2 ml asetoni 2 ml 2 % HCOOH vedessä	2 ml asetoni 2 ml 0,1 % HCOOH vedessä
Näytteen lataus	150 ml, 10 ml/min	150 ml, 10 ml/min
Näytteen pesu	- 3 min ilmakeivaus	- 3 min ilmakeivaus
Näytteen eluointi	2 ml asetoni	2 ml asetoni

SPE-testi 2 -uuttomenetelmän tasapainotuksessa muurahaishapon vahvuutta muokattiin laimeammaksi.

Analyysimenetelmää optimoitiin tekemällä massaspektrometrilla optimointiajo, jossa ajettiin akryyliamidin kantaliuosta ilman kolonnia massaspektrometrille. Optimointiajon tulosten perusteella tytäri-ionien seurattaviksi massaluvuiksi muutettiin 56, 42 ja 40 (taulukko 6). Menetelmän testausta jatkettiin SPE-testi 2 -uuttomenetelmällä ja 250 ml:n näyttemäärällä.

Taulukko 6. Menetelmien massaluvut, muutokset punaisella.

	Äiti-ioni m/z	Tytärionit m/z
Vanha menetelmä	72	72, 55, 44
Optimoitu menetelmä	72	56, 42, 40

Näytteissä esiintyvien häiriöiden vuoksi liuoksia ja laitteistoja tutkittiin erilaisin testein mahdollisten kontaminaatioiden selvittämiseksi.

Liuosten mahdollisia kontaminaatioita poistettiin vaihtamalla liuoksia, kuten asetonitriili:vesi (1:1) 0,05-prosenttinen muurahaishappo -liuos ja akryyliamidin kantaliuokset, sekä vaihtamalla mahdollisesti kontaminoituneet puhdasaineet uusiin. Lisäksi tutkittiin erilaisia talousvesiä valmistamalla niistä nolla- ja lisäysnäytteitä, joita verrattiin aiempiin näytteisiin.

Laitteistojen mahdollisia kontaminaatioita testattiin puhdistamalla uuttolaitteistoa pesuilla ja huuhtelemalla uuttolaitteiston näytelinjoja isopropanolilla ennen uuttoa, jotta linjoissa mahdollisesti esiintyvät akryyliamidin jäämät eivät aiheuttaisi häiriöitä näytteisiin. Laitteiston puhdistuksen jälkeen uutettiin nollanäytteitä Resprep-patruunalla sekä jo toisella menetelmällä käytössä olleella Strata-X 33 µm Polymeric Reversed Phase 500 mg / 6 ml, Phenomenex -patruunalla, joilla tarkasteltiin laitteen puhdistuksen vaikutusta näytteissä esiintyviin häiriöihin. Näytteitä uutettiin myös manuaalisella 12-paikkaisella vakuu-
mimanifoldilla (Supelco-DL), jolloin mahdollisesti automaattisessa uuttolaitteistossa esiintyvät häiriöt eivät vaikuttaisi näytteisiin. Lisäksi analyysilaitteistosta vaihdettiin esikolonne, erotuskolonne, neula ja inline-suodatin, jotta ongelman syy ei olisi analyysilaitteen vaihdettavissa osissa.

Menetelmän testausta jatkettiin valmistamalla kalibrintiliuokset asetonitriliin vesi:asetonitrili (1:1) 0,05-prosenttinen muurahaishappo -liuoksen sijasta, jolloin myös näytteiden konsentroidiin käytetty liuos vaihdettiin asetonitriliin. Käytettävä uuttomenetelmä vaihdettiin SPE-testi 3 -menetelmään, eli päivitettyyn asetoniuuttoon, ja näytteen lautauksen jälkeistä ilmakeivausaikaa pidennettiin ensin kolmesta minuutista 15 minuuttiin, josta edelleen 30 minuuttiin. Tämän jälkeen lisäysnäytteen pitoisuutta nostettiin 0,3 µg/l:sta 1,0 µg/l:ssa, jolla testattiin menetelmän toimimista normaalia mittausaluetta suuremmissa pitoisuuksissa. Lisäksi typpikuivauksen jälkeen lisättävän liuoksen määrää muutettiin 2 ml:sta 1 ml:aan, jolloin näyte saatiin yhteen näytepulloon kahden sijasta.

Testien perusteella validoinnin esikäsittelyssä käytettäväksi uuttomenetelmäksi valittiin SPE-testi 3 -menetelmä, eli päivitetty asetoniuutto 30 minuutin ilmakeivausajalla. Validointi aloitettiin, mutta jouduttiin keskeyttämään vaihtelevien tulosten vuoksi. Validoinnin aikana menetelmän toimivuutta testattiin jäljitettävästi ieLabin vertailukoenäytteillä, joista valmistettiin nolla- ja lisäysnäytteet 100 ja 250 ml:n tilavuuteen. Näytteet valmistettiin vertailukoenäytteiden ohjeen mukaan.

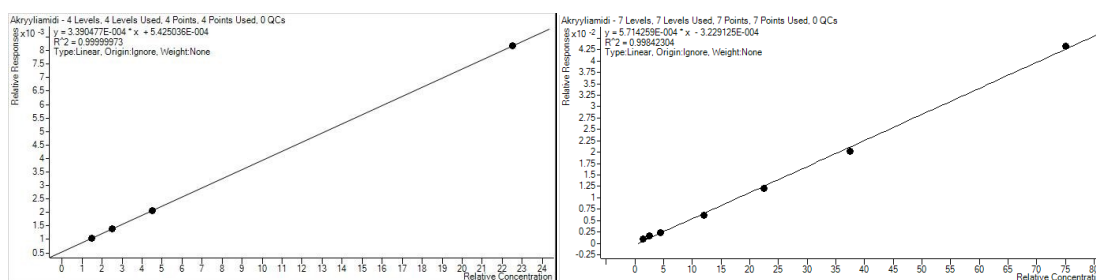
Validoinnin jälkeen menetelmään käytettyjä liuoksia tutkittiin mahdollisten kontaminaatioiden varalta. Tutkittavia liuoksia olivat asetonitrili, asetonitrili:vesi (1:1) 0,05-prosenttinen muurahaishappo -liuos, metanoli, laboratorion talousvesi, laboratorion puhdasvesi ja ajoliuos. Lisäksi tutkittiin sisäinen standardin akryyliamidipitoisuus ja puhdasaineiden kantaliuoksissa käytetyn liuoksen vaikutus kromatogrammien muotoon.

Tarkoituksena oli testata näytteitä jo käytössä olleella kylmäkuivausesikäsittelyllä, jotta olisi saatu vertailumateriaalia eri esikäsittelymenetelmällä tehdyistä näytteistä, mutta kylmäkuivuria ei saatu toimimaan, joten vertailunäytteitä käytössä olleella menetelmällä ei saatu tehtyä.

6 Tulokset ja tulosten tarkastelu

6.1 Tulokset

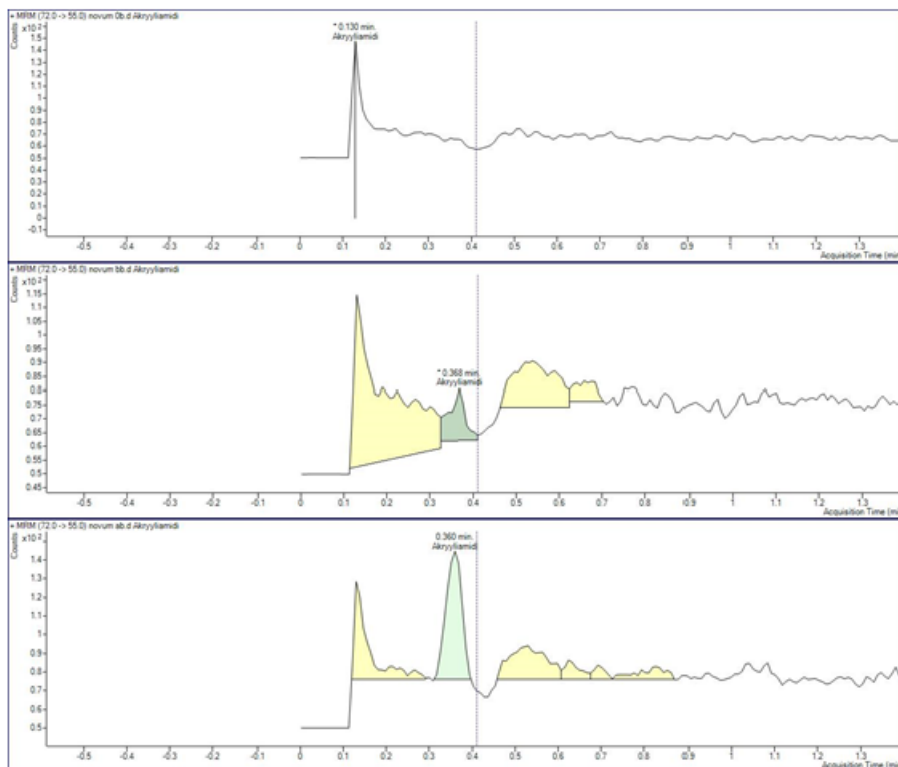
Kalibroitaisuoran lineaarisuutta testattiin menetelmässä käytössä olevaa neljän kalibroitipisteen suoraa suuremmissa pitoisuuksissa. Sekä neljän että seitsemän kalibroitipisteen suorat olivat lineaarisia. Kalibroitaisuoran todettiin jatkuvan lineaarisena ainakin 1,0 µg/l:ssa pitoisuuteen asti. (Kuva 10.)



Kuva 10. Kalibroitaisuorat, vasemmalla neljän pisteen kalibroitaisuora ja oikealla seitsemän pisteen kalibroitaisuora.

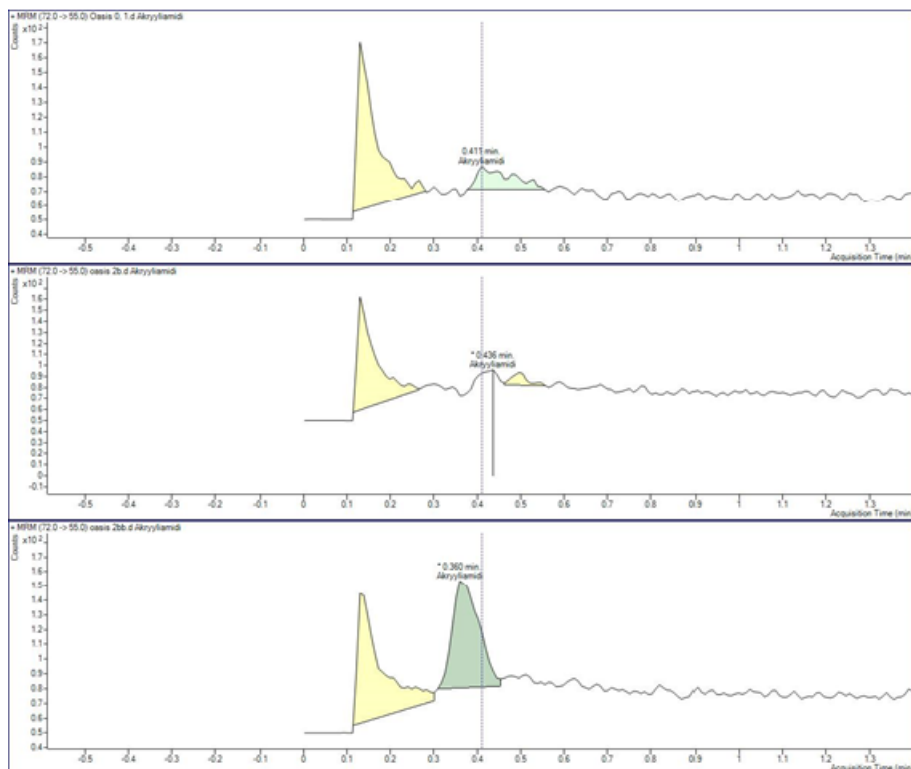
Ensimmäisten uuttojen tulokset olivat huonoja sisäisen standardin vaihtelevan vasteen vuoksi. Sisäisen standardin antama vaste oli kuitenkin niin suuri, että sen olisi pitänyt toimia normaalisti. Vaihtelevan vasteen ajateltiin johtuvan suuresta näytetilavuudesta (1 l) ja sisäisen standardin epätasaisesta jakautumisesta näytteisiin, joten seuraavat näytteet uutettiin pienemmästä tilavuudesta (150 ml). Näytetilavuuden ei kuitenkaan huomattu vaikuttavan sisäisen standardin vasteeseen, vaan vasteen todettiin vaihtelevan uuttomenetelmän ja -patruunan mukaan.

Tuetun nesteuton patruuna Novum sekä käänteisfaasi- ja ioninvaihtokromatografian yhdistelmäpatruuna Oasis antoivat hyvin vaihtelevia tuloksia, joten niiden testaus päätettiin keskeyttää. Kyseisillä patruunoilla uutetuissa lisäsnäytteissä ei usein näkynyt akryyliamidille piikkiä ollenkaan. Lisäksi lisäsnäytteen tuloksissa saattoi olla hyvin suurta vaihtelua, jolloin kahteen näytepulloon jaetusta näytteestä toisessa rinnakkaisessa näkyi suuri piikki ja toisessa ei käytännössä mitään. (Kuva 11.)



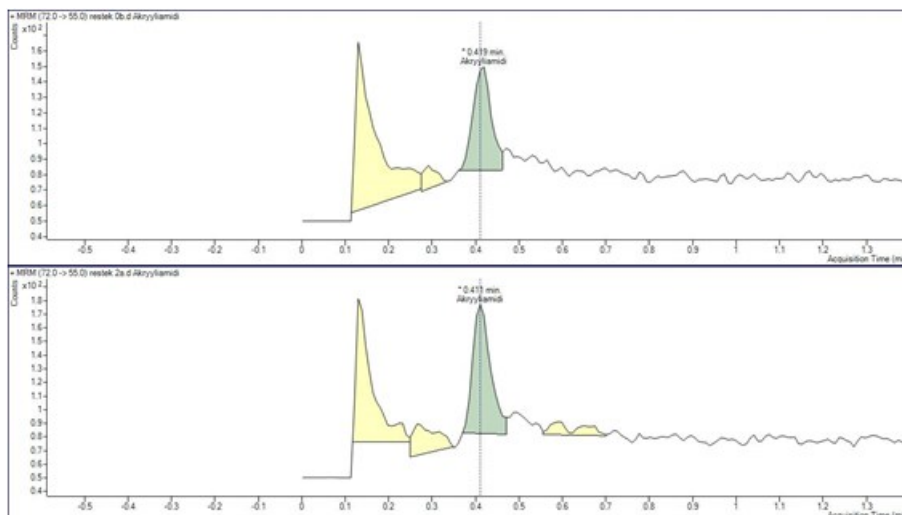
Kuva 11. Novum-patruunalla uutetut näytteet. Ensimmäisenä nollanäyte ja alla lisäysnäytteiden (0,3 µg/l:ssa) vaihtelevat tulokset.

