

Opinnäytetyö AMK

Insinööri, Kemia

2026

Jasmin Valkama

GC-MS menetelmän testaus ja työohje



Opinnäytetyö AMK | Tiivistelmä

Turun ammattikorkeakoulu

Insinööri, Kemia

2026 | 46 sivua

Jasmin Valkama

GC-MS menetelmän testaus ja työohje

Tämän opinnäytetyön tavoitteena oli kehittää ja testata uusi GC-MS tekniikkaan perustuva analyysimenetelmä reaktorinäytteiden karakterisointiin. Yrityksessä ei ollut aiemmin käytössä vastaavaa menetelmää, vaan analytiikka on perustunut UV-Vis-menetelmään. UV-Vis-analyysi soveltuu tarkasteluun, joka tuottaa kullekin reaktorille tyypillisen spektrisen sormenjäljen, mutta ei mahdollista yksityiskohtaista komponenttien tunnistamista tai määrällistä vertailua.

Työssä tutkittiin kaasukromatografia-massaspektrometriaan (GC-MS) perustuvan menetelmän soveltuvuutta tähän käyttötarkoitukseen. Erityinen painopiste oli lämpötilaohjelman optimoinnissa analyysin erotuskyvyn, toistettavuuden ja ajankäytön parantamiseksi. Menetelmää testattiin useilla eri lämpötilaohjelmilla ja sen suorituskykyä arvioitiin analyysiajan, toistettavuuden ja erotuskyvyn perusteella.

Työn tuloksena onnistuttiin kehittämään toistettava GC-MS-menetelmä, joka soveltuu rutiinianalytiikkaan. Uusi menetelmä tarjoaa aiempaa tarkemman ja informatiivisemman analyysityökalun näytteiden seurantaan ja täydentää merkittävästi aiemmin käytössä ollutta UV-Vis-analyysiä.

Asiasanat:

Kaasukromatografia, massaspektrometria, kvalitatiivinen analyysi, kvantitatiivinen analyysi, lineaarisuus

Bachelor's Thesis | Abstract

Turku University of Applied Sciences

Chemical Engineering

2026 | 46 pages

Jasmin Valkama

GC-MS method testing and a Work Instruction

The aim of this thesis was to develop and evaluate a new analytical method for the characterization of reactor samples. Previously, no comparable method had been available in the company, and these type of analyses were performed using UV-Vis spectroscopy. The UV-Vis method functions primarily as an on/off type analysis and provides a characteristic spectral fingerprint for each reactor, but it does not allow detailed identification or quantitative comparison of individual components.

This study focused on testing the suitability of a gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) method for this purpose. Particular emphasis was placed on optimizing the temperature program in order to improve separation efficiency, repeatability, and overall analysis performance. The method was evaluated through multiple runs, with attention given to its repeatability and suitability for routine analytical use.

As a result of this work, a repeatable and reliable GC-MS method suitable for routine analysis was successfully developed. The new method provides a more detailed and informative analytical approach for monitoring PAH concentration and complements the previously used UV-Vis analysis.

Keywords:

GC, mass spectrometry, quantitative analysis, qualitative analysis, linearity

Sisältö

1 Johdanto	8
2 Työn tausta ja tutkimuksessa käytettävä laitteisto	9
2.1 GC-MS	9
2.2 Tutkimuksessa käytettävä laitteisto ja ohjelmistot	10
2.3 SIM- ja SCAN-mittaustapojen erot	11
3 Materiaalit	14
3.1 Standardi	14
3.2 Kolonni	16
4 Menetelmän testaus	18
4.1 Jako- ja jakamattoman-injektoinnin erot	18
4.2 Lämpötilaohjelmien testaus	19
5 Menetelmän kalibrointi	26
5.1 Standardin laimentaminen	26
5.2 Menetelmän lineaarisuus	27
6 Toistettavuus	30
6.1 Systemin toistettavuus	30
6.2 Menetelmän toistettavuus	32
7 Havaitsemis- ja määritysrajan toteaminen	34
7.1 Havaitsemisrajan arviointi	34
7.2 Määritysrajan arviointi	35
8 Pohdinta	36
Lähteet	39
Liitteet	41

Liite 1 Työohjeet	41
-------------------	----

Taulukot

Taulukko 1 Menetelmässä käytetyt kohdeyhdisteet ja sisäinen standardi sekä valitut määrittämis- ja varmistus-ionit (SIM).	15
Taulukko 2. Lämpötilaohjelmien parametrit lämpötilan ja vaiheiden mukaan.	20
Taulukko 3. Kalibrointipitoisuuksien laimennokset	27
Taulukko 4. Yhdistekohtaiset kalibrointiparametrit.	28
Taulukko 5. Systemin toistettavuuden keskiarvo, keskihajonta ja suhteellinen keskihajonta (n=10).	31
Taulukko 6. Menetelmän toistettavuuden määrittämisessä käytettyjen rinnakkaisten ajojen lasketut tulokset, keskiarvo, keskihajonta ja suhteellinen keskihajonta (n=6).	32

Kuvat

Kuva 1. Kuvaaja GC-MS laitteiston rakenteesta.	10
Kuva 2. Agilent 8890 GC -järjestelmä, Agilent 5977C GC/MSD - massaspektrometri ja Agilent 7693A -automaattisyöttäjä (Agilent Technologies).	11
Kuva 3. SCAN-ajo sinisenä yllä ja SIM-ajo oranssina alla. Esimerkkikuva ajojen samoista kohdista ja samalla x-akselilla.	13
Kuva 4. Lähtötaso piikkien erotuksessa, jolloin käytössä oli lämpötilaohjelma, jonka lämpötila nousi 10 astetta minuutissa 100 asteeseen saakka. 100 asteessa pito yhden minuutin ajan, jonka jälkeen lämpötila nousi 20 astetta minuutissa 320 asteeseen saakka.	21
Kuva 5. Lämpötilaohjelmaa säädetty nousemaan tasaisesti 15 astetta minuutissa 320 asteeseen saakka.	22
Kuva 6. Lämpötilaohjelma, jolla lämpötila nousi 7 astetta minuutissa tuotti parhaan erottumisen myöhemmin eluoituville piikeille.	23

- Kuva 7. 7C-min-lämpötilaohjelmalla ajettu näyte on esitetty oranssilla ylempänä ja 8C-min-ohjelmalla ajettu näyte vihreällä alempana. Kuvassa ympyröidyt piikit vastaavat samoja komponentteja, mutta lämpötilaohjelman ero vaikuttaa niiden retentioaikoihin ja erottumiseen. Hitaammalla 7C-min-ohjelmalla komponentit erottuvat hieman myöhemmin ja paremmin toisistaan, kun taas nopeammalla 8C-min-ohjelmalla piikit tulevat aikaisemmin ja ovat lähempänä toisiaan. 24
- Kuva 8. Rutiinikäyttöön valittu lämpötilaohjelma 8C-min, jossa lämpötila nousee kahdeksan astetta minuutissa 320 asteeseen saakka. 25
- Kuva 9. Indeno[1,2,3-cd]pyreenin kalibroitisuora. 26
- Kuva 10. Lineaarisen kalibroinnin jäännöskuvaaja. 29
- Kuva 11. Esimerkki ajo havaitsemisrajan määrittämisestä. 34

Käytetyt lyhenteet tai sanasto

Lyhenne	Lyhenteen tai sanan selitys
Erotuskyky	Kromatografisen menetelmän kykyä erottaa toisistaan kaksi lähellä toisiaan erottuvaa yhdistettä niin, että ne näkyvät erillisinä piikkeinä kromatogrammissa.
GC-MS	Analyysimenetelmä, joka yhdistää kaasukromatografian (GC) yhdisteiden erottamiseen ja massaspektrometrian (MS) niiden tunnistamiseen ja määrälliseen analyysiin.
IDL	Laitteen havaitsemisrajan määrittäminen tarkoittaa laitteen pienintä ainemäärää tai pitoisuutta, jonka se pystyy luotettavasti havaitsemaan erillisenä taustakohinasta, mutta ei välttämättä vielä tarkasti määrittämään.
LOD	Havaitsemisraja on pienin pitoisuus, jossa laite tunnistaa piikin erottuvan taustakohinasta.
LOQ	Määritysraja on pitoisuus, jossa piikin alue voidaan mitata niin, että tulos on kvantitatiivisesti luotettava
PAH	Polyaromaattiset hiilivedyt
Toistettavuus	Mittaustulosten välinen yhdenmukaisuus, kun mittaukset suoritetaan peräkkäin samoilla mittausolosuhteilla.

1 Johdanto

Kaasukromatografia-massaspektrometria (GC-MS) on yhdistelmämenetelmä, joka mahdollistaa yhdisteiden tehokkaan erotuksen ja tarkan tunnistamisen. Menetelmää käytetään laajasti ympäristö-, elintarvike- ja lääketieteellisessä analytiikassa, joissa edellytetään luotettavia ja toistettavia tuloksia. GC-MS tarjoaa korkean herkkyyden ja selektiivisyyden erityisesti pienmolekyylisten yhdisteiden analysointiin (McLafferty & Turecek, 2011).

Tämän opinnäytetyön tavoitteena on testata GC-MS-laitteistoa laboratoriossa ja varmistaa, että siihen liittyvä analyysimenetelmä toimii luotettavasti käytännön työssä. Menetelmän soveltaminen keskittyy polyaromaattisten hiilivetyjen (PAH) kvalitatiiviseen tunnistamiseen ja kvantitatiiviseen määrittämiseen. Työssä ei käsitellä näytteiden esikäsittelyä, vaan keskitytään GC-MS menetelmän testaamiseen ja hienosäätöön osana laboratorion rutiinianalytiikkaa ja näytteiden karakterisointia.

Opinnäytetyön tuotoksena laaditaan käyttöohje, joka kokoaa yhteen menetelmän ja laitteiston keskeiset käyttövaiheet. Ohjeen tavoitteena on tukea erityisesti uusia ja vähemmän kokeneita käyttäjiä laitteen turvallisessa ja tehokkaassa käytössä. Dokumentaatio sisältää menetelmän suorittamiseen tarvittavat ohjelmistotoiminnot, sekä analyysin kannalta keskeiset käytännön työvaiheet.

GC-MS-menetelmän kattava testaaminen ja huolellinen laitteen käytön ohjeistus ovat tärkeitä laboratoriotoininnan laadun ja toistettavuuden varmistamisessa. Hyvin dokumentoitu testaus tukee menetelmän pitkäaikaista hallittua käyttöä ja auttaa varmistamaan, että analyysistä saadaan paras mahdollinen hyöty myös tulevaisuudessa (Hübschmann, 2015).

2 Työn tausta ja tutkimuksessa käytettävä laitteisto

Aikaisemmin käytössä ollut UV-Vis-spektroskopia tarjosi lähinnä suuntaa-antavaa tietoa näytteiden koostumuksesta. Käytössä ollella menetelmällä pystyttiin tunnistamaan näytteelle ominainen "sormenjälki", eli spektrinen profiili, mutta yksittäisten PAH-yhdisteiden tarkka tunnistaminen ja määrällinen analyysi eivät tällä UV-Vis-menetelmällä onnistuneet. Tämä rajoitti menetelmän käyttöä syvällisemmässä kemiallisessa karakterisoinnissa. Tästä syystä tarvittiin tarkempi ja spesifimpi analyysimenetelmä, joka mahdollistaa yksittäisten yhdisteiden tunnistamisen ja pitoisuuksien määrittämisen.

UV-Vis menetelmää tullaan jatkossakin hyödyntämään, mutta enemmän on-off analyysimenetelmänä. Sillä saadaan nopeasti selville onko näytteessä PAH-yhdisteitä vai ei. Lisäksi sillä tullaan tarkkailemaan kullekin näytteelle ominaista "sormenjälkeä" pidemmällä aikavälillä.

2.1 GC-MS

GC-MS on yhdistelmämenetelmä, jossa kaasukromatografi (GC) erottaa näytteen yhdisteet ja massaspektrometri (MS) tuottaa tietoa yhdisteiden tunnistamiseen ja määrittämiseen. GC-osassa näyte höyrystetään ja kuljetetaan kantajakaasun mukana kapillaarikolonnin läpi, jossa yhdisteet erottuvat haihtuvuuden sekä kolonnifaasin kanssa tapahtuvien vuorovaikutusten perusteella (Hübschmann, 2015). Tässä työssä kantajakaasuna käytettiin heliumia.

