



Soilamari Homanen

Fenolisten yhdisteiden määrittäminen prosessivesistä

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Laboratorioanalytiikka (AMK)

Laboratorioanalytiikka

Opinnäytetyö

4.12.2025

Tiivistelmä

Tekijä: Soilamari Homanen
Otsikko: Fenolisten yhdisteiden määrittäminen prosessivesistä
Sivumäärä: 36 sivua + 5 liitettä
Aika: 4.12.2025

Tutkinto: Laboratorioanalytiikka (AMK)
Tutkinto-ohjelma: Laboratorioanalytiikka
Ohjaajat: Lehtori Mia Ruismäki
Laboratorioinsinööri Pentti Aimo-Koivisto
Ryhmäpäällikkö Petri Haahkamo

Tämän opinnäytetyön tavoitteena oli testata fenolisten yhdisteiden määrittämenetelmää Borealis Polymers Oy:n peruskemikaalien laadunvalvontalaboratorion prosessivesinäytteille ja arvioida sen soveltuvuutta rutiinianalyysiin. Menetelmän kehittäminen perustui tarpeeseen varmistaa, että analyysi tuottaa toistettavia ja luotettavia tuloksia teollisuusprosessien laadunvalvonnassa sekä tukee Borealisen ympäristövastuullista toimintaa. Fenoliset yhdisteet ovat toksisia ja pysyviä orgaanisia saasteita, joiden tarkka määrittäminen on keskeistä sekä ympäristönsuojelun että prosessiturvallisuuden kannalta.

Fenoliset yhdisteet analysoitiin standardin ASTM D1783 mukaisesti käyttäen 4-aminoantipyriinin värireaktiota ja Shimadzu UV-VIS 1800 -spektrofotometriä. Tutkimuksessa arvioitiin menetelmän keskeiset suorituskykyparametrit: lineaarisuus, määrittämisraja, oikeellisuus, täsmällisyys sekä mittaausepävarmuus. Lisäksi tutkittiin tislattavan näytemäärän (100 ml ja 500 ml) vaikutusta analyysin tehokkuuteen ja luotettavuuteen.

Tulokset osoittivat erinomaisen lineaarisuuden ($R^2 \geq 0,9996$) ja matalan määrittämisrajan (0,01 mg/l). Saantokokeiden tulokset olivat 98–104 %, ja toistettavuus oli hyvä (RSD = 1,3 %). Laajennettu mittaausepävarmuus oli 4,6 % ($k = 2$). Tislaustilavuuden pienentäminen 500 ml:sta 100 ml:aan lyhensi analyysiäikää lähes puoleen ilman, että menetelmän suorituskyky heikkeni.

Vaikka menetelmä täyttää kaikki validointikriteerit ja soveltuu fenolipitoisten prosessivesien määrittämiseen teollisuuslaboratorioympäristössä, sen aikaavievuus tislauksen osalta muodostaa haasteen laboratorion rutiinitoiminnassa, jossa fenolipitoisia prosessivesiä analysoidaan säännöllisesti. Jatkokehityksen kannalta suositeltavaa olisi harkita automatisoituja tai tehokkaita in-house-menetelmiä, jotka säilyttävät määrittämisluotettavuuden, mutta soveltuvat paremmin suurten näytemäärien analysointiin. Tämän työn tulokset tarjoavat luotettavan pohjan menetelmän edelleen kehittämiseksi ja edistävät laboratoriotöiden kestävää, tehokasta sekä laadukasta analytiikkaa.

Avainsanat: fenoli, 4-aminoantipyriini, spektrofotometria, prosessivesi

Tämän opinnäytetyön alkuperä on tarkastettu Turnitin Originality Check -ohjelmalla.

Abstract

Author: Soilamari Homanen
Title: Determination of Phenolic Compounds in Process Waters
Number of Pages: 36 pages + 5 appendices
Date: 4 December 2025

Degree: Bachelor of Laboratory Services
Degree Programme: Laboratory Sciences
Supervisors: Mia Ruismäki, Senior Lecturer
Pentti Aimo-Koivisto, Laboratory Engineer
Petri Haahkamo, Team Leader

The objective of this thesis was to evaluate a method for determining phenolic compounds in process water samples in Borealis Polymers Oy's base chemicals quality control laboratory and to assess its suitability for routine analytical use. The development of the method was based on the need to ensure that the analysis would provide repeatable and reliable results for industrial process quality control while supporting Borealis' commitment to environmental responsibility. Phenolic compounds are toxic and persistent organic pollutants, and their accurate quantification is essential for both environmental protection and process safety.

Phenolic compounds were analyzed in accordance with ASTM D1783 standard using the 4-aminoantipyrine (4-AAP) color reaction and a Shimadzu UV-VIS 1800 spectrophotometer. The study evaluated the main performance characteristics of the method, including linearity, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), trueness, precision, and measurement uncertainty. In addition, the influence of two distillation volumes (100 mL and 500 mL) on analytical efficiency and reliability was investigated.

The method demonstrated excellent linearity ($R^2 \geq 0.9996$) and a low quantification limit (0.01 mg/L). Recovery ranged from 98 to 104 %, with a relative standard deviation of 1.3 %, indicating good repeatability. The expanded measurement uncertainty was approximately 4.6 % ($k = 2$). Reducing the distillation volume from 500 mL to 100 mL nearly halved the analysis time without compromising performance.

Although the method meets all evaluation criteria and is suitable for determining phenolic compounds in process water within an industrial laboratory environment, the time-consuming distillation step remains a challenge for routine use, where phenolic process waters are analyzed regularly. For further development, it is recommended to consider automated or efficient in-house methods that maintain analytical reliability while improving suitability for high sample throughput. The results of this work provide a reliable foundation for further methodological development and support sustainable, efficient, and high-quality analytical practices in laboratory work.

Keywords: phenol, 4-aminoantipyrine, spectrophotometry, process water

Sisällys

Lyhenteet

1	Johdanto	1
2	Borealoksen fenolituotanto	2
3	Fenoliyhdisteet ja ympäristövaikutukset	5
4	Jäteveden puhdistusprosessi	6
4.1	Orgaanisen aineksen hallinta	7
4.2	Biologinen puhdistusprosessi	7
4.3	Teolliset puhdistusprosessit	8
5	Fenolin määrittymenetelmät	9
5.1	Spektrofotometrinen määrittymenetaate	9
5.2	Fenoli-indeksi	10
5.3	Muut analyysimenetelmät	11
6	Materiaalit ja menetelmät	13
6.1	Näytteiden esikäsitteley	13
6.2	Käytetyt reagenssit	15
6.3	UV/Vis-spektrofotometri	16
7	Standardimenetelmän testaus ja tulokset	17
7.1	Kalibroitisuoran luominen	17
7.2	Lineaarisuus	18
7.3	Toteamis- ja määrittymäraja	22
7.4	Mittausalue	23
7.5	Tislaustilavuuden vaikutuksen arviointi	24
7.6	Oikeellisuus	25
7.7	Täsmällisyys	27
7.8	Mittausepävarmuus	29
7.9	Yhteenveto	30
8	Johtopäätökset	32

Liitteet

Liite 1: Standardisuurien vertailu

Liite 2: Regressioanalyysin tulokset

Liite 3: LOD- ja LOQ-laskenta

Liite 4: Saantokokeen laskenta

Liite 5: Mittausepävarmuuden laskenta Excelissä

Lyhenteet

- 4-AAP: *4-aminoantipyrine*. 4-aminoantipyrini. Väriä muodostava reagenssi fenolien määrittämisessä.
- AMS: *Alpha-methylstyrene*. Alfa-metyylistyreeni.
- BOD: *Biochemical Oxygen Demand*. Biologinen hapenkulutus.
- CHP: *Cumene hydroperoxide*. Kumeenihydroperoksidi.
- COD: *Chemical oxygen demand*. Kemiallinen hapenkulutus.
- EPA: *Environmental Protection Agency*. Yhdysvaltain ympäristönsuojeluvirasto.
- HPLC: *High-performance liquid chromatography*. Korkean erotuskyvyn nestekromatografia.
- LOD: *Limit of detection*. Toteamisraja.
- LOQ: *Limit of quantification*. Määrittämisraja.
- MUKIT: *Measurement Uncertainty Kit*. Mittausepävarmuuden laskentaan tarkoitettu Nordtest TR 537 -menettelyyn perustuva ohjelmisto.
- PhI: *Phenol index*. Fenoli-indeksi.
- RSD: *Relative standard deviation*. Suhteellinen keskihajonta.

1 Johdanto

Teollisuusprosessien jätevesien laadunvalvonta on keskeinen osa ympäristön-suojelua ja tuotannon turvallisuutta. Fenoliset yhdisteet muodostavat merkittä-vän ympäristöriskin niiden toksisuuden ja pysyvyyden vuoksi. Jo pieninä pitoi-suuksina ne voivat aiheuttaa haitallisia vaikutuksia vesiekosysteemeihin ja siten vaikuttaa laajemmin ympäristön kemialliseen tasapainoon [1]. Fenoliyhdisteiden luotettava analysointi on siten tärkeää sekä teollisuuden ympäristövaikutusten hallinnassa että prosessien laadunvarmistuksessa.

Borealis Polymers Oy:n peruskemikaalien laadunvalvontalaboratorio on osa yri-tyksen ympäristövastuullista toimintaa. Laboratorion analytiikan keskeisenä teh-tävänä on prosessivesien omavalvonta, jonka avulla seurataan prosessien toi-mintaa ja mahdollisia poikkeamia. Lisäksi laboratorio tuottaa tietoa ulkopuolisen jätevedenpuhdistamon kuormituksesta, ja analyysituloksia hyödynnetään puh-distamollee johdettavien vesien laadun seurannassa.

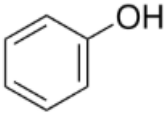

Tämän opinnäytetyön tavoitteena oli testata fenolisten yhdisteiden määrittymen-etelmä Borealoksen prosessivesinäytteille ja arvioida sen soveltuvuutta labora-torion rutiinianalyysieihin. Työ perustuu ASTM D1783 -standardiin, jossa fenoli-set yhdisteet määritetään 4-aminoantipyriinireaktion (4-AAP) avulla spektrofoto-metrisesti. Tutkimuskysymyksenä oli, soveltuuko tämä menetelmä Borealoksen prosessivesien fenolimäärittymiseen rutiinianalytiikassa.

Aihe on merkittävä sekä teollisuuden että ympäristövalvonnan näkökulmasta. Borealoksen toiminnan mittakaava ja prosessien kompleksisuus edellyttävät luo-tettavia analyysimenetelmiä, joilla voidaan varmistaa sekä tuotannon laadunhal-linta että jätevesien käsittelyn tehokkuus.

2 Borealiksen fenolituotanto

Fenoli on kiinteä, veteen liukeneva ja myrkyllinen aine. Normaalilämpötilassa fenoli esiintyy värittömänä, neulakiteisenä massana, joka muuttuu ilman ja valon vaikutuksesta punertavaksi. [2, s. 56.] Fenolin ominaisuuksia on esitetty taulukossa 1.

Taulukko 1. Fenolin keskeiset kemialliset ja fysikaaliset ominaisuudet sekä GHS-järjestelmän mukaiset vaaramerkinnät [2, s. 56; 3; 4].

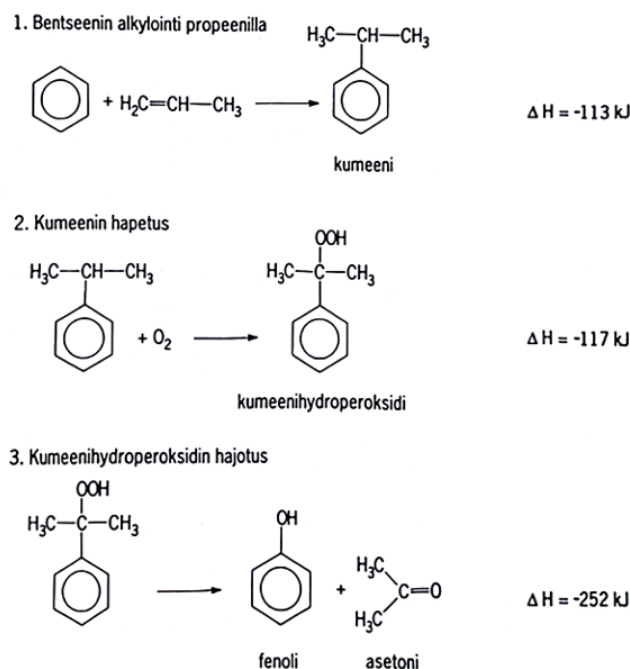
Fenoli	
Kemiallinen kaava	C_6H_5OH
Kaavapiirros	
Moolimassa	94,11 g/mol
Jähmepiste	43 °C
Kiehumispiste	182 °C
Vaaramerkinnät	
CAS	108-95-2

Fenolia tuotetaan Suomessa Borealis Polymers Oy:n tehtaalla, joka on ainoa fenolituotantolaitos Pohjoismaissa [2, s. 56]. Fenolin ja asetonin valmistus fenolilaitoksella perustuu kumeeniprosessiin, joka on laajalti käytetty teollinen menetelmä. Prosessi voidaan jakaa kolmeen päävaiheeseen: kumeenin valmistukseen, sen hapettamiseen sekä hapetustuotteen hajotukseen ja lopputuotteiden erotukseen [2, s. 57–58].

Ensimmäisessä vaiheessa bentseeni reagoi propeenin kanssa alkylointireaktiossa muodostaen kumeenia. Reaktiossa syntyy samalla pieniä määriä sivutuotteita, kuten di-isopropyylibentseeniä (DIPB) ja polyisopropyylibentseenejä. Kumeeni toimii fenoliyksikön raaka-aineena. [2, s. 57.]

Seuraavassa vaiheessa kumeeni hapetetaan kumeenihydroperoksidiksi (CHP) useassa sarjaan kytketyssä hapetusreaktorissa. Prosessi tapahtuu noin 100 °C:n lämpötilassa ja 5 baarin paineessa. CHP:n muodostus etenee, kunnes sen pitoisuus reaktioseoksessa on noin 25–28 %. CHP väkevöidään edelleen noin 85 %:iin. [2, s. 58–59.]