Oasis-patruunalla saatiin samankaltaisia tuloksia kuin Novum-patruunalla (kuva 12).



Kuva 12. Oasis-patruunalla uutetut näytteet. Ensimmäisenä nollanäyte ja alla lisäsnäytteiden (0,3 µg/l:ssa) vaihtelevat tulokset. Kuvassa rinnakkaiset näytteet.

Resprep-patruunoilla uutettujen näytteiden kromatogrammeissa näkyi akryyliamidille piikki, mutta se esiintyi myös kyseisellä patruunalla uutetuissa nollanäytteissä. Usein piikki oli nollanäytteissä jopa lisäsnäytteen piikkiä suurempi, joten esikäsittelymenetelmä ei toiminut oikein. (Kuva 13.)

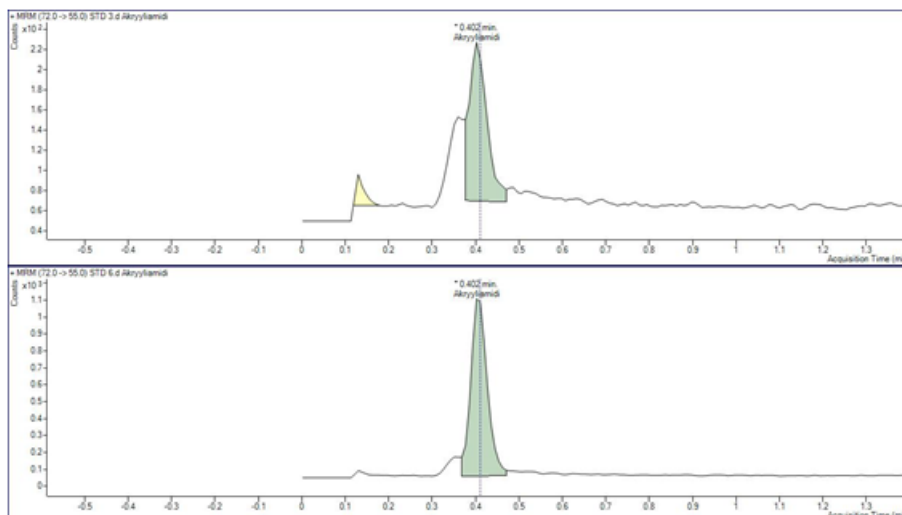


Kuva 13. Resprep-patruunalla uutetut näytteet. Ensimmäisenä nollanäyte, alla lisäsnäyte 0,3 µg/l:ssa.

Uuttomenetelmiä muokattiin enemmän käytettyjen lähdemateriaalien uuttomenetelmiä vastaaviksi, mutta tällä ei todettu olevan vaikutusta tuloksiin. Menetelmän testausta jatkettiin SPE-testi 2 -uuttomenetelmällä.

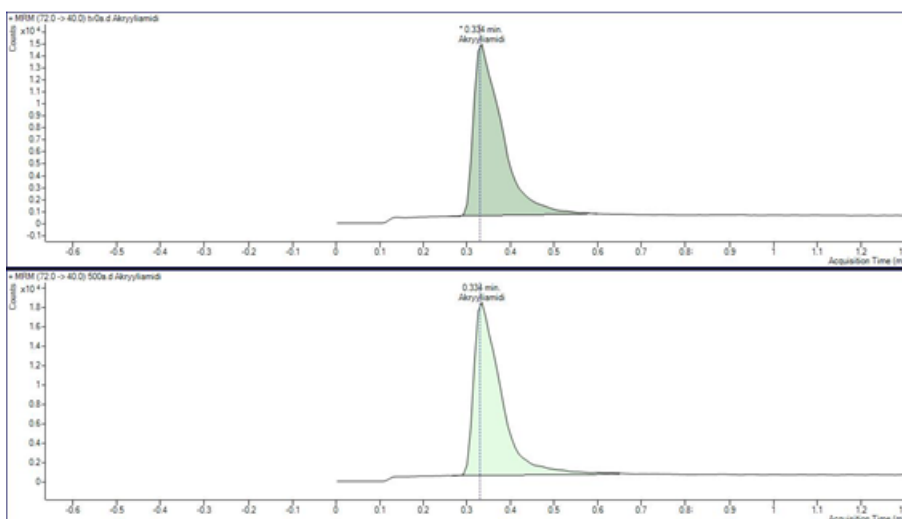
Näytteiden uutettavaa määrää lisättiin 150 ml:sta 250 ja 500 ml:aan, jolloin konsentroidun näytteen pitoisuus kasvoi. Kalibrintiliuosten pitoisuuksia ei muutettu, sillä näytteiden antamat vasteet osuivat edelleen kalibrintisuoran vasteiden alueelle. Näytteen määrällä ei havaittu olevan vaikutusta, mutta testejä jatkettiin 250 ml:n näytetilavuudella.

Testien edetessä kalibrintiliuksissa ja näytteissä alkoi esiintyä kontaminaatiota, joka näkyi kromatogrammeissa akryyliamidin piikin edessä (kuva 14). Pienimmissä kalibrintiliuksissa akryyliamidin piikki hävisi kokonaan kontaminaation alle, mikä vaikutti kalibrintisuoriin. Kontaminaation vuoksi valmistettiin uusi akryyliamidin käyttöliuos sekä uusi asetonitriili:vesi (1:1) 0,05-prosenttinen muurahaishappo -liuos. Näytteissä esiintyvän häiriön ajateltiin johtuvan samasta syystä, mutta uusilla liuksilla ei ollut vaikutusta tuloksiin.



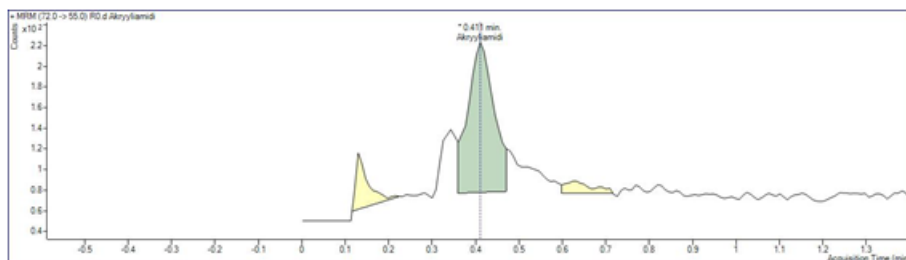
Kuva 14. Kontaminaatio kalibroitiliuksissa, ylhäällä 3. kalibroitipiste ja alhaalla 6. kalibroitipiste.

Optimoidulla menetelmällä analyysilaitteen antamat vasteet akryyliamidille olivat huomattavasti käytössä olevaa menetelmää suuremmat, joten menetelmän ajateltiin toimivan optimoinnin jälkeen paremmin. Optimoinnin jälkeen kromatogrammeissa kuitenkin esiintyi vakiopiikki, joten pidettiin todennäköisenä, että se mittasi jotakin muuta yhdistettä kuin akryyliamidia (kuva 15). Optimoidun menetelmän käyttöä ei tämän jälkeen jatkettu.



Kuva 15. Optimoidun menetelmän vakiopiikki. Ensimmäisenä nollanäyte ja alla lisäysnäyte pitoisuudella 0,3 µg/l:ssa.

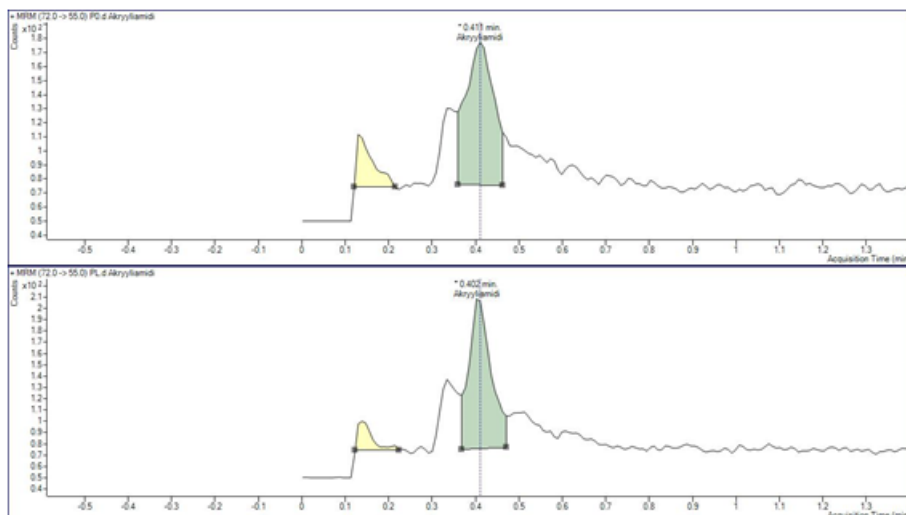
Automaattisen uuttolaitteiston pesujen jälkeen uutettiin useampia nollanäytteitä, joissa esiintyi edelleen häiriötä. Strata X -patruunalla uutetuissa nollanäytteissä esiintyi samankaltainen häiriö kuin Resprep-patruunoilla uutetuissa nollanäytteissä. (Kuva 16.)



Kuva 16. Resprep-patruunalla uutettu nollanäyte automaattisen uuttolaitteiston pesujen jälkeen.

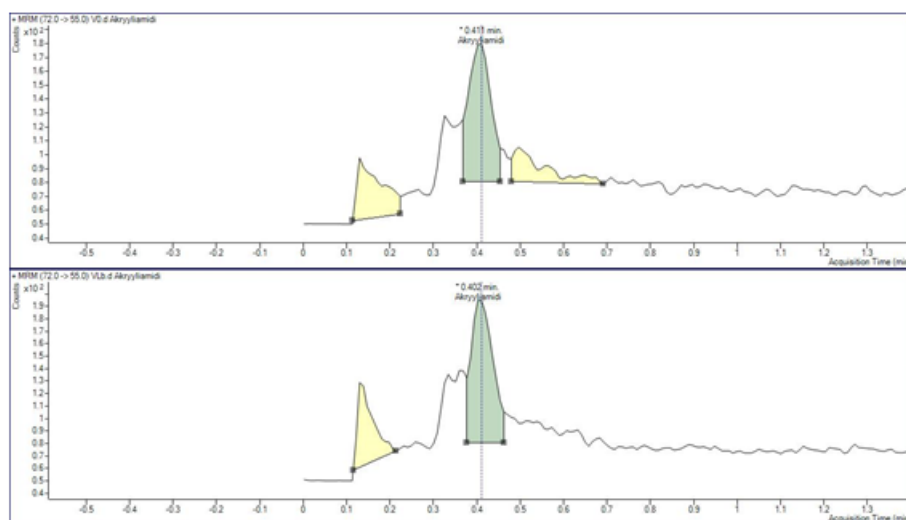
Manuaalisesti uutettujen näytteiden tulokset olivat samankaltaisia kuin aiemmat tulokset, joten ongelman ei todettu olevan automaattisessa uuttolaitteistossa.

Eri talousvesiin tehtyjen näytteiden tulokset olivat samankaltaisia kuin aiemmin, joten ongelman ei todettu olevan näytteisiin käytetyssä vedessä. Nollanäytteissä esiintyi vaihtelevasti jopa suurempi piikki kuin lisäysnäytteissä (kuvat 17 ja 18). Uuttolaitteiston näyttelinjat oli huuhdeltu isopropanolilla ennen uuttoa, mutta sillä ei ollut vaikutusta tuloksiin.



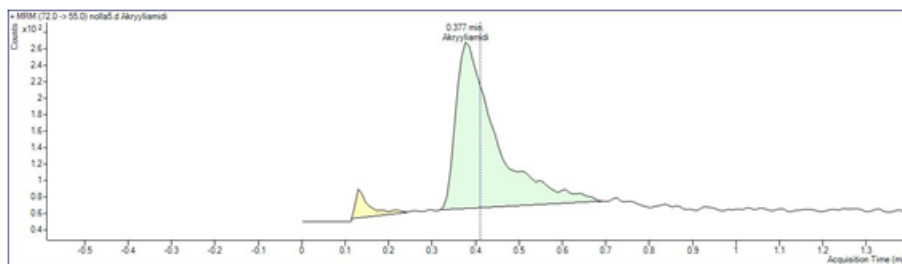
Kuva 17. Pähkinärinteen talousvesinäyte. Ensimmäisenä nollanäyte, alla lisäysnäyte 0,3 µg/l:ssa.

Talousvettä tuotiin kahdesta eri näytteenottpisteestä tutkittavaksi.



Kuva 18. Viikin talousvesinäyte. Ensimmäisenä nollanäyte, alla lisäysnäyte 0,3 µg/l:ssa.

Ajojen aikana ajettavissa asetonitrili-injektiossa, esiintyi vaihtelevasti piikki akryyliamidin kohdalla, vaikka sitä ei kyseisten injektioiden kromatogrammeissa pitäisi esiintyä. (Kuva 19.)



Kuva 19. Asetonitriili-injektion piikki.

Tämän vuoksi epäiltiin analyysilaitteessa esiintyvää kontaminaatiota, joka voisi vaikuttaa myös näytteiden tuloksiin. Laitteelta päädyttiin vaihtamaan esikolonne, erotuskolonne, neula ja inline-suodatin, mutta näillä ei ollut vaikutusta asetonitriili-injektioissa tai näytteissä esiintyviin häiriöihin.