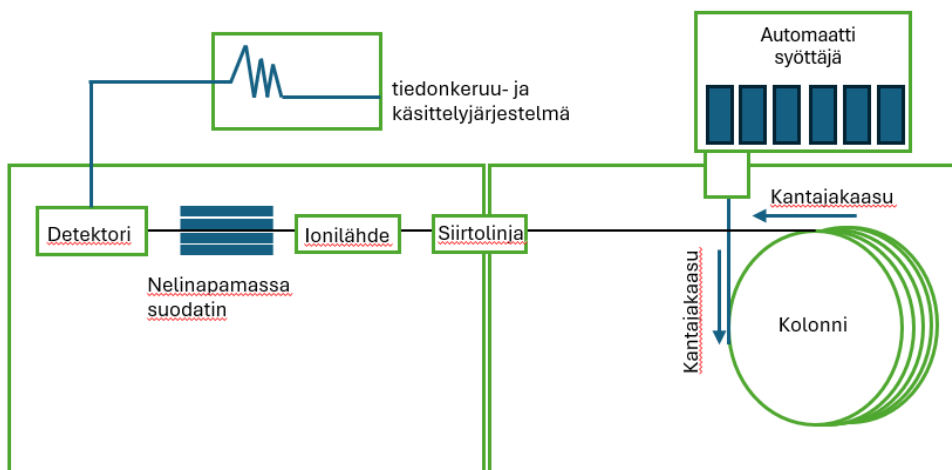
MS:nä käytetään yksikvadrupolia eli nelinapamassasuodatinta, joka suodattaa ioneja niiden massa-varaus-suhteen (m/z) perusteella (Hübschmann, 2015). Ionisaatio toteutetaan elektronitörmäysionisaatiolla (EI), jossa elektronisuihku ionisoi analyytit ja tuottaa yhdisteille tyypillisiä fragmentti-ioneja (McLafferty & Turecek, 2011). Mittaukset voidaan suorittaa joko laajalla massa-alueella (SCAN) tai valikoituihin ioneihin kohdistetusti (SIM, selected ion monitoring).

SIM-tilassa seurataan ennalta valittuja m/z -arvoja, mikä parantaa herkkyyttä kohdeyhdisteiden määrityksessä verrattuna SCAN-tilaan (Hübschmann, 2015).

Yhdisteiden tunnistusta voidaan tukea massaspektrikirjastoilla, joissa mitattua spektriä verrataan viitespektreihin ja tuloksena saadaan spektrien samankaltaisuutta kuvaava osumatulos (NIST, 2014).

2.2 Tutkimuksessa käytettävä laitteisto ja ohjelmistot

Tutkimuksessa käytetään Agilent 8890 GC-järjestelmää yhdistettynä Agilent 5977C GC/MSD -massaspektrometriin. Agilent 5977C on yksikvadrupoli-tyyppinen GC-MS-järjestelmä ja mittaukset suoritetaan elektronitörmäysionisaatiolla (Agilent Technologies, 2022). Näytteensyöttö on automatisoitu Agilent 7693A -autosamplerilla eli automaattisyöttäjällä, joka tukee toistettavaa injektointia ja rutiinianalytiikan sujuvuutta (Agilent Technologies, 2020). Kuvassa tarkempi kuvaus GC-MS laitteiston sisäisestä rakenteesta ja niiden sijoittumisesta laitteeseen.



Kuva 1. Kuvaaja GC-MS laitteiston rakenteesta.

Analyysidatan keruuseen ja käsittelyyn käytetään Agilent MassHunter -ohjelmistoja (Qualitative ja Quantitative). Yhdisteiden tunnistusta tuetaan kirjastohauilla ja Qualitative-analyysissä käytetään NIST MS Search 3.0 -

ohjelmistoa massaspektrien vertailuun. Kuvassa 2 tutkimuksessa käytettyä laitteista vastaava kokonaisuus.



Kuva 2. Agilent 8890 GC -järjestelmä, Agilent 5977C GC/MSD - massaspektrometri ja Agilent 7693A -automaattisyöttäjä (Agilent Technologies).

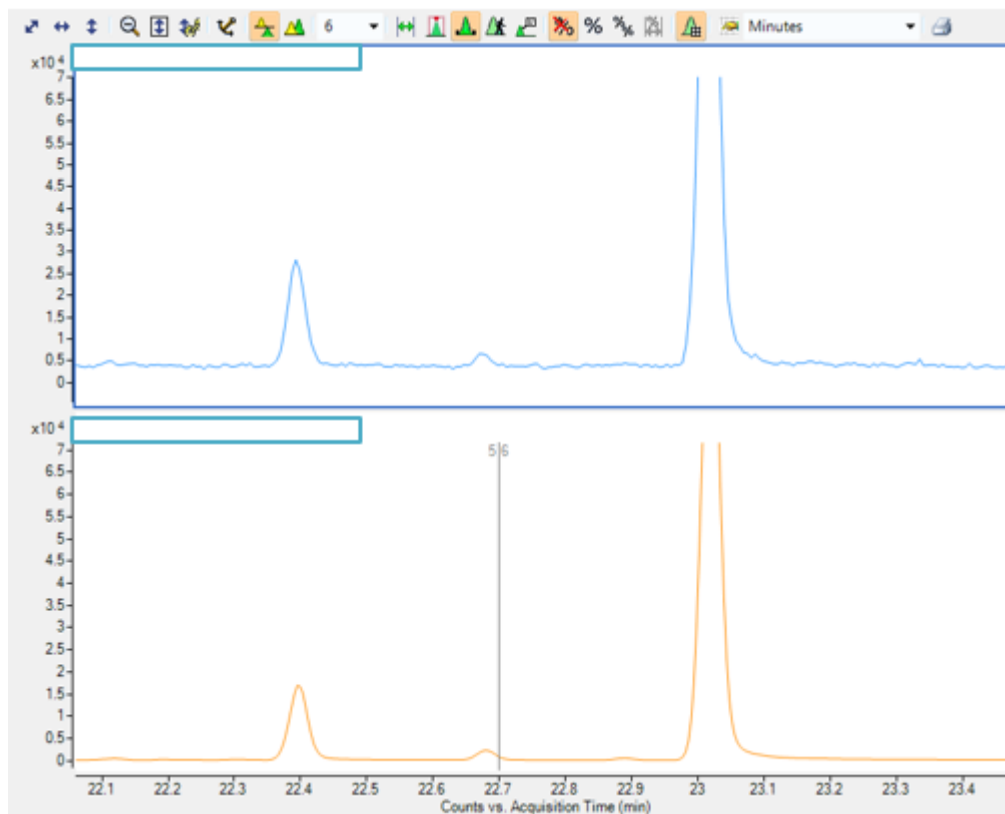
2.3 SIM- ja SCAN-mittaustapojen erot

GC-MS-mittauksissa massaspektrometrin data voidaan kerätä joko SCAN-tilassa (kokonaisskannaus) tai SIM-tilassa (valikoitu ioniseuranta). SCAN-tilassa laite mittaa valitun massa-varaus-suhdealueen kattavasti ja tuottaa jokaiselta ajanhetkeltä laajan massaspekttrin. Tämä tekee SCAN-tilasta käyttökelpoisen

erityisesti kvalitatiivisessa analytiikassa. Menetelmän kehittämisessä ja tilanteissa, joissa näytteessä voi olla myös odottamattomia yhdisteitä on SCAN-tilan käyttö suositeltavaa (Hübschmann, 2015).

SIM-tilassa seurataan vain ennalta valittuja m/z-arvoja, jotka valitaan kohdeyhdisteille tyypillisten ionien perusteella. Kun mitattavien ionien määrä on rajattu, laite voi käyttää enemmän mittausaikaa yksittäisille ioneille (viipymäaika). Rajaaminen parantaa signaali-kohinasuhdetta ja herkkyyttä. Tämän vuoksi SIM-tila soveltuu erityisesti kohdeyhdisteiden kvantitointiin ja pienien pitoisuuksien määrittämiseen rutiinianalytiikassa. SIM-tilan rajoitteena on, että se tuottaa vähemmän kokonaisinformaatiota näytteestä. Sellaiset yhdisteet, joiden ioneja ei seurata, voivat jäädä havaitsematta ja valittujen ionien on oltava riittävän selektiivisiä mahdollisten häiriöiden ja yhteiseluoitumisen varalta. (Agilent Technologies, 2022)

Yhteenvetona SCAN-tila painottuu laaja-alaiseen kvalitatiiviseen tarkasteluun ja tuntemattomien yhdisteiden mahdolliseen tunnistamiseen, kun taas SIM-tila painottuu kohdeyhdisteiden herkkään ja toistettavaan määrittämiseen silloin, kun analysoitavat yhdisteet ja seurattavat ionit ovat etukäteen tiedossa. Alla esimerkkikuva SCAN ja SIM ajojen eroista. Yllä SCAN ja alapuolella SIM.



Kuva 3. SCAN-ajo sinisenä yllä ja SIM-ajo oranssina alla. Esimerkkikuva ajojen samoista kohdista ja samalla x-akselilla.

3 Materiaalit

Opinnäytetyön tavoitteena on varmistaa GC-MS-laitteiston ja analyysimenetelmän toimivuus käytännön laboratoriotyössä. Työssä käytetyt PAH-yhdisteet valittiin siten, että ne edustavat analyysin kannalta keskeisiä yhdisteitä ja soveltuvat rutiinimittausten menetelmätestaukseen. Valinnan avulla pyritään varmistamaan, että käytössä oleva menetelmä tuottaa luotettavat ja toistettavat tulokset PAH-näytteiden kvalitatiivisessa tunnistuksessa, sekä kvantitatiivisessa määrittämisessä.

3.1 Standardi

Menetelmän testauksessa käytettiin kaupallista sertifioitua PAH-standardia. Käytetyn standardin mukana toimitettiin NIST-jäljitettävyyden osoittava analyysitodistus, joka varmistaa mittaustulosten metrologisen jäljitettävyyden. Sertifioitun standardin etuna on valmius käyttöön ilman erillistä valmistelua. Standardin valmistamisen pois jättäminen nopeuttaa analyysiprosessia ja vähentää virhemahdollisuuksia erityisesti menetelmätestauksen alkuvaiheessa. Lisäksi sertifioitu pitoisuus ja koostumus tukevat vertailukelpoisten ja luotettavien tulosten tuottamista (Hübschmann, 2015). Standardina käytettiin valmistajan sertifioimaa monikomponenttista seosta, jonka avulla voitiin määrittää kohdeyhdisteille soveltuvat seurattavat ionit SIM-mittausta varten (McLafferty & Turecek, 2011).

Taulukossa 1 esitetään menetelmässä seurattavat yhdisteet sekä kullekin yhdisteelle valitut määritys- ja varmistus-ionit. Sisäisen standardin (ISTD) avulla voidaan parantaa kvantitatiivisen määrittämisen luotettavuutta, koska se korjaa muun muassa injektioinnin ja mittausjärjestelmän vasteen vaihtelua.

Taulukko 1 Menetelmässä käytetyt kohdeyhdisteet ja sisäinen standardi sekä valitut määrittys- ja varmistus-ionit (SIM).

Yhdiste	Tyyppi	Määrittys- ioni (m/z)	Varmistus- ioni 1 (m/z)	Varmistus- ioni 2 (m/z)
Naftaleeni	Kohdeyhdiste	128,00	129,00	
Dodekaani	Sisäinen standardi (ISTD)	57,00	85,10	170,20
Asenaftyleeni	Kohdeyhdiste	152,00	153,10	
2-brominaftaleeni	Kohdeyhdiste	127,00	208,00	206,00
Asenafteni	Kohdeyhdiste	154,10	152,10	
Fluoreeni	Kohdeyhdiste	166,10	165,10	
Fenantreeni	Kohdeyhdiste	178,10	176,10	
Antraseeni	Kohdeyhdiste	178,10	176,10	
Fluoranteeni	Kohdeyhdiste	202,10	200,10	
Pyreeni	Kohdeyhdiste	202,10	200,10	
Bentso[a]antraseeni	Kohdeyhdiste	228,10	226,10	
Kryseeni	Kohdeyhdiste	228,10	226,10	
Bentso[b]fluoranteeni	Kohdeyhdiste	252,10	250,10	126,00
Bentso[a]pyreeni	Kohdeyhdiste	252,10	250,10	126,00
Indeno[1,2,3-cd]pyreeni	Kohdeyhdiste	272,10	138,10	
Dibentso[a,h]antraseeni	Kohdeyhdiste	278,10	276,10	138,10
Bentso[ghi]peryleeni	Kohdeyhdiste	276,10	278,10	138,10

Vaikka tässä työssä pääasiallisena mittausstandardina käytettiin kaupallista sertifioitua standardia, myös omavalmisteiset standardit voivat olla hyödyllisiä esimerkiksi silloin, kun halutaan varmistaa yksittäisen komponentin retentioaika. Omavalmisteisten standardien käyttö edellyttää huolellisuutta punnituksissa ja laimennoslaskuissa.

Retentioaikojen varmistamiseksi valmistettiin yksittäisiä PAH-standardiliuoksia punnitsemalla kutakin yhdistettä puhtaana kiinteänä lähtöaineena. Punnitus suoritettiin analyttisellä vaa'alla käyttäen noin 10 mg:n punnituksia. Koska lähtökemikaalien puhtaus ei ollut 100 prosenttia, punnittava massa korjattiin puhtauden mukaan seuraavalla kaavalla:

$$\text{punnittava massa} = \text{tarvittava massa} / \text{puhtaus}$$

97 prosentin puhtaudella puhtauskorjatuksi punnittavaksi massaksi saatiin:

Punnittava massa = $10,0 \text{ mg} / 0,97 = 10,309 \text{ mg}$.