Kolmannessa vaiheessa CHP hajotetaan rikkihapon katalysoimana fenoliksi ja asetoniksi. Tapahtumaketju on esitetty kuvassa 1. Hajotuksessa muodostuu lisäksi pieniä määriä sivutuotteita, kuten alfametyylistyreeniä (AMS) ja kumyyli-fenoleja. Hajotustuotteesta poistetaan happojäämiä pesemällä, minkä jälkeen virrat johdetaan erotus- ja puhdistusvaiheisiin. [2, s. 59.]

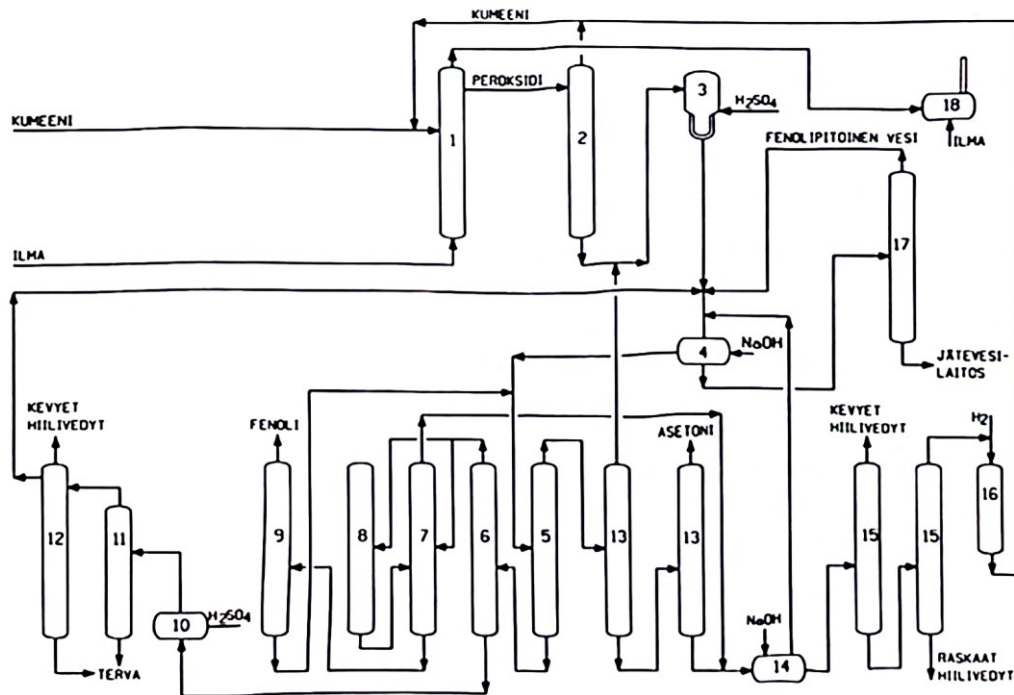


Kuva 1. Fenolin valmistuksen reaktioyhtälöt ja valmistusprosessi, joka etenee energiatehokkaasti kolmen eksotermisen reaktion kautta [2, s. 58]. Prosessin aikana syntyy myös arvokasta asetonisivuainetta, mikä parantaa tuotantoketjun taloudellista kannattavuutta.

Erotusvaiheessa neutraloitu reaktiotuote jaetaan asetonin- ja fenolijakeisiin raaka-asetonikolonissa, jossa asetonia sisältävä tisle johdetaan omaan puhdistuslinjaansa ja pohjavirta fenolin jatkokäsittelyyn. Fenolijakeesta poistetaan tislauksessa raskaat aromaattiset hiilivedyt, jotka käsitellään edelleen tervakrakkauksessa. Raakafenolikolonin tisle johdetaan vesiuuttoon, jossa epäpuhtaudet erotetaan ennen lopullista puhdistustislausta. Hajotuksen sivutuotteena muodostuva AMS voidaan vedyttää takaisin kumeeniksi ja kierrättää prosessiin. [2, s. 59.]

Kokonaisuutena prosessi on suunniteltu siten, että sekä fenoli että asetonin saadaan talteen erittäin puhtaana, ja samalla arvokkaita sivutuotteita voidaan hyödyntää. Sivutuotteiden lisäksi muodostuu myös erilaisia pesuvesiä ja nestejakeita, jotka sisältävät orgaanisia yhdisteitä, kuten fenoleja. Nämä virrat käsitellään erikseen, ja ne ohjataan ulkopuoliselle jätevedenpuhdistamolle, jossa kuorimitusta hallitaan biologisilla ja fysikaaliskemiallisilla menetelmillä.

Kumeenin valmistus sekä reaktiotuotteiden tislauksen ja puhdistusprosessi sisältävät useita vaiheita, joissa kierrätetään sivutuotteita ja optimoidaan raaka-aineiden käyttö. Prosessi on visualisoitu kuvassa 2.



Kuva 2. Fenoliyksikön prosessikaavio: hapetusreaktorit (1), väkevöinti (2), peroksidin hajoitus (3), neutralointi (4), raaka-asetonikolonne (5), raakafenolikolonne (6), vesisuuttokolonne (7), ketonikolonne (8), fenolin puhdistus (9), tervan pesu (10), tervan krackaus (11), asetofenonikolonne (12), asetonin puhdistuskolonnit (13), hiilivetyjen pesu (14), hiilivetykolonne (15), alfa-metyylstyreenin hydraus (16), jätevesistripperi (17) ja poistokaasujen terminen poltto (18) [2, s. 57].

Osa valmistetusta fenolista (10–15 %) käytetään kotimaassa fenoliformaldehydiartsien tuotantoon, ja loppuosa viedään ulkomaille. Asetoni markkinoidaan pääasiassa vientikäyttöön. [2, s. 59.] Fenoli ja siihen liittyvät yhdisteet ovat myrkyllisiä ja ympäristölle haitallisia. Niiden määräytyminen prosessivesistä on olennainen osa laadunvalvontaa ja ympäristönsuojelua Borealiksen tuotannossa.

3 Fenoliyhdisteet ja ympäristövaikutukset

Fenoliyhdisteet ovat orgaanisia epäpuhtauksia, joita esiintyy sekä luonnonvevissä että teollisuuden jätevesissä. Niitä kulkeutuu ympäristöön monista lähteistä, kuten paperi- ja petrokemianteollisuudesta, hiilenjalostuksesta, maataloudesta sekä yhdyskuntajätteistä. Näihin yhdisteisiin kuuluu laaja joukko

mikrosaaiteita, kuten klooratut, bromatut, nitro- ja alkyylifenolit, jotka tunnetaan pysyvyydestään ja toksisuudestaan. Näiden ominaisuuksien vuoksi monet fenolit on luokiteltu prioriteettisaaiteiksi ja sisällytetty Yhdysvaltain ympäristönsuojeluviraston (EPA) vaarallisten aineiden luetteloon. [1.]

Halogenoidut fenolit voivat imeytyä elimistöön ihon ja solukalvojen kautta, mikä tekee niistä haitallisia eläimille ja kasveille. Ne voivat myös heikentää veden laatua jo hyvin pieninä pitoisuuksina aiheuttaen maku- ja hajuhaittoja. Desinfiointiprosesseissa, erityisesti veden kloorauksessa, fenoleista voi muodostua sivutuotteita, kuten kloorifenoleja ja kloorattuja p-bentsokinoneja, joilla on mahdollisia mutageenisia vaikutuksia. Tämän vuoksi Euroopan unionin juomavesidirektiivi rajoittaa fenolien pitoisuuksia: kokonaisfenolipitoisuus saa olla enintään 0,5 µg/l ja yksittäisten fenolien 0,1 µg/l. [1.]

Halogenoidut fenolihdisteet voivat osoittautua ympäristössä hyvin pysyviksi. Tietyt mikrobit voivat poistaa yhdisteistä halogeeneja, kuten klooria, pelkistävän dehalogenaation avulla, mikä tekee yhdisteistä helpommin biologisesti hajoavia. [5.]

Samanaikaisesti kemikaalien käytön lisääntyminen on lisännyt painetta vesivarojen suojelulle, sillä erityisesti mikrosaaiteet, kuten fenolihdisteet, muodostavat merkittäviä ympäristöriskejä. Pintavesissä havaittavat mikrosaaiteet ovat pääosin peräisin jätevedenpuhdistamoiden purkuvesistä. Vaikka puhdistamot poistavat osan haitta-aineista, perinteiset vedenkäsittelyprosessit eivät aina riitä fenolien ja muiden orgaanisten epäpuhtauksien poistoon. [6.] Tämän seurauksena osa yhdisteistä voi kulkeutua pintaveteen ja edelleen juoma- tai käyttövesisijärjestelmiin, mikä muodostaa riskin ympäristön ja terveyden kannalta.

4 Jäteveden puhdistusprosessi

Jätevedenpuhdistus on keskeinen osa teollisuuden ympäristöhallintaa. Sen tavoitteena on varmistaa, että puhdistetun veden laatu täyttää ympäristölainsäädännön vaatimukset ennen sen palauttamista luonnonkiertoon. Tässä luvussa

käsitellään jätevedenpuhdistuksen merkitystä, biologisen käsittelyn periaatteita sekä teollisten prosessien erityispiirteitä prosessinhallinnan näkökulmasta.

4.1 Orgaanisen aineksen hallinta

Jätevesi sisältää merkittäviä määriä orgaanista ainesta, kuten hiilihydraatteja, proteiineja, rasvoja ja hiilivetyjä. Näiden yhdisteiden määrää kuvataan tavallisesti kemiallisella hapenkulutuksella (COD), eli hapen määrällä, joka tarvitaan näytteen orgaanisen aineen täydelliseen hapettamiseen. Toisin kuin biologinen hapenkulutus (BOD), joka mittaa vain biologisesti hajoavaa osuutta, COD kattaa myös hitaasti hajoavat ja toksiset yhdisteet ja antaa siten kokonaiskuvan veden orgaanisesta kuormituksesta. COD-arvojen seuranta on olennainen osa jätevedenpuhdistamon prosessinhallintaa, sillä se osoittaa puhdistuksen tehokkuuden ja mahdolliset prosessihäiriöt. [7.]

COD-parametria hyödynnetään edistyneiden käsittelymenetelmien, kuten katalyyttisen otsonoinnin, tehon arvioinnissa, sillä COD-arvojen pieneneminen kuvaa käsitellyn jäteveden orgaanisen kuorman vähenemistä ja voi useissa tapauksissa liittyä myös toksisuuden alenemiseen. [8.] Tämä on erityisen tärkeää teollisuuslaitoksissa, joissa jäteveden koostumus vaihtelee ja voi sisältää fenolisia yhdisteitä sekä muita biologisesti haitallisia aineita. Orgaaninen kuorma toimii samalla biologisen käsittelyn polttoaineena: mikrobit käyttävät orgaanisia yhdisteitä hiilen ja energian lähteenä hajottaen ne hallitusti hiilidioksidiksi, vedeksi ja uudeksi biomassaksi, mikä muodostaa biologisen käsittelyprosessin perustan. [7.]

4.2 Biologinen puhdistusprosessi

Biologinen jätevedenpuhdistus hyödyntää tätä mikrobien hajotustoimintaa hallitussa ympäristössä. Mikrobit muodostavat flokkeja tai biofilmejä, joiden pinnalla hajotusreaktiot etenevät ja orgaaninen aine muuntuu lopputuotteiksi. [7.] Aerobisissa olosuhteissa mikrobit hapettavat orgaanista hiiltä hapen avulla muodostaen hiilidioksidia ja vettä.

Anaerobisissa prosesseissa hajoaminen etenee useiden peräkkäisten vaiheiden kautta, joihin kuuluvat hydrolyysi, happokäyminen, asidogeneesi, asetogeneesi ja metanogeneesi. Näiden vaiheiden tuloksena orgaaninen aines muunnetaan lopulta metaaniksi ja hiilidioksidiksi, ja osa hiilestä sitoutuu uuteen mikrobibiomassaan. [9.]

Fenoliset yhdisteet ja muut toksiset orgaaniset aineet voivat kuitenkin häiritä mikrobiaktiivisuutta vaurioittamalla solukalvoja tai estämällä entsymaattisia reaktioita. Tämän vuoksi kuormituksen hallinta on keskeistä; liiallinen orgaaninen kuorma tai haitallisten yhdisteiden esiintyminen voi aiheuttaa mikrobisyhteisön epätasapainon ja heikentää prosessin toimintaa. [9.]

Orgaanisen aineen mittaussparametrit, kuten COD ja BOD, toimivat paitsi jäteveden laadun myös prosessin vakauden indikaattoreina. Korkea COD-arvo käsittelyn jälkeen voi viitata kuormituksen ylitykseen, mikrobipopulaation häiriöön tai vaikeasti hajoavien yhdisteiden esiintymiseen. [7.]

4.3 Teolliset puhdistusprosessit

Teollisuusjätevedet eroavat kunnallisista jätevesistä merkittävästi sekä koostumuksensa että kuormitusvaihtelujensa osalta. Jätevedenpuhdistamoilla orgaanisen aineksen hallinta on erityisen tärkeää, koska prosessivedet voivat sisältää fenolisia yhdisteitä ja muita orgaanisia aineita, jotka vaikuttavat biologisten ja kemiallisten käsittelyvaiheiden tehokkuuteen [7.]

Tarkat COD- ja fenolianalyysit auttavat optimoimaan puhdistamon eri vaiheita, kuten adsorptio- ja suodatuskolonneja, joiden tehokas operointi edellyttää oikeanlaista virtaamaa ja kuormituksen hallintaa. Orgaanisen aineen analysointi ei siten ole pelkästään laboratoriotason mittausta, vaan osa laajempaa riskienhallintaa ja prosessinohjausta: säännöllinen COD-arvojen ja muiden orgaanisen aineen parametrien seuranta varmistaa puhdistustulosten pysymisen ympäristövaatimusten mukaisina, mahdollistaa nopean reagoinnin kuormituksen

muutoksiin ja tukee käsittelyvaiheiden optimointia sekä prosessin turvallista ja energiatehokasta toimintaa. [7.]