Akryyliamidin puhdasaineet vaihdettiin, ja kalibroitiliuoksiin sekä näytteiden konsentroidiin käytettiin asetonitriilia. Uusien puhdasaineiden ei todettu vaikuttavan tuloksiin, ja konsentroidiliuoksen vaihto asetonitriiliin ei ratkaissut näytteissä esiintyvien häiriöiden ongelmaa. Konsentroidiliuoksena asetonitriili vaikutti negatiivisesti kromatogrammeihin, sillä piikit häntivät aiempaa enemmän. Asetonitriili:vesi (1:1) 0,05-prosenttinen muura-haishappo -liuoksen käyttöä konsentroidiliuoksena jatkettiin.

Uuttomenetelmä vaihdettiin SPE-testi 3 -menetelmään, ja näytteen latauksen jälkeistä ilmakeivausaikaa pidennettiin ensin kolmesta minuutista 15 minuuttiin ja tämän jälkeen 15 minuutista 30 minuuttiin. Konsentroidiliuoksen määrää muutettiin 2 ml:sta 1 ml:aan. Näillä muutoksilla ei ollut vaikutusta tuloksiin.

Validointi aloitettiin seuraavan ajon perusteella. Uuttomenetelmänä käytettiin SPE-testi 3:a, eli päivitettyä asetoni-uuttoa 30 minuutin ilmakeivausajalla, ja näytteiden konsentroidi- sekä kalibroitiliuokset valmistettiin 1 ml:aan. Ajon tulokset taulukossa 7. Takaisinsaantoprosentit näytteille laskettiin kaavan 3 mukaan.

$$\text{takaisinsaantoprosentti} = \frac{\text{näyte} - \text{nollanäyte}}{\text{lisäysnäytteen pitoisuus}} \times 100$$

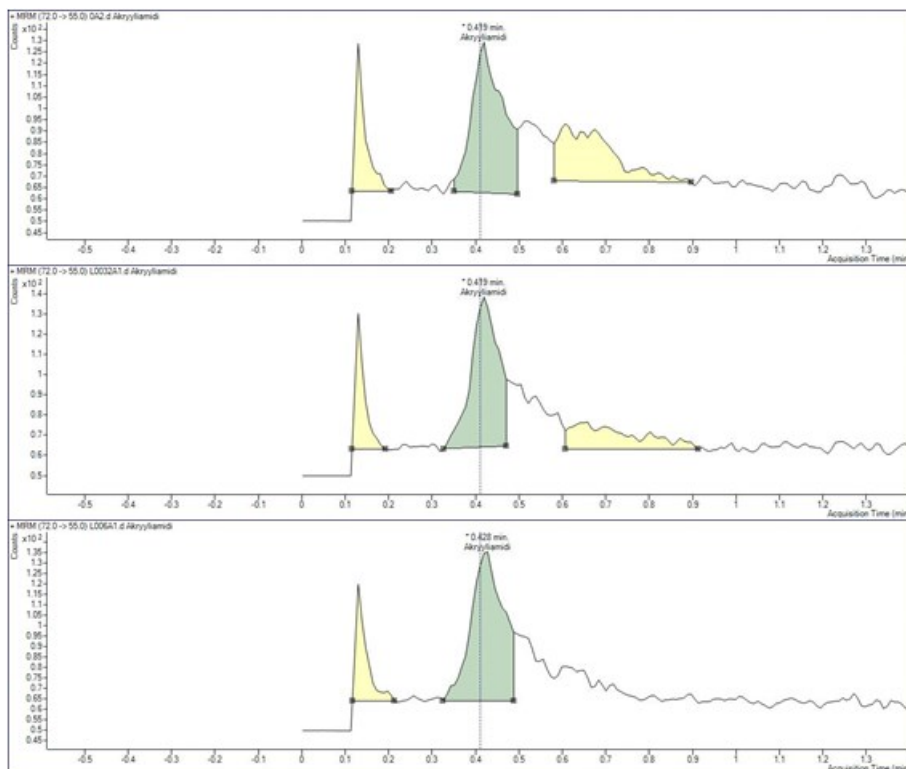
(3)

Taulukko 7. Validointia edeltäneen ajon tulokset.

Näyte	Tulos	Takaisinsaantoprosentti
Nollanäyte	0,5216	
Lisäys 0,034 µg/l:ssa	0,5516	88 %
Lisäys 1,0 µg/l:ssa A	1,3532	83 %
Lisäys 1,0 µg/l:ssa B	1,2905	77 %

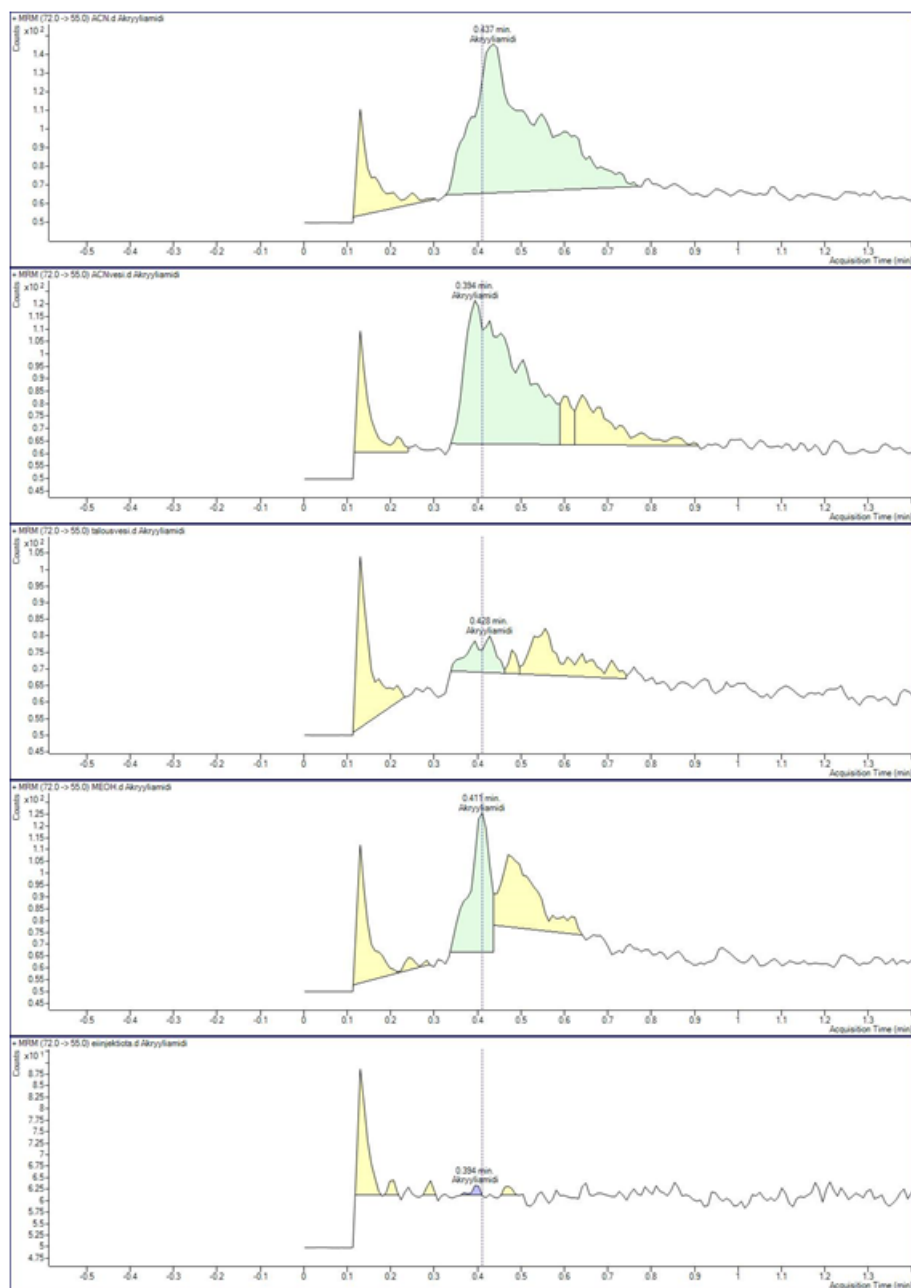
Aiempien testien näytteiden takaisinsaantoprosentit olivat usein menetelmän mitatausepävarmuuden (45 %, jolloin takaisinsaantoprosentin täytyy olla 55–145 %) ulkopuolella, minkä vuoksi niitä ei ole tarkemmin käsitelty.

Validointi aloitettiin nopealla aikataululla, mutta keskeytettiin vaihtelevien tulosten vuoksi. Näytteissä esiintyi edelleen häiriötä, minkä vuoksi nollanäytteet antoivat jopa suurempaa tulosta kuin lisäysnäytteet. (Kuva 20.) Näytteissä esiintyvän häiriön syytä ei saatu selvitettyä.



Kuva 20. Validoinnin tuloksia, ensimmäisenä nollanäyte, alla lisäysnäytteet pitoisuudella 0,032 µg/l:ssa ja 0,06 µg/l:ssa.

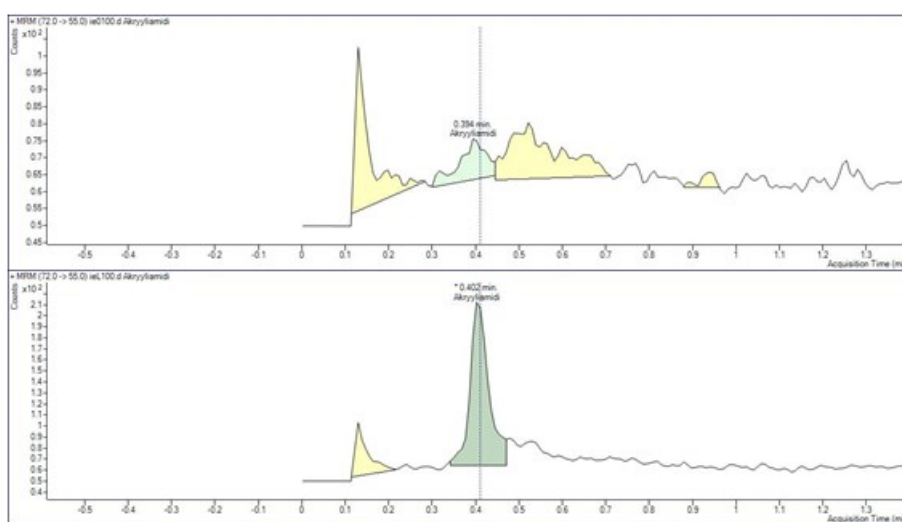
Epäonnistuneen validoinnin jälkeen käytetyistä liuoksista tutkittiin mahdollisia kontaminaatioita. Tutkittavia liuoksia olivat asetonitrili, käytössä ollut asetonitrili:vesi (1:1) 0,05-prosenttinen muurahaishappo -liuos, talousvesi, metanoli ja analyysilaitteen ajoliuos. Osassa liuoksista syntyi kromatogrammiin häiriötä, mutta on epäselvää, vaikuttivatko nämä näytteiden tuloksiin. (Kuva 21.)



Kuva 21. Testattujen liuosten kromatogrammit, järjestys ylhäältä alas: asetonitriili, asetonitriili:vesi 0,05-prosenttinen muurahais-happo, talousvesi, metanoli, ajoliuos.

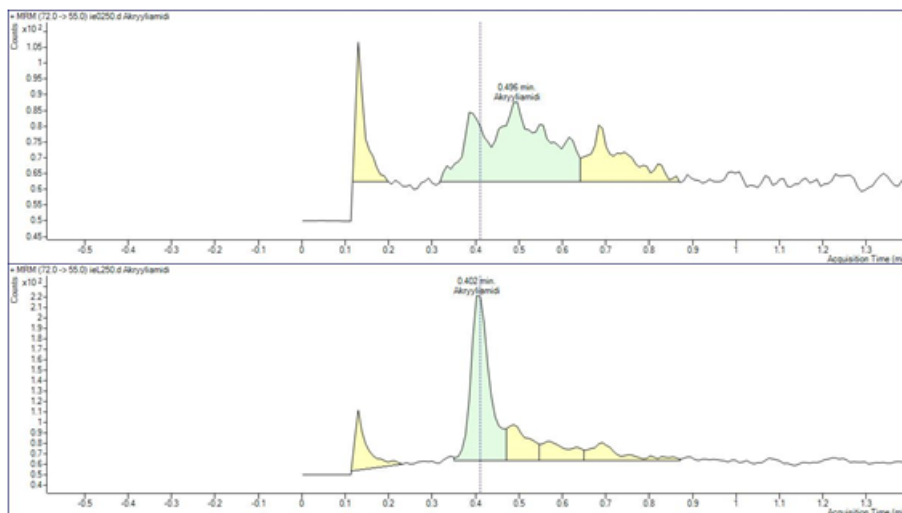
Sisäisestä standardista valmistettiin 0,3 µg/l:ssa pitoinen näyte, joka analysoitiin menetelmällä. Näytteestä tutkittiin akryyliamidin pitoisuutta tarkastelemalla sen kromatogrammia. Näytteen kromatogrammissa näkyi kuitenkin piikki vain deuteroidulle akryyliamidille eli sisäiselle standardille. Lisäksi testattiin puhtasaineiden kantaliuosten valmistamista talousveden sijasta metanoliin, mutta tällä ei ollut vaikutusta kromatogrammien muotoon.

Vertailukoenäytteet vaikuttivat kromatogrammien perusteella onnistuneilta. Sekä 100 ml:n että 250 ml:n lisäysnäytteen kromatogrammeissa esiintyi akryyliamidille siisti piikki eikä kummankaan tilavuuden nollanäytteissä esiintynyt selkeää häiriötä (kuvat 22 ja 23). 100 ml:n näytteen tulokseksi saatiin 1,119 µg/l:ssa, ja 250 ml:n näytteen tulokseksi saatiin 1,198 µg/l:ssa, joten molemmilla näytemäärillä lisäysnäytteelle saatiin lähes sama tulos. Takaisinsaantoprosentit lisäysnäytteille olivat 140–150 %, kun ieLabin ilmoittama näytteen pitoisuus oli 0,798 µg/l:ssa ja nollanäytteiden tuloksia ei otettu huomioon. Tulokset olivat aivan 45 % mittausepävarmuuden rajalla. Takaisinsaantoprosentit laskettiin kaavan 3 mukaan.



