

TNT:n ja RDX:n määrittäminen HPLC:lla ja menetelmän validointi

Pro gradu-tutkielma ja erikoistyö

Jyväskylän yliopisto

Kemian laitos

Epäorgaanisen ja analyttisen kemian osasto

30.11.2009

Susanna Tapaninaho

Tiivistelmä

Tämän työn tarkoituksena on validoida korkean erotuskyvyn nestekromatografia (HPLC) menetelmä, jolla halutaan määrittää 2,4,6-trinitrotolueeni (TNT) ja 1,3,5-trinitro-1,3,5-triatsiini (RDX) pitoisuuksia vesistä. Työ tehtiin Puolustusvoimille, Räjähdelaitokselle ja erityisesti Haapajärven varikolle yhteistyössä Jyväskylän yliopiston kanssa. Räjähdysaineita on tutkittu eniten kaasukromatografialla (GC) ja HPLC:llä ja yleisimmät detektorit ovat ultraviolett- ja massaspektrometridetektorit. Yleisimmin käytetyt eluentit ovat asetonitriili, metanoli ja vesi. Näytteen esikäsittely voidaan suorittaa uuttamalla esim. kiinteäfaasiuutolla, nesteuutolla tai ultraääniuutolla, jos kyseessä on pieniä räjähdäainepitoisuuksia vesistöissä, maaperässä ja ilmassa.

Validoitava menetelmä, jota työssä kehiteltiin, oli räjähdäaineiden tutkiminen vesistöistä HPLC:lla, jossa detektorina oli ultraviolettidetektorit (UV) ja kolonnina Waters Spherisorb® 5 μ m oktadekyylisilaani 4,6*150 mm analyttinen kolonni (ODS2). Parhaiten räjähdysaineille soveltuvat ajo-olosuhteet olivat virtausnopeus 1 ml/min, aallonpituus 230 nm, ajoliuoksina asetonitriili (ACN) 45 % ja vesi 55 % sekä injektointilavuutena 30 μ l. Sisäisenä standardina käytettiin 1,3-dinitrobentseeniä (1,3-DNB). Validoinnin tuloksena voitiin todeta, että menetelmä oli herkkä, tarkka ja toistettava pitoisuudesta 0,005 mg/l (standardi 2. ennen uuttoa) lähtien sekä TNT:lle että RDX:lle. Parhaimmat tulokset saatiin laskettaessa piikin korkeuden mukaan lineaarisella sovituksella.

Kiinteäfaasiuutto aiheutti sen, että systemaattinen virhe oli merkitsevä kaikille standardeille, joten 95 % luottamusvälille ei päästy millään pitoisuudella. Muuten menetelmä oli toistettava ja määritysrajoissa päästiin erittäin pieniin pitoisuuksiin. Kalibrointisuoran R^2 -arvot olivat TNT:lle 0,9995-0,9998 ja RDX:lle 0,996-0,9997 eli erittäin lineaariset. Pienin pitoisuus aiheutti eniten virhettä sekä TNT:lla että RDX:lla, joten sitä ei voitu hyväksyä. Pienin luotettava pitoisuus, johon päästiin oli standardilla 2 eli 0,004992 mg/l (0,4992 mg/l uuttoa jälkeen), jonka mukaan määritysrajaksi saatiin RDX:lle LOQ = 5,0 μ g/l ja TNT:lle LOQ = 5,0 μ g/l.

Esipuhe

Pro gradun aiheena oli TNT:n ja RDX:n määrittäminen HPLC:lla ja menetelmän validointi. Erikoistyö ja pro gradu tehtiin yhteistyössä Puolustusvoimien, Haapajärven varikon ja Jyväskylän yliopiston kanssa kevään, kesän ja syksyn 2009 aikana. Pro gradussa käytetty aineisto haettiin puolustusvoimien omista tietokannoista, Scifinder scholar ohjelmalla ja ISI- ohjelmalla. Hakusanoina käytettiin mm. TNT:a, RDX:a ja HPLC:a.

Haluaisin kiittää Pro gradu ohjaajaani Rose Matilaista Jyväskylän yliopistosta, työpaikkaohjaajaani Armi Tervämäkeä Haapajärven varikolta sekä Timo Krögeriä PVTT:sta kallisarvoista neuvoista, ohjauksesta ja tuesta. Lisäksi haluaisin kiittää hylsyhuoltolan työntekijöitä sekä ystäviäni saamastani kannustuksesta ja tuesta.

Sisällysluettelo

Tiivistelmä.....	i
Esipuhe.....	ii
Sisällysluettelo.....	iii
Käytetyt lyhenteet.....	v
Kirjallinen osa	1
Johdanto	1
1. Korkean erotuskyvyn nestekromatografia.....	1
1.1 HPLC.....	1
1.2 Kolonni	2
1.3 Pumppu.....	3
1.4 Detektori.....	4
1.5 Eluentit	5
1.6 Injektori	6
1.7 Näyte	6
1.8 Kvantitatiivinen analyysi.....	7
2. Yleistä räjähdeseineistä	7
3. TNT.....	8
3.1 TNT:n kemialliset ja fysikaaliset ominaisuudet	8
3.2 TNT vaikutus ihmisiin ja luontoon	10
3.3 TNT valmistus	11
3.4 TNT reaktiot	12
4. RDX	15
5. Seosräjähdysaineet.....	17
6. Räjähdysaineiden määrittäminen eri menetelmillä.....	18
6.1 Räjähdysainenäytteen käsittely.....	18
6.2 U.S. EPA Metodi 8330.....	20
6.3 Räjähdysaineiden määrittäminen ilmasta.....	20
6.4 Räjähdysaineiden määrittäminen vedestä.....	25
6.5 Räjähdysaineiden määrittäminen maaperästä.....	33
6.6. Räjähdysaineiden määrittäminen muista materiaaleista.....	39
7. Yhteenveto.....	44
Kokeellinen osa	45
8. Työn tarkoitus.....	45

9. Reagenssit.....	45
10. Käytetyt menetelmät	46
10.1 Standardit.....	47
10.2 Uutto.....	48
10.3 Mittausten suoritus	49
10.4 Validointi	51
11. Saadut tulokset.....	57
12. Yhteenveto.....	74
13. Kirjallisuusluettelo	77
Liitteet	83

Käytetyt lyhenteet

✓ = Erotustekijä

■ = Mitattujen ja regressiosuoralta laskettujen arvojen erotus =residuaali

\bar{x} = Keskiarvo

! =Kohdearvo

2-ADNT = 2-amino-4,6-dinitrotolueeni

4-ADNT = 4-amino-4,6-dinitrotolueeni

ACN = Asetonitriili

ADNT = Aminodinitrotolueeni

Amatoli = Ammoniumnitraatin ja TNT seos

APCI = Atmospheric pressure chemical ionization, ilmanpainekeemiallinen ionisaatio

ASE = Accelerated solvent extraction, paineistettu neste uutto

C-18 kolonni = 18 hiilen ketjun sisältävä kolonni, (Oktadekyyli kolonni)

CE = Kapillaarielektroforeesi

CI = Kemiallinen ionisaatio

CN-kolonni = Syanoryhmän sisältävä koloni (Syanopropylikolonni)

C_{sol} = Liukoisuusvakio

CW/TPR = Carbowax/templated resin, hiilivaha/TPR suodatin

DANT = Diaminonitrotolueeni

DART = Direct analysis in real time, suora reaaliaikainen analyysi

DB = Dimetyylipolysiloksaani kolonni GC:lle

DBDI = Dielectric barrier discharge ionization plasma, purkaus ionisaatioplasma

DESI = Desorption electrospray ionization, desorptio sumutus ionisaatio

DHANT= Dihydroksyyliaminonitrotolueeni

DI = Direct injection, suora injektointi (upotus)

DNB =1,3-dinitrobentseeni

DNT = Dinitritolueeni

ECD = Electroncapture detector, elektroninsieppaus detektori

EI = Elektroni-ionisaatio

ESI = Electrospray ionization, sähkösumutus-ionisaatio

F-arvo = Sarjojen välisen hajonnan merkitsevyys

FID = Flame ionization detector, Liekki-ionisaatio detektori

GC = Kaasukromatografia

GPC = Geelipermeaatiokromatografia
 HADNT = Hydroksyyliaminodinitrotolueeni
 Heksataali = RDX:n, alumiinin ja vahan seos
 Heksotoli = TNT:n ja RDX:n seos
 Heksotonaali = RDX:n, TNT:n ja alumiinin seos
 HMX = oktahydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-triatsiini
 HPLC = High performance liquid chromatography, Korkean erotuskyvyn nestekromatografia
 IMS = Ion mobility spectrometry, ionin liikkuvuus spektrometri
 k' = Retentiotekijä, kapasiteettitekijä
 LOD = Limit of detection, Toteamisraja
 LOQ = Limit of quantitation, Määrittäysraja
 LSE = Liquid solid extraction, nestekiinteä uutto
 LTP = Low temperature plasma probe, alhaisen lämpötilan plasma anturi
 LVI = Large volume injection, suuren tilavuuden injektointi
 MAE = Microwave assisted extraction, Mikroaaltoavustettu uutto
 MALDI = Atmospheric pressure matrix assisted laser desorption ionization, Matriisiavusteinen laser-desorptioionisaatio
 MDL = Method detection limit, menetelmän toteamisraja
 MQ-vesi = Ultrapuhdasvesi, ominaisvastus > 18 M_Ω
 MS = Massaspektrometri detektori
 MTBE = Metyyli-tert-butyylieetteri
 NP-detektori = typpi-fosfori detektori
 ODS2-kolonne = oktadekyylisilaani-kolonne HPLC:lle
 PA = polyakrylaatti kuitu
 PAED = Photoassisted electrochemical detector, valoavusteinen elektrokemiallinen detektori
 PDMS/DVB = polydimetyylisiloksaani/divinylibentseeni
 PETN = pentaerytritoli tetranitraatti
 PGC = Huokoisen grafiittihiili
 PTFE = polytetrafluoroetyyleeni
 PUF = polyuretaani vaahtomuovi
 PVTT = puolustusvoimien teknillinen tutkimuslaitos
 R = Resoluutio
 R²-arvo = Selitysaste

RDX = 1,3,5-trinitro-1,3,5-triatsiini (heksahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triatsiini), hekso-geeni

RSD = Suhteellinen keskihajonta

s = Keskihajonta

S/N = Signaali/kohina-suhde

SC-CO₂ = Ylikriittinen hiilidioksidi

s_{dr} = Systemaattinen virhe

SFE = Super critical fluid extraction, ylikriittinen uutto

Shewhartkartta = Toimenpideviivat ja varoitusviivat sekä kohdearvot

SIMS = Sekundaarinen ionisaatio massaspektrometri

SPE = Solid phase extraction, kiinteäfaasiuutto

SPME = Solid phase micro extraction, kiinteäfaasimikrouutto

s_{ri} = Satunnaisvirhe

T = Symmetrisyyskijä

t-arvo = Luottamustasoon liittyvä t-jakauman kriittinen arvo

Tetryyli = Metyyli-2,4,6-trinitrofenyylinitramiini

THF = Tetrahydrofuraani

TNT = 2,4,6-trinitrotolueeni, trotyyli

TOC = Total organic compounds, kokonaishiili

U = Laajennettu mittausepävarmuus 95 % mukaan

U. S. EPA Method 8330 = Yhdysvaltojen ympäristönsuojelu viraston metodi

u_c = Kokonaismittausepävarmuus

UV/VIS-detektori = Ultraviolettisäteily/näkyvän valon detektori

Validointi = Menetelmän kelpoistaminen

Kirjallinen osa

Johdanto

TNT ja RDX ovat yleisimmin käytettyjä sotilasräjähdysaineita Suomessa.¹ Räjähdyaineita halutaan määrittää siitä syystä, että ne ovat vaarallisia ihmisille ja luonnolle. TNT:a ja RDX:a on mahdollisesti haudattu aikoinaan vesistöihin ja maaperään. Raja-arvot lifetime-arvion (U. S. EPA) mukaan ovat RDX:lle 0,002 mg/l ja TNT:lle 0,002 mg/l (juomavedelle).² Räjähdeaineita tutkitaan pääasiassa HPLC:lla ja GC:lla. Räjähdyaineita esiintyy yleensä erittäin pieniä määriä, jolloin niiden pitoisuuden kasvattaminen uuttamalla on mahdollista. Tällöin päästään n. 100-kertaa pienempiin pitoisuuksiin. Räjähdeaineita voidaan tutkia myös muista materiaaleista mm. ilmasta, kankaalta ja iholta.