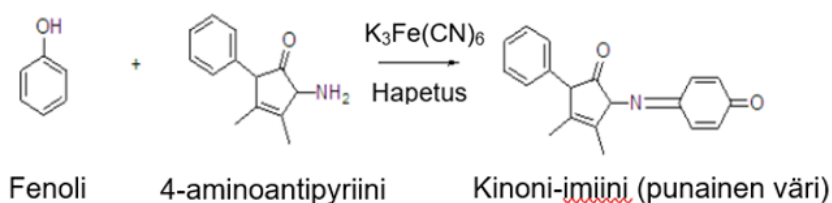
5 Fenolin määrittäminen

Fenoliyhdisteiden määrittäminen perustuu niiden kemiallisiin ominaisuuksiin ja kykyyn muodostaa värillisiä komplekseja tietyissä olosuhteissa. Ympäristö- ja terveysriskien vuoksi fenolien kvantitatiivinen analyysi on tärkeää, ja sen toteuttamiseen on kehitetty useita menetelmiä. Seuraavassa kappaleessa esitellään työssä käytetty spektrofotometrinen menetelmä sekä muita soveltuvia analyysitekniikoita.

5.1 Spektrofotometrinen määrittäminen

Spektrofotometrinen menetelmä perustuu fenoliyhdisteiden hapettumiseen emäksisissä olosuhteissa 4-AAP:n ja kaliumferrisyaniidin ($K_3Fe(CN)_6$) läsnä ollessa. Tätä 4-AAP:iin perustuvaa reaktioperiaatetta hyödynnetään useissa fenolien määrittämissä ja standardeissa, mukaan lukien tässä työssä tarkasteltava ASTM D1783 -menetelmä; tässä luvussa kuvataan reaktion kemiallinen perusmekanismi.

Reaktiossa (kuva 3) fenolin hydroksyyli-ryhmä osallistuu elektroninsiirtoon: fenoli hapettuu samalla kun kaliumferrisyaniidi pelkistyy, ja seurauksena syntyy värillinen antipyriniväriyhdiste.



Kuva 3. Fenolin reaktio 4-AAP:n kanssa muodostaa värillisen reaktiotuotteen, jota hyödynnetään fenoliyhdisteiden kvantitatiivisessa määrittämisessä spektrofotometrisin menetelmin [10, muokattu].

4-AAP on valittu reagenssiksi sen hyvän reaktiivisuuden ja optisten ominaisuuksien vuoksi; se reagoi fenoliyhdisteiden kanssa muodostaen punasävyisen kompleksin. Reaktio etenee tehokkaimmin emäksisessä pH:ssa (9,8–10,2), ja muodostuneen kompleksin absorbanssi mitataan vesiliuoksesta spektrofotometrisesti tislauksen jälkeen aallonpituudella 510 nm. Väriin voimakkuus on suoraan verrannollinen fenolin määrään, ja tulos ilmoitetaan fenolina ilmaistuna pitoisuutena milligrammoina per litra. [11.]

Tislauksen jälkeen tehtävä uuttamaton spektrofotometrinen mittaaminen soveltuu erityisesti näytteille, joiden fenolipitoisuus on yli 0,1 mg/l, kun taas menetelmän A-versiossa hyödynnetään kloroformiuuttoa herkkyyden parantamiseksi. Menetelmän lineaarisuus varmistetaan kalibroimalla fenolistandardeilla, ja fenolipitoisuus määritetään kalibrointisuoran avulla. [11.]

5.2 Fenoli-indeksi

Fenoli-indeksi (PhI) määritetään spektrofotometrisesti kansainvälisen ISO 6439 -standardin mukaisesti hyödyntämällä samaa 4-AAP-reaktion kemiallista periaatetta, joka esiteltiin edellisessä luvussa. Tätä värireaktiota sovelletaan eri tavoin eri standardeissa, ja ISO 6439 käyttää sitä fenoli-indeksin määrittämiseen tislauksen jälkeen. Toisin kuin yksittäisiin fenoliyhdisteisiin kohdistuvat tarkemmat määrittämenetelmät, fenoli-indeksi on summaarinen mitta, joka kuvaa näytteen kokonaisfenolipitoisuutta yhden fenolistandardin avulla. Menetelmä perustuu värillisen reaktiotuotteen muodostumiseen, jonka molaarinen absorptiokerroin on korkea. [1.]

Menetelmään liittyy kuitenkin rajoituksia: kaikki fenolijohdannaiset eivät reagoi 4-AAP:n kanssa, ja esimerkiksi para-asemassa substituoidut nitro- ja alkyyli-fenolit saattavat jäädä havaitsematta. Lisäksi eri fenolit muodostavat reaktiossa erivahvuisia värillisiä yhdisteitä, mikä vaikeuttaa tulosten keskinäistä vertailua. Koska ISO 6439 -standardissa käytetään kalibrointiin vain yhtä fenolistandardia, kaikki reaktiossa syntyvät värit ilmoitetaan fenolina riippumatta siitä, mikä fenolijohdannainen väriin on aiheuttanut. Tämän vuoksi fenoli-indeksi ei välttämättä

kuvaa näytteen todellista kokonaisfenolikoostumusta, vaan toimii indikaattorina näytteen fenolisuudesta. [1.]

5.3 Muut analyysimenetelmät

Fenolien määrittämiseen on kehitetty laaja joukko tekniikoita, jotka eroavat toisistaan tarkkuuden, herkkyyden ja käytännön toteutuksen suhteen. Fenolien yhdisteittäisiin analyysiin käytetään usein kaasukromatografiaa yhdistettynä massaspektrometriaan (GC/MS). Kiinteäfaasiuutto (SPE) ja kapillaarikolonnilla tehtävään GC/MS-analyysiin perustuvilla menetelmillä voidaan määrittää samassa ajossa useita fenoleja ja kloorifenoleja vesinäytteistä µg/l-tason pitoisuuksissa [12]. Menetelmä soveltuu erityisen hyvin viranomaisvalvontaan ja tutkimuskäyttöön, mutta sen käyttöönottoa rutiininomaisessa seurannassa voivat rajoittaa laitteistoinvestoinnit, laajaa menetelmäosaamista edellyttävä käyttö sekä suhteellisen työläs näytteenkäsittely.

Korkean erotuskyvyn nestekromatografia (HPLC) nestekromatografia UV-detektorilla tarjoaa tarkkaa ja selektiivistä analyysia erityisesti fenolin ja alkyyli-fenolien, kuten kresolien, määrittämiseen. Menetelmä perustuu fenoliyhdisteiden erotukseen C18-kolonnilla ja niiden havaitsemiseen ultraviolettidetektorilla, tyypillisesti 218 nm:n aallonpituudella. Vaikka HPLC/UV-menetelmä mahdollistaa matalien pitoisuuksien kvantitoinnin ja hyvän toistettavuuden, se edellyttää näytteen keräämistä kiinteälle adsorbentille, orgaanista desorptiota sekä säännöllisesti kalibroitavaa laitteistoa. Tämän vuoksi menetelmää käytetään pääasiassa laboratoriotutkimuksissa ja valvonta-analyysissä, joissa vaaditaan suurta tarkkuutta. [13, s. 6–9.]

Fenolisille yhdisteille on kehitetty myös elektrokemiallisia menetelmiä, erityisesti entsyymipohjaisiin biosensoreihin perustuvia ratkaisuja. Näiden toimintaperiaate perustuu entsyymaattiseen hapettumiseen, ja reaktiossa syntyvä signaali mitataan sähkökemiallisesti. Biosensorit tarjoavat nopean vasteen ja korkean herkkyyden; kirjallisuudessa on raportoitu lineaarinen mitta-alue 0,1–500 µM:n välillä, vasteaika sekunteja ja määrittäysraja 0,1 µM. [14.] Biosensorien

laajamittaista käyttöönottoa rajoittavat kuitenkin edelleen muun muassa entsyymien stabiilisuuteen ja elektrodirakenteiden kestävyysliittymät haasteet. Toisin kuin 4-AAP-menetelmä, joka perustuu värireaktion absorbanssin mittaamiseen, biosensorien vaste on sähkökemiallinen, mikä voi mahdollistaa myös heikon optisen vasteen omaavien fenolisten yhdisteiden havaitsemisen.

Viime vuosina fenolimäärityksen tutkimuksessa on pyritty kehittämään ympäristöystävällisempiä vaihtoehtoja perinteiselle 4-AAP-menetelmälle, jossa hapettimena käytetään kaliumferrisyaniidia. Yhtenä lupaavana ratkaisuna on tutkittu persulfaatin ($S_2O_8^{2-}$) käyttöä korvaavana hapettimena. Persulfaatti toimii tehokkaana hapettimena ja edistää fenolien reaktiota 4-AAP:n kanssa, jolloin muodostuu mitattava kinoni-imiiniväriaine. Reaktion onnistuminen edellyttää kuitenkin tarkasti säädetyjä olosuhteita, kuten pH:n sekä persulfaatin ja 4-AAP:n pitoisuuksien optimointia. Kinetiikkatutkimuksissa on havaittu, että rinnakkainen 4-AAP:n hapettuminen vaikuttaa reaktionopeuteen, mutta pitämällä fenolin pitoisuus rajallisena ja optimoimalla persulfaatin ja 4-AAP:n ylimäärä reaktion nopeuslaki yksinkertaistuu: tällöin reaktionopeus on ensimmäistä kertalukua sekä fenolin että persulfaatin suhteen ja käytännössä riippumaton 4-AAP:n pitoisuudesta. [15.]

Myöhemmissä tutkimuksissa on vahvistettu persulfaatin soveltuvuus hapettimena 4-AAP-värireaktiossa, vaikka sen tuottaman signaalin herkkyyden ja toistettavuuden on raportoitu olevan jonkin verran heikommät kuin perinteisellä kaliumferrisyaniidilla [10]. Samalla menetelmä vähentää syanidipohjaisten reagenssien käyttöä ja tekee fenolianalytiikasta ympäristöystävällisempää.

Viime vuosina on kehitetty automatisoituja menetelmiä, joissa 4-AAP-reaktio integroidaan virtausanalyysointijärjestelmiin. Segmentoitu virtausanalyytiikka (SFA) on osoittautunut toimivaksi menetelmäksi ilman nestemäistä uuttoa 4-AAP-pohjaisessa fenolimäärityksessä, ja menetelmät ovat osoittautuneet toistettaviksi ja tarkkuudeltaan hyväksyttäviksi. [16.] Lisäksi EPA hyväksyy uudet menetelmät, jos ne tuottavat vastaavia tuloksia standardimenetelmään verrattuna [17].

Vaikka kromatografiset ja elektrokemialliset menetelmät soveltuvat yksittäisten fenoliyhdisteiden tunnistamiseen, ne eivät useinkaan sovellu operatiiviseen tai reaaliaikaiseen seurantaan. Nämä analyysimenetelmät vaativat usein monivaiheista näytteenkäsittelyä, pitkiä analysointiaikoja sekä kalliita laitteistoja. Tästä syystä yksinkertaisemmat menetelmät, kuten 4-AAP-pohjainen PhI-menetelmä, ovat edelleen keskeisessä asemassa kokonaisfenolipitoisuuden arvioinnissa erityisesti ympäristö- ja jätevesinäytteistä. [1].

6 Materiaalit ja menetelmät

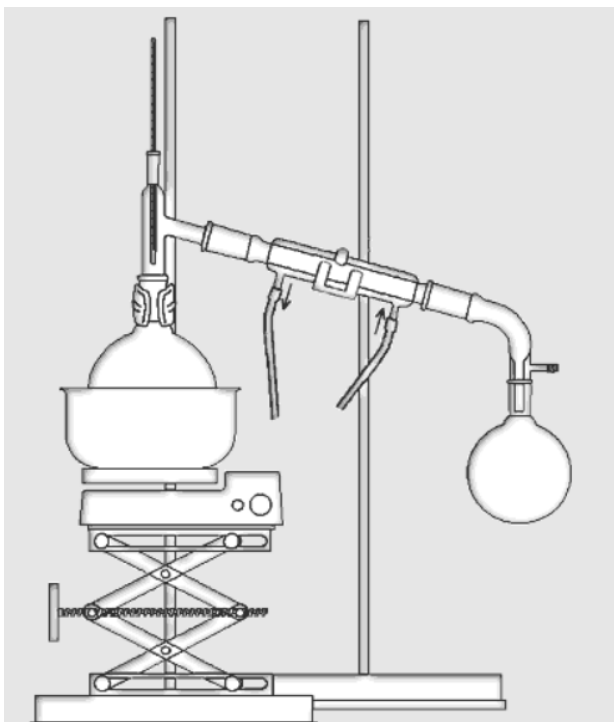
Fenoliyhdisteiden määrittäminen toteutettiin ASTM D1783, menetelmä B:n mukaisesti, jossa fenolit erotetaan vesihöyrytislauksella ennen spektrofotometrillä määrittämistä. Menetelmä valittiin sen laajan sovellettavuuden ja toistettavuuden vuoksi, ja sitä käytettiin varmistamaan määrittämisen tarkkuus sekä näytematriisin mahdollisten häiriötekijöiden poistuminen. Menetelmä noudattaa ASTM D1783 -standardin periaatteita, ja sitä sovellettiin tähän työhön fenoliyhdisteiden määrittämistä varten.

6.1 Näytteiden esikäsittely

Näytteet tislattiin, minkä tarkoituksena on poistaa näytematriisin mahdollisia häiriötekijöitä ja kerätä vesihöyrytislauksessa erotettavat fenolit talteen. Tämä vaihe parantaa määrittämisen tarkkuutta ja vähentää virhelähteitä, sillä tislauksen avulla poistetaan muun muassa öljyjä ja hapettavia aineita, jotka voisivat vaikuttaa 4-AAP-reaktioon tai spektrofotometriseen mittaukseen. [11.]