Kuva 22. 100 ml:n vertailukoenäytteet, yllä nollanäyte ja alla lisäysnäyte.

Vertailukoenäytteiden tuloksissa ei huomioitu nollanäytteen tulosta, sillä nollanäytteen kromatogrammeissa ei esiintynyt selkeää piikkiä akryyliamidille.



Kuva 23. 250 ml:n vertailukoenäytteet, yllä nollanäyte ja alla lisäysnäyte.

Akryyliamidin menetelmän kehitys ja esikäsittelymenetelmän optimointi jäi lopulta kesken, eikä validointia suoritettu. Ajojen tuloksista lisää liitteessä 2.

6.2 Tulosten tarkastelu

Tuetun nesteuton patruuna Novum sekä käänteisfaasi- ja ioninvaihtokromatografian yhdistelmäpatruuna Oasis antoivat hyvin vaihtelevia tuloksia alusta alkaen, joten kyseisten patruunoiden testaus päätettiin keskeyttää ja keskittyä yhteen uuttopatruunaan, joka toimi parhaiten. Londonin dispersoivoimiin perustuvalla Resprep-hiilipatruunalla akryyliamidille saatiin näkyviin melko toistettavaa kromatogrammia, mutta ongelmana oli näytteissä esiintyvä häiriö. Nollanäytteiden kromatogrammeissa esiintyi häiriöpiikki, eikä akryyliamidin piikin muoto lisäysnäytteissä ollut siisti ja symmetrinen. Tämä teki integroinnista haasteellista ja epätarkkaa, ja tuloksista vaihtelevia.

Menetelmää testattiin eri tavoin, joilla poisluetettiin kontaminaation mahdollisuutta esikäsittelyn ja analyysin aikana. Näytteiden valmistukseen käytetyt puhdasaineet, kantaliuokset ja asetontriili:vesi (1:1) 0,05-prosenttinen muurahaishappo -liuos valmistettiin uudestaan tai vaihdettiin. Uuttolaitteiston näytelinjastot pestiin ja huuhdeltiin isopropanolilla. Analyysilaitteen esikolonne, erotuskolonne, neula ja inline-suodatin vaihdettiin. Millään muutoksella ei todettu merkittävää eroa näytteiden tuloksissa.

Ajojen aikana ajettavissa asetonitrili-injektioissa esiintyi sattumanvarainen piikki akryyliamidin kohdalla. Kyseistä piikkiä ei injektiossa pitäisi esiintyä. Häiriön syy jäi selvittämättä, sillä asetonitriliä vaihdettiin lähes joka ajossa, mutta liuoksen vaihdolla ei ollut vaikutusta piikin esiintyvyyteen. Analyysilaitteessa esiintyvä kontaminaatio saattaisi näkyä kromatogrammeissa piikkinä, mutta sen pitäisi oletettavasti näkyä joka injektiossa, joten tämän häiriön ei ajateltu johtuvan laitteesta. Pidettiin myös epätodennäköisenä, että analyysilaitteella esiintyisi kontaminaatiota, sillä vertailukoenäytteet onnistuivat, eikä käyttöliuoksia tutkittaessa kromatogrammeissa esiintynyt samanlaista häiriötä.

Validoinnin jälkeen käyttöliuoksia tutkittiin analyysilaitteella mahdollisten kontaminaatioiden varalta. Analyysilaitteella ajettiin puhdasta asetonitriliä, metanolia, talousvettä, puhdistettua vettä, pelkkää ajoliuosta sekä asetonitrili:vesi (1:1) 0,05-prosenttinen muura-haishappo -liuosta. Missään liuoksessa ei kuitenkaan havaittu niin suuria pitoisuuksia, että sen olisi todettu olevan häiritsevä tekijä menetelmässä.

Validoinnin aikana tehtyjen vertailukoenäytteiden tulokset vaikuttivat kromatogrammien perusteella onnistuneilta. Molempien lisäysnäytteiden kromatogrammeissa esiintyi akryyliamidille siisti piikki, eikä kummassakaan nollanäytteessä esiintynyt selkeää häiriötä. Analyysilaitteen antamat tulokset olivat molemmille näytemäärille lähes samat. Takaisin-saantoprosentit näytteille olivat aivan mittausepävarmuuden rajalla, joten uuttomenetelmä vaikutti toimivalta, muttei täysin optimaaliselta. Tulokseen on voinut vaikuttaa myös esimerkiksi piikin integrointi kromatogrammista, sillä piikin juuressa esiintyi pientä häiriötä.

Vertailukoenäytteiden siistien kromatogrammien jälkeen epäiltiin, että tutkitussa talousvedessä esiintyisi akryyliamidia tai muuta analyysia häiritsevää kontaminanttia pieni pitoisuus jo valmiiksi. On kuitenkin myös mahdollista, että esimerkiksi uuttomenetelmä ei toimi tällä hetkellä niin optimaalisesti, kuin sen olisi mahdollista toimia, ja tämän vuoksi talousvedeen tehdyistä näytteistä ei saada tarpeeksi matriisihäiriötä poistettua. Vertailukoenäytteiden tulokset voivat olla parempia siksi, jos näytteisiin käytetty vesi on ollut puhtaampaa kuin muissa testeissä käytetty talousvesi.

Sisäisen standardin kromatogrammeissa näkyi siisti piikki joka näytteessä ja ajossa. Analyysilaitteen antama vaste uuton läpikäyneille näytteille oli huomattavasti pienempi

(n. 5000) kuin kalibrintiliuoksille (n. 250 000), jotka valmistettiin suoraan näytepulloihin ilman uuttoa. Huomattava ero vasteessa voi viitata siihen, ettei uutto toimi optimaalisesti ja sen aikana tapahtuu analyytin hävikkiä. Sisäisen standardin pitoisuus näytteissä oli akryyliamidin pitoisuutta suurempi, jonka vuoksi sisäisen standardin kromatogrammi saattaa vaikuttaa siltä, että uutomenetelmä toimisi. Akryyliamidin piikki voi pienen pitoisuutensa ja uutossa tapahtuvan hävikin jälkeen hävitä mahdollisten matriisihäiriöiden sekaan, jolloin sen piikkiä ei kromatogrammeissa näy selvästi, ja tulokset ovat epäluotettavia.

Näytteiden kromatogrammien piikin muoto muuttui testauksen aikana, eikä menetelmällä saatu enää yhtä kapeita ja teräviä piikkejä kuin ensimmäisistä näytteistä. Validoinnin aikana ajettujen näytteiden piikit olivat huomattavasti leveämpiä kuin ensimmäisen ajon piikit (kuvat 13 ja 20). Piikin muotoon on voinut vaikuttaa esimerkiksi esikolonnin tai erotuskolonnin vaihto, mutta näiden muutosten pitäisi lähinnä parantaa kromatogrammia, ei huonontaa sitä. Kyseiset muutokset eivät kuitenkaan vaikuttaneet esimerkiksi vertailukoenäytteiden kromatogrammeihin, joten piikin leveneminen ei luultavasti johdu uusista kolonneista.

Akryyliamidin määrittämisen pitäisi toimia kyseisellä Resprep-uuttopatruunalla ja SPE-testi 3 -uutomenetelmällä, sillä se on lähteessä todettu toimivaksi. Myös analyysilaitteella käytetty menetelmä on aiemmalla esikäsitteilymenetelmällä toiminut, joten analysointimenetelmässä ei ole ongelmaa. Lähteessä näytteiden analysointimenetelmänä ei käytetty UHPLC-MS-menetelmää, vaan GC-MS-menetelmää (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, kaasukromatografia-massaspektrometria), mutta tämän ei todettu olevan vaikuttava tekijä menetelmän toimimisessa.

7 Yhteenveto ja johtopäätökset

Tuettu nesteuutto -patruunan (Novum SLE 6 cc) sekä käänteisfaasi- ja ioninvaihtokromatografian yhdistelmäpatruunan (Oasis MCX 6 cc 150 mg) testaus keskeytettiin vaihtelevien ja epäluotettavien tulosten vuoksi. Testien perusteella ainoaksi osittain toimivaksi kiinteäfaasiuuttopatruunaksi osoittautui Londonin dispersiovoimiin perustuva Resprep SPE Carboprep 200, 500 mg 6 ml hiilipatruuna, jolla saatiin aikaiseksi melko

toistettavaa tulosta, mutta näytteiden kromatogrammeissa esiintyi häiriöitä. Häiriöiden vuoksi piikkien muoto kärsi ja integroinnista tuli haastavaa. Näytteissä esiintyville häiriöille ei löydetty syytä, joten menetelmän kehitys ja esikäsittelymenetelmän optimointi jäi kesken, eikä validointia voitu vaihtelevien tulosten vuoksi suorittaa. Kromatogrammeissa esiintyvien häiriöiden syyksi epäiltiin näytteisiin käytetyn talousveden akryyliamidipitoisuutta, liuosten tai laitteistojen kontaminaatiota tai epäoptimaalista uuttomenetelmää.

Akryyliamidin menetelmän kehitystä voisi jatkaa analysoimalla näytteitä toisella analyysilaitteella, jotta nähdään, ettei laitteessa esiinny näytteitä häiritsevää kontaminaatiota. Näytteiden suodatusta ei testien aikana koettu tarpeelliseksi, sillä talousvesinäytteet olivat hyvin puhtaita ja SPE-menetelmä puhdistaa näytteen hyvin. Näytteitä voisi kuitenkin suodattaa 0,22–0,45 µm:n suodattimien läpi näytteen konsentroinnin jälkeen, ennen analyysilaitteella ajoa, jotta nähdään, onko näytteen suodattamisella vaikutusta tuloksiin. Yhdessä lähteistä (17) käytettiin näytteiden suodatusta ennen uuttoa, mutta työssä tutkittiin ympäristön vesinäytteitä, mikä voi vaikuttaa asiaan. Ajoissa käytettyä asetonitrilnollaliuosta olisi hyvä vaihtaa joka ajon yhteydessä, jotta varmistetaan, ettei liukseen kerry näytteistä akryyliamidia, vaikka se olisi epätodennäköistä.

Uuttomenetelmää on mahdollista optimoida lisää. Lähteessä uuttomenetelmän liuosten virtausnopeuksia ei ollut mainittu, joten on vaikea tietää uuton virtausnopeuksien oikeaa nopeutta. Kiinteäfaasiuuton tasapainotuksessa on tärkeää, ettei patruunan sorbentti pääse kuivumaan ennen näytteen lisäystä. Tässä vaiheessa virtausnopeudella ei ole juuri merkitystä, kunhan patruunan sorbentti ei suuren virtausnopeuden vuoksi pääse kanavoitumaan. Näytteen lataus -vaiheen virtausnopeus on kriittinen parametri, sillä näytteen analyyttien täytyy ehtiä vuorovaikuttaa patruunan sorbentin kanssa. Tällä hetkellä menetelmän näytteen virtausnopeutena on 10 ml/min, kun sen olisi suotavaa olla 3–6 ml/min, jolla maksimoidaan takaisinsaanto ja menetelmän uusittavuus. Virtausnopeuden pienentäminen lisää uuttoon kuluvaa aikaa, mutta uutettavan näytteen määrää voi tarpeen mukaan kokeilla pienentää. Näytteen ilmakeivaukseen käytettyä aikaa voisi edelleen pidentää tarpeen mukaan. Lähdemateriaaleissa sorbentti pyritään saamaan kuivaksi pitkän kuivausajan, vakuumin tai typpivirtauksen avulla [17; 18; 25; 26]. Tällä hetkellä uuttolaitteella ei ole käytössä vakuumia eikä typpivirtausta, joten kuivaukseen tarvittava aika on pidempi. On mahdollista, ettei näyte ehdi nykyisessä uuttomenetelmässä kuivua tarpeeksi, jolloin veden sisältämät matriisihäiriöt pysyvät näytteessä ja

häiritsevät edelleen näytteen analyysia, tai huonosti kuivunut patruuna voi vaikuttaa analyysin eluoitumiseen. Eluointiliuoksen määrän tulisi olla mahdollisimman pieni, ja koska eluointiliuos vuorovaikuttaa näytteen analyyttien kanssa, virtausnopeuden täytyy olla korkeintaan 6 ml/min. Eluoinnin vaatimukset nykyisessä uuttomenetelmässä täyttyivät. [12.]

Lisäksi toisenlaisia uuttopatruunoita ja -menetelmiä voisi kokeilla lisää. Esimerkiksi useissa lähteissä (17; 25; 26) hyväksi yhdistelmäksi osoittautui huokoinen aktiivihilipatruuna ja metanoli- tai asetonitriliuutto.

Lähteet

- 1 Akryyliamidi. 2017. Onnettomuuden vaaraa aiheuttavat aineet -turvallisuusohje. Työterveyslaitos.
- 2 Komission asetus. 2017. 2158/20.11.2017.
- 3 Talousvesiasetuksen soveltamisohje. 2020. Enimmäisarvojen perusteet, osa III. Sosiaali- ja terveysalan lupa- ja valvontavirasto.
- 4 Acrylamide, Food Safety. Verkkoaineisto. European Commission. <https://ec.europa.eu/food/safety/chemical_safety/contaminants/catalogue/acrylamide_en>. Luettu 21.10.2020.
- 5 Metropolilab Oy. Verkkoaineisto. Metropolilab. <<https://metropolilab.fi/fi/yritys>>. Luettu 21.10.2020.
- 6 Injektointi. Verkkoaineisto. Destia. <<https://www.destia.fi/palvelut/pohjarakentaminen/injektointi.html>>. Luettu 15.12.2020.
- 7 Nukleiinihappojen geelielektroforeesi. 2006. Verkkoaineisto. Solunetti. <https://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/nukleiinihappojen_geelielektroforeesi/2/>. Luettu 20.12.2020.
- 8 Hydroxyl Radicals Reactivity. Verkkoaineisto. Hydrogenlink Inc. <<https://www.hydrogenlink.com/hydroxylradicalsreactivity>>. Luettu 20.12.2020.
- 9 Ohje akryyliamidipitoisuuksien vähentämiseksi ja vertailuarvojen noudattamiseksi Euroopan komission asetuksen (EU) 2017/2158 mukaisesti. Versio 17056/1. Helsinki: Elintarviketurvallisuusvirasto.
- 10 Barley, John. Basic Principles of Freeze Drying. Verkkoaineisto. SP Scientific. <<https://www.spscientific.com/freeze-drying-lyophilization-basics/>>. Luettu 29.12.2020.
- 11 Jaarinen, Soili & Niiranen, Jukka. 2008. Laboratorion analyysitekniikka. 5.-6. painos. Helsinki: Edita Prima Oy.
- 12 Gilson Guide to SPE Automation. 2015. Verkkoaineisto. Gilson, Inc. <https://www.gilson.com/pub/static/frontend/Gilson/customtheme/en_US/images/docs/SPE_BKLT_LT303139-05.pdf>. Luettu 29.10.2020.