Punnittu määrä siirrettiin 100 ml:n mittapulloon, ja liuotettiin analyysilaatuisella tolueenilla. Tämän jälkeen pullo täytettiin merkkiin. Saatua liuosta laimennettiin edelleen valmistamalla 10 ppm liuos pipetoimalla 1,0 mL 100 ppm varastoliuosta 10 mL:n mittapulloon ja täyttämällä merkkiin analyysilaatuisella tolueenilla. Näitä 10 ppm omavalmisteisia standardeja käytettiin yksittäisten yhdisteiden ajamiseen erikseen, jotta monikomponenttisen PAH-seoksen lähekkäin eluoituvat piikit voitiin tunnistaa luotettavasti retentioaikojen perusteella.

3.2 Kolonni

Kaasukromatografisessa analyysissä käytettiin Agilent HP-5MS UI - kapillaarikolonnia (Agilent 1909S-433UI). Kolonnin mitat olivat $30 \text{ m} \times 250 \mu\text{m} \times 0,25 \mu\text{m}$ ja se on liitetty massaspektrometriseen detektoriin (MSD). Kolonnin käyttölämpötila-alue on $-60 \text{ }^\circ\text{C} - 325 \text{ }^\circ\text{C}$ (maksimi $350 \text{ }^\circ\text{C}$), mikä mahdollistaa laajan yhdistejoukon analysoinnin myös korkeissa uunilämpötiloissa (Agilent Technologies, 2023a).

HP-5MS UI-kolonni perustuu matalapolaariseen 5 % fenyyli- ja 95 % dimetyylipolysiloksaanifaasiin. Tämän tyyppinen stationäärifaasi tarjoaa hyvän erotuskyvyn erityisesti aromaattisille ja puolihaihtuville yhdisteille. Vaikka kolonni ei ole spesifisesti suunniteltu PAH-yhdisteitä varten, se soveltuu niiden analysointiin hyvin. PAH-yhdisteiden erotus perustuu pääosin niiden kiehumispisteisiin, molekyylikokoon ja aromaattisten renkaiden lukumäärään, joihin HP-5MS-kolonni reagoi selektiivisesti ja toistettavasti (Agilent Technologies, 2023a).

Kolonnin valintaa puolsi sen hyvä soveltuvuus orgaanisen synteessin onnistumisen arviointiin sekä reaktiotuotteiden ja mahdollisten sivutuotteiden analysointiin, sekä sen tuottama hyvä huippumuoto ja erotuskyky monimutkaisissa näytematriiseissa. Lisäksi Ultra Inert (UI) -pinnoite vähentää aktiivisia pintavaikutuksia, mikä parantaa erityisesti raskaampien ja herkemmin adsorboituvien PAH-yhdisteiden toistettavuutta (Agilent Technologies, 2023a).

Kantajakaasun virtaukseksi asetettiin 1,2 ml/min ja kolonnin sisäänmenopaine oli 10,103 psi. Nämä olosuhteet valittiin optimoimaan yhdisteiden erotusta ja analyysiaika sekä varmistamaan yhteensopivuus massaspektrometrinen detektion kanssa.

4 Menetelmän testaus

GC-MS-menetelmän käyttöönotossa ja rutiinikäytössä järjestelmällinen testaus on välttämätöntä, jotta voidaan varmistua menetelmän toimivuudesta käytännön näyteanalyysissä. Testauksessa arvioidaan, tuottaako laitteisto valituilla asetuksilla riittävän erotuskyvyn, toistettavat retentioajat ja stabiilin vasteen sekä kohdeyhdisteille, että sisäiselle standardille. Osa PAH-standardin piikeistä erottuu hyvin lähellä toisiaan, jolloin pienetkin muutokset injektioinnissa tai lämpötilaohjelmassa voivat vaikuttaa tunnistuksen ja kvantitoinnin luotettavuuteen. Tässä työssä menetelmän testaus kohdistui lähinnä uunin lämpötilaohjelman optimointiin siten, että piikkien erottuminen paranee ja analyysiaika pysyy rutiinikäyttöön sopivana.

4.1 Jako- ja jakamattoman-injektioinnin erot

Injektiointitavalla on suora vaikutus menetelmän herkkyyteen, piikkimuotoon ja toistettavuuteen. Jakoinjektioinnissa näytteestä ohjataan vain osa kolonnille ja loppu poistetaan jakoventtiilin kautta. Tämä vähentää kolonnille ja ionilähteelle päätyvää kuormaa ja soveltuu erityisesti tilanteisiin, joissa pitoisuudet ovat korkeita tai näytematriisin tuottama kuormitus on merkittävä. Korkealla kuormituksella tarkoitetaan sitä, että näytematriisissa on runsaasti sellaisia yhdisteitä joita ei ole tarkoitus mitata näytteestä. Tällaiset yhdisteet likaavat järjestelmää ja voivat levittää tai vääristää piikkejä. Jakoinjektioinnin etuna on usein parempi piikkimuoto kuormitusherkissä tilanteissa. Rajoitteena on pienempi herkkyys, koska vain osa näytteestä päätyy analyysiin (Hübschmann, 2015).

Jakamattomassainjektioinnissa näyte johdetaan aluksi kokonaisuudessaan kolonnille. Menetelmä on herkempi ja soveltuu paremmin pienille pitoisuuksille (Agilent Technologies, 2022). Jakamattomassainjektioinnissa injektoriparametrien merkitys korostuu, sillä esimerkiksi epäoptimaalinen injektorilämpötila voi heikentää piikkimuotoa ja lisätä häiriöitä (Hübschmann,

2015). Tässä työssä jakamatontainjektointia hyödynnettiin erityisesti herkkyuden kannalta kriittisissä testeissä, kun taas jakoinjektointia käytettiin lämpötilaohjelmien testaamisessa.

4.2 Lämpötilaohjelmien testaus

Uunin lämpötilaohjelma on GC-analyysin keskeinen tekijä yhdisteiden erotuksessa. Lämpötilaohjelma vaikuttaa sekä retentioaikoihin että piikkien erottumiseen. Lämpötilaohjelma määrittää pitkälti analyysin kokonaiskeston sekä sen, kuinka hyvin lähekkäin eluoituvat yhdisteet saadaan erotettua. PAH-yhdisteissä erotuskykyä haastavat erityisesti yhdisteparit, joilla on samankaltainen haihtuvuus ja jotka eluoituvat lähellä toisiaan. Oikean lämpötilaohjelman tavoitteena on toisaalta riittävä erotus kriittisillä retentioalueilla ja toisaalta käytännöllinen analyysiaika rutiinianalytiikkaan (Hübschmann, 2015).

Testaus toteutettiin ajamalla samaa PAH-standardia useilla lämpötilaohjelmilla ja vertaamalla kromatogrammeja keskenään. Arvioinnissa painotettiin erityisesti piikkien erottumista ja analyysin kokonaiskestoa. Edellä mainittujen lisäksi piikkien muoto ja retentioaikojen toistettavuus olivat myös tarkastelussa.

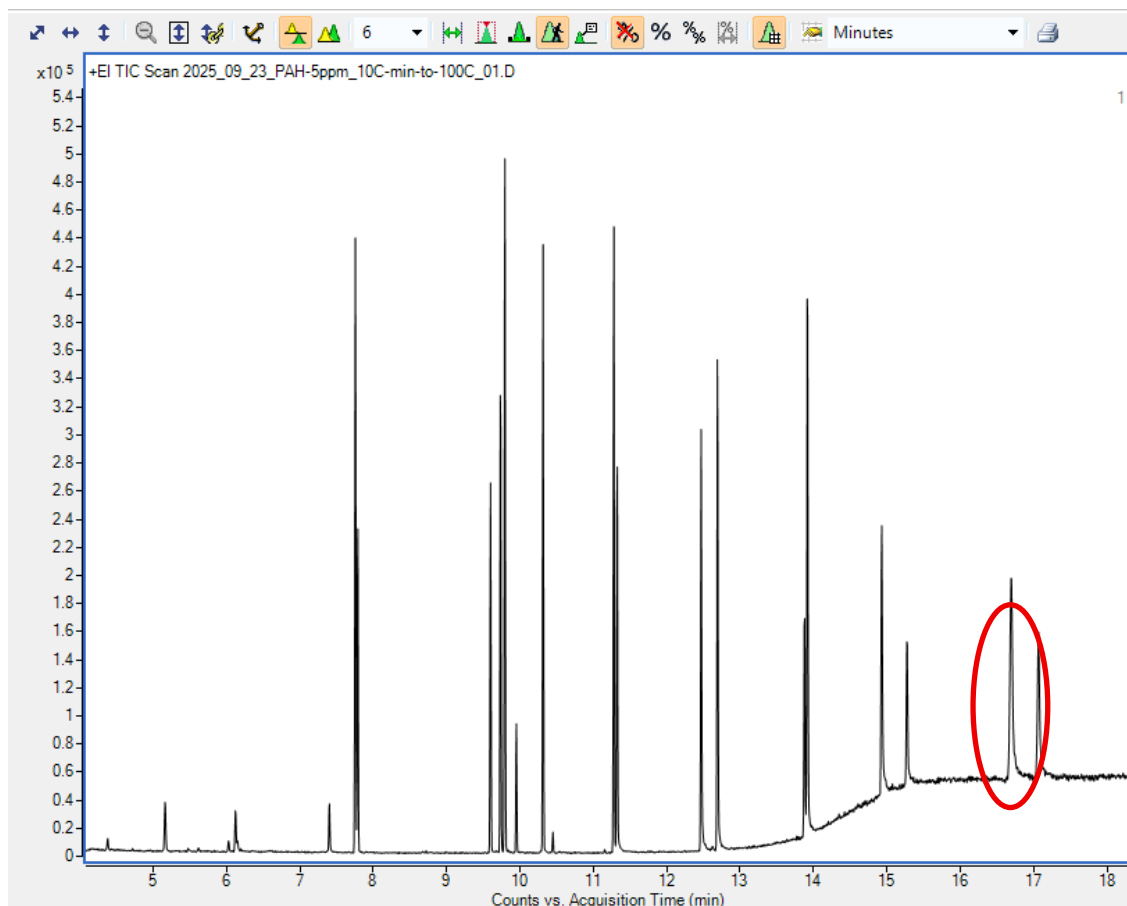
Lämpötilaohjelmaa voidaan säätää muuttamalla aloituslämpötilaa, lämmitysvauhtia, erilaisten välivaiheiden määrää ja loppulämpötilan pidätystä. Yleisesti hitaampi lämmitysvauhti parantaa erotusta, mutta pidentää analyysiaikaa, kun taas nopeampi lämmitys lyhentää ajoa, mutta voi heikentää erotuskykyä (Hübschmann, 2015).

Tässä työssä testatut lämpötilaohjelmat nimettiin lämpötilanousun mukaan. Alla olevasta taulukosta näkee kunkin ohjelman tarkemmat parametrit. Myöhemmin ohjelmiin viitataan ilman PAH-5ppm_ (esimerkiksi 10C-min-to-100C).

Taulukko 2. Lämpötilaohjelmien parametrit lämpötilan ja vaiheiden mukaan.

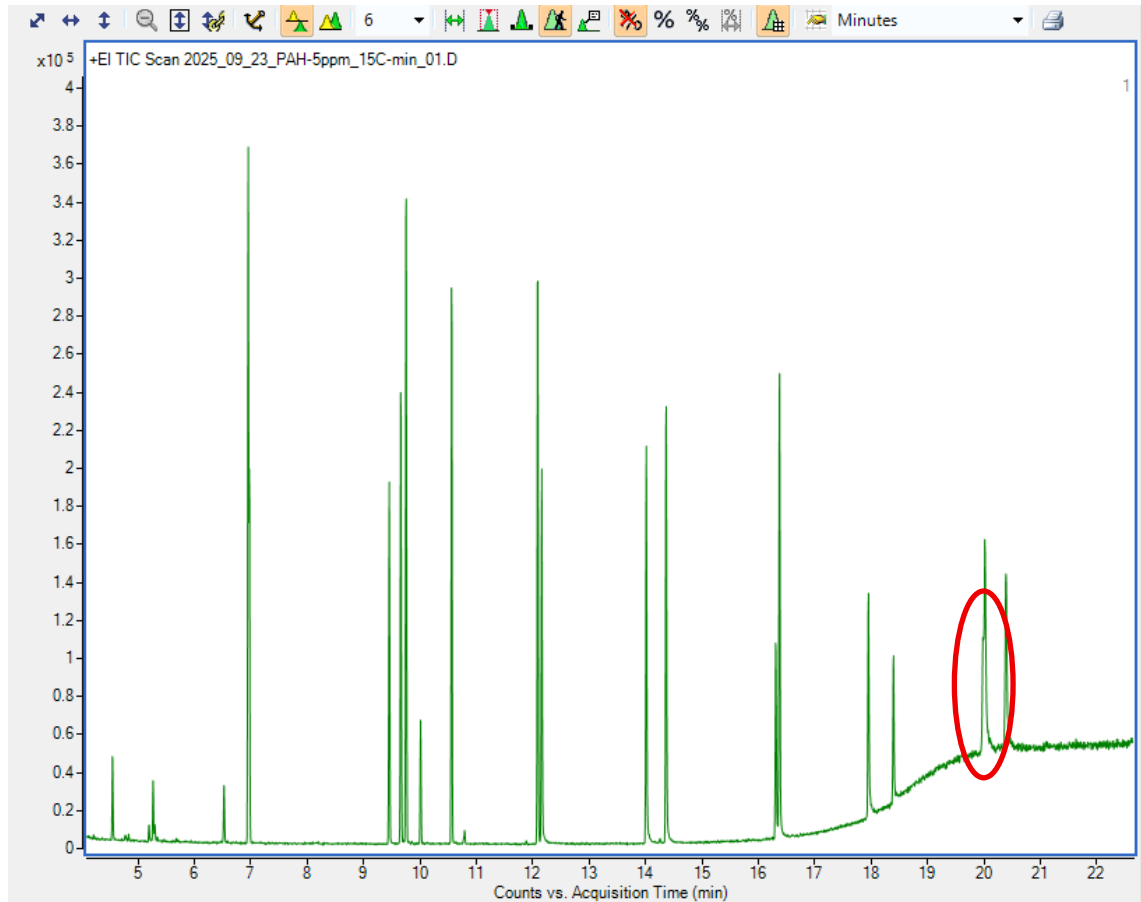
	Alku lämpötila (°C)	Pito alku lämpötilassa (min)	Pito 1min Vaihe 1 (°C)	Loppu lämpötila (°C)	Ajoaika (min)
PAH-5ppm_10C-min-to-100C	55	1	100	320	18,5
PAH-5ppm_10C-min-to-120C	55	1	120	320	19,5
PAH-5ppm_20C-min	55	1	-	320	18,5
PAH-5ppm_15C-min	55	1	-	320	23
PAH-5ppm_10C-min	55	1	-	320	32
PAH-5ppm_8C-min	55	1	-	320	38,2
PAH-5ppm_7C-min	55	1	-	320	43

Ohjelma 10C-min-to-100C toimi lähtötasona ja tuotti erotuksen, jonka tietyillä retentioalueilla havaittiin piikkien osittaista päällekkäisyyttä. Kuvassa 4 punaisella ympyröity alue esimerkkinä päällekkäin erottuvista yhdisteistä.