Tislauksen on yleisesti käytetty nesteiden erotus- ja puhdistusmenetelmä, jota hyödynnetään laajalti sekä orgaanisessa synteesissä että analyttisessä kemiassa. Menetelmä perustuu siihen, että seoksen komponentit siirtyvät höyryfaasiin eri lämpötiloissa niiden kiehumispisteiden ja höyrynpaineiden perusteella. Kuumennettaessa näyte alkaa höyrystyä, ja muodostunut höyry johdetaan jäähdyttimen kautta, jossa se tiivistyy tisleeksi. Näin saadaan erotettua yhdisteitä toisistaan tai poistettua haihtuvia epäpuhtauksia monimutkaisista näytematriiseista [18, s.

85–86]. Kuvassa 4 on esitetty yksinkertaisen tisluslaitteiston peruskokoonpano.



Kuva 4. Yksinkertaisen tisluslaitteiston peruskokoonpano: lämmityslaitteella varustettu kolvi, jonka yläosaan on liitetty vinoon asetettu jäähdytin ja tislekolvi tisleen vastaanottoa varten [19].

Vesihöyrytislus on fenoliyhdisteiden analytiikassa yleisesti käytetty erotusmenetelmä, joka perustuu veden ja orgaanisten yhdisteiden keskinäiseen liukenevuuteen. Näiden faasien höyrynpaineet summautuvat, jolloin seos alkaa kiehua jo alle 100 °C:n lämpötilassa, vaikka yksittäisten fenolien kiehumispisteet ovat huomattavasti korkeampia. Tämä ilmiö mahdollistaa fenolien siirtymisen höyryfaasiin ilman lämpöhajoamisen riskiä, minkä vuoksi vesihöyrytislus soveltuu erityisen hyvin fenolien erottamiseen ja puhdistamiseen ennen kvantitatiivista analyysiä. [18, s. 89–90.]

Aluksi tislattiin 500 ml:n näytemäärä, mutta menetelmää optimoitiin myöhemmin siten, että 100 ml:n näytemäärä todettiin riittäväksi. Erotus saannoissa oli vähäinen, mutta analyysiaika lyheni lähes puoleen. Tislauksen aikana kerättiin vakioitu määrä tislettä, joka vastasi alkuperäistä näytemäärää, sillä ASTM D1783-

standardin mukaan toistettavuuden ja tulosten vertailukelpoisuuden kannalta on olennaista, että tisleen tilavuus vastaa lähtötilavuutta. Sama periaate esitetään myös kansainvälisessä standardissa ISO 6439 (1990), jossa korostetaan tislauksen täydellisyyden merkitystä fenolien kvantitatiiviselle talteenotolle. Näin varmistetaan, että fenolit siirtyvät höyryfaasiin täydellisesti ja analysoitava tisle edustaa luotettavasti alkuperäistä näytettä [20]. Tisle jäähdytettiin huoneenlämpöiseksi, ja siitä otettiin mitattu osuus analyysiä varten. Mikäli arvioitu fenolipitoisuus ylitti mitta-alueen, tisleettä laimennettiin tyypin II vedellä ennen spektrofotometrillä määrittämistä.

Tutkimuksessa "*Study of the Steam Distillation of Phenolic Compounds Using Ultraviolet Spectrometry*" arvioitiin vesihöyrytislauksen soveltuvuutta fenoliyhdisteiden kvantitatiiviseen talteenottoon ennen spektrofotometrillä määrittämistä. Tutkimuksessa tarkasteltiin yhteensä 42 eri fenoliyhdistettä, joista valtaosalla, kuten fenolilla, 2-nitrofenolilla, 2-metaksyfenolilla ja useilla dikloorifenoleilla, saavutettiin yli 95 %:n saannot. Sen sijaan erittäin polaariset tai monihydroksy- ja aminofenoliset yhdisteet, kuten aminofenolit, hydrokinoni ja trinitrofenoli, antoivat selvästi pienempiä saantoja, koska ne joko hajoavat tislauksen aikana tai eivät höyrysty riittävästi. Näin ollen vesihöyrytislauksen soveltuvuus on arvioitava tapauskohtaisesti näytteen koostumuksen ja analyysin tavoitteiden perusteella. [21.]

6.2 Käytetyt reagenssit

Työssä käytettiin seuraavia reagensseja:

- ammoniumkloridi (NH_4Cl) – Merck, (CAS 12125-02-9)
- ammoniakkiliuos (NH_4OH , 28–30 %) – Merck, (CAS 1336-21-6, seos)
- kaliumheksasyanoferraatti (III) ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) – Merck, (CAS 13746-66-2)
- 4-aminoantipyriini ($\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}$) – Merck, (CAS 83-07-8)

Kaikki reagenssit olivat valmistajan ilmoittamaa analyysi- tai ultrapuhdasta laa-
tua, ja vetenä käytettiin tyypin II vettä.

Reagenssit valmistettiin standardin mukaisesti puhtaista lähtöaineista. Tietyt
herkemmät reagenssit, kuten 4-AAP- ja kaliumferrisyaniidiliuos, käytettiin tuo-
reina tai vaihdettiin säännöllisesti, jotta hajoamistuotteet eivät vaikuttaisi määri-
tyksen tarkkuuteen.

6.3 UV/Vis-spektrofotometri

Shimadzu UV-1800 on kaksisäde-spektrofotometri, joka kattaa aallonpituusalu-
een 190–1100 nm deuterium- ja halogeenilamppujen avulla [22]. Laitteessa on
useita mittaustiloja, kuten yksittäisen ja monen aallonpituuden mittaukset, kvan-
tointi kalibroitikäyrien avulla, spektrimittaukset sekä kinetiikan seuranta. Lait-
teen suorituskyky voidaan tarkistaa säännöllisesti mittaamalla fotometrinen ja
aallonpituuden tarkkuus sekä hajavalon määrä, mikä varmistaa sen luotettavuus-
den rutiini- ja validointikäytössä. [23.]

Laitteen toiminta perustuu holografisella hilalla varustettuun monokromaattoriin,
joka valitsee analysoitavan aallonpituuden. Valittu säde johdetaan näytekyvetin
läpi, ja detektori mittaa läpäisseen valon intensiteetin. Tulokset muunnetaan
transmittanssiksi (%T) tai absorbanssiksi (A), ja absorbanssi on Lambert–Bee-
rin lain mukaisesti suoraan verrannollinen pitoisuuteen, mikä mahdollistaa kvan-
titatiivisen analyysin. [22.]

Laitteeseen voidaan liittää automaattinen Sipper Unit -lisälaite, joka on suunni-
teltu tehostamaan nesteiden siirtoa mittauskyyvetiin ilman manuaalista näytteen-
vaihtoa. Sipper Unit hyödyntää sähköisesti ohjattua peristalttipumppua, joka siir-
tää näyteliuoksen mittauskyyvetiin hallitulla virtausnopeudella. [23.] Moottorioh-
jattu pumppaus varmistaa tasaisen ja toistettavan näytteen syötön, ja samalla
kyvetti pysyy paikoillaan koko mittaussarjan ajan [24].

Käytännössä Sipper-yksikön etuina ovat analyysin nopeus, toistettavuuden parantaminen ja manuaalisten työvaiheiden vähentyminen, mikä tekee siitä erityisen soveltuvan suurivolyymisiin tai sarjamuotoisiin mittauksiin. Kun Sipper Unit liitetään automaattiseen näytteenvaihtajaan, useita näytteitä voidaan analysoida peräkkäin ilman käyttäjän väliintuloa. Järjestelmä soveltuu teollisuuden laadunvalvonta- ja tutkimuslaboratorioihin, joissa edellytetään suurta tarkkuutta ja toistettavuutta. Peristalttipumpun letkumateriaali ei sovellu vahvoille hapoille, emäksille tai estereille, mikä on huomioitava näytteitä valittaessa ja laitteistoa huollettaessa [24].

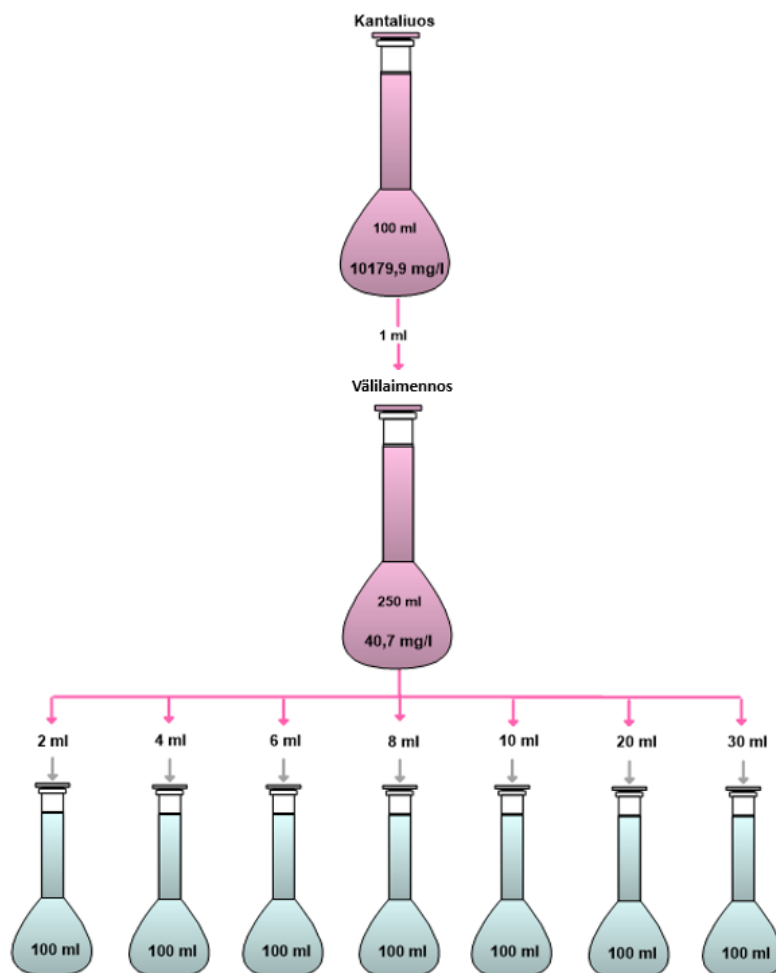
7 Standardimenetelmän testaus ja tulokset

Standardimenetelmän käyttöönotossa noudatettiin Borealikesä työturvallisuusperiaatteita, joissa korostetaan ennakoivaa riskienhallintaa. Kaikkiin työvaiheisiin liittyvät riskit arvioitiin, ja turvallisuustiedotteiden tiedot, kuten kemikaalien käsittelyohjeet sekä suojavarustevaatimukset, integroitiin osaksi työskentelyä.

7.1 Kalibrointisuoran luominen

Standardi antaa ohjeet fenolistandardiliuosten valmistamiseen ja kalibrointisuoran laatimiseen, mutta jättää laboratoriolle mahdollisuuden soveltaa menetelmää käytettävissä oleviin olosuhteisiin ja laitteistoihin soveltuvalla tavalla.

Tässä työssä kalibrointisuora valmistettiin laboratorion käytännön työolosuhteisiin soveltaen, sillä ASTM D1783 -standardin mukainen menettely ei sellaisenaan soveltunut tutkittujen näytteiden fenolipitoisuusalueille. Menetelmän periaate ja reaktiokemia säilytettiin kuitenkin täysin yhteneväisinä, joten poikkeama koski ainoastaan käytännön toteutusta, ei analyysikemiallista sisältöä. Standardiliuokset valmistettiin kuvan 5 mukaisesti.



Kuva 5. Fenolistandardiliuosten kaksivaiheinen valmistus. Kantaliuoksesta valmistettiin ensin välilaimennos, josta pipetoitiin 2–30 ml ja laimennettiin 100 ml:aan. Näin saatiin sarja standardiliuoksia kalibroitisuoraa varten, mikä mahdollisti fenolipitoisuuksien kvantitatiivisen määrittämisen spektrofotometrisesti.

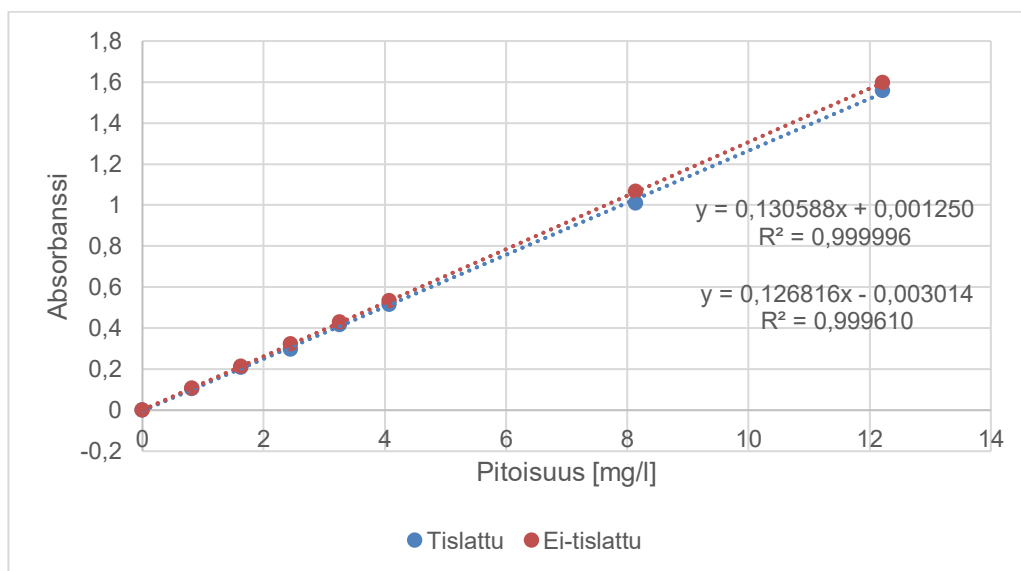
7.2 Lineaarisuus

Menetelmän lineaarisuus kuvaa mittausvasteen, esimerkiksi spektrofotometrisen absorbanssin, ja analyyttipitoisuuden välistä suoraviivaista riippuvuutta tietyllä pitoisuusalueella. Lineaarinen vaste osoittaa, että signaali kasvaa suhteessa pitoisuuteen, jolloin menetelmä tuottaa ennustettavia ja vertailukelpoisia tuloksia. Lineaarisuus arvioidaan vertaamalla mitattuja vasteita tunnettuun pitoisuuteen, laatimalla kalibroitisuora ja tarkastelemalla residuaalien jakaumaa. Residuaalien satunnainen vaihtelu nollan ympärillä osoittaa vasteen

lineaarisuuden, kun taas systemaattinen poikkeama viittaa epälineaarisuuteen tai vasteen vaihteluun pitoisuuden funktiona. [25, s. 28–31.]