- 13 Primary Sample Preparation Techniques, Support Assisted Liquid/Liquid Extraction. Verkkoaineisto. CHROMacademy. <<https://www.chromacademy.com/channels/sample-preparation/technique/primary-sample-preparation-techniques/>>. Luettu 10.1.2021.
- 14 Karhu, Matti. 2020. Senior Technical Consultant, M.Sc. Phenomenex. Sähköposti 6.10.2020.
- 15 Solid Phase Extraction. Verkkoaineisto. Chemistry LibreTexts. <[https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_\(Analytical_Chemistry\)/Analytical_Sciences_Digital_Library/Active_Learning/Contextual_Modules/Sample_Preparation/03_Solid-Phase_Extraction](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_(Analytical_Chemistry)/Analytical_Sciences_Digital_Library/Active_Learning/Contextual_Modules/Sample_Preparation/03_Solid-Phase_Extraction)>. Päivitetty 9.6.2020. Luettu 31.12.2020.
- 16 Liquid-liquid extraction. Verkkoaineisto. Chemistry LibreTexts. <[https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_\(Analytical_Chemistry\)/Analytical_Sciences_Digital_Library/Active_Learning/Contextual_Modules/Sample_Preparation/02_Liquid-Liquid_Extraction](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_(Analytical_Chemistry)/Analytical_Sciences_Digital_Library/Active_Learning/Contextual_Modules/Sample_Preparation/02_Liquid-Liquid_Extraction)>. Päivitetty 9.6.2020. Luettu 31.12.2020.
- 17 Jia-li, Feng; Dong-yang, Chen; Yi-hong, Wang; Bang-rui, Li; Dong, Zeng; Hao, Zhang; Li, Ding. 2014. Determination of Acrylamide in Water by Liquid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry. Verkkoaineisto. LCGC Asia Pacific. <<https://www.chromatographyonline.com/view/determination-acrylamide-water-liquid-chromatography-coupled-tandem-mass-spectrometry>>. Luettu 10.1.2021.
- 18 Canbay, Hale Seçilmiş; Doğantürk, Mahmut. 2019. Analysis of acrylamide in drinking water by SPE and GC–MS. Springer.
- 19 Wei, Xianrong; Brusius, Matt. 2015. Acrylamide from Coffee using Novum Simplified Liquid Extraction (SLE) Tubes and a Synergi Hydro-RP HPLC Column. Phenomenex.
- 20 Oasis MCX 6 cc Vac Cartridge. Verkkoaineisto. Waters. <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/shop/sample-preparation--filtration/186000255-oasis-mcx-6-cc-vac-cartridge-150-mg-sorbent-per-cartridge-60--m-.html>>. Luettu 5.1.2021.
- 21 London Dispersion Interactions. Verkkoaineisto. Chemistry LibreTexts. <[https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_\(Physical_and_Theoretical_Chemistry\)/Physical_Properties_of_Matter/Atomic_and_Molecular_Properties/Intermolecular_Forces/Specific_Interactions/London_Dispersion_Interactions](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Physical_Properties_of_Matter/Atomic_and_Molecular_Properties/Intermolecular_Forces/Specific_Interactions/London_Dispersion_Interactions)>. Päivitetty 16.8.2020. Luettu 19.1.2021.

- 22 Resprep CarboPrep SPE Cartridge. Verkkoaineisto. Restek. <<https://www.restek.com/catalog/view/1717>>. Luettu 5.1.2021.
- 23 King, Carolyn. 2020. Technical Service Specialist. Restek. Sähköposti 6.10.2020.
- 24 Dolan, John W. 2012. When Should an Internal Standard be Used? Verkkoaineisto. LCGC North America. <<https://www.chromatographyonline.com/view/when-should-internal-standard-be-used-0>>. Luettu 21.1.2021.
- 25 Wollseifen, H. R.; Kretschmer, T.; Riering, H.; Roedel M. Analysis of acrylamide from water according to DIN EN ISO 38413-6. Verkkoaineisto. Macherey-nagel. <http://ftp.mn-net.com/english/poster/chromatography/Poster_acrylamide_water_DIN-EN-ISO-38413-6_www.pdf>. Luettu 16.1.2020.
- 26 Togola, Anne; Guezennec, Anne-Gwénaëlle; Coureau, Charlotte; Touzé, Solène. 2014. A sensitive analytical procedure for monitoring acrylamide water samples by offline SPE-UPLC/MS/MS. Verkkoaineisto. ResearchGate. <https://www.researchgate.net/publication/269182392_A_sensitive_analytical_procedure_for_monitoring_acrylamide_in_environmental_water_samples_by_offline_SPE-UPLCMSMS>. Luettu 16.1.2020.

Sähköpostit

Vastaus Novum-uuttopatruunan kemiasta.

Lyhenteen kirjaimet SLE tulevat sanoista Supported Liquid Extraction (tuettu nesteutto). SLE on neste-nesteuuton avustettu muoto, jossa nesteuuttoa nopeutetaan käyttämällä kiinteää tukimateriaalia (solid support). Tämä kiinteä tukimateriaali voi olla valmistettu joko synteettisestä aineesta kuten Novumin kohdalla tai sitten vanhempien tuotteiden kohdalla tukimateriaali on piimaapohjaista (diatomaceous earth). Modernien synteettisten SLE-materiaalien etuna on, että tuotantoerien välillä on pienempi vaihtelu kuin piimaapohjaisten tuotteiden kanssa. Piimaapohjaiset tuotteet ovat kuitenkin edullisia valmistaa, josta johtuen niitä käytetään yhä tänäkin päivänä.

 		
Synthetic	Sorbent	Diatomaceous Earth
Lot-to-lot consistency and reproducibility	Advantages	Cost effective and large volume capabilities
Ethyl Acetate, Methyl Tert-Butyl Ether (MTBE)	Extraction Solvents	Dichloromethane (DCM), Hexane, MTBE, Ethyl Acetate
MINI 96-Well Plates, MAX 96-Well Plates	Plate Formats	200 µL 96-Well Plates, 400 µL 96-Well Plates
1 cc, 3 cc, 6 cc, 12 cc	Tube Formats	12 cc and 60 cc

SLE:ssä tukimateriaali on itsessään inerttiä eikä sen ole tarkoitus vuorovaikuttaa kemiallisesti analyttien kanssa kuten vaikkapa SPE:ssä. SLE:n toimintaperiaate on kuvattu hyvin oheisessa artikkelissa: <https://www.chromatographyonline.com/view/supported-liquid-extraction-best-kept-secret-sample-preparation>

Vastaus Resprep-uuttopatruunan kemiasta.

Reference #129171

Thank you for your enquiry.

Restek's carbon SPE products contain graphitized carbon. It's not really normal or reversed phase, or ion exchange. Surface interactions are based on London dispersion forces, and they're generally a good choice for polar compounds.

Here are a couple other resources about this type of material and related products that may help:

- <https://phenomenex.blog/2018/08/21/graphitized-carbon-black/>
- <https://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/analytical-products.html?TablePage=20049122>
- <https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Supelco/Posters/t497277.pdf>

Ajojen tulokset

7.10.2020 ajettu näyttö. Lisäysohjeet pitoisuudeltaan 0,06 µg/l:ssa, Resprep-nollanäyte uutettu SPE-testi 1 -menetelmällä, Oasis-nollanäyte uutettu SPE-testi 2 -menetelmällä.

Sample							Akryyliamidi Method	Akryyliamidi Results				
Name	Data File	Type	Level	Amt.	Tot. Amt.	Dil.	Exp. Conc.	RT	Resp.	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy
nolla	WorklistData-0001.d	Blank				1		0,3598	602,6	3786,879329	3786,879329	
std1	std1.d	Cal	1			1	1,5	0,4109	95,86	1,574687311	1,574687311	104,97915
std2	std2.d	Cal	2			1	2,5	0,4109	160,5	2,782515016	2,782515016	111,3006
std3	std3.d	Cal	3			1	4,5	0,4024	238,8	4,207390036	4,207390036	93,497556
std4	std4.d	Cal	4			1	12	0,4024	664,5	11,73485185	11,73485185	97,790432
std5	std5.d	Cal	5			1	22,5	0,4109	1221	22,7514654	22,7514654	101,11762
std6	std6.d	Cal	6			1	37,5	0,4109	2158	37,45050137	37,45050137	99,868004
std7	std7.d	Cal	7			1	75	0,4109	4145	74,99803516	74,99803516	99,99738
istd	istd.d	Sample				1		0,3684	127,8	1,799145459	1,799145459	
nolla	nolla.d	Sample				1		0,3598	739,1	2961,021652	2961,021652	
novum 0	novum 0.d	Sample		150	2	1		0,1299	328,9	788,5083744	10,51344499	
novum 0	novum 0b.d	Sample		150	2	1		0,1299	0	0	0	0
novum 1	novum 1.d	Sample		150	2	1		0,5387	58,54	214,8756771	2,865009028	
novum 1	novum 1b.d	Sample		150	2	1		0,4791	0	0	0	0
novum 2	novum 2.d	Sample		150	2	1		0,1299	0	0	0	0
novum 2	novum 2b.d	Sample		150	2	1		0,3684	236	531,3623594	7,084831458	
restek mcx1 0	restek mcx1 0.d	Sample		150	2	1		0,4024	126,5	1118,451736	14,91268981	
restek mcx1 0	restek mcx1 0b.d	Sample		150	2	1		0,4109	122,1	970,8967046	12,94528939	
restek mcx1 A	restek mcx1 A.d	Sample		150	2	1		0,4109	114,1	841,6165287	11,22155372	
restek mcx1 A	restek mcx1 Ab.d	Sample		150	2	1		0,4109	165,4	836,756582	11,15675443	
restek mcx1 B	restek mcx1 B.d	Sample		150	2	1		0,4109	175,7	1373,627541	18,31503388	
restek mcx1 B	restek mcx1 Bb.d	Sample		150	2	1		0,4109	170,1	1680,920665	22,41227553	
restek mcx2 A	restek mcx2 A.d	Sample		150	2	1		0,4109	184,9	74,34127357	0,991216981	
restek mcx2 A	restek mcx2 Ab.d	Sample		150	2	1		0,4109	259	104,1029602	1,38803947	
restek mcx2 B	restek mcx2 B.d	Sample		150	2	1		0,4109	210,8	80,80969851	1,077462647	
restek mcx2 B	restek mcx2 Bb.d	Sample		150	2	1		0,4195	206,5	77,12058518	1,028274469	
oasis mcx1 A	oasis mcx1 A.d	Sample		150	2	1		0,4876	0	0	0	0
oasis mcx1 A	oasis mcx1 Ab.d	Sample		150	2	1		0,4876	0	0	0	0
oasis mcx1 B	oasis mcx1 B.d	Sample		150	2	1		0,3087	4,562	368,195786	4,909277146	
oasis mcx1 B	oasis mcx1 Bb.d	Sample		150	2	1		0,2832	10,72	396,9489604	5,292652805	
oasis mcx2 A	oasis mcx2 A.d	Sample		150	2	1		0,4109	0	0	0	0
oasis mcx2 A	oasis mcx2 Ab.d	Sample		150	2	1		0,4195	0	0	0	0
oasis mcx2 B	oasis mcx2 B.d	Sample		150	2	1		0,4195	0	0	0	0
oasis mcx2 B	oasis mcx2 Bb.d	Sample		150	2	1		0,4109	0	0	0	0
Oasis 0, 1	Oasis 0, 1.d	Sample		150	2	1		0,4109	85,3	159,6914389	2,129219185	
Oasis 0, 2	Oasis 0, 2.d	Sample		150	2	1		0,4195	70,11	132,203754	1,76271672	

12.10.2020 ajetut näytteet. Lisäsnäytteiden pitoisuutta nostettu 0,06 µg/l:ssa pitoisuudesta 0,3 µg/l:ssa pitoisuuteen. Resprep-nollanäyte uutettu SPE-testi 2 -menetelmällä.