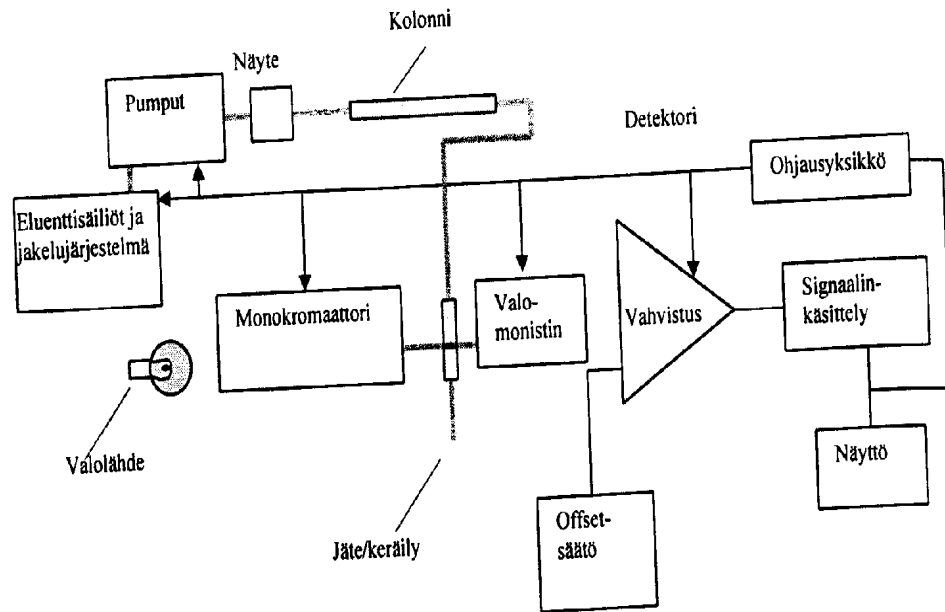
TNT on aromaattinen nitroyhdiste, joka sitoutuu helposti maaperään ja sedimenttiin.¹ TNT aiheuttaa ihmisille mm. maksavaurioita, hermostollisia oireita ja nenäverenvuotoa. RDX on tehokkaampi räjähdeaine kuin TNT ja se on epäherkkä ja stabiili. RDX imeytyy elimistöön helposti ja voi kerääntyä erityisesti munuaisiin, sydämeen ja aivoihin. TNT:a ja RDX:a voidaan käyttää myös yhdessä räjähdysaineseoksena.

1. Korkean erotuskyvyn nestekromatografia

1.1 HPLC

HPLC laitteiston ainoa edellytys on se, että tutkittava aine saadaan liukenemaan johonkin liuottimeen.³ Liukenemattomat hiukkaset voivat tukkia injektorin, kapillaarit ja kolonin. Näyte voidaan suodattaa, uuttaa tai sentrifugoida ennen injektointia. Nestekromatografian rakenneosat ovat injektorin, pumppu, kolonni, detektorin, kapillaari sekä tiedonkeru- ja tulostusyksikkö (Kuva 1.). Nestekromatografialla kyetään analysoimaan molekyylipainoltaan hyvin erilaisia yhdisteitä ($M = 50-10^6$ g/mol).⁴ Nestekromatografi-aa käytetään pääasiassa lääkeaine- ja elintarvikeanalytiikassa, koska sillä voidaan analysoida helposti sekä polaarisia että suurikokoisia yhdisteitä. Korkean erotuskyvyn nestekromatografian eri muodot ovat adsorptiokromatografia, neste-nestekromatografia, io-

ninvaihtokromatografia ja geeli-permeaatiokromatografia. Neste-nestekromatografia voidaan jakaa vielä sidottuun faasikromatografiaan ja ioniparikromatografiaan.



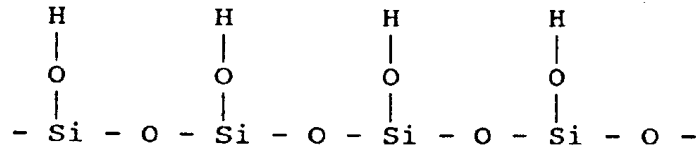
Kuva 1. Nestekromatografi, joka on varustettu UV-valon alueen detektorilla.⁵

1.2 Kolonni

Nestekromatografia kolonnit ovat tyypillisesti 5-30 cm pitkiä teräsputkia, joiden sisähalkaisija on 2-8 mm.³ Kolonnin päissä on huokoiset levyt eli fritit, jotka pitävät kolonnin täytämateriaalin paikallaan sekä kartiotiivisteet, joiden avulla kolonni saadaan tiiviisti liitettyä kapillaariin. Analyyttisen kolonnin stationäärifaasin partikkelikoko on 3-10 μm . Partikkelikoko on yleensä sitä suurempi, mitä pidempi kolonni on. Esikolonnia voidaan käyttää suojaamaan stationäärifaasilla täytettyä varsinaista kolonnia.⁴ Esikolonni tulee vaihtaa heti, kun erotuksen kanssa tulee ongelmia resoluution tai kohonneen paineen takia.

Adsorptiokromatografian perinteinen materiaali on silikageeli, jonka pinta on esitetty kuvassa 2.⁴ Kun liikkuvana faasina käytetään polaaritonta liuotinta, kuten heksaania, adsorboituvat näytemolekyylit, jotka sisältävät polaarisia ryhmiä, silikageelin pinnalle. Silikageelin käytön vaikeutena on sen kyky adsoroida liikkuvasta faasista vesimolekyylejä, jolloin retentioajat muuttuvat. Silikageeliin pohjautuvien materiaalien liukeneminen alkaa pH:n kohotessa yli 8, joten on vältettävä orgaanisia emäksiä. Sidottaessa

hiilivety silikageelin pinnalle Si-O-Si-R sidoksin muuttuu stationäärifaasin luonne polaarista poolittomaan ja liuottimen voimakkuusasteikko kääntyy veden ollessa heikoin liuotin.



Kuva 2. Adsorptiokromatografia: silikageelin pinta.⁴

Ioninvaihtokromatografiassa kolonnin stationäärifaasiin on sidottu ionisia ryhmiä, jotka pystyvät pidättämään vastakkaisesti varautuneita näytemolekyylejä.⁴ Mitä suurempi osa näytemolekyyleistä on ionisoitunut, sen pidempään ne sitoutuvat stationäärifaasiin. Eluentin kilpailevien ionien pitoisuus nousee puskurin väkevyyden kohotessa ja viipymä lyhenee. Myös lämpötilan kohoaminen aiheuttaa viipymän lyhenemisen. Geelipermeaatiokromatografiassa (GPC) kolonnin stationäärifaasi sisältää tietyn suuruisia huokosia, joihin analyytti pystyy tunkeutumaan ja näin eri näyte molekyylit erottuvat molekyylikokonsa perusteella. Tavallisimmin käytetyt täytteet ovat polymeeripohjaisia styreeni-divinylibentseenipolymeerejä.

1.3 Pumppu

HPLC laitteiston pumpun on pystyttävä pumppaamaan pulssittomasti ja toistettavasti tasaisella virtausnopeudella eluentin vastapainetta vastaan.³ Eluentin viskositeetti, kolonnin dimensiot ja pysyvän faasin hiukkas- ja huokosominaisuudet määräävät mahdollisen virtausnopeuden. Virtausnopeus on tavallisesti säädettävissä 0,1 ml/min-15 ml/min. Mitä suurempi virtausnopeus on, sen nopeammin aineet eluoituvat. Pumput ovat materiaaliltaan inerttiä terästä. Ne ovat yleensä joko ns. resiprookkipumppuja, joissa edestakaisin liikkuva mäntä työntää eluenttia kammioista yksitieventtiilin kautta kolonniin, tai pneumaattisia pumppuja, joissa kaasu työntää eluenttia. Tyypillisin pumpun ongelma on pumppuun joutunut ilmakupla, joka aiheuttaa retentioajan pidentymisen. Pumppua ei saa käyttää kuivana, vaan on aina huolehdittava siitä, ettei eluentit pääse loppumaan.

1.4 Detektori

HPLC detektoreita on monen tyyppisiä.³ Yleisimmin käytetty detektori on taitekerroin-detektori. Taitekerroindetektori on huomattavasti epäherkempi kuin esim. ultraviolettisäteily/näkyvän valon detektori (UV/Vis) tai fluoresenssidetektori. Detektoivan signaalin suuruus on suoraan verrannollinen näytteen konsentraatioon ja injektoitavaan näytemäärään. Detektori ei saa olla herkkä virtauksen tai lämpötilan muutoksille.

Taitekerroinmittaus perustuu näytemolekyylien aiheuttamaan eluentin taitekertoimen muutokseen.⁴ Kaikki yhdisteet aiheuttavat muutoksen, mutta niiden vasteet vaihtelevat taitekertoimien ja eluentin taitekertoimen erojen suhteessa. Detektorit perustuvat heijastusperiaatteeseen, jossa mitataan taitekertoimen aiheuttaman (valon taipumisen takia valomonistinputkeen tulevan) valonsäteen intensiteetin vähenemistä. Koska mitattava suure on herkkä sekä lämpötilan että paineen vaihtelulle, ei detektoria saada kovin herkäksi. Taitekerroindetektorin herkkyys on noin 10^{-6} -luokkaa. Taitekerroindetektoria ei voida käyttää gradienttiajossa.

UV-Vis detektori on paras detektori vaihtoehto silloin, kun tutkittava yhdiste absorboi UV säteilyä tai näkyvää valoa.³ UV-Vis detektorin avulla määritetyn absorbanssin mitana on piikin pinta-ala tai korkeus, joka noudattaa Lambert-Beerin lakia. UV-Vis detektoreita on kolmea eri tyyppiä: suodatin-, monokromaattori- tai diodirivilaite. Mittausaallonpituutta valittaessa on huomioitava, ettei eluentti absorboi valoa mittausaallonpituudella. UV-Vis lampussa käytetään deuteriumlampua ja hilan avulla valitaan mitattava aallonpituus. UV-Vis detektorin etuna on vapaasti valittava aallonpituus.

Diodirividetektori säteilyttää näytettä koko aallonpituusalueella, jonka jälkeen spektri hajotetaan eri aallonpituuksiksi.⁴ Mittaus tapahtuu rivillä fotodiodeja, joista kukin mittaa omaa aallonpituusalueettaan. Detektorin etuna on se, että diodirividetektori käyttää hyväkseen koko UV spektrin antaman informaation, kun taas haittana on korkea hinta ja UV spektrin suhteellisen vähäinen erotuskyky sekä muuttuminen eluenttiolosuhteiden muutoksissa. Detektorin lineaarinen alue on laaja ja saavutettu herkkyys on ng-luokkaa. Yksinkertaisimmat UV-detektorit koostuvat elohopealampusta, suodattimesta, jolla valitaan mittausaallonpituus sekä valomonistin putkesta. Lamppu voi olla Hg-, Zn-, Cd- ja P-lamppu. Etuna muihin UV-detektoreihin on sen stabiilisuus, joka mahdollistaa ng-luokkaa olevan detektointiherkkyyden.

Fluoresenssidetektorit on 10–1000 kertaa herkempiä kuin UV-Vis detektorit.³ Fluoresenssidetektorin käyttö edellyttää fluoresoivaa näytettä tai fluoresoivan johdoksen valmistamista. Kun fluoresoivaa yhdistettä säteilytetään sopivalla valolla, se säteilee pitempi aallonpituuksista valoa.⁴ Mittaus on herkkä, koska vain fluoresoivan yhdisteen vaikutuksesta valomonistinputkelle tulee valoa. Detektori on selektiivinen, sillä vain harvat luonnonyhdisteet fluoresoivat. Tyypillisiä fluoresoivia yhdisteitä ovat tokoferolit, aflatoksiinit ja polyaromaattiset hiilivedyt.