Standardimenetelmä edellyttää tislauksen, mutta tämän työn yhteydessä haluttiin arvioida, vaikuttaako esikäsitteilyvaihe puhtaiden fenoliliuosten mittaustuloksiin. Tarkoituksena oli selvittää, aiheuttaako tislauksen poisjättäminen muutoksia vasteisiin silloin, kun matriisivaikutuksia ei ole. Tämän vuoksi sama fenolipitoisuussarja mitattiin kahdella tavalla: menetelmästandardin mukaisen tislauksen jälkeen sekä ilman tislausta. Näin pystyttiin vertaamaan esikäsitteilyn vaikutusta pelkkään analysoitavaan aineeseen.

Lineaarisuustarkastelussa sekä tislattujen että ei-tislattujen standardiliuosten kalibrintisuorat (liite 1) osoittivat erinomaisen lineaarisuuden. Kuvassa 6 on esitetty molempien sarjojen kalibrintisuorat samassa kuvaajassa, mikä havainnollistaa menetelmän hyvää toistettavuutta.



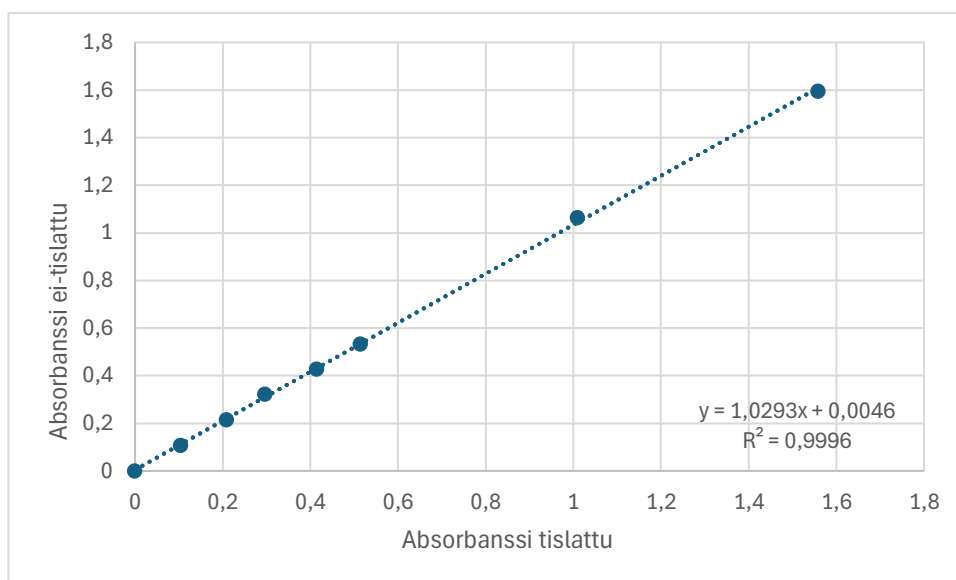
Kuva 6. Tislattujen ja ei-tislattujen fenolistandardien kalibrintisuorat. Kuvasta ilmenee mittausvasteen ja pitoisuuden välinen lineaarinen riippuvuus sekä suuntauksien lähes identtinen yhtenevyys eri näytteen esikäsitteilyillä.

Kalibroitaisuorien selitysasteet olivat erittäin korkeat ($R^2 = 0,9996$ tislattu, $R^2 = 1,0000$ ei-tislattu), mikä osoittaa menetelmän hyvän lineaarisuuden ja toistettavuuden valitulla pitoisuusalueella.

Ei-tislattujen standardien kalibroitaisuoran kulmakerroin $0,1306$ ($1/(\text{mg/l})$) oli noin 3 % suurempi kuin tislattujen $0,1268$ ($1/(\text{mg/l})$), mikä viittaa lievään vasteen alenemiseen tislauksen yhteydessä. Ero on kuitenkin pieni ja käytännön määrittelyksen kannalta merkityksetön, mikä osoittaa menetelmän olevan lineaarinen valitulla pitoisuusalueella ($0\text{--}12,22$ mg/l). Havaittu ero on yhdenmukainen Norwitzin ja Keliherin (1986) tutkimuksen kanssa, jossa raportoitiin vesihöyrytislauksen tuottavan lievästi pienempiä saantoja erityisesti yksinkertaisessa tislauksessa [21].

Absorbanssien erotus on esitetty liitteessä 1, josta käy ilmi, että erot pysyivät kaikilla pitoisuuksilla negatiivisina ja alle $0,06$ yksikön, mikä tukee havaintoa tislauksen vähäisestä vaikutuksesta vasteeseen.

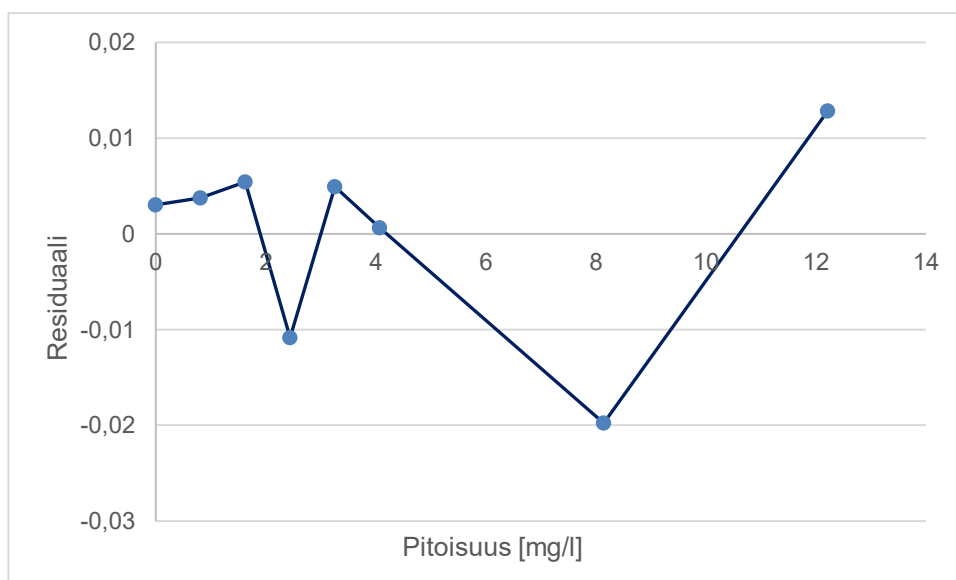
Tislattujen ja ei-tislattujen mittausten välinen korrelaatio oli erittäin vahva ($R^2 = 0,9996$), ja lineaarisen sovituksen kulmakerroin ($1,0293$) oli lähellä yhtä, mikä osoittaa, että mittaukset tuottivat lähes identtisiä absorbansseja riippumatta esikäsittelyvaiheesta (kuva 7).



Kuva 7. Tislattujen ja ei-tislattujen fenolistandardien mitattujen absorbanssien välinen korrelaatio. Mittaustulokset asettuvat lähes täydellisesti 1:1-suhteen mukaiselle suoralle, mikä osoittaa vahvan positiivisen korrelaation ja menetelmän erinomaisen toistettavuuden.

Tulokset osoittavat, että puhtaiden fenoliliuosten tapauksessa tislauksen poijättäminen ei muuttanut vasteita merkittävästi. Tämä havainto koskee kuitenkin vain standardiliuoksia eikä sovellu sellaisenaan matriisiltaan vaihteleviin prosessinäytteisiin.

Pelkkä korrelaatiokerroin tai R^2 -arvo ei kuitenkaan riitä menetelmän lineaarisuuden arviointiin, vaan sen lisäksi on tarkasteltava myös kalibrointisuoran regressiotuloksia ja erityisesti residuaalikuvaajaa. [25, s. 29–30.] Tislattujen kalibrointiliuosten tarkkuutta arvioitiin residuaalikuvaajan perusteella (kuva 8).



Kuva 8. Tislattujen fenolistandardien residuaalikuviokuva, jossa jäännöstermit sijoitetaan satunnaisesti nollaviivan ympärille ilman systemaattista poikkeamaa. Kuviokuva osoittaa menetelmän lineaarisuuden ja mittausten tarkkuuden valitulla pitoisuusalueella.

Poikkeamat regressiosuorasta olivat satunnaisia ja pieniä ($-0,02 \dots +0,01$ absorbanssia), eikä systemaattista trendiä havaittu. Residuaalien jakautuminen vahvistaa havainnon lineaarisesta vasteesta ja menetelmän tarkkuudesta valitulla pitoisuusalueella. Regressioanalyysin yksityiskohtaiset tulokset on esitetty liitteessä 2.

7.3 Toteamis- ja määrittämissrajat

Toteamisraja (LOD) ja määrittämissraja (LOQ) kuvaavat menetelmän kykyä havaita ja kvantitoida analyyytti matalilla pitoisuuksilla. Laskenta (liite 3) perustuu Eurachemin (2025) suositteluun lähestymistapaan, jossa käytetään keskiarvotettujen tulosten mukaista korjattua keskihajontaa s'_0 . [25, s. 31–35.] Tämä saadaan kaavasta 1.

$$s'_0 = \frac{s_0}{\sqrt{n}} \quad (1)$$

jossa s_0 on pitoisuuksien keskihajonta ja n on mittausten lukumäärä.

LOD määritellään pitoisuudeksi, jossa analyytti voidaan havaita luotettavasti, mutta ei vielä kvantitatiivisesti tarkasti. Se lasketaan kaavalla 2. [25, s. 34.]

$$LOD = 3 \cdot s'_0 \quad (2)$$

Tässä työssä LOD-arvoksi saatiin 0,002 mg/l.

LOQ kuvaa alinta pitoisuustasoa, jolla analyytti voidaan kvantitoida hyväksyttävällä tarkkuudella ja toistettavuudella. Se määritetään kaavan 3 mukaisesti. [25, s. 35.]

$$LOQ = 10 \cdot s'_0 \quad (3)$$

Laskennan (liite 3) perusteella LOQ oli 0,005 mg/l. Käytännön raportoinnissa LOQ-arvo on pyöristetty muotoon 0,01 mg/l, ja tätä arvoa käytetään kvantitatiivisen mittausalueen alarajana.

7.4 Mittausalue

Menetelmän mittausalue määritettiin yhdistämällä LOQ-tulokset sekä kalibrointisuoran lineaarisuusalue. Mittausalue alkaa määritysrajasta ja ulottuu siihen suurimpaan pitoisuuteen, jolla vaste säilyy lineaarisena ja mittausepävarmuus hyväksyttävänä. [25, s. 34–35, 37–39.]

Kalibrointisuoran tarkastelu osoitti, että menetelmä käyttäytyi lineaarisesti pitoisuusalueella 0–12 mg/l, eikä poikkeamia regressiomallista havaittu. Korkeat selityssasteet ($R^2 \geq 0,9996$) tukevat havaintoa menetelmän hyvästä lineaarisuudesta. Pyöristettyyn LOQ-arvoon perustuen menetelmän kvantitatiiviseksi mittausalueeksi esitetään 0,01–12 mg/l, mikä kattaa sekä ympäristönäytteiden odotettavat fenolipitoisuudet että menetelmän soveltuvuuden prosessivesien analytiikkaan. Mikäli näytteen pitoisuus ylittää ylärajan, näyte laimennetaan mittausalueelle.

7.5 Tislaustilavuuden vaikutuksen arviointi

Menetelmän käytännön toimivuutta arvioitiin vertaamalla fenolipitoisuuden määritystuloksia kahdella eri tislauksella, kuten standardi ASTM D1783 mahdollistaa. Standardin mukaisesti analyysi voidaan suorittaa joko 500 ml:n tai 100 ml:n näytemäärällä, mikäli pienempi tilavuus tuottaa toistettavia ja luotettavia tuloksia. [11.]

Vertailun tavoitteena oli arvioida, voiko pienempää tislauksilavuutta käyttää ilman, että menetelmän tarkkuus tai luotettavuus heikkenee. Samalla haluttiin selvittää, voidaanko analyysia nopeuttaa käytännön työskentelyä tehostaen. 500 ml:n tislauks kesti keskimäärin 3,5 tuntia, kun taas 100 ml:n tislauks voitiin suorittaa noin kahdessa tunnissa. Työajan lyheneminen lähes puoleen mahdollisti laajemman mittaussarjan toteuttamisen ja siten menetelmän kokonaisvaltaisemman arvioinnin.

Näytteistä A ja B tehtiin rinnakkaiset tislaukset molemmilla tilavuuksilla. Tulokset (taulukko 2) osoittivat, että tislauksilavuuden pienentäminen ei vaikuttanut merkittävästi mitattuun fenolipitoisuuteen. Erot jäivät hyvin pieniksi, alle 1,5 %:iin, mikä viittaa siihen, että 100 ml:n tislauks tuottaa vertailukelpoisia tuloksia 500 ml:n tislaukseen nähden.

Taulukko 2. Fenolipitoisuudet kahdella eri tislauksella ja niiden väliset erot. Pienempi tislauksilavuus tuotti vertailukelpoisia tuloksia merkittävästi lyhyemmässä ajassa.