Sample							Akryyliamidi Method		Akryyliamidi Results				
Name	Data File	Type	Level	Amt.	Tot. Amt.	Dil.	Exp. Conc.	RT	Resp.	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy	
b1	b1.d	Blank				1		0,3513	613,6	18049,3053	18049,3053		
b2	b2.d	Blank				1		0,3513	628,6	19982,84825	19982,84825		
b3	b3.d	Blank				1		0,4876	42,28	307,8780231	307,8780231		
STD 1	STD 1.d	Cal	1			1	1,5	0,4109	127,8	1,52413888	1,52413888	101,60926	
STD 2	STD 2.d	Cal	2			1	2,5	0,4024	214,3	2,47472427	2,47472427	98,988971	
STD 3	STD 3.d	Cal	3			1	4,5	0,4024	384,2	4,759042286	4,759042286	105,7565	
STD 4	STD 4.d	Cal	4			1	12	0,4109	930,5	11,2901735	11,2901735	94,084779	
STD 5	STD 5.d	Cal	5			1	22,5	0,4109	1780	21,91837833	21,91837833	97,415015	
STD 6	STD 6.d	Cal	6			1	37,5	0,4109	2926	39,02133357	39,02133357	104,05689	
STD 7	STD 7.d	Cal	7			1	75	0,4109	5579	74,51220917	74,51220917	99,349612	
restek 0	restek 0.d	Sample		150	2	1		0,4109	251,6	87,77519087	1,170335878		
restek 0	restek 0b.d	Sample		150	2	1		0,4195	198	69,19515995	0,922602133		
restek 1a	restek 1a.d	Sample		150	2	1		0,4109	157,6	2339,699446	31,19599261		
restek1a	restek1ab.d	Sample		150	2	1		0,4109	156,1	2362,569261	31,50092348		
restek 1b	restek 1b.d	Sample		150	2	1		0,4109	118,7	1116,861844	14,89149125		
restek 1b	restek 1bb.d	Sample		150	2	1		0,4195	152,8	1488,102982	19,8413731		
restek 2a	restek 2a.d	Sample		150	2	1		0,4109	273,1	58,6575058	0,782100077		
restek 2a	restek 2ab.d	Sample		150	2	1		0,4109	312,2	68,3804049	0,911738732		
restek2b	restek2b.d	Sample		150	2	1		0,4109	271,6	71,74347607	0,956579681		
restek 2b	restek 2bb.d	Sample		150	2	1		0,4109	289,3	76,22122663	1,016283022		
oasis 1a	oasis 1a.d	Sample		150	2	1		0,4961	0	0	0	0	
oasis 1a	oasis 1ab.d	Sample		150	2	1		0,4706	0	0	0	0	
oasis 1b	oasis 1b.d	Sample		150	2	1		0,4876	0	0	0	0	
oasis 1b	oasis 1bb.d	Sample		150	2	1		0,462	0	0	0	0	
oasis 2a	oasis 2a.d	Sample		150	2	1		0,4109	0	0	0	0	
oasis 2a	oasis 2ab.d	Sample		150	2	1		0,4109	0	0	0	0	
oasis 2b	oasis 2b.d	Sample		150	2	1		0,4365	0	0	0	0	
oasis 2b	oasis 2bb.d	Sample		150	2	1		0,3598	313,8	540,5232841	7,206977122		
novum a	novum a.d	Sample		150	2	1		0,3598	168,8	531,3260692	7,084347589		
novum a	novum ab.d	Sample		150	2	1		0,3598	175,7	534,2984848	7,123979798		
novum b	novum b.d	Sample		150	2	1		0,3513	109,3	331,9286298	4,425715065		
novum b	novum bb.d	Sample		150	2	1		0,3684	47,77	140,023748	1,866983307		

19.10.2020 ajetut näytteet. Uttomenetelmiin tehty muutoksia, Novum-patruunan testaus keskeytetty. Resprep-nollanäyte uutettu SPE-testi 3 -menetelmällä, Oasis-nollanäyte uutettu SPE-testi 3 -menetelmällä.

Sample							Akryyliamidi Method		Akryyliamidi Results				
Name	Data File	Type	Level	Amt.	Tot. Amt.	Dil.	Exp. Conc.	RT	Resp.	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy	
b1	b1.d	Blank				1		0,3599	526,1	13631,39327	13631,39327		
b2	b2.d	Blank				1		0,3599	787,7	23917,98062	23917,98062		
b3	b3.d	Blank				1		0,3599	1039	44727,59484	44727,59484		
STD 1	STD 1.d	Cal	1			1	1,5	0,4024	223	1,699475839	1,699475839	113,29839	
STD 2	STD 2.d	Cal	2			1	2,5	0,411	258	2,270883571	2,270883571	90,835343	
STD 3	STD 3.d	Cal	3			1	4,5	0,4024	443,2	4,737287569	4,737287569	105,27306	
STD 4	STD 4.d	Cal	4			1	12	0,4024	994,8	12,89827696	12,89827696	107,48564	
STD 5	STD 5.d	Cal	5			1	22,5	0,411	1691	22,12653984	22,12653984	98,340177	
STD 6	STD 6.d	Cal	6			1	37,5	0,4024	2780	36,11962409	36,11962409	96,318998	
STD 7	STD 7.d	Cal	7			1	75	0,411	5575	75,64791213	75,64791213	100,86388	
b4	b4.d	Sample				1		0,3599	1275	24559,58826	24559,58826		
restek 0	restek 0.d	Sample		150	2	1		0,4024	289,3	89,58849763	1,194513302		
restek 0	restek 0b.d	Sample		150	2	1		0,4024	311,9	102,1449267	1,361932356		
restek 3a	restek 3a.d	Sample		150	2	1		0,411	392	117,5160416	1,566880555		
restek3a	restek3ab.d	Sample		150	2	1		0,411	420,2	122,2751634	1,630335512		
restek 3b	restek 3b.d	Sample		150	2	1		0,411	488,4	132,0423289	1,760564385		
restek 3b	restek 3bb.d	Sample		150	2	1		0,411	440,8	121,1013472	1,614684629		
restek 4a	restek 4a.d	Sample		150	2	1		0,411	348,1	139,0689406	1,854252542		
restek 4a	restek 4ab.d	Sample		150	2	1		0,411	433,6	182,720644	2,436275254		
restek4b	restek4b.d	Sample		150	2	1		0,411	451,5	145,8216144	1,944288192		
restek 4b	restek 4bb.d	Sample		150	2	1		0,411	495,1	169,3519553	2,258026071		
restek 1	restek 1.d	Sample		150	2	1		0,411	200	1005,431076	13,40574767		
restek 1	restek 1b.d	Sample		150	2	1		0,3939	249,8	2321,013401	30,94684534		
restek 2	restek 2.d	Sample		150	2	1		0,4024	501,4	129,4635514	1,726180685		
restek 2	restek 2b.d	Sample		150	2	1		0,411	547,2	145,8373925	1,944498567		
b5	b5.d	Sample		150	2	1		0,3599	2010	56524,85549	753,6647398		
oasis 0	oasis 0.d	Sample		150	2	1		0,3684	542,1	785,8648301	10,47819774		
oasis 0	oasis 0b.d	Sample		150	2	1		0,3769	1177	1756,175977	23,41567969		
oasis 3a	oasis 3a.d	Sample		150	2	1		0,3939	160,9	241,4087138	3,218782851		
oasis 3a	oasis 3ab.d	Sample		150	2	1		0,3854	182,6	243,3541838	3,24472245		
oasis 3b	oasis 3b.d	Sample		150	2	1		0,3939	201,2	268,1460693	3,575280924		
oasis 3b	oasis 3bb.d	Sample		150	2	1		0,3684	323,6	465,0027612	6,200036815		
oasis 4a	oasis 4a.d	Sample		150	2	1		0,3769	382,8	661,5265319	8,820353758		
oasis 4a	oasis 4ab.d	Sample		150	2	1		0,3769	335,7	599,2794805	7,990393074		
oasis 4b	oasis 4b.d	Sample		150	2	1		0,3769	1079	1729,540266	23,06053688		
oasis 4b	oasis 4bb.d	Sample		150	2	1		0,3684	303,9	481,5983631	6,421311508		

21.10.2020 ajetut näytteet. Uutettavan näytteen määrää muutettu 150 ml:sta 250 ja 500 ml:aan, Oasis-patruunan testaus keskeytetty. Uuttomenetelmänä SPE-testi 2.

Sample							Akryyliamidi Method		Akryyliamidi Results				
Name	Data File	Type	Level	Amt.	Tot. Amt.	Dil.	Exp. Conc.	RT	Resp.	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy	
b1	b1.d	Blank				1		0,3599	1049	20134,86039	20134,86039		
b2	b2.d	Blank				1		0,3599	2132	27783,62364	27783,62364		
b3	b3.d	Blank				1		0,3599	2392	30813,36659	30813,36659		
STD 1	STD 1.d	Cal	1			1	1,5	0,4024	474,6	0,014638131	0,014638131	0,9758754	
STD 2	STD 2.d	Cal	2			1	2,5	0,4024	833,9	4,225314992	4,225314992	169,0126	
STD 3	STD 3.d	Cal	3			1	4,5	0,4024	923,5	4,736682554	4,736682554	105,25961	
STD 4	STD 4.d	Cal	4			1	12	0,4024	1663	11,88681737	11,88681737	99,056811	
STD 5	STD 5.d	Cal	5			1	22,5	0,4024	2703	22,81596929	22,81596929	101,40431	
STD 6	STD 6.d	Cal	6			1	37,5	0,411	3740	36,37852688	36,37852688	97,009405	
STD 7	STD 7.d	Cal	7			1	75	0,4024	7594	75,44205078	75,44205078	100,5894	
R150	R150.d	Sample		150	2	1		0,411	684,2	159,2229263	2,122972351		
R150	R150b.d	Sample		150	2	1		0,4024	663,5	166,169175	2,215589		
R0 250	R0 250.d	Sample		250	2	1		0,4024	533	158,5261542	1,268209234		
R0 250	R0 250b.d	Sample		250	2	1		0,4024	631,3	179,8573189	1,438858551		
R250A	R250A.d	Sample		250	2	1		0,411	728,4	186,4871983	1,491897586		
R250A	R250Ab.d	Sample		250	2	1		0,4024	698,5	184,1282614	1,473026091		
R250B	R250B.d	Sample		250	2	1		0,411	872,9	207,0890914	1,656712731		
R250B	R250Bb.d	Sample		250	2	1		0,411	705,8	165,1791832	1,321433466		
R0 500	R0 500.d	Sample		500	2	1		0,411	768,2	222,0407712	0,888163085		
R0 500	R0 500b.d	Sample		500	2	1		0,411	860	254,3623103	1,017449241		
R500A	R500A.d	Sample		500	2	1		0,411	780,3	232,607359	0,930429436		
R500A	R500Ab.d	Sample		500	2	1		0,4024	884,4	255,7762122	1,023104849		
R500B	R500B.d	Sample		500	2	1		0,411	861,8	275,9321955	1,103728782		
R500B	R500Bb.d	Sample		500	2	1		0,411	766,5	235,3210131	0,941284052		
K1	K1.d	Sample				1		0,3854	588,6	0,946619949	0,946619949		
K2	K2.d	Sample				1		0,3939	610	1,502702625	1,502702625		
K3	K3.d	Sample				1		0,4024	913,2	4,280488439	4,280488439		

21.10.2020 ajetut näytteet. Samat näytteet ajettuna myös optimoidulla menetelmällä.

Sample							Akryyliamidi Method	Akryyliamidi Results				
Name	Data File	Type	Level	Amt.	Tot. Amt.	Dil.	Exp. Conc.	RT	Resp.	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy
b1	2b1.d	Blank				1		0,3684	7235	11071,85148	11071,85148	
b2	2b2.d	Blank				1		0,3769	7231	15034,29627	15034,29627	
b3	2b3.d	Blank				1		0,3684	8202	18957,58583	18957,58583	
STD 1	2STD 1.d	Cal	1			1	1,5	0,3513	10102	0	0	0
STD 2	2STD 2.d	Cal	2			1	2,5	0,3513	10437	0,46922684	0,46922684	18,769074
STD 3	2STD 3.d	Cal	3			1	4,5	0,3599	16836	7,833036687	7,833036687	174,06748
STD 4	2STD 4.d	Cal	4			1	12	0,3513	18230	10,2511317	10,2511317	85,426098
STD 5	2STD 5.d	Cal	5			1	22,5	0,3513	29554	24,87111594	24,87111594	110,53829
STD 6	2STD 6.d	Cal	6			1	37,5	0,3513	41172	38,36711334	38,36711334	102,3123
STD 7	2STD 7.d	Cal	7			1	75	0,3599	67156	74,03925531	74,03925531	98,719007
R150	2R150.d	Sample		150	2	1		0,3343	91983	2817,615657	37,56820877	
R150	2R150b.d	Sample		150	2	1		0,3343	1E+05	2986,107953	39,81477271	
R0 250	2R0 250.d	Sample		250	2	1		0,3343	85386	3106,94456	24,85555648	
R0 250	2R0 250b.d	Sample		250	2	1		0,3343	89721	3236,097121	25,88877697	
R250A	2R250A.d	Sample		250	2	1		0,3343	89363	3130,602874	25,04482299	
R250A	2R250Ab.d	Sample		250	2	1		0,3343	89096	2908,298476	23,2663878	
R250B	2R250B.d	Sample		250	2	1		0,3343	89819	2756,729311	22,05383449	
R250B	2R250Bb.d	Sample		250	2	1		0,3343	72593	2827,860952	22,62288761	
R0 500	2R0 500.d	Sample		500	2	1		0,3343	77633	2840,746514	11,36298606	
R0 500	2R0 500b.d	Sample		500	2	1		0,3343	87031	3193,267291	12,77306916	
R500A	2R500A.d	Sample		500	2	1		0,3343	85098	3149,161568	12,59664627	
R500A	2R500Ab.d	Sample		500	2	1		0,3343	83131	3174,15993	12,69663972	
R500B	2R500B.d	Sample		500	2	1		0,3343	82802	3150,314765	12,60125906	
R500B	2R500Bb.d	Sample		500	2	1		0,3343	85879	3180,479345	12,72191738	
K1	2K1.d	Sample				1		0,3428	8905	0	0	
K2	2K2.d	Sample				1		0,3513	9059	0	0	
K3	2K3.d	Sample				1		0,3513	11617	1,568541084	1,568541084	

2.11.2020 ajetut näytteet. Useamman nollanäytteen uutto, joilla tarkasteltiin akryyliami-
din mahdollista jäämää automaattisessa uuttolaitteistossa, käytössä optimoitu ajomene-
telmä.