Sähkökemiallisella detektorilla voidaan mitata yhdisteitä, jotka voivat hapettua tai pelkistyä sähkövirran vaikutuksesta.⁴ Kun sähköinen potentiaali johdetaan eluenttiin se aiheuttaa siinä virran, joka muuttuu, jos siinä kulkee aktiivinen yhdiste. Parhaiten detektori sopii yhdisteille, jotka hapettuvat sähkökemiallisesti. Tällöin voidaan määrittää mm. aromaattisia amiineja ja fenolisia yhdisteitä. Eluenttien tulee olla johtavia vesiliuoksia. Herkkyys on 0,5 µg luokkaa. Johtokykydetektorit mittaavat eluentin johtokykyä ja niitä käytetään ionikromatografisissa määrityksissä. Eluenttina käytetään joko huonosti johtavia puskureita tai puskurit poistetaan eluentista toisella ioninvaihtokolonnilla erotuskolonnin jälkeen. Massaspektrometrisiä menetelmiä voidaan käyttää myös detektointiin.

1.5 Eluentit

Eluentit koostuvat normaalisti vähintään kahdesta komponentista, joiden välistä suhdetta muuttamalla saadaan näytteen komponentit erottumaan toisistaan.³ Yleisimmin käytetyt eluentit ovat metanoli, asetonitriili ja vesi. Liuottimen kyky toimia emäksenä tai happona vaikuttaa tutkittavan näytteen ja eluentin väliseen vuorovaikutukseen. Eluentin koostumusta voidaan muuttaa ajon aikana, jolloin puhutaan gradienttiajosta. Isokraattisessa ajossa ajo-olosuhteet eivät muutu ajon aikana. Tyypillinen eluentin virtausnopeus on 1-1,5 ml/min.

Gradientti ajossa liuottimen voimakkuutta nostetaan ajon aikana.⁴ Tällöin saadaan pitkään viipyvät yhdisteet eluoitumaan aikaisemmin. Gradienttiajolla voidaan erottaa kromatografisesti erilaiset yhdisteet samalla ajolla ja parantaa pitkään viipyvien yhdisteiden detektioherkkyttä, mutta tämä kuitenkin heikentää erotuskykyä. Gradienttiajossa yleis-

sääntönä voidaan pitää sitä, että siellä missä yhdisteiden välillä on tilaa nopeutetaan gradienttia ja siellä missä piikeillä on ahdasta hidastetaan gradienttia.

1.6 Injektori

Näyte syötetään laitteelle joko automaattisen injektorin tai käsi-injektorin avulla.³ Käsin tehdyssä injektoinnissa näytetilavuus määräytyy näytesilmukan (loopin) eli vakiotilavuuksisen kapillaarikierukan tilavuuden mukaan. Haittana on se, että injektointitilavuuksien muuttamista varten joudutaan vaihtamaan erikokoisia kapillaarisilmukoita. Kapillaarisilmukka täytetään tylppäkärkisellä ruiskulla, jonka tilavuus on vähintään kaksi kertaa silmukan tilavuus. Automaatti-injektorit mahdollistavat erisuuruiset injektointitilavuudet.

1.7 Näyte

HPLC:lla mitattavan näytteen on oltava kokonaan liuenneessa muodossa.³ Näyte suodatetaan tai sentrifugoidaan aina ennen injektointia. Kiinteä näyte tai siinä oleva analyyytti liuotetaan huolellisesti. Kiinteäfaasiuutto (SPE) on näytteen puhdistus- ja konsentroiden menetelmä. SPE:ssä käytetään kertakäyttöisiä kolonneja, joissa on täytteenä vastaavanlaisia materiaaleja kuin nestekromatografiassa. SPE:ssä saadaan tutkittava yhdiste pidättymään kolonniin ja matriisiaineet eluoitumaan sen läpi valitsemalla sopiva liuotin ja täytemateriaali. Tämän jälkeen vaihdetaan liuotinta, jonka avulla tutkittava aine saadaan eluoitumaan ulos kolonnista.

Näytteiden puhdistus suoritetaan yleensä neste-neste- tai kiinteäfaasiuutolla.⁴ Näytteen poolisuus ja ionisoituminen ovat tärkeitä kriteereitä valittaessa uuttoliuosta ja uuton suorituksen pH:ta. Uuttoliuos valitaan siten, että saadaan mahdollisimman suuri analyttisaalis ulos. Sisäisen standardin käyttö on lähes välttämätöntä. Heksaani on hyvä liuotin lipideille ja joillekin emäksisille yhdisteille. Dietyylieetteri uuttaa ulossuolauksella emäksiset lääkeaineet. Pooliset yhdisteet saadaan helposti uutettua dietyylieetterin ja jonkin poolisemman liuottimen seokseen. Dikloorimetaani soveltuu sekä poolittomien että poolisten yhdisteiden uuttoon. Poolisuuden ja pH ohella uuttoon vaikuttavia ominaisuuksia ovat kiehumispiste, puhtaus, leimahduspiste, liuottimen myrkyllisyys ja

liuottimen hinta. Näytteet voidaan myös konsentroida tislamalla tai haihuttamalla näyte kuivaksi.

1.8 Kvantitatiivinen analyysi

Kromatografisesti erotetuista yhdisteistä saadaan detektorin avulla signaali, jota käytetään kvantitatiivisen analyysin pohjana.⁴ Tulos voidaan havaita joko piikin korkeutena tai pinta-alana. Yleensä nestekromatografiassa kannattaa käyttää isokraattisessa ajossa mitattavana suurena piikin korkeutta, sillä todennäköisin virhe on virtausnopeuden muutoksissa, mikä vaikuttaa piikin leveyteen, mutta ei sen korkeuteen. Gradienttijaossa kannattaa käyttää piikin pinta-alaa, sillä todennäköisin virhe on puute gradientin toistettavuudessa, mikä voimakkaammin heijastuu piikin korkeuteen.

Pitoisuuksien mittaamiseen voidaan käyttää ulkoisen standardin tai sisäisen standardin menetelmää.⁴ Ulkoisen standardin menetelmää käytetään useimmissa HPLC-analyysissä, jolloin määrityksen aluksi injisoidaan tunnettuja määriä yhdistettä ja määritetään standardisuora. Sisäisen standardin menetelmässä näytteeseen lisätään mahdollisimman varhaisessa vaiheessa vakiomäärä sisäisen standardin liuosta. Sisäinen standardi tulee valita siten, että sitä ei esiinny näytteessä luonnostaan, mutta se muistuttaa kromatografisesti ja kemiallisesti mitattavia yhdisteitä. Tällä menetelmällä voidaan kompensoida näytteen valmistuksessa tapahtuvia virheitä. Mittaussuurena käytetään tällöin näytteen piikin suhdetta sisäisen standardin piikkiin.

2. Yleistä räjähdysaineista

TNT ja RDX ovat yleisimmin käytettyjä sotilasräjähdysaineita Suomessa.¹ Räjähdysaineella tarkoitetaan ainetta tai ainesosaa, joka sellaisenaan kemiallisesti reagoimalla kykenee muodostamaan kaasua ja jonka lämpötila, paine ja muodostumisnopeus ovat sellaisia, että niistä aiheutuu vahinkoa aineen ympärillä. Räjähdysaine on räjähdysaine, pyrotekninen aine tai niistä tehty väline tai esine. Sotilasräjähdysaineiden kehitys alkoi mustaruudista 1300-luvulla. Tämän jälkeen tuli pikriinihappo ja nitroselluloosa 1840-luvulla. TNT:n kehitys alkoi vuonna 1863 ja RDX:n vuonna 1899. Räjähdysaineilta vaadittavia ominaisuuksia ovat tehokkuus, riittävän herkkä syttyminen, varmasti räjähd-

tävä ja fysiologisesti vaaraton. Räjähdyksineen täytyy olla muuttumaton kemiallisesti ja fysikaalisesti.

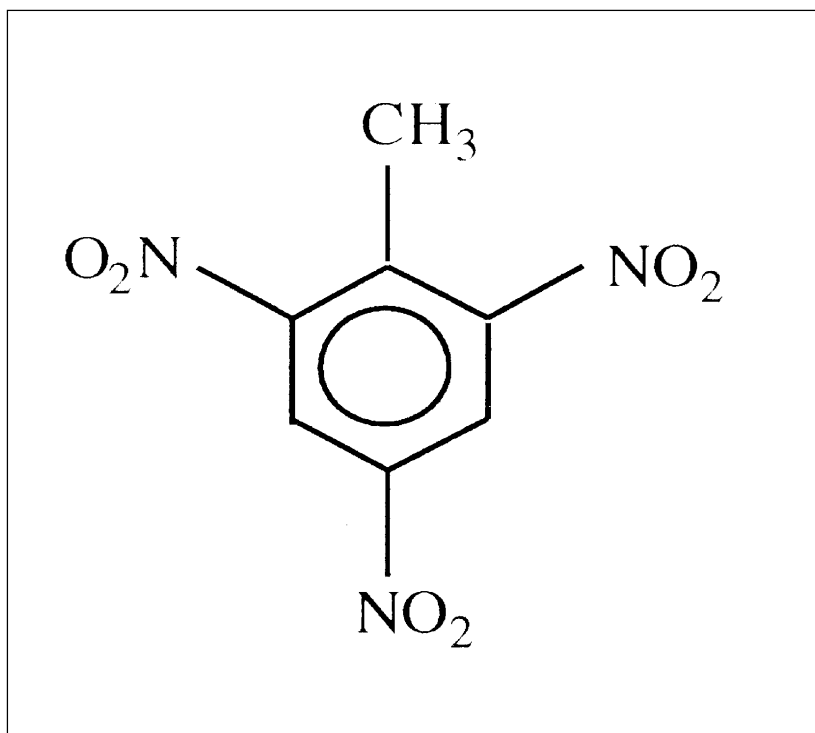
Detonaatio tarkoittaa kemiallista reaktiota, jossa suuri määrä energiaa vapautuu aikayksikössä.⁶ Reaktiotuotteet ovat kokoon puristuneita kaasuja, jotka vapautuessaan tekevät suuren työmäärän. Detonaatio muodostuu yli äänen nopeudella räjähdyksineen läpi kulkevasta iskuaallosta ja sitä välittömästi seuraavasta räjähdyksineen hajoamis- ja hapetusreaktiosta. Räjähdyksineen tai räjähdyksineeseoksen hajoaminen edellyttää iskuaallon korkeaa painetta, koska prosessien aktivoitumisenergia on korkea. Räjähdyksineeseoksia käytetään räjähdysherkkyuden vähentämiseen, muotoiluominaisuuksien parantamiseksi ja räjähdyksineen tehon lisäämiseksi tai vähentämiseksi.

Räjähdyksineet on jaoteltu moniin eri ryhmiin.⁷ Pääasiallisesti räjähdyksineet on jaoteltu alhaisiin ja korkeisiin räjähdyksineisiin sekä molemmat jaotellaan vielä alaryhmiin. Alhaiset räjähdyksineet palavat alhaisella tasolla (cm/s), kun taas korkeat räjähdyksineet hajoavat km/s. Korkeat räjähdyksineet on jaoteltu vielä primäärisiin ja sekundaarisiin räjähdyksineisiin. Primäärisiä räjähdyksineitä käytetään yleensä aloiteräjähdyksineinä ja ne sytyttävät palamaan sekundaariset räjähdyksineet. Sekundaariset räjähdyksineet voidaan jaotella edelleen sulavalu, kuten TNT:ksi ja muovisidosteisiksi räjähdyksineiksi, kuten RDX:ksi. Muoviräjähdyksine tarkoittaa sitä, että materiaali on joustavaa tai elastista. Räjähdyksineet voivat olla energeettiseltä materiaaliltaan mm. nitroaromaatteja, kuten TNT, nitroamiineja, kuten RDX sekä nitraattiestereitä, kuten nitroselluloosa.

3. TNT

3.1 TNT:n kemialliset ja fysikaaliset ominaisuudet

TNT:n molekyylipaino on 227,13 g/mol ja tiheys on 1,654g/cm³.⁸ TNT on aromaattinen nitroyhdiste (kuva 3.), joka on kemiallisesti stabiili ja epäherkkä käsittelyturvallisuuden kannalta.¹ TNT ei liukene veteen eikä ole hygroskooppinen. TNT:n kanssa yhteensopimattomia aineita ovat mm. voimakkaat hapot ja emäkset, sooda, formaldehydi, fosfori, rikki, alumiini, rauta ja lyijy. TNT:n olomuoto muuttuu lämpötilan vaikutuksesta. TNT on 0-40 °C hauras, 37-47 °C jonkin verran muovailtavissa, 50 °C TNT saadaan puristumaan suulakkeen läpi ja 80 °C TNT sulaa. TNT on yleisimpiä sotilasräjähdyksineitä.