Näyte	Näytteen tilavuus (ml)	Fenolipitoisuus (mg/l)	Erotus (%)
A	500	7,77	
	100	7,74	-0,39 %
B	500	6,99	
	100	6,89	-1,43 %

Tämän työn vertailussa käytettiin kahta erillistä näytettä ($n = 2$), mikä on otoskoko melko pieni eikä mahdollista vahvojen tilastollisten johtopäätösten tekemistä. Tulokset toimivat kuitenkin hyödyllisenä indikaationa menetelmän käyttäytymisestä pienemmällä näytemäärällä, sillä mittaukset tuottivat tässä kokeellisessa asetelmassa keskenään vertailukelpoisia vasteita. Laajempi aineisto olisi vaatinut huomattavasti enemmän aikaa ja resursseja suhteessa työn tavoitteisiin. Havaintojen perusteella voidaan varovaisesti todeta, että pienemmällä tilavuudella suoritettu määrittäminen ei tämän työn puitteissa heikentänyt tulosten yhteneväisyyttä.

7.6 Oikeellisuus

Menetelmän oikeellisuutta arvioitiin saantokokeiden avulla. Kokeet toteutettiin standardilisäyksenä, jossa 5 ml fenolin välilaimennosta (40,7 mg/l) lisättiin 50 ml:aan tislattua näytettä ja lopullinen tilavuus täydennettiin 100 ml:aan. Lisäysnäyte analysoitiin samoilla vaiheilla kuin alkuperäinen näyte. Esimerkkilasku on esitetty liitteessä 4. Saantoprosentti laskettiin vertaamalla lisäysnäytteen ja alkuperäisen näytteen pitoisuuksia sekä lisätyn standardin määrää ASTM D1783 -standardin periaatteen mukaisesti kaavalla 4 [11].

$$P = \frac{100 * \left(A - B * \left(\frac{V_s}{V_t} \right) \right)}{C * \left(\frac{V}{V_t} \right)} \quad (4)$$

A= lisäysnäytteen mitattu pitoisuus (mg/l)

B= alkuperäisen näytteen mitattu pitoisuus (mg/l)

C= lisätyn standardiliuoksen pitoisuus (mg/l)

V_s = näytteen tilavuus ennen lisäystä (ml)

V= lisätyn standardin määrä (ml)

V_t = lopputilavuus (ml)

Yhtälö perustuu ASTM D1783 -standardissa esitettyyn saannon laskentaperiaatteeseen, mutta se esitetään muodossa, jossa lisätyn ja alkuperäisen näytteen pitoisuusero (A ja B) kuvaa lisäyksen vaikutusta kokonaispitoisuuteen.

Tämä esitystapa helpottaa tulosten tulkintaa ja noudattaa samaa laskennallista periaatetta kuin standardin alkuperäinen kaava. Laskettu saanto (%) ilmaisee, kuinka suuri osa näytteeseen lisäystä tunnetusta fenolimäärästä havaitaan analyysissa. Saanto laskettiin vertaamalla mitattua pitoisuutta lisättyyn määrään ja sitä käytettiin menetelmän oikeellisuuden arvioimiseen. [25, s. 42–45.]

Tulokset on esitetty taulukossa 3. Näytteestä A saatujen kolmen rinnakkaismitauksen saantoprosentit vaihtelivat 99,2–103,8 % ja näytteestä B 98,3–99,2 %. Molemmissa tapauksissa tulokset pysyivät hyväksyttävällä 95–105 %:n tasolla, mikä osoittaa menetelmän hyvää oikeellisuutta [26, s. 44].

Taulukko 3. Standardilisäyskokeiden mitatut pitoisuudet, saantoprosentit ja lasketut bias-arvot kahdelle näytteelle (A ja B).

Näyte	Mitattu pitoisuus (mg/l)	Saanto (%)	Bias (%)
A1	6,15	103,81	+3,81
A2	6,05	99,17	–0,83
A3	6,09	100,78	+0,78
Näyte A:n keskiarvo (A1–A3)	6,09	101,25	+1,25
B1	3,82	99,13	–0,87
B2	3,82	99,18	–0,82
B3	3,80	98,25	–1,75
Näyte B:n keskiarvo (B1–B3)	3,83	98,85	–1,15

Menetelmän bias, eli systemaattinen virhe, arvioitiin vertaamalla lisäysnäytteiden keskimääräistä saantoa. Näyte A:n bias oli +1,25 % ja näyte B:n –1,15 %, mikä osoittaa vain vähäistä systemaattista poikkeamaa. Molemmat arvot jäivät selvästi hyväksyttävän ± 5 % rajan sisälle, mikä vahvistaa menetelmän oikeellisuuden. IUPAC:n harmonisoitujen ohjeiden mukaan laboratorion biasin arviointi

lisäysnäytetutkimusten avulla on keskeinen osa yksittäislaboratorion menetelmävalidointia [27].

Toistettavuuden ja mittausten vaihtelun arvioimiseksi laskettiin saantokoenäytteille keskihajonta ja suhteellinen keskihajonta (RSD %). Näytteellä A RSD oli 2,33 % ja näytteellä B 0,53 %. Arvot jäävät alle 5 %:n tason, jota pidetään monissa lähteissä hyväksyttävänä rutiinianalytiikassa, mikä osoittaa menetelmän hyvän täsmällisyyden ja toistettavuuden.

7.7 Täsmällisyys

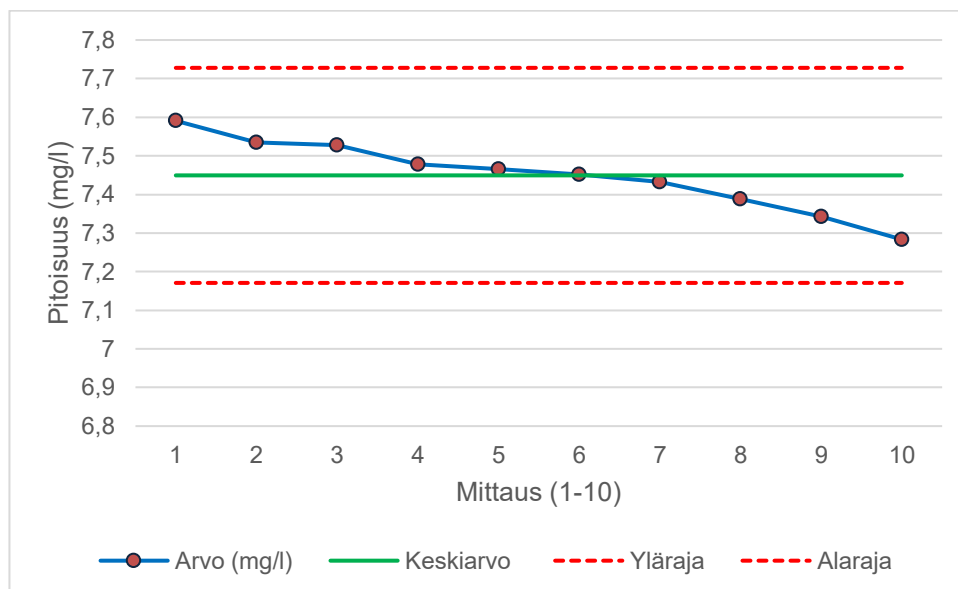
Menetelmän täsmällisyyttä arvioitiin analysoimalla sama näyte kymmenen kertaa kahden peräkkäisen päivän aikana samoissa olosuhteissa (taulukko 4). Tulokset kuvaavat sekä toistettavuutta (päivän sisäinen vaihtelu), että osittain myös uusittavuutta (päivien välinen vaihtelu).

Taulukko 4. Fenolimäärityksen täsmällisyyttä kuvaavat keskiarvot, keskihajonnat ja suhteelliset keskihajonnat (RSD %) kahdelta peräkkäiseltä päivältä sekä koko aineistolle (n = 10).

	Päivä 1	Päivä 2	Yhteensä
Keskiarvo (mg/l)	7,53	7,40	7,45
Keskihajonta (mg/l)	0,05	0,07	0,09
RSD%	0,61	0,95	1,25

Koko aineiston keskiarvo oli 7,45 mg/l ja keskihajonta 0,09 mg/l, mikä vastaa suhteellista keskihajontaa (RSD \approx 1,25 %). Päiväkohtaiset RSD-arvot olivat 0,61 % ja 0,95 %, mikä osoittaa, että mittausten välinen vaihtelu pysyi vähäisenä sekä yksittäisten mittauspäivien sisällä että niiden välillä.

Mittauksista laadittu \bar{x} -kortti (kuva 9) osoitti, että kaikki tulokset pysyivät lasketujen kontrollirajojen (7,17–7,73 mg/l) sisällä eikä yksittäisiä poikkeamia havaittu.



Kuva 9. \bar{X} -kortti fenolipitoisuuden toistomittauksista ($n = 10$). Keskiviiva kuvaa tulosten keskiarvoa (7,45 mg/l) ja katkoviivat kontrollirajoja. Kaikki mittaus tulokset pysyivät kontrollirajojen sisällä, mikä osoittaa menetelmän hyvää täsmällisyyttä ja mittausprosessin hallintaa.

Kontrollirajat määritettiin kolmen keskihajonnan perusteella ($\pm 3s$), mikä vastaa normaalijakaumaolettamuksessa noin 99,7 %:n todennäköisyyttä tulosten sijoittumiselle rajojen sisään. Menetelmä on vakiintunut käytäntö laboratoriomittaus-ten sisäisessä laadunohjauksessa, ja sen avulla voidaan varmistaa mittausprosessin hallinta ja toistettavuus. [28.] Tuloksissa ilmeni kuitenkin lievä laskeva trendi ensimmäisestä mittauksesta kymmenenteen, mikä voi johtua näytteen ominaisuuksien vähäisestä muuttumisesta säilytyksen aikana tai mittausolosuh-teiden hienoisesta vaihtelusta.

7.8 Mittausepävarmuus

Suhteellinen mittausepävarmuus arvioitiin Nordtest TR 537 (2017) -ohjeen [29] mukaisesti yhdistämällä toistettavuuden päivien 1–2 toistomittaukset kaavalla 5. Tarkemmat laskut nähtävillä liitteessä 5.

$$u(Rw) = \frac{s}{\bar{x}} \quad (5)$$

jossa s on mittausten keskihajonta ja \bar{x} on niiden keskiarvo.

Tuloksena saatiin 0,0125, mikä vastaa 1,25 % suhteellista epävarmuutta.

Systemaattisen virheen (u_{bias}) komponentit laskettiin kaavan 6 mukaisesti saantokokeiden tuloksista:

$$u(bias) = \sqrt{RMS_{bias}^2 + u(C_{ref})^2} \quad (6)$$

jossa RMS_{bias} kuvaa saantokokeiden keskimääräistä poikkeamaa 100 %:sta ja $u(C_{ref})$ lisätyn standardin epävarmuutta. Biasin kokonaisepävarmuudeksi $u(Bias)$ saatiin näin 1,92 %

RMS_{bias} -arvo saatiin laskemalla kaikkien saantokokeiden poikkeamien neliöiden keskiarvo ja ottamalla tämän keskiarvon neliöjuuri, jolloin yksittäisten poikkeamien positiiviset ja negatiiviset erot tasapainottuvat, ja saadaan koko menetelmää kuvaava keskimääräinen poikkeama. Tulokseksi saatiin 1,84 %.

$U(C_{ref})$ -arvo saatiin yhdistämällä saantokokeiden standardinlisäyspitoisuuden ja -tilavuuden epävarmuudet. Standardiliuoksen konsentraation epävarmuudeksi arvioitiin 0,50 % ja lisätyn tilavuuden epävarmuudeksi 0,20 %, mikä tuotti yhdistetyn epävarmuuden arvoksi 0,54 %. Arviointi tehtiin Nordtest TR 537 (2017) -ohjeen mukaisesti, jossa epävarmuuskomponentit johdetaan analyysissä käytettyjen laitteiden ja standardien tarkkuusvaatimuksista [29].

Yhdistetty standardiepävarmuus (u_c) laskettiin kaavalla 7:

$$u_c = \sqrt{u_{rw}^2 + u_{bias}^2} \quad (7)$$

Laskennassa saatiin yhdistetty standardiepävarmuus 2,29 %, josta muodostui laajennettu epävarmuus 4,58 % ($k = 2$). Tämä vastaa pitoisuudella 7,45 mg/l absoluuttista epävarmuutta $\pm 0,34$ mg/l. Fenolipitoisuus voidaan siten esittää muodossa $(7,45 \pm 0,34)$ mg/l, mikä tarkoittaa, että todellinen pitoisuus sijoittuu 95 %:n varmuudella tälle vaihteluvälille.

Mittausepävarmuus arvioitiin laskennallisesti hyödyntäen toistettavuuden ja biasin komponentteja [25]. Arviointi tehtiin sekä manuaalisesti että MUKit-ohjelmistolla (Measurement Uncertainty Kit), joka perustuu samaan Nordtest-menetelmään (kuva 10). Tulokset olivat yhteneviä: ohjelmiston antama kokonaisepävarmuus oli $U = 5$ %, mikä vastaa manuaalisesti laskettua arvoa.

Concentration range (mg/l)	Within-lab Reproducibility Data	u (Rw)	Bias Data	u (bias)	Combined standard uncertainty	Expanded uncertainty
5-10	Control sample covering the whole analytical process	1.25 %	Recovery Test	1.92 %	2.29 %	5 %

Kuva 10. MUKit-ohjelmiston tulokset. Laskennallisesti arvioidut mittausepävarmuudet eri mittaussuureiden tasoilla. Tuloksissa esitetään 5–10 mg/l pitoisuusalueelle määritetyt epävarmuuskomponentit, mukaan lukien laboratorion sisäinen uusittavuus (u_{Rw}) = 1,25 %, biasin epävarmuus (u_{bias}) = 1,92 %, yhdistetty standardiepävarmuus (2,29 %) sekä laajennettu epävarmuus (5 %).

MUKit on ympäristölaboratorioissa laajasti suositeltu työkalu mittausepävarmuuden arviointiin. Se perustuu Nordtest TR 537 -raportissa kuvattuihin menetelmiin ja hyödyntää laboratorion laadunvalvonta- sekä validointidataa. [29.]