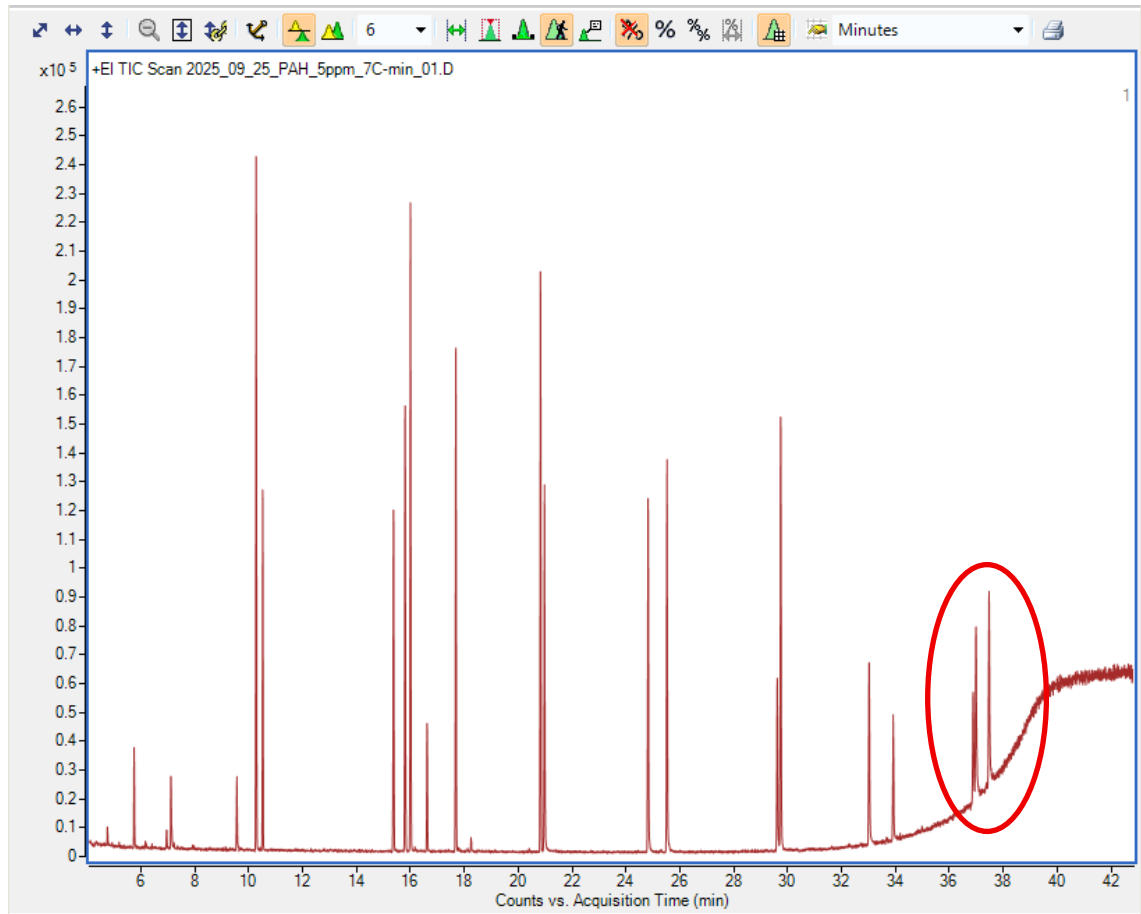
Kuva 4. Lähtötaso piikkien erotuksessa, jolloin käytössä oli lämpötilaohjelma, jonka lämpötila nousi 10 astetta minuutissa 100 asteeseen saakka. 100 asteessa pito yhden minuutin ajan, jonka jälkeen lämpötila nousi 20 astetta minuutissa 320 asteeseen saakka.

Ohjelmassa 15C-min lämmitysvauhtia muutettiin, minkä seurauksena piikkien erottuminen parani ja analyysi-aika piteni. Kuvasta 5 huomataan, että piikit eivät erotu vielä kunnolla. Kuvasta on ympyröity kaksi päällekkäistä piikkiä.



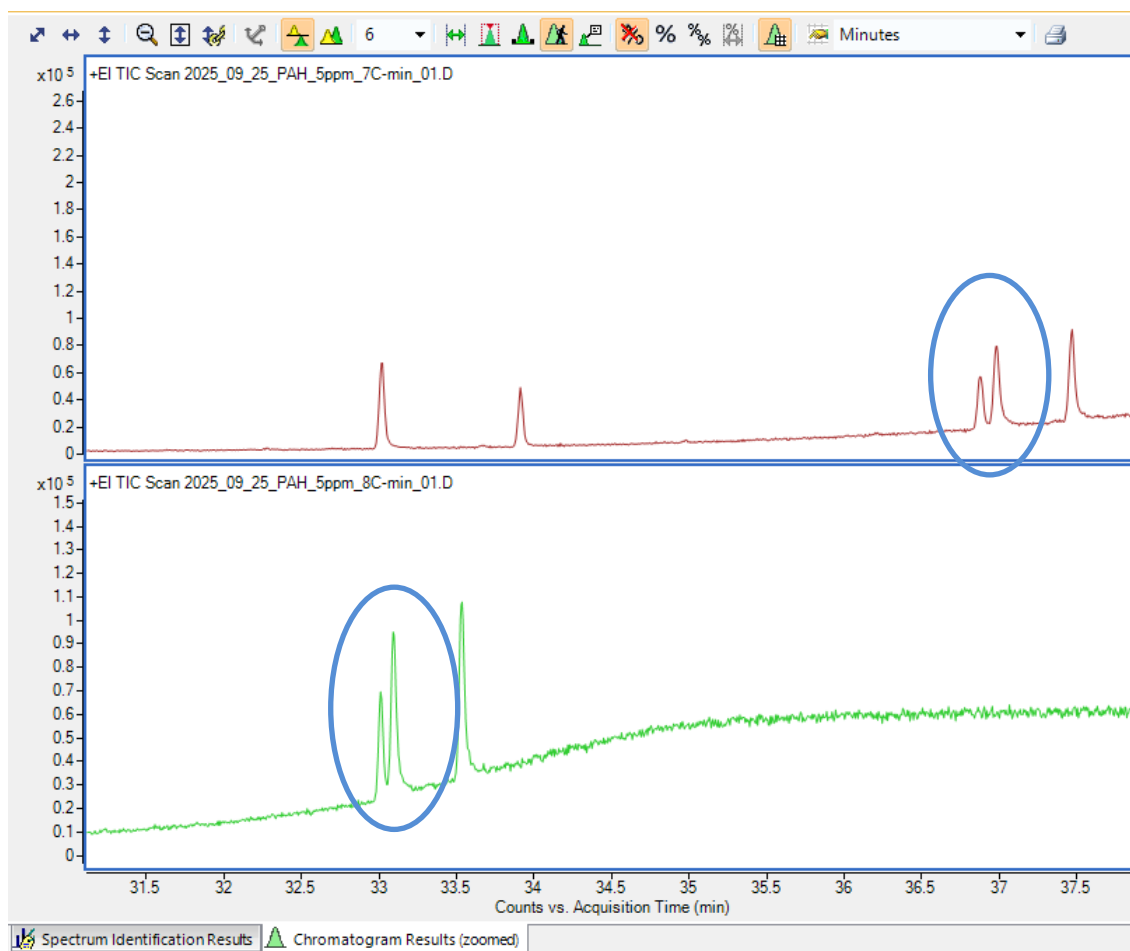
Kuva 5. Lämpötilaohjelmaa säädetty nousemaan tasaisesti 15 astetta minuutissa 320 asteeseen saakka.

Ohjelma 7C-min lämpötila nousi selkeästi hitaammin, kuin edeltävissä lämpötilaohjelmissa. Myöhään eluotuvien eli kiinteästä faasista irtoavien yhdisteiden erottumisen tehostamiseksi, jolloin loppupään piikit erottuivat paremmin, mutta ajoaika oli liian pitkä rutiinikäyttöä ajatellen. Kuvassa 6 lopussa erottuneet piikit, jotka ympyröity punaisella renkaalla.



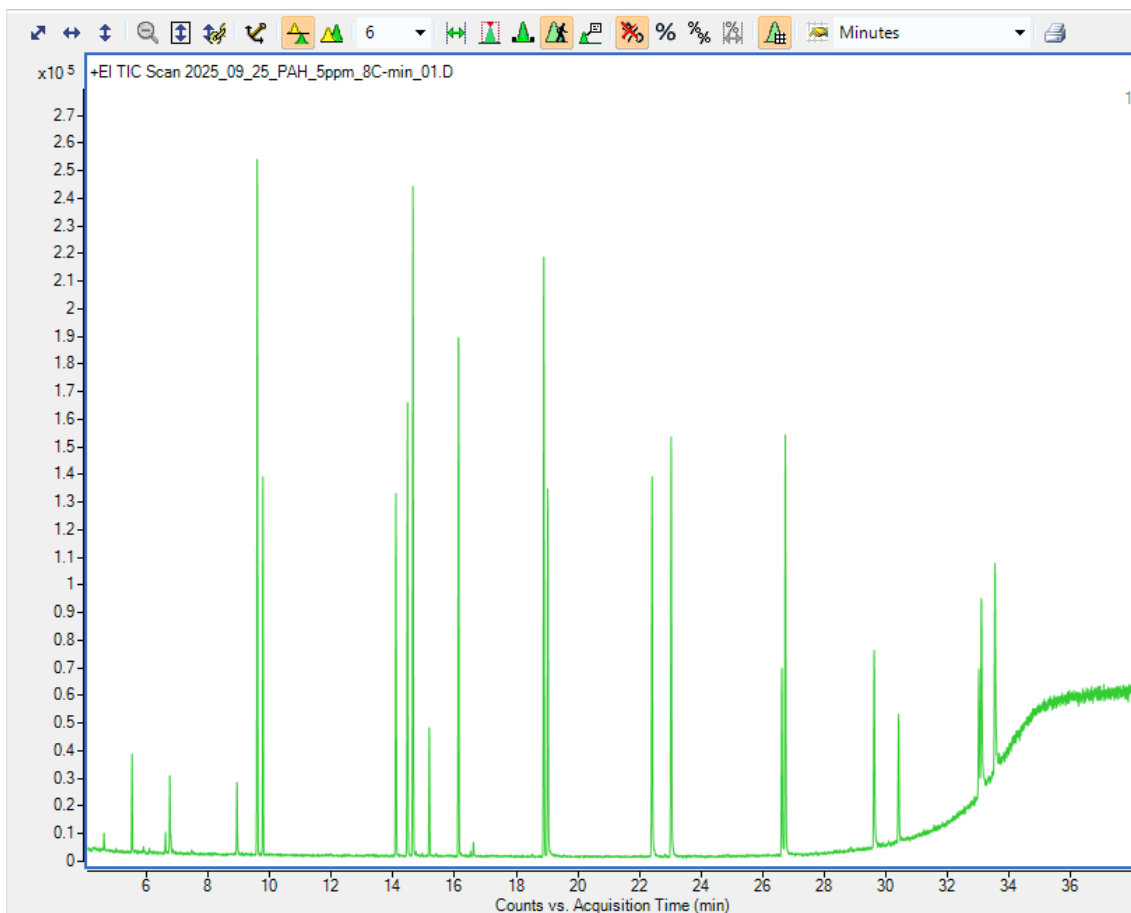
Kuva 6. Lämpötilaohjelma, jolla lämpötila nousi 7 astetta minuutissa tuotti parhaan erottumisen myöhemmin eluotuille piikeille.