Sample							Akryyliamidi Method	Akryyliamidi Results				
Name	Data File	Type	Level	Amt	Tot. Amt	Dil.	Exp. Conc.	RT	Resp.	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy
blank1	WorklistData-0023.d	Blank				1		0,3769	6872	4143,811011	4143,811011	
nolla2	nolla2.d	Blank				1		0,3769	5263	9677,203476	9677,203476	
nolla3	nolla3.d	Blank				1		0,3769	4046	14095,96948	14095,96948	
std1	std1.d	Cal	1			1	1,5	0,3599	10727	0,600728596	0,600728596	40,048573
std2	std2.d	Cal	2			1	2,5	0,3599	9954	0	0	0
std3	std3.d	Cal	3			1	4,5	0,3513	12880	4,165822998	4,165822998	92,573844
std4	std4.d	Cal	4			1	12	0,3513	17945	10,65043517	10,65043517	88,753626
std5	std5.d	Cal	5			1	22,5	0,3513	28318	24,50104605	24,50104605	108,89354
std6	std6.d	Cal	6			1	37,5	0,3513	40922	45,83125082	45,83125082	122,21667
std7	std7.d	Cal	7			1	75	0,3428	58488	70,5996586	70,5996586	94,132878
nolla4	nolla4.d	Blank				1		0,3599	2358	6150,295979	6150,295979	
pv0	pv0.d	Sample		500	2	1		0,3684	13973	508,3824283	2,033529713	
pv0	pv0b.d	Sample		500	2	1		0,3428	13129	488,9497642	1,955799057	
tv0a	tv0a.d	Sample		500	2	1		0,3343	65200	3679,956577	14,71982631	
tv0a	tv0ab.d	Sample		500	2	1		0,3343	64490	3506,47301	14,02589204	
tv0b	tv0b.d	Sample		500	2	1		0,3343	75575	3437,706509	13,75082604	
tv0b	tv0bb.d	Sample		500	2	1		0,3343	76450	3318,338373	13,27335349	
500a	500a.d	Sample		500	2	1		0,3343	77413	3433,339685	13,73335874	
500a	500ab.d	Sample		500	2	1		0,3343	76125	3644,113228	14,57645291	
500b	500b.d	Sample		500	2	1		0,3428	78340	3876,46432	15,50585728	
500b	500bb.d	Sample		500	2	1		0,3343	75416	3506,455826	14,02582331	
nolla5	nolla5.d	Blank		500	2	1		0,3599	2778	7084,528725	28,3381149	

5.11.2020 ajetut näytteet. Nollanäytteiden uutto SPE-uuttolaitteiston pesujen jälkeen.

Sample							Akryyliamidi Method	Akryyliamidi Results				
Name	Data File	Type	Level	Amt.	Tot. Amt.	Dil.	Exp. Conc.	RT	Resp.	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy
nolla1	nolla1.d	Blank				1		0,3599	2253	117927,1788	117927,1788	
nolla2	nolla2.d	Blank				1		0,3599	3261	119522,0942	119522,0942	
nolla3	nolla3.d	Blank				1		0,3513	3324	102932,119	102932,119	
std1	std1.d	Cal	1			1	1,5	0,3599	743,4	6,628236568	6,628236568	441,88244
std2	std2.d	Cal	2			1	2,5	0,3939	360,2	0,060292455	0,060292455	2,4116982
std3	std3.d	Cal	3			1	4,5	0,4024	509	3,400783376	3,400783376	75,572964
std4	std4.d	Cal	4			1	12	0,4024	1028	12,95752792	12,95752792	107,9794
std5	std5.d	Cal	5			1	22,5	0,4024	1673	22,95625849	22,95625849	102,02782
std6	std6.d	Cal	6			1	37,5	0,4024	2623	42,03588638	42,03588638	112,0957
std7	std7.d	Cal	7			1	75	0,411	4364	72,58925138	72,58925138	96,785669
nolla4	nolla4.d	Blank				1		0,3513	3380	88639,39263	88639,39263	
S0	S0.d	Sample		500	2	1		0,4024	212,9	356,9913888	1,427965555	
S0	S0b.d	Sample		500	2	1		0,411	172,4	282,5129048	1,130051619	
R0eiistd	R0eiistd.d	Sample		500	2	1		0,411	676,5	42361,36499	169,44546	
R0eiistd	R0eiistdb.d	Sample		500	2	1		0,411	607	54766,19901	219,064796	
R0	R0.d	Sample		500	2	1		0,411	603,4	375,0365279	1,500146112	
R0	R0b.d	Sample		500	2	1		0,411	663,1	402,3774087	1,609509635	
nolla5	nolla5.d	Blank				1		0,3513	3522	131903,8241	131903,8241	
pesu	pesu.d	Blank				1						
nolla6	nolla6.d	Blank				1		0,3513	254,4	12346,98865	12346,98865	
nolla7	nolla7.d	Blank				1		0,3599	669,5	24205,89459	24205,89459	
nolla8	nolla8.d	Blank				1		0,3599	579,4	28364,85246	28364,85246	
500A	500A.d	Sample		500	2	1		0,411	834,3	437,6400521	1,750560208	
500A	500Ab.d	Sample		500	2	1		0,411	716,7	390,4491784	1,561796714	
500B	500B.d	Sample		500	2	1		0,4024	864,5	548,4183954	2,193673582	
500B	500Bb.d	Sample		500	2	1		0,411	808,5	462,2110473	1,848844189	
nolla9	nolla9.d	Blank				1		0,3599	575,8	20248,80803	20248,80803	

6.11.2020 ajetut näytteet. Manuaalisella vakuuimanimanifoldilla uutetut näytteet.

Sample							Akryyliamidi Method	Akryyliamidi Results				
Name	Data File	Type	Level	Amt.	Tot. Amt.	Dil.	Exp. Conc.	RT	Resp.	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy
nolla1	nolla1.d	Blank				1		0,3599	397,9	21419,25862	21419,25862	
nolla2	nolla2.d	Blank				1		0,3599	550,8	13425,13014	13425,13014	
nolla3	nolla3.d	Blank				1		0,3684	562	11980,57303	11980,57303	
std1	std1.d	Cal	1			1	1,5	0,3599	656,6	5,391200442	5,391200442	359,41336
std2	std2.d	Cal	2			1	2,5	0,4024	332,6	0,434451865	0,434451865	17,378075
std3	std3.d	Cal	3			1	4,5	0,4024	440,5	2,21073507	2,21073507	49,127446
std4	std4.d	Cal	4			1	12	0,4024	960,6	10,96381828	10,96381828	91,365152
std5	std5.d	Cal	5			1	22,5	0,4024	1677	22,81370921	22,81370921	101,39426
std6	std6.d	Cal	6			1	37,5	0,4024	2650	39,47205066	39,47205066	105,2588
std7	std7.d	Cal	7			1	75	0,4024	4590	74,21403447	74,21403447	98,952046
nolla4	nolla4.d	Blank				1		0,3599	504,4	20027,85364	20027,85364	
RL	RL.d	Sample		10	2	1		0,3939	100,6	33,31751377	6,663502754	
RL	RLb.d	Sample		10	2	1		0,4024	144,4	49,40417959	9,880835918	
R0	R0.d	Sample		10	2	1		0,3343	267,7	3019,496306	603,8992613	
R0	R0b.d	Sample		10	2	1		0,3343	290,4	3581,638422	716,3276843	
R0eiistd	R0eiistd.d	Sample		10	2	1		0,4365	63,4	2859,701454	571,9402907	
R0eiistd	R0eiistdb.d	Sample		10	2	1		0,4024	158,9	6378,019289	1275,603858	
S0	S0.d	Sample		10	2	1		0,3513	226,6	1287,021622	257,4043244	
S0	S0b.d	Sample		10	2	1		0,3428	199,5	1130,816074	226,1632147	
S0eiistd	S0eiistd.d	Sample		10	2	1		0,3428	326,9	51342,26107	10268,45221	
S0eiistd	S0eiistdb.d	Sample		10	2	1		0,3513	318,7	7368,944897	1473,788979	
nolla5	nolla5.d	Blank				1		0,3599	672	22925,79372	22925,79372	

11.11.2020 ajetut näytteet. Erilaisien talousvesien testaus, näytelinjastot huuhdeltu isopropanolilla ennen uuttoa.

Sample							Akryyliamidi Method	Akryyliamidi Results				
Name	Data File	Type	Level	Amt.	Tot. Amt.	Dil.	Exp. Conc.	RT	Resp.	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy
nolla1	nolla1.d	Blank				1		0,3513	499,9	22520,54059	22520,54059	
nolla2	nolla2.d	Blank				1		0,3513	847,9	26406,87385	26406,87385	
nolla3	nolla3.d	Blank				1		0,3513	1167	29850,48552	29850,48552	
std1	std1.d	Cal	1			1	1,5	0,3769	492,7	5,337625919	5,337625919	355,84173
std2	std2.d	Cal	2			1	2,5	0,3939	268,3	0	0	0
std3	std3.d	Cal	3			1	4,5	0,4024	301,4	0	0	0
std4	std4.d	Cal	4			1	12	0,4024	666,1	16,50522915	16,50522915	137,54358
std5	std5.d	Cal	5			1	22,5	0,4024	1214	21,85020686	21,85020686	97,112031
std6	std6.d	Cal	6			1	37,5	0,4024	1567	39,5707963	39,5707963	105,52212
std7	std7.d	Cal	7			1	75	0,4024	3353	73,77863661	73,77863661	98,371515
nolla4	nolla4.d	Blank				1		0,3513	1111	57180,84164	57180,84164	
M0	M0.d	Sample		500	2	1		0,3599	595,5	396,6760491	1,586704196	
M0	M0b.d	Sample		500	2	1		0,3428	343,2	156,8053651	0,62722146	
ML	ML.d	Sample		500	2	1		0,3343	409,8	178,9251925	0,71570077	
ML	MLb.d	Sample		500	2	1		0,3343	396,2	166,2637271	0,665054908	
V0	V0.d	Sample		500	2	1		0,411	356,1	164,6274528	0,658509811	
V0	V0b.d	Sample		500	2	1		0,4024	303,4	138,5470837	0,554188335	
VL	VL.d	Sample		500	2	1		0,4024	361,3	177,350899	0,709403596	
VL	VLb.d	Sample		500	2	1		0,4024	399,2	190,417054	0,761668216	
P0	P0.d	Sample		500	2	1		0,411	451	232,171467	0,928685868	
P0	P0b.d	Sample		500	2	1		0,411	442,1	209,0853272	0,836341309	
PL	PL.d	Sample		500	2	1		0,4024	471,1	204,1552848	0,816621139	
PL	PLb.d	Sample		500	2	1		0,4024	472	199,5973752	0,798389501	

18.11.2020 ajetut näytteet. Uusi esikolonne, erotuskolonne, inline-suodatin, puhdasaine ja sisäinen standardi.

Sample							Akryyliamidi Method		Akryyliamidi Results				
Name	Data File	Type	Level	Amt.	Tot. Amt.	Dil.	Exp. Conc.	RT	Resp.	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy	
nolla1	nolla1.d	Blank				1		0,3939	1106	17039,06739	17039,06739		
nolla2	nolla2.d	Blank				1		0,3854	1435	31788,11397	31788,11397		
nolla3	nolla3.d	Blank				1		0,3939	1638	38168,23006	38168,23006		
std 1	std 1.d	Cal	1			1	1,5	0,411	444,3	1,356683855	1,356683855	90,44559	
std 2	std 2.d	Cal	2			1	2,5	0,4024	509	1,916141989	1,916141989	76,64568	
std 3	std 3.d	Cal	3			1	4,5	0,4024	728	5,315933293	5,315933293	118,13185	
std 4	std 4.d	Cal	4			1	22,5	0,4024	2162	22,41124086	22,41124086	99,605515	
nolla4	nolla4.d	Blank				1		0,3854	1797	30913,58099	30913,58099		
std20610	std20610.d	Sample				1		0,4024	497,7	2,216912147	2,216912147		
std40610	std40610.d	Sample				1		0,4024	1165	11,00444424	11,00444424		
K3192	K3192.d	Sample				1		0,3939	806,6	4,682785432	4,682785432		
K3194	K3194.d	Sample				1		0,4024	1206	10,27376809	10,27376809		
nolla5	nolla5.d	Blank				1		0,3854	1771	29425,78851	29425,78851		
0	0.d	Sample		250	2	1		0,411	381,5	157,655245	1,26124196		
0	0b.d	Sample		250	2	1		0,411	378,4	162,4325961	1,299460769		
250A	250A.d	Sample		250	2	1		0,411	533,1	198,3840637	1,58707251		
250A	250Ab.d	Sample		250	2	1		0,4024	805,1	281,7767842	2,254214274		
250B	250B.d	Sample		250	2	1		0,411	557,3	211,5522077	1,692417662		
250B	250Bb.d	Sample		250	2	1		0,411	559,8	204,0193065	1,632154452		
nolla6	nolla6.d	Blank				1		0,3939	2011	46043,22809	46043,22809		

20.11.2020 ajetut näytteet. Uusi neula, kalibrointiliuosten valmistus ja näytteiden kon-
sentrointi asetonitriliin.

Sample							Akryyliamidi Method		Akryyliamidi Results			
Name	Data File	Type	Level	Amt.	Tot. Amt.	Dil.	Exp. Conc.	RT	Resp.	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy
nolla5	nolla5.d	Blank				1		0,4557	1005	26143,79534	26143,79534	
nolla1	nolla1.d	Blank				1		0,3769	355,1	6468,574882	6468,574882	
nolla2	nolla2.d	Blank				1		0,3939	1687	29224,74304	29224,74304	
nolla3	nolla3.d	Blank				1		0,3854	509,3	18237,81045	18237,81045	
std 1	std 1.d	Cal	1	250	2	1	1,5	0,4024	789,3	5,123313652	0,040986509	341,55424
std 2	std 2.d	Cal	2	250	2	1	2,5	0,4024	505,6	2,404207597	0,019233661	96,168304
std 3	std 3.d	Cal	3	250	2	1	4,5	0,411	782,7	4,606436004	0,036851488	102,36524
std 4	std 4.d	Cal	4	250	2	1	22,5	0,4024	2837	22,4893564	0,179914851	99,952695
nolla4	nolla4.d	Blank				1		0,4621	434,8	8841,557383	8841,557383	
0	0.d	Sample		250	2	1		0,411	626,9	121,964356	0,975714848	
0	0b.d	Sample		250	2	1		0,4024	612,9	120,657682	0,965261456	
03250	03250.d	Sample		250	2	1		0,4024	702,4	134,8240961	1,078592769	
03250	03250b.d	Sample		250	2	1		0,4024	728	135,6277514	1,085022011	

23.11.2020 ajetut näytteet. Uuttomenetelmä vaihdettu SPE-testi 2 -menetelmästä takaisin SPE-testi 3 -menetelmään, ilmakeivausaikaa muutettu 3 minuutista 15 minuuttiin.