7.9 Yhteenveto

Menetelmän tulokset osoittivat, että spektrofotometrinen 4-AAP-menetelmä soveltuu fenolisten yhdisteiden määrittelyyn prosessivesinäytteistä. Arvioidut

parametrit (lineaarisuus, määrittys- ja toteamisraja, saanto, täsmällisyys ja mittausepävarmuus) olivat hyvällä tasolla, ja menetelmä täytti tavanomaiset vaatimukset tarkkuuden ja toistettavuuden osalta. Vaikka tislausvaihe lisää analyysin kokonaiskestoa, se parantaa menetelmän spesifisyyttä ja tukee tulosten luotettavuutta erityisesti monimutkaisissa matriiseissa. Menetelmän keskeiset tulokset ja niihin liittyvät havainnot on koottu taulukkoon 5.

Taulukko 5. Menetelmän tulosten yhteenveto Borealis Polymers Oy:n prosessivesien fenolimäärittäyksessä. Taulukko kokoaa tärkeimmät suorituskykyparametrit ja niistä saadut tulokset sekä keskeiset havainnot menetelmän soveltuvuudesta ja käytännön haasteista.

Validointiparametri	Tulos/havainto	Tulkinta ja huomioita
Lineaarisuus (R^2)	$\geq 0,9996$	Erinomainen lineaarisuus. Residuaalit jakautuneet tasaisesti.
Määrittysraja (LOQ)	0,005 mg/l	Alhainen määrittysraja; mahdollistaa fenolien havaitsemisen hyvin pienissä pitoisuuksissa.
Toteamisraja (LOD)	0,002 mg/l	Menetelmä erittäin herkkä; soveltuu laimeillekin prosessivesinäytteille.
Saanto (%)	98,3–103,8 %	Tulokset tarkkoja ja hyväksyttävissä rajoissa (± 5 %).
Täsmällisyys (RSD%)	1,25 %	Erinomainen toistettavuus; pieni hajonta mittausten välillä.
Laajennettu mittausepävarmuus (k=2)	4,57 %	Hyvä mittausepävarmuus
Tislaustilavuus 500 ml vs. 100 ml	Ei merkittävää eroa tulosten tarkkuudessa	Pienempi tilavuus nopeutti analyysia noin 50 % ilman luotettavuuden heikkenemistä.
Menetelmän vahvuudet	Luotettava, tarkka ja herkkä	Täyttää validointikriteerit ja soveltuu prosessivesien analytiikkaan.
Menetelmän haasteet	Aikaavievyys tislauksessa	Tislausvaihe sitoo paljon työaika ja voi hidastaa rutiinianalytiikkaa.

8 Johtopäätökset

Tämän opinnäytetyön tavoitteena oli analysoida fenolisten yhdisteiden määrittäminen menetelmä Borealis Polymers Oy:n prosessivesinäytteille ja arvioida menetelmän soveltuvuutta laboratorion rutiinianalyysiin. Menetelmä perustui ASTM D1783 -standardin mukaiseen 4-AAP-reaktioon ja spektrofotometriseen mittaamiseen, jota käytettiin kokonaisfenolipitoisuuden arviointiin teollisista prosessivesistä.

Menetelmän tulokset osoittivat, että menetelmä on analyttisesti luotettava. Lineaarisuus oli erittäin hyvä, määrittämis- ja toteamisrajat matalia ja saantokokeiden tulokset pysyivät yleisesti hyväksyttävissä rajoissa. Täsmällisyys oli hyvä sekä yksittäisten mittauspäivien sisällä että kahden päivän välillä, ja laajennettu mittausepävarmuus oli pieni suhteessa mittausalueeseen. Näiden havaintojen perusteella menetelmä täyttää keskeiset oikeellisuuden, täsmällisyyden ja herkkyyden kriteerit fenolipitoisten prosessivesinäytteiden määrittämisessä.

Käytännön laboratoriotyö toi kuitenkin esiin vesihöyrytisläisvaiheen merkittävän roolin menetelmän kokonaiskuormituksessa. Yksittäisen näytteen tisläus kesti noin 1,5–2 tuntia, ja ennen siirtymistä 100 ml tisläuksiin näytekohtainen käsittelyaika oli lähes kaksinkertainen. Suurempia näytemääriä analysoitaessa tisläus sitoo helposti huomattavan osan työajasta ja muodostaa pullonkaulan, mikä rajoittaa menetelmän soveltuvuutta hyvin tiheään rutiinianalytiikkaan. Pitkä käsittelyaika lisäsi myös riskiä näytteiden käsittely- ja aikataulueroista johtuvalle vaihtelulle, erityisesti tilanteissa, joissa tisläusta jouduttiin jatkamaan useana eri päivänä.

Tisläisvaiheeseen liittyi myös kemiallisia virhelähteitä. Fenoliset yhdisteet ovat herkästi hajoavia, jos tisläisolosuhteet eivät pysy tarkasti hallinnassa, ja teoriassa tämä voisi näkyä alentuneina saantoina tai suurempana mittausvaihteluna. Käytännön havaintojen perusteella huolellisella prosessinhallinnalla ja yhtenäisillä laboratorioskäytännöillä nämä riskit olivat kuitenkin hallittavissa: saantokokeet, täsmällisyystarkastelut ja mittausepävarmuuden arviointi eivät viitanneet

merkittävään systemaattiseen virheeseen tai luotettavuuden heikkenemiseen tislauksen seurauksena.

Tislaustilavuuden pienentäminen 500 ml:sta 100 ml:aan lyhensi käsittelyaikaa selvästi ja vähensi näytekohtaisen työkuorman noin puoleen. Vertailussa ei havaittu merkittävää eroa tulosten tarkkuudessa tai yhteneväisyydessä, vaikka otoskoko jäi pieneksi eikä siten mahdollistanut vahvoja tilastollisia johtopäätöksiä. Tulokset viittaavat kuitenkin siihen, että pienemmät tilavuudet voivat olla varteenotettava vaihtoehto, mikäli menetelmä validoidaan laajemmalla aineistolla ja erilaisilla näytematriiseilla.

Tämän työn perusteella 4-AAP-menetelmä soveltuu hyvin fenolipitoisten prosessivesien määrittämiseen silloin, kun analysoitavien näytteiden määrä on kohtuullinen ja tislausvaihe voidaan toteuttaa hallitusti. Samalla tulokset korostavat, että menetelmän resurssi-intensiivisyys liittyy nimenomaan esikäsittelyyn, ei varsinaiseen mittaukseen. Jatkokehityksessä keskeisiä tarkastelukohteita voisivat olla tislausvaiheen automatisointi, vaihtoehtoisten esikäsittelymenetelmien tutkiminen tai erillisten in-house-menetelmien kehittäminen tilanteisiin, joissa tarvitaan nopeampaa ja vähemmän työvoimavaltaista analytiikkaa. Tavoitteena tällaisessa kehitystyössä olisi säilyttää standardimenetelmään verrattava luotettavuustaso, mutta vähentää työvaiheiden ajallista ja henkilöstöresurssien kuormitusta.

Työ tarjosi myös käytännön oppia menetelmävalidoinnin toteutuksesta, mittausepävarmuuden arvioinnista ja standardimenetelmän soveltamisesta teolliseen prosessivesianalytiikkaan. Nämä kokemukset ja saadut tulokset tuottavat konkreettista taustatietoa standardimenetelmän vahvuuksista sekä rajoitteista ja voivat toimia pohjana tuleville kehityshankkeille, joissa fenolianalytiikan tehokkuutta ja käytännön sovellettavuutta pyritään parantamaan.

Lähteet

- 1 Kochana, Jolanta; Adamski, Juliusz & Parczewski, Andrzej. 2012. A Critical View on the Phenol Index as a Measure of Phenol Compounds Content in Waters. Application of a Biosensor. Verkkoaineisto. Sciendo. <<https://sciendo.com/article/10.2478/v10216-011-0028-5?tab=articles-in-this-issue>>. Luettu 30.3.2025.
- 2 Riistama, Kyösti; Laitinen, Jorma & Vuori, Merja. 2005. Suomen kemianteollisuus. Tampere: Chemas Oy, Tammer-Paino Oy.
- 3 Borealis AG. 2023. TA2023 Turnaround guide. Verkkoaineisto. Borealis Polymers Oy. <https://www.borealisgroup.com/storage/TA2023_0407_presentation.pdf>. Luettu 19.3.2025.
- 4 Merck KGaA. 2025. Phenol. Verkkoaineisto. Merck. <<https://www.sigmaaldrich.com/FI/en/search/phenol?focus=products&page=1&perpage=30&sort=relevance&term=phenol&type=product>>. Luettu 4.4.2025.
- 5 Mohn W.W. & Tiedje J.M. 1992. Microbial reductive dehalogenation. Verkkoaineisto. ResearchGate. <https://www.researchgate.net/publication/347374540_Microbial_reductive_dehalogenation>. Luettu 4.4.2025.
- 6 Roustaei, Farideh; Baghdadi, Majid, Marjani, Azam, & Alimoradi, Mohammad. 2024. Spectrophotometric determination of phenol impurity in phenoxyethanol and phenol index of drinking water and municipal wastewater effluent after salting-out assisted liquid phase microextraction (SA-LPME). Verkkoaineisto. National Library of Medicine (NIH). <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10918212/>>. Luettu 30.3.2025.
- 7 von Sperling, M. 2007. Basic principles of wastewater treatment. Biological Wastewater Treatment Series, Vol 2. London: IWA Publishing.
- 8 Farzadkia, M.; Dadban Shahamat, Y.; Nasser, S.; Mahvi, A.H.; Gholami, M. & Shahryari, A. 2014. Catalytic Ozonation of Phenolic Wastewater: Identification and Toxicity of Intermediates. 2014. Verkkoaineisto. ResearchGate. <https://www.researchgate.net/publication/275475253_Catalytic_Ozonation_of_Phenolic_Wastewater_Identification_and_Toxicity_of_Intermediates>. Luettu 15.8.2025.
- 9 Chernicharo, C.A.L. 2007. Anaerobic reactors. Biological Wastewater Treatment Series, Vol 4. London: IWA Publishing.
- 10 Selvakumar, Paulraj Mosae. 2018. Phenol Sensing Studies by 4-Aminoantipyrine Method—A Review. Verkkoaineisto. Juniper Publishers.

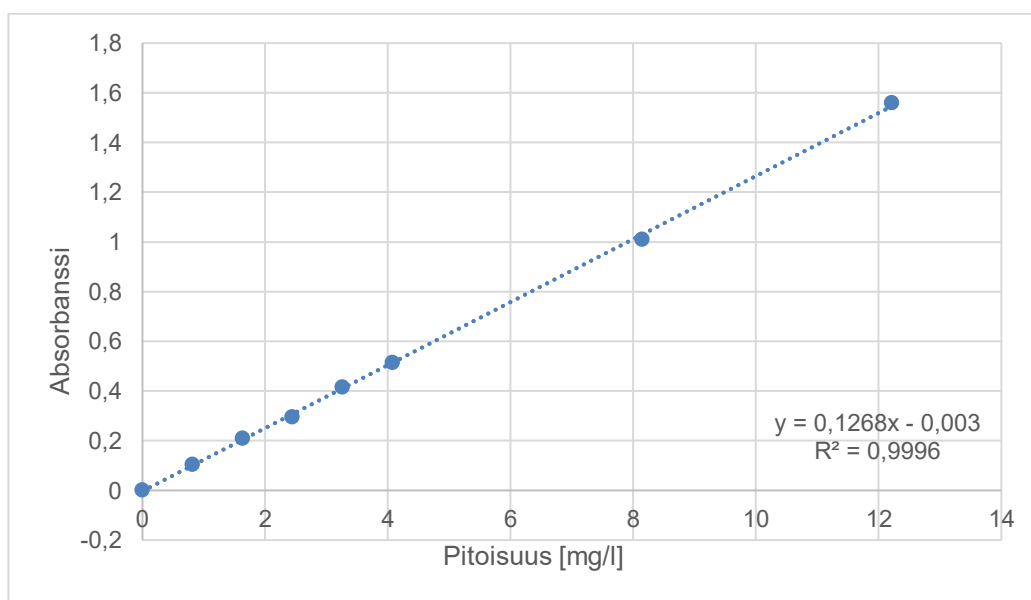
- <<https://juniperpublishers.com/omcij/pdf/OMCIJ.MS.ID.555657.pdf>>. Luettu 19.4.2025.
- 11 ASTM D1783 standardi. 2020. Standard Test Methods for Phenolic Compounds in Water.
 - 12 U.S. Environmental Protection Agency (EPA). 2000. Method 528: determination of phenols in drinking water by solid phase extraction and capillary column gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). Verkkoaineisto. EPA. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-09/documents/m_528.pdf> Luettu 6.6.2025.
 - 13 Cummins, K. 2001. Phenol and Cresol [Method 32: HPLC/UV determination]. Salt Lake City (UT): Occupational Safety and Health Administration (OSHA). Verkkoaineisto. OSHA. <<https://www.osha.gov/sites/default/files/methods/osha-32.pdf>>. Luettu 6.6.2025.
 - 14 Rawal, R.; Chawla, S. & Pundir, C. S. 2011. Polyphenol biosensor based on laccase immobilized onto silver nanoparticles/multiwalled carbon nanotube/polyaniline gold electrode. Verkkoaineisto. National Institutes of Health (NIH). <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21855525/>>. Luettu 6.6.2025.
 - 15 Otim, O. 2001. Optimizing the kinetics of persulfate-mediated oxidative coupling of phenols to 4-aminoantipyrine. Verkkoaineisto. ResearchGate. <https://www.researchgate.net/publication/239668153_Optimizing_the_kinetics_of_persulfate-mediated_oxidative_coupling_of_phenols_to_4-aminoantipyrine>. Luettu 1.8.2025.
 - 16 Sousa, A.R. & Trancoso, M.A. 2009. Validation of an environmental friendly segmented flow method for the determination of phenol index in waters as alternative to the conventional one. Talanta. Verkkoaineisto. ScienceDirect. <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0039914009003762>>. Luettu 17.7.2025.
 - 17 U.S. Environmental Protection Agency (EPA). 2007. Clean Water Act Method Flexibility Memo. Washington (DC). Verkkoaineisto. EPA. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-08/documents/cwa-method-flexibility_memo_11-20-2007.pdf>. Luettu 17.7.2025.
 - 18 Nichols, L. 2017. Organic Chemistry Laboratory Techniques. 2. painos. Oroville (CA): Butte Community College.
 - 19 Virtuaali TKK. Tislauslaitteisto. Verkkoaineisto. Teknillinen korkeakoulu (TKK). <<http://virtuaali.tkk.fi/fi/organinenkemialabraopas/images/laite/tislauslaitteisto.gif>>. Luettu 10.4.2025.