Kuva 3. TNT eli 2,4,6-trinitrotolueeni.⁹

TNT on keltaista ja kiteistä ainetta perusolomuodoltaan.^{10,ss.336-339} TNT on niukkaliukoinen alkoholiin ja liukoinen bentseeniin, tolueniin, asetonitriliin ja asetoniin. TNT on stabiili, neutraali ja se ei reagoi metallien kanssa. Armeijan tarkoituksiin TNT:n täytyy olla puhdasta kaikista muista isomeereista paitsi 2,4,6-isomeereista. TNT voidaan puhdistaa uudelleenkiteytyksen avulla orgaanisesta liuottimesta tai 62 % typpihaposta (HNO₃). Ei-symmetriset isomeerit voidaan tuhota pesemällä kiteet vedellisellä natriumsulfiitti liuoksella.

TNT:n käyttö perustuu valettavuuteen, koska sen sulamispiste on melko alhainen, mutta kuitenkin riittävän korkea käyttö- ja varastointiolosuhteita ajatellen.¹¹ Kemiallisesti TNT kuuluu aromaattisiin nitroyhdisteisiin ja sitä voidaan pitää kemiallisesti pysyvänä yhdisteenä. TNT:n detonaationopeus on 6900 m/s, kun tiheys on 1,60 g/cm³. Sooda muodostaa TNT kanssa mustan iskuherkän ja jo 120 °C lämpötilassa pysymättömän yhdisteen. TNT:n metyyliiryhmä saattaa reagoida aldehydien kanssa ja reaktio voi olla niin kiivas, että TNT syttyy.

Sedimentin jyvaskoko ja orgaanisen hiilen määrä vaikuttavat TNT:in ja sen muunnos-
tuotteiden säilymiseen sedimenteissä.¹² Myös hapetusaste, pH, orgaanisen hiilen taso,

kationien vaihtokapasiteetti ja kationien paikalla/poissaolo vaikuttavat TNT:n kohtaloon ja vaikutuksiin. TNT:n muunnostuotteiden konsentraatio vesifaasissa on alhainen verrattuna alkuperäiseen TNT:n pitoisuuteen, koska TNT muuttuu helposti. Tämä voi johtua TNT:n hitaasta muuttumisesta tai muunnostuotteiden sitoutumisesta sedimenttiin tai TNT:n muuttumisesta tuotteiksi, joita ei pystytä detektoimaan. TNT itsessään on myrkyllisempi kuin sen muunnostuotteet.

Nitroyhdisteet ovat yleensä vastustuskykyisiä biologisille käsittelyille ja pysyvät luonnossa.¹³ TNT hyvä reaktiivisuus aiheutuu NO_2 -ryhmän läsnäolosta, joka voi helposti pelkistyä reaktiivisemmaksi nitroso- (-NO), hydroksyyliamino- (-NHOH) tai aminoryhmiksi ($-\text{NH}_2$). Nämä funktionaaliset ryhmät reagoivat abioottisissa ja bioottisissa olosuhteissa tuottaen atso-, atsoksi- ja hydratsojohdannaisia. Punaisten kompleksien (Jackson-Meisenheimer kompleksien) muodostus johtuu TNT:n reaktiosta emäksen kanssa (sulfiitti ja hydroksidi).¹⁴ Myös asetonin kanssa kosketuksiin joutuessaan TNT muodostaa punaisia komplekseja, jotka ovat havaittavissa. Selektiivisyys on tärkeää TNT:a tutkittaessa, koska luonnonvesissä ja maaperässä on myös muita räjähdeaineita kuin TNT:a.

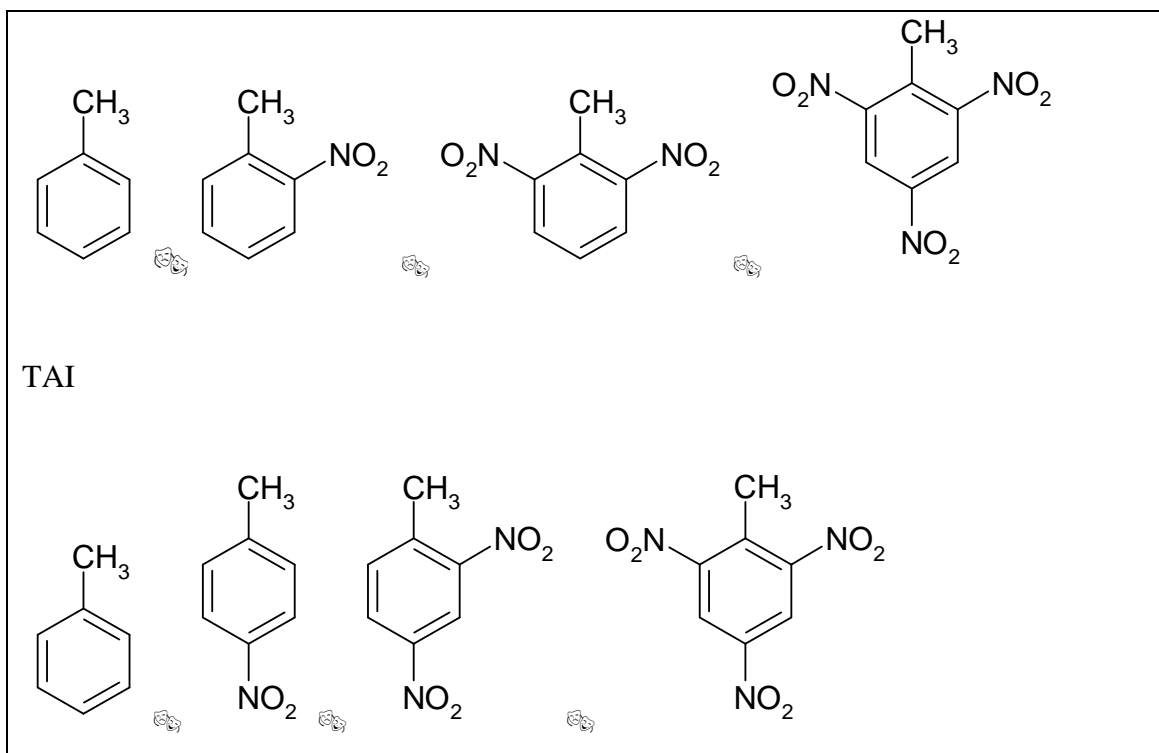
3.2 TNT vaikutus ihmisiin ja luontoon

TNT imeytyy hyvin kehoon ihon kautta, hengitysteitse ja suoliston kautta.¹⁵ TNT osallistuu aineenvaihduntaan, esimerkiksi maksan nitropelkistykseen, muodostaen kaksi aineenvaihduntatuotetta, 2-amino-4,6-dinitrotolueeni (2-ADNT) ja 4-amino-4,6-dinitrotolueeni (4-ADNT). Imeytyneet TNT ja sen aineenvaihduntatuotteet erittyvät ureaan. TNT:lle altistumisen jälkeen on havaittu ihon ja limakalvon ärsytystä, maksan toiminnan häiriöitä ja ihon- ja hiusten värin muutoksia. Ei ole todettu, että TNT aiheuttaisi syöpää. TNT aiheuttaa maksa- ja verivaurioita ihmisille.¹⁶ Lievempiä oireita ovat nuha, karhea kurkku, nenäverenvuodot, punoitus, ihovauriot, vatsakatari, pahoinvointi ja oksentelu. Vakavampia myrkytysoireita ovat syanoosi, keltaisuus, aplastinen anemia, kaihi, kuukautishäiriöt ja erilaiset hermostolliset oireet. Akuuttiin TNT myrkytykseen kuuluu yleensä methemoglobinemia, mikä tarkoittaa sitä, että punaisten verisolujen määrä vähenee ja hemoglobiini pitoisuus laskee punaisissa verisoluissa. Tämän aiheuttaa TNT:n hydroksyyliamiinimetaboliitit.

Kasvien versoissa ja maanalaisissa osissa altistusta konsentroituneelle TNT:n vesiliuokselle (20 mg/l) voidaan havaita, jos juuret ovat altistuneet kohonneelle maaperän TNT:n konsentraatiolle.¹⁷ Matojen altistuminen TNT:lle riippuu siitä, minkälaiseen maaperään TNT on jakaantunut, TNT:n kasvupohjasta ja matolajista. Madot ovat vähemmän herkkiä muille räjähdaineille, jotka esiintyvät TNT:n kanssa kuten RDX:lle ja oktahydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-triatsiini:lle (HMX). Madot vähentävät TNT:n pitoisuutta maaperässä. Arvioitaessa saastumisen vaikutusta ihmisiin ja ruokaketjuun, on tärkeä arvioida saasteen biosiirtymistä trofiatasolta toiselle ja ekologisesta ryhmästä toiseen. Konsentraatiosta riippuvat vaikutukset, jotka aiheutuvat TNT:sta, eivät ole verrattavissa vaikutuksiin kasveilla ja maaperässä, koska matriisin ominaisuudet vaihtelevat. TNT:n vaikutuksia kasveihin ja matoihin saastuneissa ja ei-saastuneissa maaperässä on vaikea verrata, koska maaperän liukoisuus on erilainen. TNT:n aineenvaihdunta kasveilla tapahtuu pelkistymisen kautta 2-ADNT:ksi, 4-ADNT:ksi, 2,4-dinitrotolueeniksi ja 2,6-dinitrotolueeniksi (yleisimmät jäännökset maaperässä).

3.3 TNT valmistus

Toisen maailmansodan aikaan TNT oli eniten tuotettu räjähdysaine.¹⁸ Saksassa valmistettiin yli 800 000 tonnia TNT:a. TNT valmistetaan kolmivaiheisella prosessilla, toluenin nitrauksella rikki ja typpihapon avulla (kuva 4.), jolloin lähtöaineena on joko tolueni tai mononitrotolueeni.¹ Hapettavat olosuhteet johtavat moniin sivutuotteisiin mm. substituoiuihin TNT isomeereihin, nitrautuneisiin fenoleihin ja nitrobensoehappoon.¹⁸ Mono-, di- ja trinitrobensoehappo ovat yleisimmät sivutuotteet TNT:n tuotannossa. Koska nitroyhdisteet aiheuttavat akuuttia ja kroonista toksisuutta pohjavesiin, on niiden tuotteiden analysointi tärkeää. TNT:a käytetään puhtaana tai seoksena kranaateissa, miinoissa ja torpedoissa puristettuna räjäyttiminä.¹



Kuva 4. TNT:n valmistus

3.4 TNT reaktiot

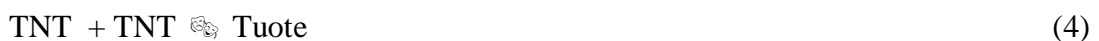
1960 - luvulla TNT:a valmistettiin panosprosessina, joka tuotti runsaasti poistojätettä.¹⁹ Suurin osa poistojätteestä laskettiin pintavesiin vähäisellä esikäsittelyllä, joka yleensä sisälsi selkeytyksen. Kontaminaatio tapahtui prosessitiloissa, prosessivirroissa, selkeytysaltaissa ja deaktivointi alueilla. Suurimmat kontaminaation aiheuttajat ovat TNT, RDX, HMX ja metyyli-2,4,6-trinitrofenyylinitramiini (tetryyli) yhdessä hajoamistuotteiden kanssa. Suurimmat vaarat luonnossa TNT aiheuttaa kontaminoituneessa maaperässä ja pohjavedessä. Räjähdyksvaara aiheutuu mahdollisesta räjähdysen etenemisestä, kun yli 10 % maaperästä saastuu, tai konsentroituneista räjähdysaineen komponenteista.