Sample							Akryyliamidi Method	Akryyliamidi Results				
Name	Data File	Type	Level	Amt.	Tot. Amt.	Dil.	Exp. Conc.	RT	Resp.	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy
nolla1	nolla1.d	Blank				1		0,3599	2375	79784,27074	79784,27074	
nolla2	nolla2.d	Blank				1		0,3769	621,4	12585,44	12585,44	
nolla3	nolla3.d	Blank				1		0,3854	427,6	7278,779563	7278,779563	
std1	std1.d	Cal	1	250	2	1	1,5	0,4024	298,4	1,150522374	0,009204179	76,701492
std2	std2.d	Cal	2	250	2	1	2,5	0,4024	406,4	2,44373905	0,019549912	97,749562
std3	std3.d	Cal	3	250	2	1	4,5	0,4024	623,4	4,970236063	0,039761889	110,44969
std4	std4.d	Cal	4	250	2	1	22,5	0,4024	2205	22,43550251	0,17948402	99,713344
nolla4	nolla4.d	Blank				1		0,3769	711,8	16972,36355	16972,36355	
0	0.d	Sample		250	2	1		0,4195	444,4	153,8842209	1,231073767	
0	0b.d	Sample		250	2	1		0,411	433,6	145,2123947	1,161699158	
03250	03250.d	Sample		250	2	1		0,4024	558,8	158,0133075	1,26410646	
03250	03250b.d	Sample		250	2	1		0,411	512,6	146,1058605	1,168846884	
nolla5	nolla5.d	Blank				1		0,3769	416,4	5420,405195	5420,405195	

25.11.2020 ajetut näytteet. Uuttomenetelmän ilmaikuivausaikaa muutettu 15 minuutista 30 minuuttiin. Näytteiden konsentroitilavuutta muutettu 2 ml:sta 1 ml:aan.

Sample							Akryyliamidi Method	Akryyliamidi Results				
Name	Data File	Type	Level	Amt.	Tot. Amt.	Dil.	Exp. Conc.	RT	Resp.	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy
nolla1	nolla1.d	Blank				1		0,3854	553,5	7072,942325	7072,942325	
nolla2	nolla2.d	Blank				1		0,3854	500,2	5678,763029	5678,763029	
nolla3	nolla3.d	Blank				1		0,3769	734,5	11993,78735	11993,78735	
std1	std1.d	Cal	1			1	1,5	0,4024	483	0,878002276	0,878002276	58,533485
std2	std2.d	Cal	2			1	2,5	0,4024	535,4	0,745452564	0,745452564	29,818103
std3	std3.d	Cal	3			1	4,5	0,4024	1080	7,721536214	7,721536214	171,58969
std4	std4.d	Cal	4			1	12	0,4024	1331	9,451721494	9,451721494	78,764346
std5	std5.d	Cal	5			1	22,5	0,4024	2397	20,17740793	20,17740793	89,677369
std6	std6.d	Cal	6			1	37,5	0,411	3933	43,58748929	43,58748929	116,2333
std7	std7.d	Cal	7	250	2	1	75	0,4024	6837	72,93839023	0,583507122	97,251187
nolla4	nolla4.d	Blank				1		0,3769	1798	27493,12933	27493,12933	
02ML	02ML.d	Sample		250	2	1		0,411	202,5	56,3375685	0,450700548	
02ML	02MLb.d	Sample		250	2	1		0,411	153,5	46,55788226	0,372463058	
L12ML	L12ML.d	Sample		250	2	1		0,411	358,2	119,1932713	0,95354617	
L12ML	L12MLb.d	Sample		250	2	1		0,411	330,3	108,651014	0,869208112	
01ML	01ML.d	Sample		250	1	1		0,411	194,8	29,50945865	0,118037835	
L11ML	L11ML.d	Sample		250	1	1		0,411	555,1	106,7583336	0,427033334	
1EIUUT	1EIUUT.d	Sample				1		0,411	89,43	93,35705479	93,35705479	

26.11.2020 ajetut näytteet. Ei muutoksia menetelmässä.

Sample							Akryyliamidi Method	Akryyliamidi Results				
Name	Data File	Type	Level	Amt.	Tot. Amt.	Dil.	Exp. Conc.	RT	Resp.	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy
nolla1	nolla1.d	Blank				1		0,3854	816,6	11810,23464	11810,23464	
nolla2	nolla2.d	Blank				1		0,411	1710	66354,6173	66354,6173	
nolla3	nolla3.d	Blank				1		0,411	1695	79108,78301	79108,78301	
std1	std1.d	Cal	1	250	1	1	1,5	0,3854	775,5	2,213542211	0,008854169	147,56948
std2	std2.d	Cal	2	250	1	1	2,5	0,4024	855,6	3,193783087	0,012775132	127,75132
std3	std3.d	Cal	3	250	1	1	4,5	0,4024	888	3,848629233	0,015394517	85,525094
std4	std4.d	Cal	4	250	1	1	12	0,4024	1322	11,60382217	0,046415289	96,698518
std5	std5.d	Cal	5	250	1	1	22,5	0,411	2035	22,78372073	0,091134883	101,26098
std6	std6.d	Cal	6	250	1	1	37,5	0,411	2773	36,25309008	0,14501236	96,674907
std7	std7.d	Cal	7	250	1	1	75	0,411	4326	75,6034125	0,30241365	100,80455
nolla4	nolla4.d	Blank				1		0,3854	1687	87410,29776	87410,29776	
0	0.d	Sample		250	1	1		0,4195	317,2	130,4025445	0,521610178	
L0034	L0034.d	Sample		250	1	1		0,4195	393,4	137,9031272	0,551612509	
L1A	L1A.d	Sample		250	1	1		0,4024	904,8	338,3126186	1,353250474	
L1B	L1B.d	Sample		250	1	1		0,411	889,4	322,6463019	1,290585207	
nolla5	nolla5.d	Blank				1		0,4195	1925	128411,1377	128411,1377	

1.12.2020 ajetut näytteet. Validointiin liittyvät näytteet.

Sample							Akryyliamidi Method		Akryyliamidi Results				
Name	Data File	Type	Level	Amt.	Tot. Amt.	Dil.	Exp. Conc.	RT	Resp.	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy	
nolla1	nolla1.d	Blank				1		0,3769	963,7	77286,36174	77286,36174		
nolla2	nolla2.d	Blank				1		0,3854	965,4	110956,2087	110956,2087		
nolla3	nolla3.d	Blank				1		0,3854	940,6	113782,3602	113782,3602		
std1	std1.d	Cal	1	250	1	1	1,5	0,3939	430,6	1,192109973	0,00476844	79,473998	
std2	std2.d	Cal	2	250	1	1	2,5	0,4024	527,4	2,770463773	0,011081855	110,81855	
std3	std3.d	Cal	3	250	1	1	4,5	0,4024	656,2	4,558689728	0,018234759	101,30422	
std4	std4.d	Cal	4	250	1	1	22,5	0,411	1506	22,47873653	0,089914946	99,905496	
nolla4	nolla4.d	Blank				1		0,3769	1117	94386,05344	94386,05344		
0	0.d	Sample		250	1	1		0,411	654,2	385,5966881	1,542386752		
L0032A1	L0032A1.d	Sample		250	1	1		0,411	615	310,7418913	1,242967565		
L0032A2	L0032A2.d	Sample		250	1	1		0,411	603,3	305,4585687	1,221834275		
L0032A3	L0032A3.d	Sample		250	1	1		0,4024	515,1	256,5926962	1,026370785		
L0032B1	L0032B1.d	Sample		250	1	1		0,411	595	299,1643232	1,196657293		
L0032B2	L0032B2.d	Sample		250	1	1		0,411	650,5	294,8911429	1,179564571		
L006A1	L006A1.d	Sample		250	1	1		0,411	592,3	294,8096374	1,17923855		
L006A2	L006A2.d	Sample		250	1	1		0,4195	613,8	282,0771726	1,12830869		
L006A3	L006A3.d	Sample		250	1	1		0,4024	772,8	350,7968693	1,403187477		
L006B1	L006B1.d	Sample		250	1	1		0,411	649,8	321,3192675	1,28527707		
L006B2	L006B2.d	Sample		250	1	1		0,411	611,2	318,7941075	1,27517643		
nolla5	nolla5.d	Blank				1		0,3769	1307	1513775,296	1513775,296		
nolla6	nolla6.d	Blank				1		0,3854	1355	38467,54826	38467,54826		
nolla7	nolla7.d	Blank				1		0,3854	1404	85737,41673	85737,41673		
nolla8	nolla8.d	Blank				1		0,3854	1492	112225,8265	112225,8265		
std1meoh	std1meoh.d	Sample		250	1	1		0,3939	385,4	0	0		
std2meoh	std2meoh.d	Sample		250	1	1		0,3939	394,2	0	0		
std3meoh	std3meoh.d	Sample		250	1	1		0,4024	591,4	0	0		
std4meoh	std4meoh.d	Sample		250	1	1		0,411	1963	5,628200715	0,022512803		
nolla9	nolla9.d	Blank				1		0,3769	1682	174465,1222	174465,1222		
nolla10	nolla10.d	Blank				1		0,3854	1056	96013,6714	96013,6714		
nolla11	nolla11.d	Blank				1		0,3854	1554	87557,29615	87557,29615		
nolla12	nolla12.d	Blank				1		0,3769	1347	81200,22039	81200,22039		
istd4	istd4.d	Sample				1		0,3939	330	343,1195786	343,1195786		
nolla14	nolla14.d	Blank				1		0,3854	1190	48081,70054	48081,70054		
ACN	ACN.d	Sample				1		0,4365	828,5	74644,37445	74644,37445		
ACNvesi	ACNvesi.d	Sample				1		0,3939	488,4	50785,86859	50785,86859		
MEOH	MEOH.d	Sample				1		0,411	183,9	11989,36013	11989,36013		
talousvesi	talousvesi.d	Sample				1		0,428	44,31	4355,503435	4355,503435		
puhdasvesi	puhdasvesi.d	Sample				1		0,3854	188,3	18428,32522	18428,32522		
eiinjeksiota	eiinjeksiota.d	Sample				1		0,3939	2,08	284,0151886	284,0151886		

3.12.2020 ajetut näytteet. Validointiin liittyvät leLabin vertailukoenäytteet.

Sample							Akryyliamidi Method		Akryyliamidi Results				
Name	Data File	Type	Level	Amt.	Tot. Amt.	Dil.	Exp. Conc.	RT	Resp.	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy	
nolla1	nolla1.d	Blank				1		0,3599	43,05	5150,833187	5150,833187		
nolla2	nolla2.d	Blank				1		0,3854	865,1	34949,8189	34949,8189		
nolla3	nolla3.d	Blank				1		0,4195	323	28077,83871	28077,83871		
std1	std1.d	Cal	1	250	1	1	1,5	0,4024	341,4	1,502806731	0,006011227	100,18712	
std2	std2.d	Cal	2	250	1	1	2,5	0,4024	405,1	2,503863423	0,010015454	100,15454	
std3	std3.d	Cal	3	250	1	1	4,5	0,411	599,2	4,492432789	0,017969731	99,83184	
std4	std4.d	Cal	4	250	1	1	22,5	0,411	1945	22,50089706	0,090003588	100,00399	
nolla4	nolla4.d	Blank				1		0,3854	164,9	11917,24447	11917,24447		
0	0.d	Sample		250	1	1		0,4195	416,1	264,8339731	1,059335893		
ie0100	ie0100.d	Sample		100	1	1		0,3939	51,83	14,8651284	0,148651284		
ieL100	ieL100.d	Sample		100	1	1		0,4024	445,5	111,9574043	1,119574043		
ie0250	ie0250.d	Sample		250	1	1		0,4961	275,4	163,0924431	0,652369772		
ieL250	ieL250.d	Sample		250	1	1		0,4024	477,9	299,6416561	1,198566624		

4.12.2020 ajetut näytteet. Loput validointiin liittyvät näytteet.

Sample							Akryyliamidi Method	Akryyliamidi Results				
Name	Data File	Type	Level	Amt.	Tot. Amt.	Dil.	Exp. Conc.	RT	Resp.	Calc. Conc.	Final Conc.	Accuracy
nolla5	nolla5.d	Blank				1		0,379	565,1	23122,72032	23122,72032	
nolla1	nolla1.d	Blank				1		0,3769	563,6	26277,68685	26277,68685	
nolla2	nolla2.d	Blank				1		0,3769	410,5	11819,33038	11819,33038	
nolla3	nolla3.d	Blank				1		0,3769	572,6	28375,00434	28375,00434	
std1	std1.d	Cal	1			1	1,5	0,411	241,4	1,648615161	1,648615161	109,90768
std2	std2.d	Cal	2			1	2,5	0,4024	312,3	2,322552414	2,322552414	92,902097
std3	std3.d	Cal	3			1	4,5	0,411	535,8	4,523779629	4,523779629	100,52844
std4	std4.d	Cal	4			1	22,5	0,4024	1812	22,5050528	22,5050528	100,02246
nolla4	nolla4.d	Blank				1		0,3769	849	36457,95218	36457,95218	
0A1	0A1.d	Sample		250	1	1		0,4195	240,8	180,8122712	0,723249085	
0A2	0A2.d	Sample		250	1	1		0,4195	329,7	206,6905513	0,826762205	
L0032A1	L0032A1.d	Sample		250	1	1		0,4195	324,3	227,1412607	0,908565043	
L0032A2	L0032A2.d	Sample		250	1	1		0,4195	302,7	228,9556743	0,915822697	
L0032A3	L0032A3.d	Sample		250	1	1		0,411	314,5	200,9045448	0,803618179	
L0032B1	L0032B1.d	Sample		250	1	1		0,428	355,5	231,9107192	0,927642877	
L0032B2	L0032B2.d	Sample		250	1	1		0,4195	333	228,995453	0,915981812	
L006A1	L006A1.d	Sample		250	1	1		0,428	364,7	244,5953331	0,978381332	
L006A2	L006A2.d	Sample		250	1	1		0,428	364,6	242,646921	0,970587684	
L006A3	L006A3.d	Sample		250	1	1		0,4195	358,9	243,4544869	0,973817948	
L006B1	L006B1.d	Sample		250	1	1		0,4195	439	307,7263152	1,230905261	
L006B2	L006B2.d	Sample		250	1	1		0,4195	403,9	259,2247223	1,036898889	