Kuvassa 7 7C-min ja 8C-min ohjelmien erot piikkien erottuvuudessa. Kuvassa 7 x-akseli on molemmille ajoille sama.



Kuva 7. 7C-min-lämpötilaohjelmalla ajettu näyte on esitetty oranssilla ylempänä ja 8C-min-ohjelmalla ajettu näyte vihreällä alempana. Kuvassa ympyröidyt piikit vastaavat samoja komponentteja, mutta lämpötilaohjelman ero vaikuttaa niiden retentioaikoihin ja erottumiseen. Hitaammalla 7C-min-ohjelmalla komponentit erottuvat hieman myöhemmin ja paremmin toisistaan, kun taas nopeammalla 8C-min-ohjelmalla piikit tulevat aikaisemmin ja ovat lähempänä toisiaan.

Testeissä havaittiin, että hitaampi lämmitys ei enää parantanut erotusta suhteessa analyysiajan kasvuun. Lopullinen lämpötilaohjelma optimoitiin siten, että kohdeyhdisteet ja sisäinen standardi erottuivat riittävästi, samalla kun kokonaisajon kesto pysyi rutiinianalytiikan vaatimusten mukaisena. (Agilent Technologies, 2022). Kuvassa 8. esitetään kuva ajosta rutiinikäyttöön valitusta lämpötilaohjelmasta 5 ppm PAH-standardilla.



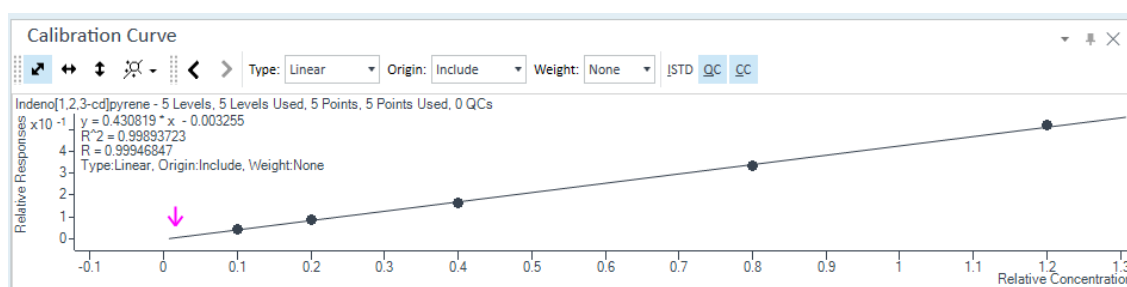
Kuva 8. Rutiinikäyttöön valittu lämpötilaohjelma 8C-min, jossa lämpötila nousee kahdeksan astetta minuutissa 320 asteeseen saakka.

Automaattisyyttäjän käyttö mahdollistaa ajot myös ilta- ja yöaikaan ilman jatkuvaa valvontaa. Tämä parantaa laitteen käyttöastetta ja mahdollistaa suurempien näytemäärien ajamisen toimistoajan ulkopuolella.

Automaattisyyttäjä myös lisää näyteajojen määrää ilman, että henkilöstötarve kasvaa vastaavasti. Kun ajoja voidaan tehdä myös yöllä, yksittäisen GC-ajon kesto ei ole yhtä kriittinen (esim. 32 min vs 48 min).

5 Menetelmän kalibrointi

Kalibrointi tarkoittaa mittausjärjestelmän vasteen ja analyytin pitoisuuden välisen suhteen määrittämistä, jotta tuntemattomien näytteiden pitoisuudet voidaan laskea luotettavasti valitulla pitoisuusalueella. Tässä työssä käytettiin lineaarista kalibrointia, jossa vaste todetaan pitoisuuteen nähden lineaariseksi ja suhde kuvataan suoralla (kuva 9.).



Kuva 9. Indeno[1,2,3-cd]pyreenin kalibrointisuora.

Kalibrointi voidaan toteuttaa myös muunlaisilla malleilla, esimerkiksi epälinearisena sovituksena tai erilaisilla painotuksilla, jos vaste ei käyttäydy lineaarisesti koko alueella. Näitä erilaisia malleja oli helppo testata MassHunter-ohjelmistolla ja testien jälkeen lineaarinen vaste oli selkeästi sopivin. Tässä tutkimuksessa ei tehdä varsinaista menetelmän validointia. Tämän työn tuloksia hyödynnetään myöhemmin validoinnin pohjana, koska kalibrointi on keskeinen osa kvantitatiivisen analyysin luotettavaa toteutusta (Eurachem, 2025).

5.1 Standardin laimentaminen

Kalibrointiliuokset valmistettiin viidelle pitoisuustasolle (0,5 ppm, 1,0 ppm, 2,0 ppm, 4,0 ppm ja 6,0 ppm) analyysilaatuisessa tolueenissa. Varastoliuoksena käytettiin standardia, jonka pitoisuus oli 2000 µg/ml. Jotta laimennosten valmistus olisi käytännössä helpompaa ja pipetointimäärät riittävän suuria, tehtiin ensin välilaimennos. Välilaimennos valmistettiin tekemällä 1:10-

laimennos tolueeniin siten, että 1,0 ml varastoliuosta laimennettiin lopputilavuuteen 10,0 ml, jolloin välilaimennoksen pitoisuudeksi saatiin 200 µg/ml.

Tässä työssä pitoisuusyksiköt muunnettiin siten, että 1 ppm vastaa pitoisuutta 1 µg/ml. Kun 1 ppm kalibrintiliuos valmistettiin lopputilavuuteen 100,0 ml välilaimennoksesta (200 µg/ml), pipetoitiin välilaimennosta 500 µl ja liuos täydennettiin analyysi laatuksella tolueenilla lopputilavuuteen 100,0 ml. Muut pitoisuustasot ja niitä vastaavat välilaimennoksesta pipetoidut tilavuudet on esitetty taulukossa 3.

Taulukko 3. Kalibrintipitoisuuksien laimennokset

Tavoitepitoisuus (ppm)	Välilaimennoksen pitoisuus (ppm)	Pipetoitava tilavuus (µl)	Lopputilavuus (ml)
0,5	200	250	100
1	200	500	100
2	200	1000	100
4	200	2000	100
6	200	3000	100

Menettely perustuu yleiseen laimennusperiaatteeseen ja tukee kalibrintiliuosten valmistusta. (Eurachem, 2025)

5.2 Menetelmän lineaarisuus

Lineaarisen kalibroinnin yhteydessä keskeisiä parametreja ovat kulmakerroin, leikkauspiste ja selitysaste. Kulmakerroin kuvaa mittausvasteen muutosta pitoisuuden funktiona ja ilmaisee menetelmän herkkyyden kyseiselle yhdisteelle. Leikkauspiste kuvaa kalibrintisuoran arvoa pitoisuuden ollessa nolla. Se voi kuvata esimerkiksi taustasignaalin vaikutusta. Selitysaste (R^2) kertoo, kuinka hyvin kalibrintisuora osuu mitattuihin pisteisiin. Arvon ollessa

lähellä yhtä tarkoittaa se, että vaste kasvaa tasaisesti pitoisuuden mukana tarkastellulla mittausalueella.

Tässä työssä kalibrointisuorat ja niiden parametrit laskettiin Agilent MassHunter Quantitative -ohjelmistolla ja taulukosta 4. näkee hyvin selitysasteiden olevan 0,9677-0,9989. Suurin poikkeama havaittiin kryseenin kohdalla.

Taulukko 4. Yhdistekohtaiset kalibrointiparametrit.

Yhdiste	Retentioaika (min)	Kalibrointi-malli	Kulma-kerroin	Leikkaus-piste	Selitysaste (R ²)	Kalibrointipisteiden määrä
Naftaleeni	9,59	Lineaarinen	3,0964	-0,0467	0,9984	5
Asenaftyleeni	14,084	Lineaarinen	1,4839	-0,0487	0,9942	5
2-bromonaftaleeni	14,467	Lineaarinen	0,6581	-0,0234	0,9946	5
Asenafteni	14,639	Lineaarinen	1,3805	-0,0575	0,9929	5
Fluoreeni	16,122	Lineaarinen	1,4051	-0,0591	0,9911	5
Fenantreeni	18,889	Lineaarinen	1,9651	-0,0838	0,9915	5
Antraseeni	19,017	Lineaarinen	1,3120	-0,0714	0,9847	5
Fluoranteeni	22,399	Lineaarinen	1,4218	-0,0688	0,9889	5
Pyreeni	23,023	Lineaarinen	1,5772	-0,0899	0,9863	5
Bentso[a]antraseeni	26,613	Lineaarinen	0,6167	-0,0208	0,9897	5
Kryseeni	26,724	Lineaarinen	1,3098	-0,1024	0,9677	5
Bentso[b]fluoranteeni	29,611	Lineaarinen	0,6773	-0,0194	0,9957	5
Bentso[a]pyreeni	30,404	Lineaarinen	0,4733	-0,0087	0,9985	5
Indeno[1,2,3-cd]pyreeni	33,011	Lineaarinen	0,4308	-0,0033	0,9989	5
Dibentso[a,h]antraseeni	33,085	Lineaarinen	0,5614	-0,0173	0,9960	5
Bentso[ghi]peryleeni	33,532	Lineaarinen	0,6682	-0,0275	0,9903	5

Kalibrointi perustui tässä työssä suhteelliseen vasteeseen, ei suoraan piikin pinta-alaan. Suhteellinen vaste tarkoittaa sitä, että analysoitavan piikin pinta-ala jaetaan sisäisenstandardin pinta-alalla. Lineaarinen kalibrointimalli esitetään muodossa:

$$y = ax + b,$$

missä y on mitattu suhteellinen vaste, x on pitoisuus, a on kulmakerroin ja b on leikkauspiste. Kun näytteestä saadaan mitattua y , pitoisuus ratkaistaan yhtälöstä muotoon

$$x = \frac{y - b}{a}.$$

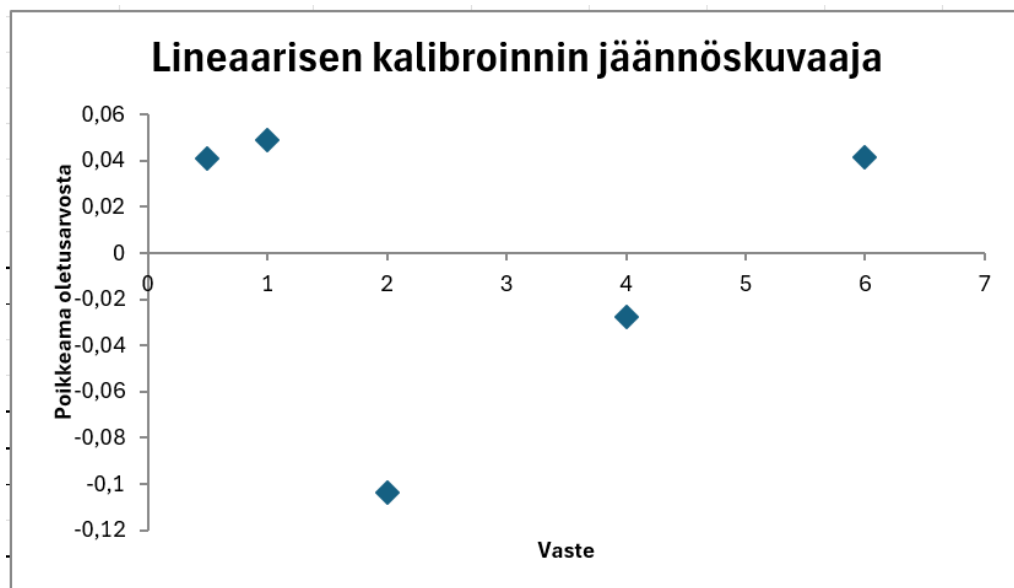
Esimerkkitapauksessa suhteellinen vaste on $y = 0,3704$, kulmakerroin $a = 1,3098$ ja leikkauspiste $b = -0,1024$. Sijoittamalla arvot saadaan

$$x = \frac{0,3704 - (-0,1024)}{1,3098} = \frac{0,4728}{1,3098} \approx 0,36 \text{ ppm.}$$

Näin pitoisuus saadaan suoraan ratkaisemalla lineaarinen yhtälö mitatun suhteellisen vasteen ja kalibroinnista saatujen parametrien avulla.

Kalibrointikuvaajasta muodostetaan jäännöskuvaaja osana menetelmän validointia, koska validoinnissa on osoitettava, että valittu kalibrointimalli kuvaa aineistoa oikein koko tarkastellulla alueella. Jäännöskuvaaja muodostetaan vähentämällä mitatuista vastearvoista kalibrointisovitteen yhtälöllä lasketut oletusarvot. Näin saatu jäännösarvo kuvaa mitatun arvon poikkeamaa sovitteesta eli mitatun ja mallin ennustaman arvon välistä erotusta (European Medicines Agency, 2022).