TNT muuttuu aerobisissa ja anaerobisissa olosuhteissa.²⁰ Kuivassa ja hyvin ilmastetussa maaperässä TNT:n pitoisuus pysyy vakiona hyvin pitkään. TNT ei hajoa, jos sen konsentraatio on yli 100 mmol/kg (maata) (22 mg/kg) viitaten siihen, että suuret konsentraatiot, toksisista vaikutuksista huolimatta, lopettavat mikrobiologisen aktiivisuuden, joka tarvitaan TNT:n muuttamiseen hiilidioksidiksi ja vedeksi. TNT ja sen pilkkoutumistuotteet ovat haitallisia ihmisille ja TNT:n mutaatiot myrkyllisiä kasveille, kaloille, toukille, leville, sienille ja mikro-organismeille. TNT voi pilkkoutua aerobisissa ja anaerobisissa olosuhteissa.

robisissa olosuhteissa. Kun TNT pilkkoutuu aerobisissa olosuhteissa voi muodostua seuraavia pilkkoutumistuotteita: 4-ADNT, 2,4-DANT ja tetranitroatsoksitolueeni. Pilkkoutumistuotteet 4-ADNT ja 2,4-DANT voivat reagoida itsestään hapen läsnäollessa. Tetranitroatsoksitolueenit ovat pysyvämpiä luonnossa kuin alkuperäinen TNT ja joissain tapauksissa myös myrkyllisimpiä.

TNT pilkkoutuu myös anaerobisissa olosuhteissa, tuottaen vähemmän myrkyllisiä pilkkoutumistuotteita kuin mitä aerobisissa olosuhteissa.²⁰ Normaleissa tapauksissa monien eri jäännöstuotteiden seoksia muodostuu sekä aerobisissa että anaerobisissa ympäristöissä. Useasti nämä pilkkoutumistuotteet sitoutuvat sedimentteihin ja maaperään. Pilkkoutumistuotteiden säilymisaika vaihtelee riippuen jäännöstyypistä ja maaperätyypistä. Sitoutumisprosessi maaperässä ja sedimenteissä on vahvistuva ja se on myös riippuvainen mikrobiologisesta aktiivisuudesta. Veden erilaiset kemialliset ominaisuudet eivät vaikuta TNT:n määrään sedimenteissä. Mikro-organismit muuttavat TNT:a käyttäen TNT:n tyyppiä energialähteenä.

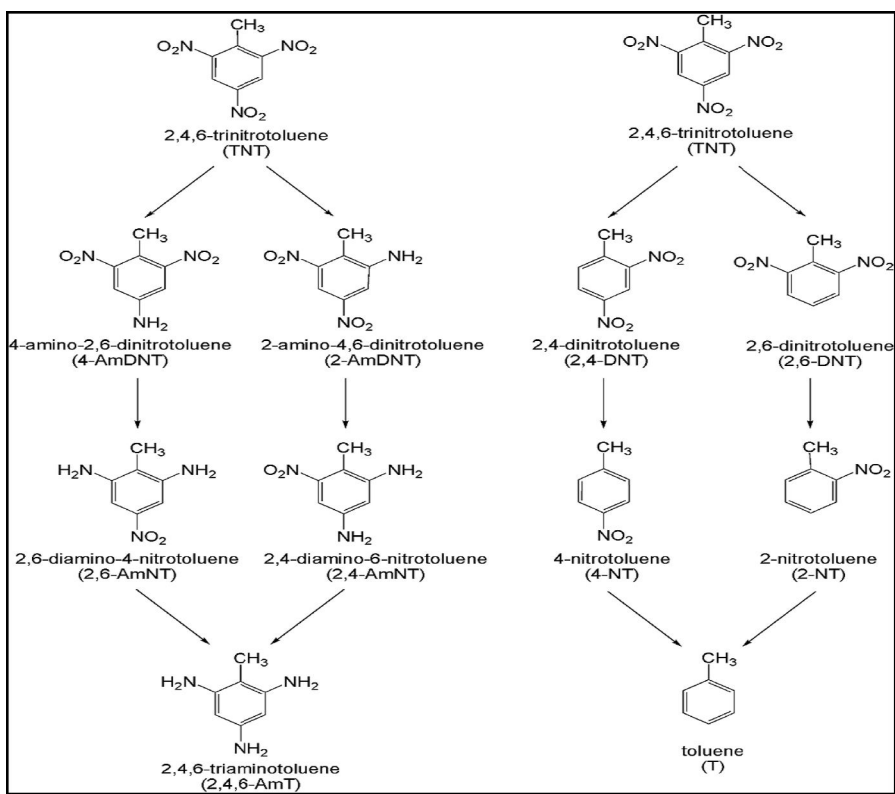
Autokatalyyysi on ilmiö, jossa yksi tai useampi tuote, joka muodostuu reaktiossa, katalysoi reaktiota.²¹ TNT:n autokatalyyysi voi muodostua seuraavalla tavalla (kaavat 1-4).



Autokatalyyysi voi tapahtua sekä maaperässä ja hiekassa, jolloin hajoamisessa tapahtuvia eroja ei voida selittää edellä olevilla reaktiolla.²¹ Lämpötilalla ja lämmitysnopeudella voidaan kontrolloida pilkkoutumistuotteiden syntymisaikaa sekä katalyyysiaktiivisuuden kestoa. Alhaisemmissa lämpötiloissa (150 °C ja 175 °C) tapahtuvat prosessit, joilla on alhaisempi aktivointienergia ja suurempi eksotermisyys ja samalla on tarpeeksi aikaa stabiilien tuotteiden muodostumiseen ja niiden katalyyttiseen toimintaan. Korkeammissa lämpötiloissa (200 °C ja 225 °C) tuotteilla on lyhyempi aika toimia katalyyttinä. Epäpuhtaudet TNT:ssa muuttavat hajoamisen nopeutta. Verrattaessa TNT:n hajoamisnope-

utta hiekassa ja referenssi maaperässä, joihin on lisätty tunnettu pitoisuus TNT:a on hajoaminen referenssi maaperässä nopeampaa 150 °C. Lopullinen hajoaminen maaperässä saavutetaan 80 minuutissa, kun hiekassa se saavutetaan yli 600 minuutissa. Monet yhdisteet kuten mm. H₂O₂ lähteet, joita esiintyy maaperän organisessa aineksessa, kiihdyttävät TNT hajoamisnopeutta.

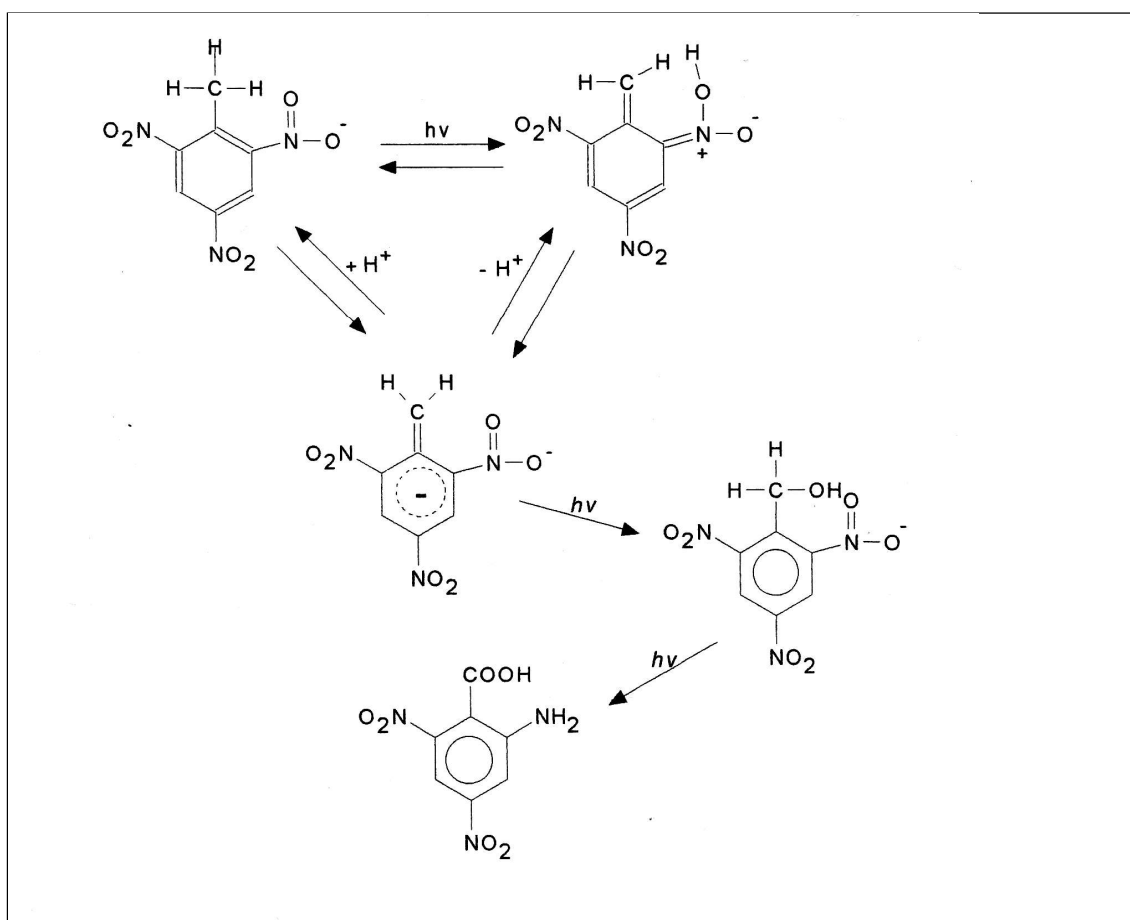
TNT:lla on kaksi mahdollista reaktioketjua hajoamiseen ympäristössä, jolloin saadaan myös kaksi lopputuotetta (kuva 5.).²² 1. reaktioyhtälössä TNT:n hajoaminen etenee pelkistysprosessien sarjana tuottaen laajan hajonnan välituotteita ja lopputuotteena saadaan aminojohdannaisia. 2. reaktioyhtälössä TNT:ssa on epäpuhtauksia (muuta nitroyhdisteitä, jotka ovat tolueni nitrauksen tuotteita). Siksi mono- ja dinitrosuostuoidut välituotteet voivat saastuttaa maaperää ja vesistöjä tolueninitrausprosessin jätteillä.



Kuva 5. 2. Mahdollista hajoamisketjua TNT hajoamiseksi.²²

Fotolysoituvan TNT:n määrä ajanfunktiona on suoraan verrannollinen valon intensiteettiin ja spektraaliseen jakaantumiseen vedessä (kuva 6.).¹⁶ TNT hajoaa helposti ympäristössä amino-, diamino- ja atsoksiyhdisteiksi. Muuntuminen tapahtuu siten, että metyyli-ryhmä hapettuu ja nitroriymät pelkistyvät. Tavallisesti para- nitroriymä pelkistyy ensin hydroksyyliaminoryhmäksi ja seuraavaksi jompikumpi orto-ryhmistä. Hydroksyy-

liaminoryhmät pelkistyvät edelleen aminoyhdisteiksi. TNT:n muuntuminen elimistössä alkaa yhden tai useamman nitroryhmän pelkistymisellä hydroksyyliamiiniksi ja sen jälkeen aminoyhdisteiksi. Lisäksi TNT metyyliiryhmä voi hapettua aminodibentsyylialkoholiksi tai aminodinitrobensoehapoksi. Puolet metaboloituneesta TNT:sta erittyy glukuronideina. Glukuronihappo reagoi joko OH- tai karboksyyliiryhmän kanssa. Luultavasti glukuronit muodostuvat TNT:n hapetuttua trinitrobentsyylialkoholiksi. TNT ei kerääny elimistöön ja suurin osa siitä poistuu virtsan mukana aminoyhdisteinä.