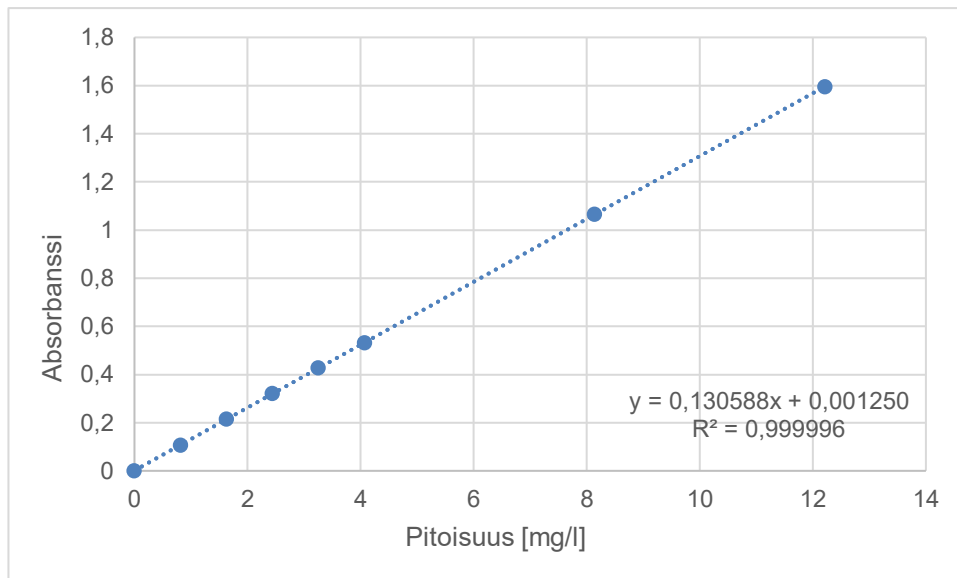
- 20 Kansainvälinen standardi ISO 6439. 1990. Water quality — Determination of phenol index. International Organization for Standardization. 2. painos 15. toukokuuta 1990.
- 21 Norwitz, George; Nataro, Nicole & Keliher, Peter N. 1986. Study of the Steam Distillation of Phenolic Compounds Using Ultraviolet Spectrometry. Verkkoaineisto. Oxford University Press. <<https://chemistry.mdma.ch/hive-board/rhodium/pdf/steam.distillation.phenolics.pdf>>. Luettu 11.4.2025.
- 22 Shimadzu Corporation. 2008. User Manual: Shimadzu UV-1800. 2008.
- 23 Shimadzu Corporation. 2008. Technical System Guide: Shimadzu UV-1800. 2008.
- 24 Shimadzu Corporation. Automatic Analysis Accessories for UV-VIS Spectrophotometers (Sipper Unit & Auto Sample Changer). Verkkoaineisto. Shimadzu. <<https://www.shimadzu.com/an/products/molecular-spectroscopy/uv-vis/uv-vis-nir-spectroscopy-consumables/automatic-analysis/index.html#top>>. Luettu 9.4.2025.
- 25 Eurachem. 2025. The Fitness for Purpose of Analytical Methods A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. Verkkoaineisto. Eurachem. <https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_3rd_ed_V1_EN.pdf>. Luettu 3.4.2025.
- 26 Ruismäki, M. 2024. Analyysimenetelmän validointi. Luentomateriaali, Metropolia Ammattikorkeakoulu.
- 27 Thompson, M.; Ellison, S.L.R. & Wood, R. 2002. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis. Pure and Applied Chemistry. Verkkoaineisto. ResearchGate. <https://www.researchgate.net/publication/244742566_Harmonized_guidelines_for_single-laboratory_validation_of_methods_of_analysis_IUPAC_Technical_Report>. Luettu 11.10.2025.
- 28 Nordtest. 2018. NT TR 569: Handbook of Internal Quality Control. Edition 5.1. Verkkoaineisto. Nordtest. <https://www.nordtest.info/wp/wp-content/uploads/2018/04/NT_TR_569_ed5_1_Internal_Quality_Control_English.pdf>. Luettu 29.10.2025.
- 29 Nordtest. 2017. NT TR 537: Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories. Verkkoaineisto. Nordtest. <https://nordtest.info/images/documents/nt-technical-reports/NT_TR_537_edition4_English_Handbook_for_calculation_of_measurement_uncertainty_in_environmental_laboratories.pdf>. Luettu 3.4.2025.

Standardisuurien vertailu

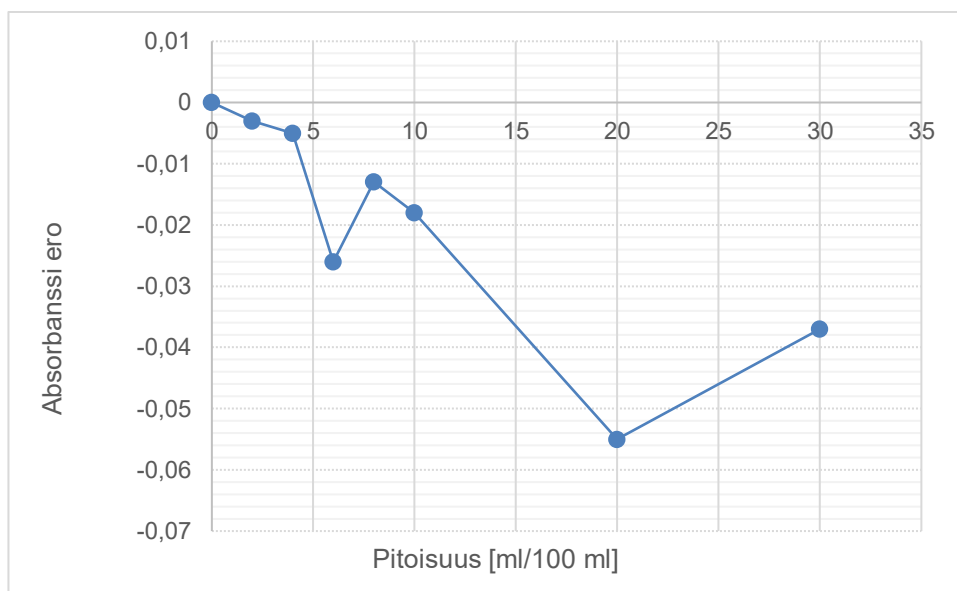
Taulukko 1. Standardisuurien mittaustulokset.

	Tunnettu	Tislattu	Ei-tislattu
ml/100 ml	Pitoisuus (mg/l)	Absorbanssi	Absorbanssi
0	0	0	0
2	0,814	0,104	0,107
4	1,629	0,209	0,214
6	2,443	0,296	0,322
8	3,258	0,415	0,428
10	4,071	0,514	0,532
20	8,144	1,010	1,065
30	12,216	1,559	1,596

Kuva 1. Tislattu standardisuora ($R^2 = 0,9996$).



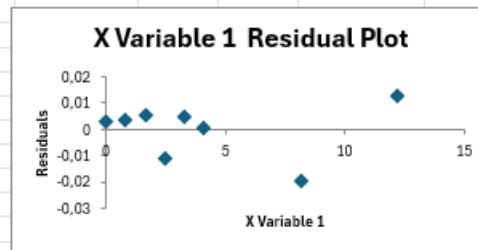
Kuva 2. Ei-tislattu standardisuora ($R^2 = 0,9999$).



Kuva 3. Absorbanssien erot tislattujen ja ei-tislattujen standardien välillä. Ero laskettiin vähentämällä ei-tislattujen standardien absorbanssit tislatuista ($A_{\text{tislattu}} - A_{\text{ei-tislattu}}$).

Regressioanalyysin tulokset

SUMMARY OUTPUT								
<i>Regression Statistics</i>								
Multiple R	0,999804742							
R Square	0,999609521							
Adjusted R Square	0,999544442							
Standard Error	0,011180235							
Observations	8							
<i>ANOVA</i>								
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>			
Regression	1	1,9199339	1,9199339	15359,76	1,86082E-11			
Residual	6	0,00075	0,000125					
Total	7	1,9206839						
	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95.0%</i>	<i>Upper 95.0%</i>
Intercept	-0,003013888	0,0057433	-0,5247659	0,618562	-0,017067237	0,01104	-0,0171	0,011039461
X Variable 1	0,126815808	0,0010232	123,93449	1,86E-11	0,124312009	0,12932	0,12431	0,129319607
<i>RESIDUAL OUTPUT</i>								
<i>Observation</i>	<i>Predicted Y</i>	<i>Residuals</i>	<i>Standard Residuals</i>					
1	-0,003013888	0,0030139	0,291172					
2	0,100263889	0,0037361	0,360946					
3	0,203541667	0,0054583	0,52733					
4	0,306819444	-0,0108194	-1,0452674					
5	0,410097222	0,0049028	0,4736577					
6	0,513374999	0,000625	0,0603814					
7	1,029763887	-0,0197639	-1,9093907					
8	1,546152779	0,0128472	1,241171					



Kuva 1. Regressioanalyysin tulokset tislattujen standardien lineaarisesta kalibrointisuorasta.

LOD ja LOQ-laskenta

	A	B	C	D	E
1	Mittaus	Absorbanssi	Pitoisuus (mg/l)		
2	1	0,106	0,8018		
3	2	0,106	0,8041		
4	3	0,106	0,8033		
5	4	0,106	0,8041		
6	5	0,106	0,8048		
7	Keskiarvo		0,80362	=AVERAGE(C2:C6)	
8	Keskihajonta		0,001147606	=STDEV.S(C2:C6)	
9	$s^{\prime}0$		0,000513225	=C8/SQRT(5)	
10	LOD		0,001539675	=3*C9	
11	LOQ		0,005132251	=10*C9	

Kuva 1. LOD- ja LOQ-arvojen laskenta alimmasta standardiliuoksesta.

Saantokokeen laskenta

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	Saantokoe 1								
2									
3		$P = \frac{100 \cdot (3,81762 - 3,60418 \cdot \frac{50}{100})}{(40,6642 \cdot \frac{5}{100})} = 99,1304 \%$							
4									
5	Tarkistus 1								
6		Standardin pitoisuus				40,6642	mg/l		
7		Alkuperäinen 100 ml näyte (1:100) =				3,60418	mg/l		
8		Lisäys: 50 ml näyte, 45 ml vesi, 5 ml standardi							
9		Lisäysnäytteen mittaus keskiarvo				3,81762	mg/l		
10									
11		Standardin osuus loppunäytteestä:				2,03321	mg/l	=40,6642*(5/100)	
12									
13		Lisätyn näytteen taustapitoisuus ilman standardia				1,80209	mg/l	=(50/100)*F7	
14									
15									
16		Saanto %				99,130439	%	=(F9-F13)/F11*100	
17									
18	Tarkistus 2								
19									
20				mg/l	Tilavuus (l)	Massa (mg)			
21		Alk.peräinen näyte	3,60418	0,05	0,180209	=D21*E21			
22		Lisäysnäyte	3,81762	0,1	0,381762	=D22*E22			
23		Lisätty standardi	40,6642	0,005	0,203321	=D23*E23			
24									
25		$P = \frac{(0,3818 - 0,1802)}{0,2033} * 100 = 99,1304 \%$							
26									

Kuva 1. Esimerkkilasku näyte A:n ensimmäisestä saantokokeesta.

Mittausepävarmuuden laskenta Excelissä

	A	B	C	D	E
1					
2	7,59078				
3	7,53497				
4	7,52772				
5	7,47815				
6	7,46516		$u(Rw) = \frac{s}{\bar{x}}$		
7	7,45173		missä s on keskihajonta ja \bar{x} on keskiarvo		
8	7,43194				
9	7,38768				
10	7,34267				
11	7,28344				
12	Keskiarvo	7,449424	=AVERAGE(A2:A11)		
13	Keskihajonta	0,09283985	=STDEV.S(A2:A11)		
14	u(Rw)	0,01246269	=B13/B12		
15	%	1,24626884	=100*B14		
16					

Kuva 1. Toistettavuuden suhteellisen epävarmuuden laskenta kymmenen toistomittauksen perusteella.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R
19																		
20	$u(bias) = \sqrt{(RMS_{bias}^2 + u(C_{ref})^2)}$																	
21																		
22																		
23		Saanto%	Yksittäinen bias	bias ²														
24	RMS:	99,13044	-0,0086956	7,56135E-05														
25		99,17618	-0,0082382	6,78679E-05														
26		98,25153	-0,0174847	0,000305715														
27		103,8137	0,038137	0,001454431														
28		99,17274	-0,0082726	6,84359E-05														
29		100,7746	0,007746	6,00005E-05														
30				0,000338677														
31				0,018403185														
32				1,840318509	%													
33																		
34																		
35	$u(bias) = \sqrt{(RMS_{bias}^2 + u(C_{ref})^2)}$																	
36																		
37				1,917908291	%													
38																		
39																		

Kuva 2. Oikeellisuuteen liittyvien epävarmuuskomponenttien laskenta RMS-menetelmällä. Kuvassa on esitetty standardiliuoksen pitoisuuden epävarmuus ja tilavuuden epävarmuus, joista muodostetaan kokonaisbiasin epävarmuus.

	A	B	C	D	E
43					
44			$u_c = \sqrt{u_{rw}^2 + u_{bias}^2}$		
45					
46					
47		2,28726 %		=SQRT(B15^2+D37^2)	
48					
49					
50					
51			$U = k \times u_c$		
52					
53					
54		k=2			
55					
56		4,57451996 %		=2*B47	
57					

Kuva 3. Yhdistetyn mittausepävarmuuden ja laajennetun epävarmuuden laskenta kattavuuskertoimella $k = 2$.