Kuvassa 10 esitetään lineaarisen kalibroinnin jäännöskuvaaja. Kuvasta nähdään, että jäännökset jakautuvat pääosin nollatason molemmin puolin ilman systemaattista trendiä. Malli voidaan arvioida validoinnin kannalta hyväksyttäväksi. Jäännökset eivät viittaa epälineaarisuuteen tarkastellulla alueella.



Kuva 10. Lineaarisen kalibroinnin jäännöskuvaaja.

6 Toistettavuus

Toistettavuus tarkoittaa sitä, kuinka samanlaisia tuloksia saadaan, kun sama analyysi tehdään useita kertoja samoissa olosuhteissa. Toistettavuuden avulla arvioidaan mittausten lyhyen aikavälin vaihtelua ja sitä, kuinka luotettavasti menetelmä tuottaa saman tuloksen peräkkäisissä ajoissa (MIKES, 2011). Tässä työssä testattiin systeemin toistettavuutta 10 näytteen rinnakkaisella määrittämisellä samasta näyteampullista. Sekä menetelmän toistettavuutta 6 rinnakkaisella ajolla eri ampulleista. Menetelmän toistettavuuden testauksessa käytettiin samalla tavalla valmistettua standardinäytettä.

6.1 Systeemin toistettavuus

Toistettavuuden perustana on samankaltaiset analyysiolosuhteet ja tässä työssä näytteen syöttämisen suoritti automaattisyöttäjä. Tämä sulkee pois inhimillisen virheen mahdollisuuden syöttömäärien vaihtelussa. 10 rinnakkaisen ajon sarjasta laskettiin keskiarvo ja sen perusteella voitiin määrittää keskihajonta ja suhteellinen keskihajonta, jotka ovat toistettavuuden määrittämisessä kekskeisiä tekijöitä. Keskihajonta työssä käytettävästä otoksesta laskettiin seuraavasti:

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

jossa s on keskihajonta, x_i on yksittäinen havainto, \bar{x} on otoksen keskiarvo ja n on havaintojen lukumäärä. Kaavassa tarkastellaan ensin jokaisen havainnon poikkeamaa keskiarvosta ja nämä poikkeamat neliöidään eli kerrotaan itsellään, jotta positiiviset ja negatiiviset erot eivät kumoa toisiaan. Neliöityjen poikkeamien summa jaetaan luvulla $n - 1$, koska kyseessä on otos eikä koko perusjoukko. Lopuksi otetaan neliöjuuri, jolloin tulos on samassa yksikössä kuin alkuperäinen otos (Standard deviation, 2025). Alla olevaan taulukkoon 5 on

laskettu jokaiselle näytteen komponentille keskiarvo, keskihajonta ja suhteellinen keskihajonta.

Taulukko 5. Systeemin toistettavuuden keskiarvo, keskihajonta ja suhteellinen keskihajonta (n=10).

Yhdiste	Keskiarvo	Keskihajonta	Suhteellinen keskihajonta (%)
Naftaleeni	0,974	0,006	0,64
Akenaftyyleeni	0,885	0,017	1,90
2-bromonaftaleeni	0,91	0,007	0,80
Akenafteeni	0,908	0,009	1,03
Fluoreeni	0,897	0,012	1,35
Fenantreeni	0,898	0,013	1,43
Antraseeni	0,853	0,020	2,34
Fluoranteeni	0,852	0,022	2,60
Pyreeni	0,852	0,021	2,46
Bentso[a]antraseeni	0,815	0,027	3,32
Kryseeni	0,828	0,026	3,16
Bentso[b]fluoranteeni	0,812	0,029	3,53
Dibentso[a,h]antraseeni	0,792	0,028	3,51
Bentso[ghi]peryleeni	0,804	0,026	3,25
Bentso[a]pyreeni	0,821	0,021	2,55
Indeno[1,2,3-cd]pyreeni	0,801	0,023	2,88

Testauksien perusteella mittausjärjestelmän toistettavuus on kokonaisuutena hyvä. Yhdistekohtaiset keskihajonnat ovat pieniä suhteessa mitattuihin pitoisuuksiin ja suhteellinen keskihajonta vaihtelee välillä 0,64-3,53 %. Kaikki yhdisteet sijoittuvat alle 5 %:n tasolle, mikä osoittaa menetelmän ja systeemin tuottavan keskenään hyvin yhdenmukaisia tuloksia. Suuremmat suhteelliset keskihajonnat painottuvat yhdisteisiin, jotka ovat moolimassaltaan suurempia ja rakenteeltaan kompleksisempia. Kun mitattava pitoisuus on pieni, jo hyvin pienetkin vaihtelut näkyvät herkästi prosentuaalisesti suurempana keskihajontana. Kokonaisuutena tulokset tukevat sitä, että käytetty mittausmenetelmä on luotettava ja toistettava tarkasteltujen PAH-yhdisteiden määrittämisessä.

6.2 Menetelmän toistettavuus

Menetelmän toistettavuus testattiin 6 rinnakkaisella näytteellä. Jokainen ajo tehtiin omasta näyteampullista ja näytteet valmistettiin samalla tavalla.

Näytteeksi valittiin kalibrointiajosta yli jäänyt standardin varastoliuos, josta valmistettiin laimennokset omiin näyteampulleihin. Taulukossa 6 on esitetty menetelmän toistettavuuden määrittämisessä käytettyjen rinnakkaisten ajojen perusteella lasketut tulokset.

Taulukko 6. Menetelmän toistettavuuden määrittämisessä käytettyjen rinnakkaisten ajojen lasketut tulokset, keskiarvo, keskihajonta ja suhteellinen keskihajonta (n=6).

Yhdiste	Keskiarvo	Keskihajonta	Suhteellinen keskihajonta (%)
Naftaleeni	5,255	0,270	5,14 %
Akenaftyleeni	4,783	0,222	4,63 %
2-bromonaftaleeni	5,093	0,246	4,83 %
Akenafteeni	5,051	0,236	4,67 %
Fluoreeni	4,913	0,226	4,59 %
Fenantreeni	4,995	0,233	4,67 %
Antraseeni	4,770	0,221	4,64 %
Fluoranteeni	4,866	0,385	7,91 %
Pyreeni	4,898	0,275	5,61 %
Bentso[a]antraseeni	4,236	0,357	8,43 %
Kryseeni	4,835	0,233	4,81 %
Bentso[b]fluoranteeni	4,209	0,343	8,16 %
Dibentso[a,h]antraseeni	3,769	0,272	7,23 %
Bentso[ghi]peryleeni	4,315	0,220	5,11 %
Bentso[a]pyreeni	3,936	0,287	7,29 %
Indeno[1,2,3-cd]pyreeni	3,526	0,290	8,22 %

Menetelmän toistettavuuden määrittämisessä (n = 6) suhteellinen keskihajonta vaihteli välillä 4,59–8,43 %. Vaikka arvot olivat hieman korkeampia kuin mittausjärjestelmän toistettavuudessa, hajonta pysyi edelleen kohtuullisen matalalla tasolla ottaen huomioon analysoidut pienet pitoisuudet ja näytteiden

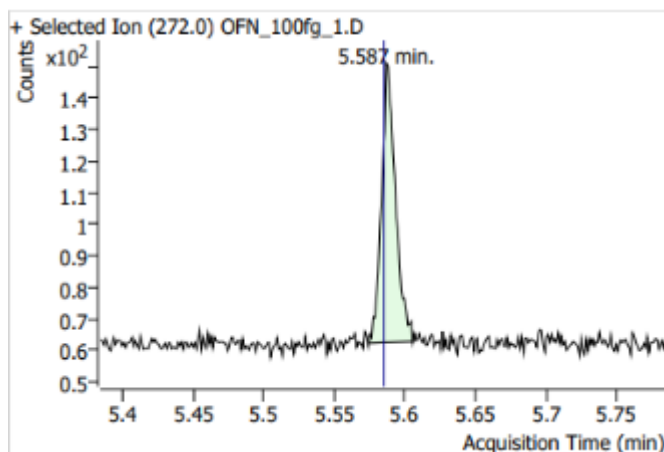
valmistukseen liittyvät lisämuuttujat. Suurimpien suhteellisten keskihajontojen taustalla ei havaittu selkeää yhdistekohtaista trendiä, mikä viittaa siihen, että vaihtelu johtuu todennäköisesti satunnaisista analyysi- ja näytevalmistustekijöistä, eikä systemaattisesta virheestä.

Kokonaisuutena tulokset osoittavat, että käytetty GC-MS-menetelmä on luotettava ja riittävän toistettava tarkasteltujen PAH-yhdisteiden määrittämiseen ja sen suorituskyky on analyysitarkoitukseen soveltuva myös matalilla pitoisuustasoilla.

Näiden testien perusteella voidaan menetelmää kutsua karakterisointikäyttöön riittävän toistettavana. Margareta Häggin toimittaman Validoinnin suunnittelun oppaan mukaan suhteellisen keskihajonnan rajana pidetään 15%. Näissä toistettavuustesteissä suurin suhteellinen keskihajonta oli 8,43% (Hägg, 2016).

7 Havaitsemis- ja määrittysrajan toteaminen

Laitteelle on valmistajan edustajan toimesta tehty Laitteen havaitsemisrajan määrittäminen laitteen asennuksen yhteydessä. Laitteen havaitsemisrajaksi todettiin kahdeksan rinnakaisen testiajon perusteella 7 femtogrammaa. Kuvassa 12 esimerkki yhdestä havaitsemisrajan määrittämiseen käytetystä ajosta.



Kuva 11. Esimerkki ajo havaitsemisrajan määrittämisestä.

7.1 Havaitsemisrajan arviointi

Havaitsemisraja (LOD) tarkoittaa pienintä mahdollista pitoisuutta, jonka voi toistettavasti osoittaa määritettäväksi taustakohinasta. Havaitsemisrajan pitoisuuden ei tarvitse olla vielä kvantitatiivisesti toistettava (Theodorsson). Havaitsemisraja voidaan laskea myös sokea-ajoista seuraavalla kaavalla signaalitasolta:

$$y_{\text{LOD}} = \bar{y}_b + 3 s_b$$

Tässä \bar{y}_b on sokea-ajon keskiarvo, s_b sen keskihajonta, ja kerroin 3 varmistaa, että raja ylittyy vain harvoin pelkän kohinan vuoksi. Agilentin sivustolta löytyy kattavasti tietoa laitekohtaisen havaitsemisrajan määrittämisestä. Hyvin pienien pitoisuuksien kanssa SIM-ajo on suositeltava. Sen ionille kohdistettava massa-varaus-suhde arvojen tuottama pidempi viipymä tehostaa pienien pitoisuuksien

havaitsemista selkeästi. Taustakohina jää merkittävästi pienemmäksi verrattuna SCAN-ajoon (Agilent Technologies, 2023b). Validi esimerkki tästä kuvassa 2.

Pienempiä pitoisuuksia saa esille myös paremmin Splitless-menetelmällä, jolloin kaikki syötetty näyte ajetaan kolonnin kautta aina detektorille saakka.

7.2 Määritysrajan arviointi

Määritysraja tullaan selvittämään laitteelle seuraavan kalibroinnin yhteydessä. Tällöin tullaan kalibrointiin lisäämään kaksi pitoisuutta kalibrointisuoran molempiin päihin, 0,1ppm ja 10ppm pisteet. Määritysraja (LOQ) määritetään samalla periaatteella kuin havaitsemisraja, mutta raja asetetaan korkeammalle, jotta tulos ei ole vain havaittavissa vaan myös luotettavasti mitattavissa.

Signaalista se voidaan laskea seuraavalla kaavalla:

$$y_{\text{LOQ}} = \bar{y}_b + 10 s_b$$

Tässä \bar{y}_b on sokea-ajon keskiarvo, s_b sen keskihajonta, ja kerroin 10 varmistaa, että pitoisuus on toistettavasti kvantitoitavissa (Theodorsson).

8 Pohdinta

Tutkimuksen tavoitteena oli kehittää toimiva ja luotettava menetelmä PAH-yhdisteiden analysointiin. Tulosten perusteella kehitetty menetelmä soveltuu hyvin karakterosointinäytteiden analysointiin. Menetelmä tarjoaa hyvän pohjan sen jatkokäytölle, sekä mahdolliselle jatkokehitykselle.

Menetelmä mahdollisti näytteiden analysoinnin ilman merkittäviä häiriöitä. PAH-yhdisteiden kromatografiset piikit erottuivat selkeästi toisistaan, eikä analyysissä havaittu piikkien päällekkäisyyksiä. Tämä on tärkeää, koska monet PAH-yhdisteet ovat rakenteeltaan samankaltaisia ja voivat esiintyä näytteissä samanaikaisesti. Hyvä erotuskyky helpottaa tulosten tulkintaa ja parantaa analyysin luotettavuutta. Menetelmän toistettavuus osoittautui myös hyväksi, mikä tukee sen käyttöä PAH-yhdisteiden säännöllisessä analysoinnissa.

Menetelmä kalibroitiin tutkimuksen aikana ja sen toimivuutta testattiin analyysiajoissa. Testien avulla varmistettiin, että menetelmä toimii luotettavasti myös todellisissa käyttötilanteissa. Testiajot osoittivat menetelmän olevan vakaa ja toistettava. Samalla saatiin käytännön kokemusta siitä, miten menetelmä soveltuu PAH-yhdisteitä sisältävien näytteiden analysointiin.