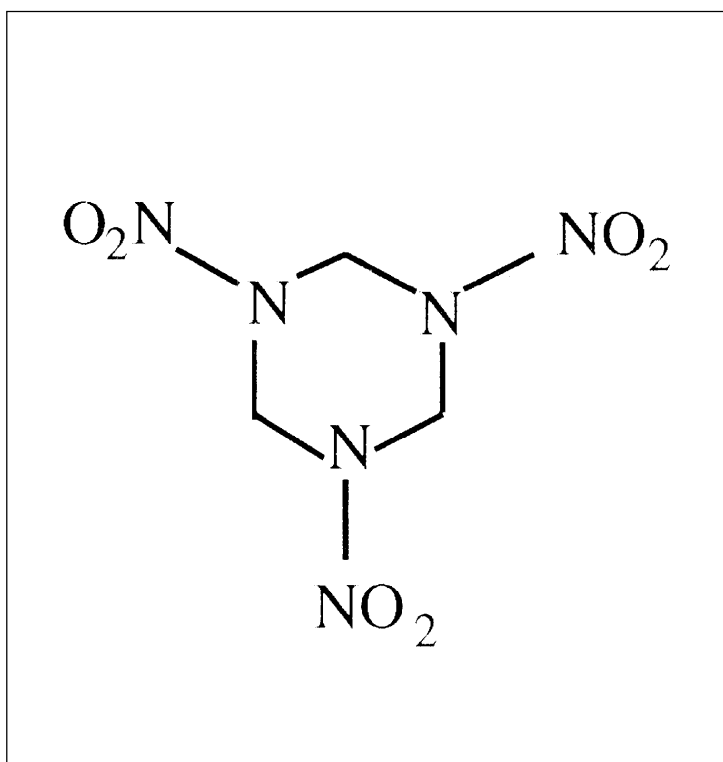


Kuva 6. TNT fotolyysi.¹⁶

4. RDX

RDX:n eli heksogeenin molekyylipaino on 222.26 g/mol ja tiheys 1,82 g/cm³.²³ RDX (kuva 7.) on räjähdekemikaali, jota käytetään laajasti räjähdysaineissa, kranaateissa ja pommeissa. RDX:a ei voida puristaa kokoon ja se on flegmatoitava joko vahoilla tai TNT:lla.¹ RDX muodostaa polymeereihin sekoitettuna muovisidosteisia räjähdysaineita. RDX on liukoinen asetoniin ja asetonitriiliin, niukkaliukoinen eetteriin ja etanoliin ja ei-

liukoinen veteen.¹⁰ ss.174-177 RDX valmistetaan heksametyleenitetramiinia nitraamalla käyttäen konsentroitua typpihappoa. Konsentroitunut reaktioseos kaadetaan kylmään veteen ja tuote saostuu ulos. Kolmen metyleeniryhmän täytyy tuhoutua tai irrota hapettumalla. RDX patentoitiin Saksassa vuonna 1899 lääkkeenä ja 1920 Englannissa räjähdysaineena.¹¹ RDX:lla on suuri tiheys ja detonaationopeus ja se on tehokkaampi räjähdysaine kuin TNT, mutta myös kalliimpi. RDX on epäherkkä ja stabiili. RDX:lla on korkea sulamispiste, minkä takia sitä ei voida valaa. RDX:n ominaisenergia on 1375 kJ/kg ja detonaationopeus on 8750 m/s.



Kuva 7. RDX eli 1,3,5-trinitro-1,3,5-triatsiini.⁹

RDX:n fotolyysi tapahtuu 1. asteen reaktionopeudella.¹⁶ Fotokemiallinen hajoamisnopeus on kääntäen verrannollinen veden syvyyteen. Hajoamisnopeuteen vaikuttaa myös vuodenaikojen mukaan vaihtelevat veden absorptiviteetti ja UV-säteilyn intensiteetti. Vesiliuoksissa RDX mineralisoituu täysin ja tuotteina ovat NO, N₂, N₂O, CO, CO₂, H₂O ja H₂ sekä nitriitit, nitraatit, ammoniakki ja formaldehydi. Mikrobit eivät pysty hajottamaan RDX:a aerobisesti. Hapettomassa tilassa biomuuntuminen on merkittävää, jos saatavilla on orgaanisia ravinteita. RDX:n nitroryhmät pelkistyvät nitrosoryhmiksi. RDX:n biologiset hajoamistuotteet ovat suurempi ympäristöhaitta kuin RDX itse, koska välituotteet ovat myrkyllisiä. Välituotteena syntyy metanolia, formaldehydiä, hydratsiineja ja nitrosoyhdisteitä.

RDX:n imeytyminen elimistöön on hidas prosessi mihin vaikuttaa lisäksi se, missä olomuodossa RDX on.¹⁶ Jauhemainen RDX on myrkyllisempää kuin rakeinen. RDX leviää elimistöön aina samalla tavalla riippumatta annoksesta ja altistustavasta. RDX voi kerääntyä myös munuaisiin, sydämeen ja aivoihin ja RDX aiheuttaa keskushermostoon myrkytyksiä. Ihmisillä oireet ovat yliärtyneisyys, lihasten nykiminen, epileptiset kohtaukset, sekavuus ja muistinmenetykset. RDX aiheuttaa myös veri- ja maksavaurioita.

5. Seosräjähdysaineet

RDX ja TNT yhdessä muodostavat seosräjähdysainetta heksotolia, joka on yleisin sotilasräjähdysaine.^{6, ss.148-149} Käytetyin seossuhde on 60 % (RDX) / 40 % (TNT). Seos on räjähdysaineena RDX:a heikompi ja TNT:a voimakkaampi. Korkeampiin heksogeenipitoisuuksiin päästään valamalla erikoismenettelyin, jossa on merkitystä RDX:n raekoolla ja kokojakaumalla. Heksotolista valmistetaan tuotteita sekä valamalla että puristamalla eri käyttötarkoituksiin. Heksotolivalussa sulatetaan TNT ja sekoitetaan siihen hienojakoinen RDX, jolloin saadaan valukelpoinen puuomainen massa. RDX:n määrän kasvaessa seos ei ole enää valukelpoinen, vaan joudutaan käyttämään puristustekniikkaa. Heksotolia käytetään ontelopanosten, kranaattien, ohjusten ja miinojen räjähdysaineena sekä puristettuna räjäyttiminä kranaateissa ja räjäytysnalleissa. Heksogeenista johdettuja seosräjähdysaineita ovat heksaali ja heksotonaali, joka koostuu RDX:sta, TNT:sta ja alumiinista. Seossuhteen ollessa mm. 42/40/18 % saadaan ammustäytteenä käytettävä valukelpoinen räjähdysaine. Heksataali sisältää RDX:a, alumiinijauhetta ja vahaa. Muovaittavina räjähdysaineina käytetään RDX:a ja pentriittiä, joihin lisätään vahaa. M-heksogeeni on sidosaineiden avulla muovaittavaksi tehtyä RDX:a.

Amatoli on ammoniumnitraatin ja TNT:n seos, jossa yleisimmin käytetty seossuhde on 60 % / 40 %.^{6, ss.148-149} Ammoniumnitraattia käytetään amatolissa TNT:n säästämiseksi ja seoksen happitasapainon lisäämiseksi TNT:n täydellisempää palamista varten. Seos valmistetaan lisäämällä hienojakoinen ammoniumnitraatti sulaan TNT:n. Tuloksena on puuomainen massa, joka voidaan valaa. Suurentamalla ammoniumnitraatin osuutta yli 40 %:n seos ei ole enää valukelpoinen. Ammoniumnitraatti on hygroskooppinen ja veden liukeneva. Ammoniumnitraatin kidemuoto muuttuu alhaisissa lämpötiloissa, minkä

takia amatolin räjähdysainekoostumuksella on taipumusta muuttua jatkuvasti varastoinnin ja käytön aikana. Amatolia voidaan käyttää kranaattien, miinojen ja pommien ammustäytteenä. Koska amatoli on hygroskooppinen ja veteen liukeneva, voi ammoniumnitraatti kulkeutua kuoren ulkopuolelle, mistä johtuu ammuskuoren korroosio.

6. Räjähdysaineiden määrittäminen eri menetelmillä

6.1 Räjähdysainenäytteen käsittely

Vesinäytteiden puhdistus suoritetaan yleensä neste-neste- tai kiinteäfaasiuutolla.⁴ SPE:ssä analyytti adsorpoituu kiinteään faasiin nesteestä ja analyytti edelleen vapautetaan sopivaan liuottimeen. SPE tehdään pienissä kolonneissa, jotka on esipakattu uuttoaasilla. Uutto voidaan tehdä saatavilla olevilla poolittomilla ja poolisilla aineilla, ioninvaihtoon perustuvilla aineilla sekä erikoismateriaaleilla. Poolittomat ja pooliset uuttomenetelmät perustuvat adsorptioon. Adsorptiokyky perustuu siihen, että kiinteän aineen pinnassa on atomeja tai molekyyliä, joilla on käyttämättömiä valenssielektroneja, joilla ne voivat kiinnittää vieraita molekyyliä. Adsorpoituminen tapahtuu yleensä ilman kemiallista reaktiota. Sen aiheuttavat fysikaaliset ja Van der Waalsin voimat. Siinä molekyylien välillä vallitsee vetovoima, jotka ovat yhteydessä aineen dipoliominaisuuksiin. Aine voi tarttua adsorbenttiin myös kemiallisin sidoksin. Aine on tällöin kemiallisella sidoksella kiinni adsorbentissa, jolloin se on paljon lujemmin kiinni kuin fysikaalisin voimin. Kemiallisen sitoutumisen aiheuttavat mm. vetysillan muodostuminen, dipoli-voimat, dispersiovoimat, ionivoimat, koordinaatiovoimat ja kelaattikompleksien muodostuminen. Adsorbentin täytyy myös luovuttaa aineet liuottimeen kuljetettavaksi. Yleensä ei kannata tehdä näytteen esikäsittelyä samalla faasilla kuin varsinaista HPLC ajoa, koska tällöin ei saada parasta mahdollista puhdistustulosta aikaiseksi.

Uuttaminen räjähdysaineille SPE:n avulla tapahtuu metodin 3535 mukaan.²⁴ SPE:tä kutsutaan myös nestekiinteäuutoksi (LSE). Menetelmä toimii vesinäytteillä (pohjavesi, jätevesi ja järvesi) ja se soveltuu myös puolihaihtuville tai uutettaville yhdisteille. Menetelmä ei sovellu korkean pitoisuuden yhdisteille, joilla on liettynyttä kiinteää ainetta enemmän kuin 1 %. Kohdeanalyytit eluoituvat patruunassa olevasta kiinteästä faasista käytettäessä sopivaa liuotinta esim. asetonitriiliä, joka kerätään vastaanotokammioon. Räjähdysaineita ei kuivata enempää, koska ne hajoavat. Soxhlet uutto suori-

tetaan metodin 3540 mukaan.²⁵ Soxhlet uutto sopii hyvin maaperä- tai sedimenttinäytteille. Soxhlet uutossa näytematriisi pääsee erittäin läheiseen kontaktiin uuttoliuoksen kanssa. Menetelmä sopii veteen liukenemattomien ja heikosti veteen liukenevien aineiden esikäsittelyyn näytteen eristämiseksi ja konsentroimiseksi kromatografista prosessia varten. Uutto tapahtuu siten, että kiinteä näyte sekoitetaan natriumsulfaattiin ja uutetaan Soxhlet uutolla. Sisäinen standardi lisätään ennen uuttoa näytteeseen. Uutetaan 16-24 h, 4-6 sykliä/h. Uutos kuivataan, konsentroidaan ja jos tarvetta niin puhdistetaan sekä määritetään.

UltraäänIUutto metodi jaetaan kahteen osaan, alhaisen konsentraation ja korkean konsentraation menetelmään.²⁶ Alhaisen konsentraation menetelmä suoritetaan, kun analyysin pitoisuus on 20 mg/kg tai vähemmän. Tällöin käytetään suurta näyte kokoa ja kolmen uuton sarjaa. Keskitason/korkean konsentraation menetelmää (yli 20 mg/kg) käytetään pienemmille näytteille yhdellä uutolla. Koska liuottimella ja näytteellä on rajoitettu kosketusaika, ultraäänIUutto ei ole niin tarkka kuin muut uuttometodit maaperälle. Sen vuoksi on tärkeää, että menetelmää noudatetaan tarkasti, jotta saavutetaan maksimi uuton tehokkuus. Alhaisen konsentraation menetelmässä näyte sekoitetaan vedettömään NaSO₄. Seos uutetaan kolme kertaa liuottimella käyttäen ultraäänIUuttoa. Uutos erotetaan näytteestä vakuumisudatuksen tai sentrifugin avulla. Näytteen käsittely korkean konsentraation pitoisuuksille suoritetaan muuten samoin, mutta käytetään vain yhtä uuttoa kertaa. Näytteen esikäsittely sedimentti ja maaperänäytteille suoritetaan poistamalla kaikki vesi ja vierasesineet kuten lehdet, kivet ja tikut sedimentti näytteestä.

Konsentroivassa uuttotekniikassa 150 g ilmakeivattua maaperänäytettä sekoitetaan 1 l uuttoliuosta (175 ml ACN + 825 ml ultrapuhdasta vettä (MQ-vettä)).²⁷ Näytteet asetetaan lämpötila kontrolloituun ultraäänIhauteeseen 4 °C ja uutetaan 18 h. Pullon pohjalle kerääntynyt sakka sekoitetaan uudelleen. Kyllästettyä CaCl₂ liuosta (10 ml) lisätään jokaiseen pulloon uuton jälkeen saostamaan jäljellä olevat irtonaiset partikkelit. Lietteet sekoitetaan ja annetaan tasoittua 10 minuuttia. Uutokset kaadetaan kolviin, joka sisältää 250 g NaCl, ja sekoitetaan 1 h. Suolaliuoksen annetaan tasoittua 30 minuuttia faasien erottumiseksi ja ylempi ACN kerros siirretään 20 ml sentrifugiputkeen. Puhdasta ACN:ä lisätään 5 ml, jotta suola/maa-aines seos uudelleen uutuisi. ACN uutosta käytetään räjähdysainepitoisuuksien määrittämiseen maaperästä.

6.2 U.S. EPA Metodi 8330

U.S. EPA:n (United states environmental protection agency, USA:n ympäristön suoje-luvirasto) Metodi 8330 käsittelee räjähdysaineiden tutkimista HPLC menetelmällä.²⁸ Menetelmällä saadaan määritettyä räjähdysaineita vedestä, maaperästä ja sedimenteistä. Pienille konsentraatioille (ng/l) käytetään ulossuolausuutto menetelmää. Suurille kon-sentraatioille käytetään suoraa injektointia tai laimennosta. Vesinäytteiden uuttamiseksi voidaan käyttää myös SPE:tä. Uutto tapahtuu asetoniitriilillä ja natriumkloridilla. Kon-sentroitunut uuttoliuos laimennetaan 1:1 veteen. HPLC laitteiston kolonnina käytetään C-18 käänteisfaasikolonnia, UV-detektorin mittausaallonpituutena 254 nm ja toisena kolonnina CN käänteisfaasikolonnia. Liikkuvana faasina metanoli ja vesi (50 % : 50 %), virtausnopeus 1,5 ml/min ja injektointitilavuus 100 μ l. SPE metodina käytetään meto-dia 3535. Näytteet säilytetään jääkaapissa alle 6 °C. Pitoisuudet lasketaan piikin pinta-alan tai korkeuden mukaan.

6.3 Räjähdysaineiden määrittäminen ilmasta

SPE-materiaaleja on harvoin käytetty näytteiden keräämiseen ilmasta.²⁹ Analyytit, jotka imeytyvät SPE materiaaliin, vapautuvat käytettäessä orgaanista liuotinta ja saatu uutis vaatii yleensä jälkikäsittelyn, esim. puhdistuksen tai liuottimen pelkistykseen riippuen analyysistä. Kerättäessä räjähdysaineita ilmasta ylikriittisellä uutolla (SFE) vähennetään orgaanisen liuottimen määrää, uutetaan näytteet nopeammin ja yksinkertaistetaan ana-lyytin konsentroitua ja puhdistusta. Huokoinen grafiittihiili (PGC) säilyttää hyvin rä-jähdysaineet ja se on soveltuva mekaanisilta ja kemiallisilta ominaisuuksiltaan ylikriit-tisten nesteiden kanssa. Kriittisin vaihe ylikriittisessä uutossa on saada analyytit pyydys-tettyä uuton jälkeen. SFE:n ja PGC:n yhdistelmä kohottaa selektiivisyyttä koko määri-tyksessä.

SPE, SFE ja PGC-kolonne voidaan yhdistää suuren tilavuuden injektorin (LVI) ja GC systeemiin sekä typpi-fosfori (NP) detektoriin.²⁹ Ilmanäytteenotto suoritetaan Nexus SPE patruunoiden avulla. Patruunat sisältävät 30 mg ultrapuhdasta polymeeriä. Virtaus-nopeus asetetaan 3 l/min. Kaksi päätekijää menetelmässä ovat analyyttien sorptio ja desorptio, jota seuraa kiinteäfaasiuutto. Liuottimia on verrattu toisiinsa vertailemalla niiden kykyä sitoa analyyttiä (yli 85 %) niin pienessä tilavuudessa kuin mahdollista ja

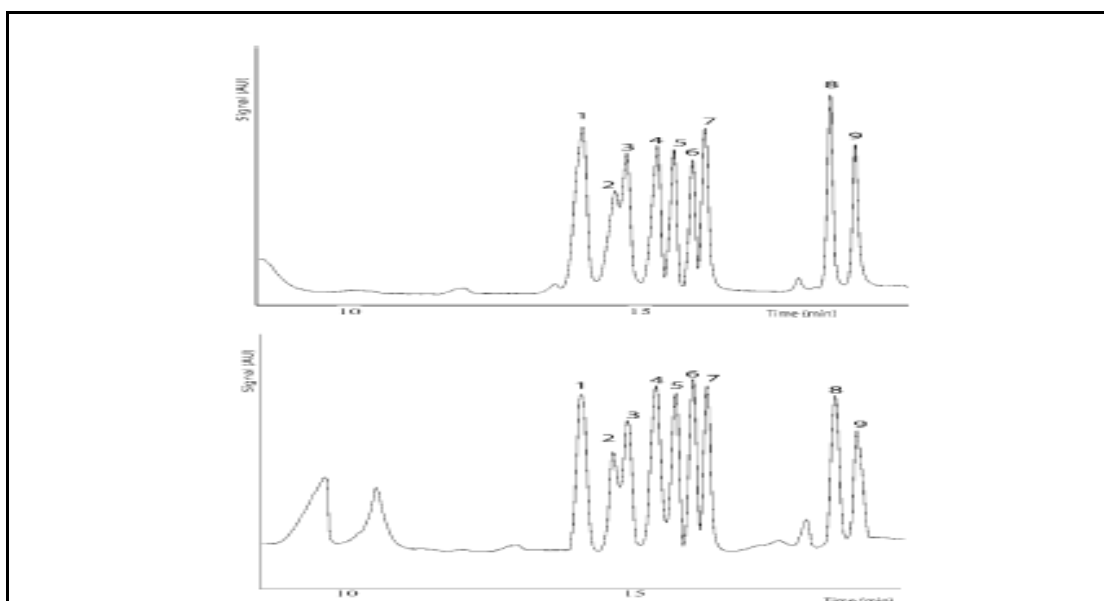
välttämällä useampia konsentroidin vaiheita. Viittä eri liuotinta on arvioitu (dikloorimetani, Metyyli-tert-butyylieetteri (MTBE), metanoli, tolueni ja tetrahydrofuraani (THF)) pumppamalla 10 ml standardi vesiliuosta nopeudella 2 ml/min PGC kolonnin läpi. ACN:ä ei arvioitu, koska se ei sovellu yhteen NP-detektorin kanssa, jota on käytetty GC analyysissä. Vesi on valittu siksi, koska se ei voi eluoida analyyttejä loukusta pois. Desorptioliuos pumpataan patruunan läpi 1 ml/min virtausnopeudella. Kerrokset on kerätty 30 s välein 3 minuutin ajan, uutokset haihdutettu kuiviin ja analyytit uudelleenliuotettu lisäämällä 0,6 ml toluenia ja analysoimalla GC:lla.

Paras tulos on saatu THF:lla, joka desorboituu ja eluoituu ensimmäisenä.²⁹ Lopullisessa menetelmässä kerrokset on kerätty 6-18 s välillä ja lopullinen tilavuus on 200 μ l. Injektointi lämpötila ja paine vaikuttavat LVI systeemin suorituskykyyn ja injektointi tulee suorittaa suurin piirtein samassa lämpötilassa kuin liuottimen painekorjattu kiehumispiste. Liian alhaisessa tai korkeassa lämpötilassa liuotin ja liuennut analyyyti saavuttavat esikolonnin ja tuottavat vääristyneen piikin. Optimi injektointilämpötila on 108 °C. Injektointitilavuuksia 15, 50, 100 ja 500 μ l on arvioitu toistettavuuden kannalta (n = 6). Suorituskyky on hyväksyttävä 100 μ l asti ja tällä on paras herkkyys ja hyvä kromatogrammin muoto (kuva 8.), kun tulokset laskettiin piikin pinta-alan mukaan.

Koska on suuri määrä muuttujia, jotka vaikuttavat SFE uuton tehokkuuteen, monimuuttujaista optimointia tarvitaan.²⁹ Paineella, lämpötilalla ja ylikriittisen nesteiden massalla dynaamisessa uutossa on positiivisin vaikutus. On tutkittu myös määrätteen lisäystä. ACN, tolueni, THF, MTBE tai metanoli lisätään matriisiin joko staattisen moodin (50 μ l modifioijaa 1 ml uuttoa kammioon) tai dynaamisen moodin (sekoitettuna 2 tai 5 % (v:v) modifioijaa ylikriittisen nesteiden kanssa) avulla. Paras tulos keskimääräisen saannon perusteella saavutetaan käyttäen 5 % toluenia staattisena modifioijana ja MTBE dynaamisena modifioijana. Staattisen modifioijan päärooli on vähentää analyysin ja matriisin vuorovaikutusta. Dynaamisen modifioijan vaikutukset liittyvät CO₂:n polaarisiin muutoksiin, muuttuvaan analyysin liukoisuuteen ja tällöin uutoksen saantoon.

Lämpötila on merkittävin ja sen jälkeen staattinen ja dynaaminen modifioija ovat toiseksi tärkeimmät uuttoa vaikuttavat tekijät.²⁹ Tarkkuus alenee, kun pitoisuus on saavuttanut menetelmän havainnointirajat. Menetelmän toteamisrajaa (MDL) määritettäessä

sä 10 patruunaan lisättiin 5 ng jokaista analyyyttiä ja MDL laskettiin keskihajonnan avulla 10 toistosta ja kaksisuuntaisen t-arvon avulla, 9 vapausasteella, 95 % luottamustasolla. Tuloksia voitaisiin parantaa pitemmillä näytteenkeräys ajoilla. Lopulta analysoidaan oikeita näytteitä. Menetelmä oli toistettava, havainnointirajat alhaiset ja kaiken kaikkiaan se oli toimiva kokonaisuus. Suhteellinen keskihajonta optimoidulle menetelmälle on määritetty 4,3 - 7,7 %:ksi. Menetelmän toteamisrajaksi saatiin 0,06-0,36 ng näytteenkeräys patruunasta, joka oli verrannollinen 6,2-36,4 pg/litrassa ilmaa, näytteenkeräys määränä oli 10 l.



Kuva 8. LVI kromatogrammi a) standardi THF liuos b) SFE uutostoiminnasta SPE patruunoista. Piikit: (1) 2,6-DNT, (2) 1,3-DNB, (3) 2,5-DNT, (4) 1,2-DNB, (5) 2,4-DNT, (6) 2,3-DNT, (7) 3,5-DNT, (8) TNT, and (9) TNB.²⁹


Räjähdysaineita ilmasta voidaan tutkia myös keräämällä näytteet lasikuitu suodattimelle tai polyuretaani vaahtomuoville (PUF) ja käyttämällä ajantasaista uuttolaitteistoa (on-line) yhdistettynä SFE:n ja HPLC laitteistoon.³⁰ Tämä sallii sen, että analyytit siirtyvät HPLC systeemiin huokaisen grafiittihiili sitojan läpi. Käytettäessä gradienttieuutiota sopivalla liikkuvalla faasilla, suurin osa nitroaromaattisista isomeereistä saadaan erilleen. Tarkoituksena on ollut kehittää sopiva on-line kytketty SFE-HPLC systeemi ja tutkia on-line menetelmän suorituskykyä, uuttamalla ja analysoida räjähdeaineita, jotka on kerätty lasikuitusuodattimelle ja polyuretaani vaahtomuoville ilmasta. Lasikuitusuodatin on käsitelty ennalta ultraäänihauteessa 20 minuutin ajan metanolilla, asetonilla ja dikloorimetaanilla. PUF absorboijat on keitetty vedessä 4 h ja sitten Soxhlet uutettu dikloorimetaaniin 24 h ajan.