Tutkimuksen aikana havaittiin, että PAH-yhdisteiden erottumiseen voidaan vaikuttaa lämpötilaohjelmaa muuttamalla. Testivaiheessa hieman hitaampi lämpötilaohjelma paransi yhdisteiden välistä erotuskykyä. Vaikka hitaampi ohjelma pidentää analyysiaikaa, automaattisyyttäjän käyttö mahdollistaa ajot myös yöaikaan. Tällöin pidempi analyysiaika ei muodostu merkittäväksi haitaksi työn kannalta. Näytteiden esikäsittelyyn vaadittu aika tosin asettaa tiettyjä haasteita ajan käytön kannalta. Tähän vaadittu aika tulee tiedostaa ja sovittaa sopimaan muiden tehtävien lomaan.

Kalibroinnin yhteydessä havaittiin, että osa analysoiduista näytteistä sijoittui kalibrointisuoran alapäähän tai sen alapuolelle, kun taas osa näytteistä ylitti suurimman kalibrointipitoisuuden. Tämän vuoksi menetelmää on tarkoitus

kehittää lisäämällä kalibrointiin kaksi uutta pitoisuutta. Näin kalibrointialue vastaisi paremmin näytteissä esiintyviä PAH-yhdisteiden pitoisuuksia. Samalla pyritään pitämään näytteiden käsittely mahdollisimman yksinkertaisena, jotta menetelmä olisi helppo toteuttaa myös eri käyttäjien toimesta. Tästä syystä laimennosten lisäämistä ei tässä vaiheessa pidetä parhaana ratkaisuna.

Seuraava vaihe menetelmän kehittämisessä on sen validointi. Tutkimuksen aikana menetelmän toistettavuus ja lineaarisuus on jo arvioitu ja tulokset osoittivat menetelmän soveltuvan PAH-yhdisteiden määrittämiseen. Validoinnin yhteydessä tullaan vielä määrittämään menetelmän määrittämissärajat. Määrittämissärajat selvitetään uuden pienimmän kalibrointipitoisuuden perusteella, jotta voidaan varmistaa menetelmän soveltuvuus myös alhaisille PAH-pitoisuuksille.

Entistä paremman karakterisoinnin saavuttamiseksi olisi hyödyllistä lisätä analyysiin säännöllisesti yksi scan-ajo esimerkiksi kerran viikossa. Scan-ajon avulla olisi mahdollista havaita myös sellaisia yhdisteitä, joita SIM-ajossa ei tunnisteta. Tämä voisi antaa lisätietoa näytteiden kokonaiskoostumuksesta ja auttaa havaitsemaan mahdollisia häiriötekijöitä analyysissä.

Scan-ajojen perusteella voitaisiin myös arvioida, olisiko näytteiden esikäsittelyä tai näytteenottoa tarpeen muokata. Jos analyysissä esimerkiksi havaitaan selkeä piikki, joka johtuu näytteiden käsittelystä, kuten kumihanskojen käytöstä, voitaisiin näytteiden käsittelytapaa muuttaa tämän häiriön vähentämiseksi. Tällainen tarkastelu auttaisi parantamaan analyysin luotettavuutta ja vähentämään mahdollisia kontaminaation lähteitä.

Lisäksi laitteelle on tarkoitus laatia huoltosuunnitelma, jotta sen toiminta pysyy luotettavana pitkällä aikavälillä. Suunnitelmaan sisällytetään laitteen toiminnan kannalta tärkeät huoltotoimenpiteet, kuten vakuumpumpun öljynvaihto. Laittevalmistaja suosittelee pumpun öljyn vaihtoa noin puolen vuoden välein. Säännöllinen huolto auttaa varmistamaan, että laite toimii tasaisesti ja analyysitulokset pysyvät luotettavina. Tutkimuksen aikana saatiin myös järjestettyä GC-MS-laitteelle poistoyhteys, mikä parantaa laitteen käyttöolosuhteita ja lisää työskentelyn turvallisuutta.

Tutkimuksen aikana kehitettiin myös analyysidatan käsittelyä. GC-MS-ajojen yhteydessä näytemäärä ja käytetyn liuottimen määrä lisättiin Agilent GCMS1 -ohjelmistoon. Näiden tietojen avulla tulokset voidaan siirtää suoraan MassHunter Quantitative -ohjelmistoon, jossa pitoisuudet lasketaan automaattisesti. Tämä vähentää manuaalista tiedonkäsittelyä ja poistaa tarpeen erilliselle Excel-laskennalle, mikä tekee tulosten käsittelystä nopeampaa ja vähentää mahdollisten virheiden riskiä.

Yhteenvedona voidaan todeta, että tutkimuksessa kehitetty menetelmä soveltuu hyvin PAH-yhdisteiden analysointiin. Menetelmä on toistettava, erotuskyvyltään riittävä ja käyttökelpoinen myös jatkossa. Samalla tutkimus toi esiin kehityskohteita, joiden avulla menetelmää voidaan edelleen parantaa ja laajentaa sen käyttöä tulevaisuudessa.

Lähteet

Agilent Technologies, Inc. 2018. *MassHunter data acquisition software for 5975/5977 series GC/MSD: Familiarization guide* (Manual No. G7077-90021).

Agilent Technologies. agilent.com

Agilent Technologies, Inc. 2020. *5977 series MSD system concepts guide* (Manual No. G7077-90036). Agilent Technologies. agilent.com

Agilent Technologies, Inc. 2022. *Agilent 5977C MSD system concepts guide* (Manual No. G7077-90043). Agilent Technologies. agilent.com

Agilent Technologies, Inc. 2023a. *HP-5MS UI capillary GC columns: Product specifications and applications*. Agilent Technologies.

agilent.com

Agilent Technologies, Inc. 2023b. Signal, Noise, and Detection Limits in Mass Spectrometry. Agilent Technologies agilent.com

Eurachem. 2025. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. [Method Validation](#)

European Medicines Agency. 2022. *ICH guideline Q2(R2) on validation of analytical procedures: Step 2b* (EMA/CHMP/ICH/82072/2006). [Validation of analytical procedures](#)

Hiltunen, E., Linko, L., Hemminki, S., Hägg, M., Järvenpää, E., Saarinen, P., Simonen, S. & Kärhä, P., 2011. *Laadukkaan mittaamisen perusteet*. MIKES. [2011-J4.pdf](#)

Hägg, M. (Ed.) 2016. *Validoinnin suunnittelun opas*. VTT Technical Research Centre of Finland. VTT Technology No. 276 [Validoinnin suunnittelun opas](#)

Hübschmann, H. 2015. *Handbook of GC-MS: Fundamentals and applications*. 3. painos. Weinheim, Germany: Wiley-VCH.

McLafferty, F. W. ja Turecek, F. 2011 *Mass Spectrometry: Principles and Applications*. 3. painos. Wiley.

National Institute of Standards and Technology. (2020). *Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)* (NIST Handbook chapter, Pub. ID 926655). U.S. Department of Commerce. [NIST](#)

Standard deviation. 2025. In *Encyclopædia Britannica*. [Standard deviation](#)

Theodorsson, E. *Limit of detection, limit of quantification and limit of blank*. European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) / Eurachem. [LOD&LOQ](#)

Liitteet

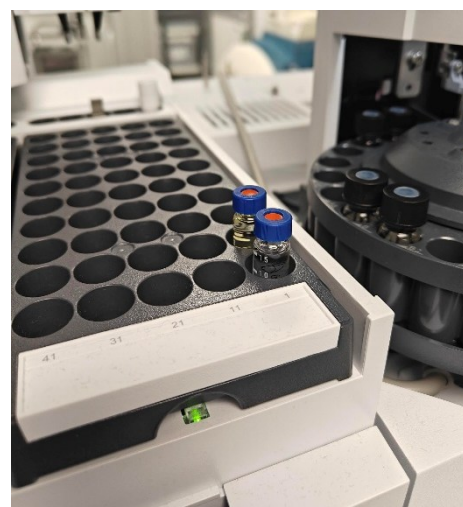
Liite 1 Työohjeet

Kun työskentelet märkien kemikaalien kanssa muista aina käyttää tarvittavia suojarusteita. Käytä suojalaseja, hanskoja ja laboratoriotakkia. Tällä varmistamme turvallisen työympäristön kaikille laboratoriossa työskenteleville.

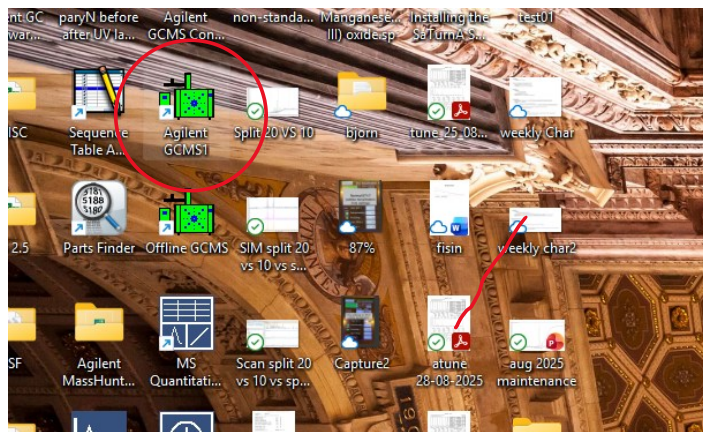
1. Tarkista GC-automaattisyöttäjän huuhtelupullot. Mikäli liuotintaso on merkityn rajan alapuolella, täytä pullot asianmukaisesti. Kukin pullo on merkitty vastaavalla liuottimella, joten varmista, että käytät oikeaa liuotinta täytön yhteydessä. Tarkista samalla jätepullot ja tyhjennä ne tarvittaessa jätekanisteriin.



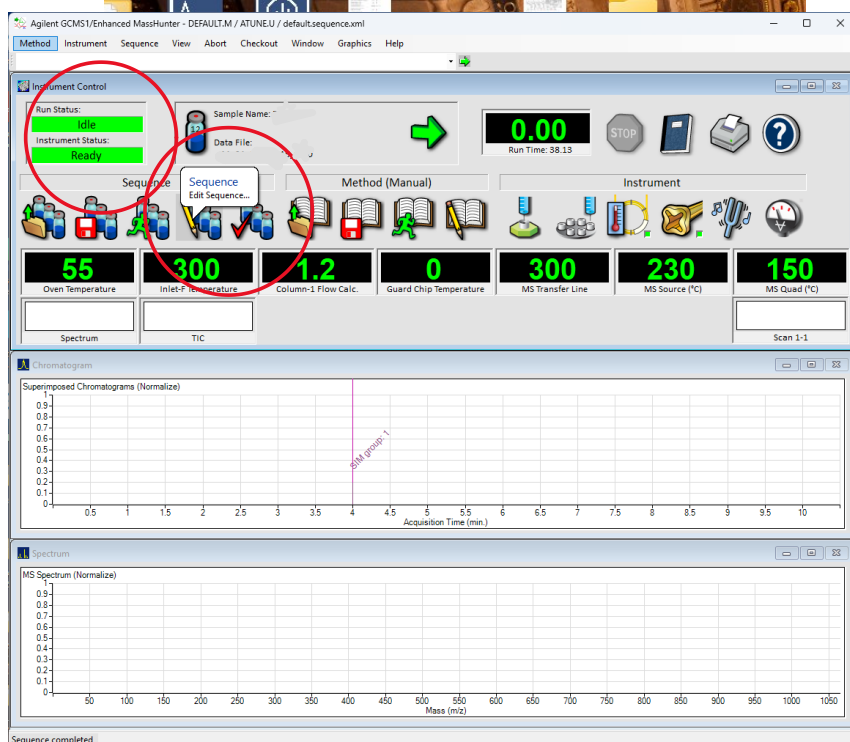
2. Merkitse näytepullo ja aseta se automaattisyöttäjän seuraavaan vapaaseen paikkaan. Ensimmäinen paikka on varattava sokea-ajolle, joka tehdään analyysilaatuisesta toluenista.



3. Käynnistä GC/MS-ohjelmisto **Agilent GCMS1**. Odota hetki, jotta ohjelmisto muodostaa yhteyden GC-MS-järjestelmään.



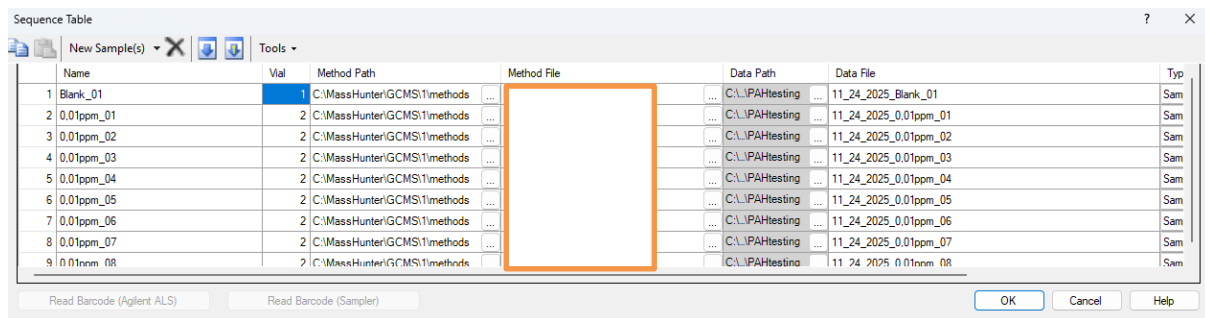
4. Varmista ennen työn aloittamista, että **Run Status** ja **Instrument Status**-ilmaisimet ovat vihreät. Valitse tämän jälkeen **Edit Sequence**.



5. Syötä **Name**-kenttään näytteen nimi (lisää aina kaksi sokea-ajoa ennen varsinaisia näytteitä).

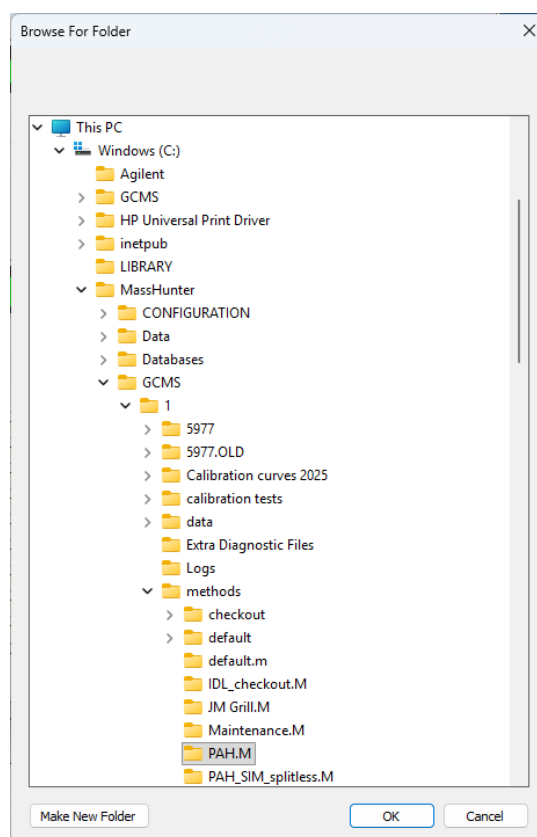
Name	Vial	Method Path	Method File	Data Path	Data File	Typ
1 Blank_01	1	C:\MassHunter\GCMS1\methods		C:\PAHtesting	11_21_2025_Blank_01	Sam
	2	C:\MassHunter\GCMS1\methods		C:\PAHtesting		Sam
	3	C:\MassHunter\GCMS1\methods		C:\PAHtesting		Sam
	4	C:\MassHunter\GCMS1\methods		C:\PAHtesting		Sam
	5	C:\MassHunter\GCMS1\methods		C:\PAHtesting		Sam
	6	C:\MassHunter\GCMS1\methods		C:\PAHtesting		Sam
	7	C:\MassHunter\GCMS1\methods		C:\PAHtesting		Sam
	8	C:\MassHunter\GCMS1\methods		C:\PAHtesting		Sam
	9	C:\MassHunter\GCMS1\methods		C:\PAHtesting		Sam

6. Määritä **Vial**-kentässä näytteen sijainti automaattisyyttäjässä.

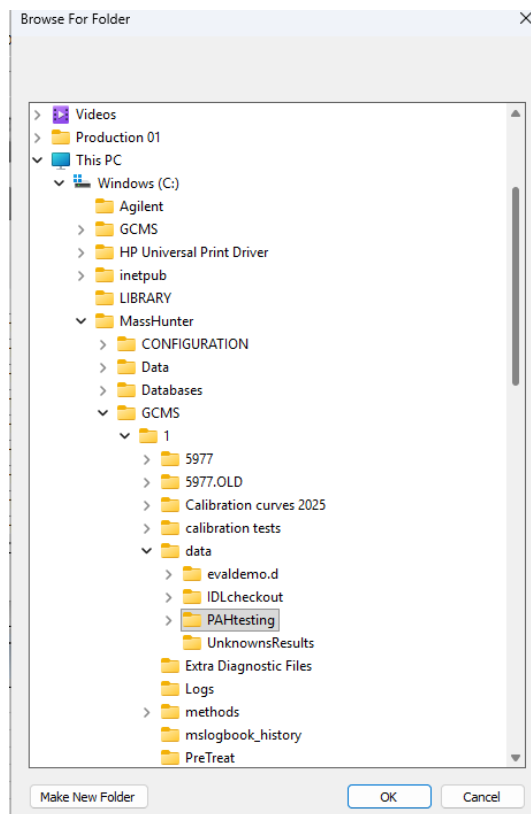


7. Method Path -kenttä täyttyy automaattisesti, kun menetelmä on lisätty.

8. Method File -kentässä napsauta painiketta, jossa on kolme pistettä. Tämä avaa tiedostonvalintaikkunan, jossa voit valita oikean menetelmän.



9. Valitse **Data Path** -kentässä tiedosto, johon ajot tallennetaan.



10. Syötä **Data File** -kentään päivämäärä ja näytteen nimi.

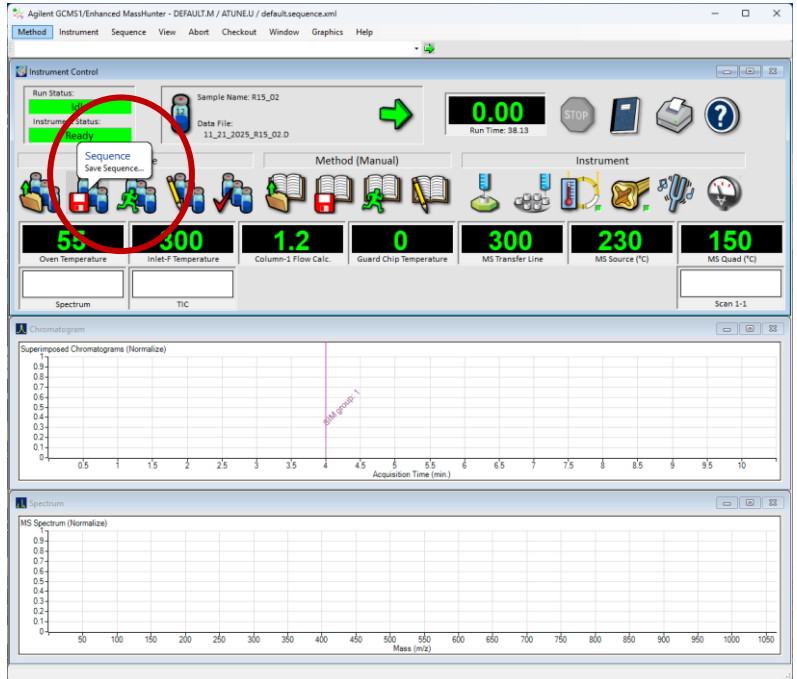
Name	Val	Method Path	Method File	Data Path	Data File	Typ
1 Blank_01	1	C:\MassHunter\GCMS\1\methods ...		C:\PAHtesting	11_24_2025_Blank_01	Sam
2 0.01ppm_01	2	C:\MassHunter\GCMS\1\methods ...		C:\PAHtesting	11_24_2025_0.01ppm_01	Sam
3 0.01ppm_02	2	C:\MassHunter\GCMS\1\methods ...		C:\PAHtesting	11_24_2025_0.01ppm_02	Sam
4 0.01ppm_03	2	C:\MassHunter\GCMS\1\methods ...		C:\PAHtesting	11_24_2025_0.01ppm_03	Sam
5 0.01ppm_04	2	C:\MassHunter\GCMS\1\methods ...		C:\PAHtesting	11_24_2025_0.01ppm_04	Sam
6 0.01ppm_05	2	C:\MassHunter\GCMS\1\methods ...		C:\PAHtesting	11_24_2025_0.01ppm_05	Sam
7 0.01ppm_06	2	C:\MassHunter\GCMS\1\methods ...		C:\PAHtesting	11_24_2025_0.01ppm_06	Sam
8 0.01ppm_07	2	C:\MassHunter\GCMS\1\methods ...		C:\PAHtesting	11_24_2025_0.01ppm_07	Sam
9 0.01ppm_08	2	C:\MassHunter\GCMS\1\methods ...		C:\PAHtesting	11_24_2025_0.01ppm_08	Sam

11. Valitse **Type**-kentässä avattavasta alasvetovalikosta **Sample**.

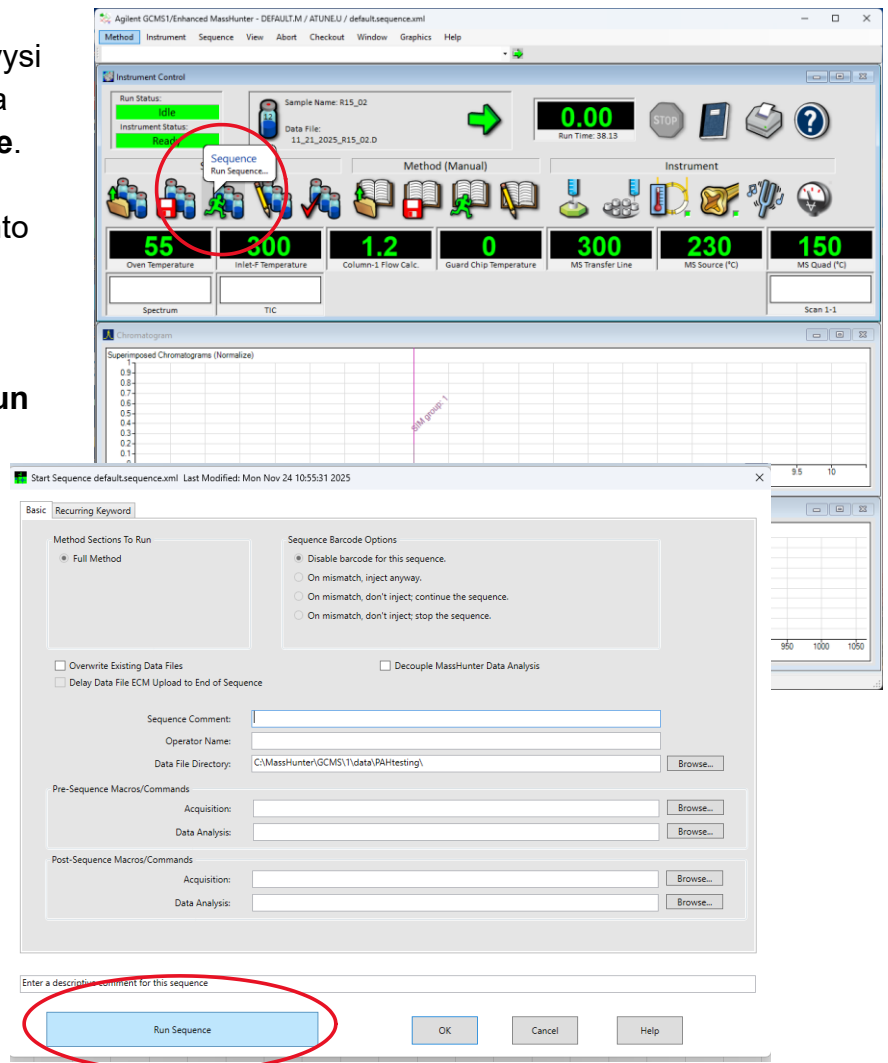
Method Path	Method File	Data Path	Data File	Type	Level	Comment
C:\MassHunter\GCMS\1\methods ...		C:\PAHtesting	11_24_2025_Blank_01	Sample		
C:\MassHunter\GCMS\1\methods ...		C:\PAHtesting	11_24_2025_0.01ppm_01	Sample		
C:\MassHunter\GCMS\1\methods ...		C:\PAHtesting	11_24_2025_0.01ppm_02	Sample		
C:\MassHunter\GCMS\1\methods ...		C:\PAHtesting	11_24_2025_0.01ppm_03	Sample		
C:\MassHunter\GCMS\1\methods ...		C:\PAHtesting	11_24_2025_0.01ppm_04	Sample		
C:\MassHunter\GCMS\1\methods ...		C:\PAHtesting	11_24_2025_0.01ppm_05	Sample		
C:\MassHunter\GCMS\1\methods ...		C:\PAHtesting	11_24_2025_0.01ppm_06	Sample		
C:\MassHunter\GCMS\1\methods ...		C:\PAHtesting	11_24_2025_0.01ppm_07	Sample		
C:\MassHunter\GCMS\1\methods ...		C:\PAHtesting	11_24_2025_0.01ppm_08	Sample		

12. Kun kaikki näytteet on syötetty ja kullekin on määritetty oikea menetelmä sekä datapolku, vahvista asetukset napsauttamalla **OK**.

13. Tallenna sekvenssi painamalla **Save Sequence** painiketta.



14. Käynnistä esimerkianalyysi napsauttamalla **Run Sequence**. Tämän jälkeen vahvista toiminto avautuvassa ponnahdusikkunassa valitsemalla **Run Sequence**. Toimenpide käynnistää ajon.



15. Ajon jälkeen ylempi toimihenkilö käsittelee tulokset ja sijoittaa näyteampullit onnistuneen ajon jälkeen kemikaalijätteeseen.