Ylikriittisen nesteuuton nopeutena on 0,5-7,0 ml/min.³⁰ Kolonnin lämpötila on 60 °C ja analyytit on erotettu kromatografisesti ja eluoitu lineaarisesti 15 min gradientti ajolla, jossa ajoliuksina ovat MQ-vesi ja ACN/propanoli - seos, UV-detektorin aallonpituutena 254 nm ja virtausnopeutena 0,8 ml/min. Erilainen jakaantuminen hajottavissa voimissa, Lewisin happo-emäs ja dipolaarisissa vuorovaikutuksissa analyytin ja grafiittisen pinnan välillä saavutetaan vaihtelemalla liikkuvan faasin suhdetta. SFE olosuhteita valittaessa neljän parametrin (uuton paine, uutto lämpötila, staattisen ja dynaamisen uuton kesto) vaikutusta uuton tehokkuuteen on tutkittu lasikuitusuodattimilla ja PUF imeyttäjillä. Kahta eri modifioijan lisäystä on käytetty: staattista tai dynaamista. SFE lasikuitusuodatin ja PUF, ACN ja asetonin antoivat korkeimmat uuttosaannot.

Määritettäessä havainnointirajoja suodattimiin lisättiin 100 ng analyyyttiä.³⁰ Keskijajonta on laskettu 95 % luottamusvälillä, jolloin on saatu pitoisuudet ng-tasolle. Oikeat näytteet kerättiin 15 min aikana virtausnopeudella 4 l/min astiaan, joka sisälsi 10 g TNT:a 20 °C lämpötilassa. TNT on havaittu kaikilla suodattimilla. Räjähdyksineiden jakaantuminen suodattimelle ja PUF välillä on riippuvainen höyryn paineesta. Menetelmällä on saavutettu hyvä toistettavuus SFE-HPLC PGC loukulla ja korkea sietokyky eri modifioijia ja lisäaineita kohtaan. Menetelmä on tehokas ja nopea. SFE-HPLC etuna on myös vähäisempi näytteen käsittely, suurempi tarkkuus ja automatisointi.

C₁₈-kiinteäfaasiuutto kalvoa on käytetty alhaisissa konsentraatioissa olevien nitroaromaattisten yhdisteiden näytteenotossa ilmasta.³¹ Näytteenoton jälkeen analyytit, jotka on sidottu kalvolle desorboituvat (suoraan kytkettynä) kromatografian liikkuvaan faasiin. Analyytit erotellaan sen jälkeen huokoiseen grafiittihiileen HPLC kolonnissa. Lopulta ne analysoidaan LC-MS/MS detektorilla, johon on liitetty ilmanpaine kemiallinen ionisaatio (APCI). Näytteitä pystytään varastoimaan C₁₈ kalvolle ilman hävikkiä tai pitoisuuden alenemista. Menetelmä sallii näytteenoton 15 l/min virtauksella ja sen määrittämissä rajat ovat fg/l ja keskijajonta alle 10 %. Menetelmän etuna on se, että TNT ja DNT isomeerit saadaan eroteltua. Näytteenkeräys on suoritettu aktiivisen moodin avulla. Virtausnopeus oli 20 l/min, jolloin näytteenotto kapasiteetti on 15 l/min membraanin vastapaineen ansiosta.

Ajoliuoksina käytetään vesi 50 %, ACN 40 % ja metanoli 10 %-seosta sekä metanoli 73 %, ACN 25 % ja tolueni 2 % - seosta.³¹ Massaspektrometriin kytkettiin APCI, jota operoitiin negatiivisella ionisaatio moodilla. APCI anturin lämpötila oli 300 °C. Jokaiselle analyylille valittiin se arvo, jolla oli suurin signaali-kohina suhde. Kolonnina oli 30 m* 0,25 mm DB-1701 analyyttinen kolonni ja detektorina termoionidetektori. Ilmanäytteenotosta on saatu suurempi näytteenottovirtaus kalvoilla kuin mitä tavallisilla patruunoilla. Verrattaessa näytteen säilyvyyttä ei havaittu eroa siinä analysointiin näytteet heti vai kolmen viikon jälkeen eikä havaittu eroa myöskään säilytysolosuhteiden välillä.

Monia menetelmiä on käytetty yritettäessä parantaa piikin muotoa; on mm. yritetty käyttää alhaisen pitoisuuden orgaanisia liuottimia, mutta näillä ei ole saavutettu parannusta.³¹ PGC menetelmä eroaa normaalista käänteisfaasikolonnista. PGC:en grafiittinen pinta voi olla vuorovaikutuksessa analyytin kanssa  ja polaaristen vuorovaikutusten kautta reagoiden molekyylien vapaiden elektroniparien kanssa. Tässä tapauksessa sidokset eivät muodostu molekyylien kanssa kunnolla, jolloin suurin osa aineista jää C₁₈ SPE kalvolle. Piikin muotoa voitaisiin parantaa optimoimalla desorptio kennon geometriaa ja kohottamalla lämpötilaa. Menetelmän suorituskykyä on arvioitu vertailemalla C₁₈ SPE kalvoa ja Tenax TA (lämpötila desorptio) kalvoja (taulukko 1.). LOD on arvioitu 95% luottamusvälillä ja LOD-arvot ovat taulukossa 2. 2,4-DNT LOD:sta on voitu päätellä, että 15 l/min keräysvauhdilla 20 s näytteenkeräys oli riittävä. Tenax TA näytteen keräysputkella 2 l/min oli hyvä nopeus ja C-18 SPE 15 l/min. Menetelmien välillä ei ollut muuten eroa. Menetelmä on toistettava ja nopea sekä RSD oli alle 10%. Määrittäysrajat olivat fg tasolla.

Taulukko 1. Vertailu eri kalvojen välillä

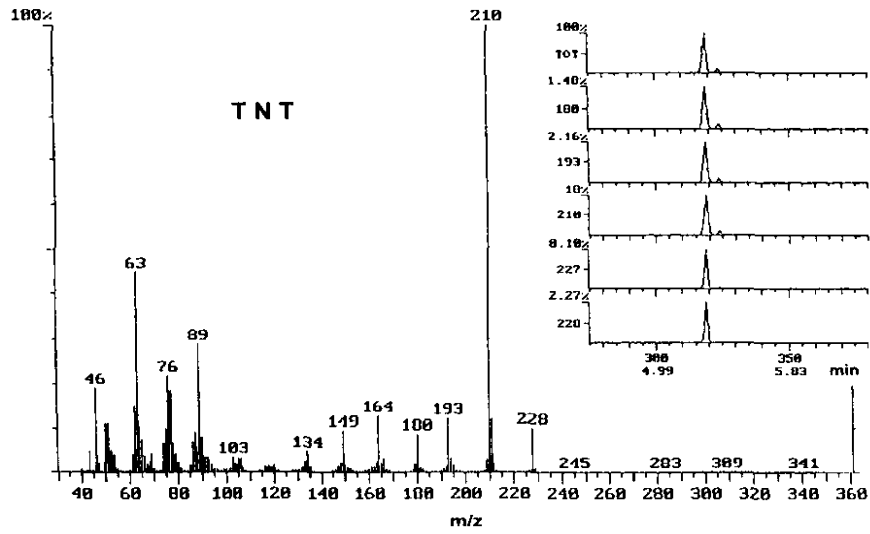
	C 18 kalvo			TA kalvo		
	k.a	RSD %	t-arvo	k.a	RSD %	F-arvo
2,4-DNT	0,42 ng/l	5,7	0,73	0,45	3,1	4
TNT	0,45	7,5	2,27	0,36	2,1	2,25

Taulukko 2.LOD ja RSD mittaustulokset

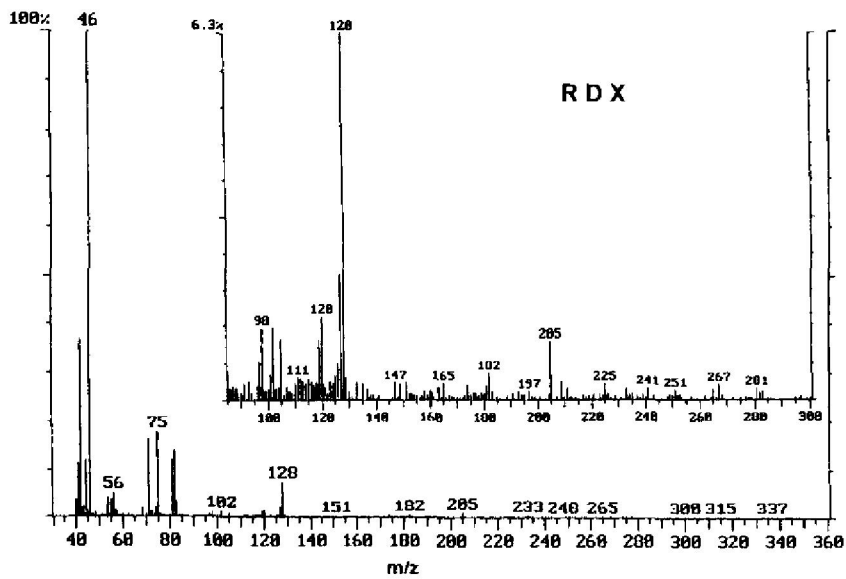
	LOD, [ng]	RSD [%]	
		15 ng	150 ng
TNT	0,6	5	3
2,4-DNT	0,3	1	3

6.4 Räjähdyksaineiden määrittäminen vedestä

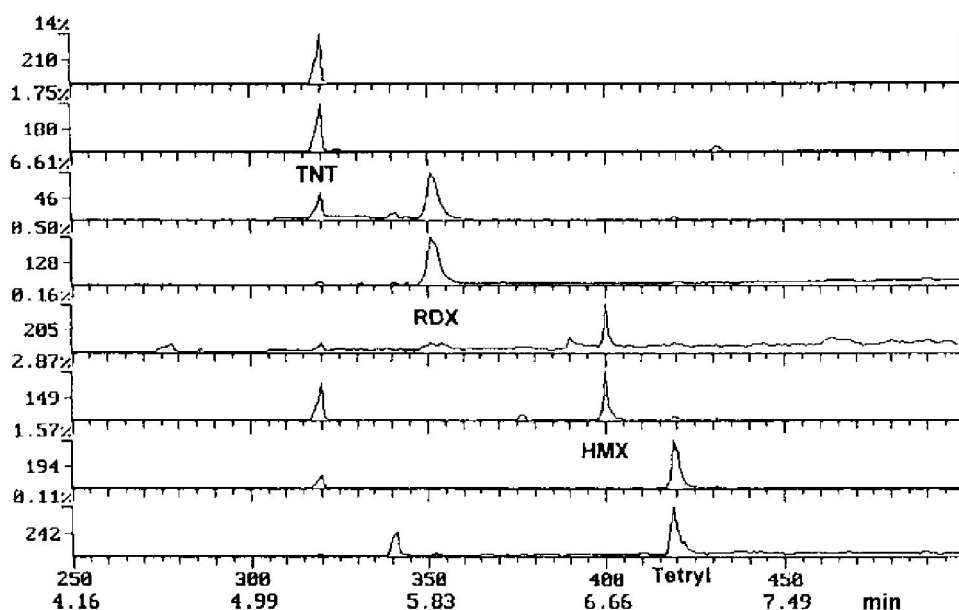
GC- MS, jossa on jäähdytetty lämpötilaohjelmoitu injektor, on käytetty räjähdysaineiden pg pitoisuuksien analysointiin vedestä.³² Vedestä analysoitiin TNT:a, Tetryliä RDX:a, HMX:a, pentaerytritolitetranitriittiä (PETN) ja muita dinitrotolueenin isomeereja eli räjähdysaineiden ainesosia. Lämpöhajoaminen on erittäin vähäistä jopa lämpötila labiileilla yhdisteillä. Vesistöistä on voitu havaita 5-100 ppb räjähdysaineita ja tunnistaa ne. Analysoitavat näytteet on valmistettu vedestä, johon oli lisätty eri pitoisuuksia räjähdysaineyhdistelmiä. Räjähdeaineet on uutettu tämän jälkeen vedestä neste-neste uutolla metyleenikloridin avulla. Metanolin lisäyksen jälkeen metanoli liuotetut uutokset on konsentroidu 100-kertaiseksi ja syötetty GC systeemiin. Tyypillisessä TNT elektronisaatio (EI) massaspektrissä peruspiikki on m/z 210, koska OH ryhmä lähtee pois molekulaarisesta ionista (kuva 9.). Pääionit RDX:n massakromatogrammissa ovat kohdalla m/z 128, ($[M-2HNO_2]^+$, m/z 75 ($[CH_3NNO_2^+]$) ja m/z 46 ($[NO^+_2]$) (kuvat 10. ja 11.). GC-MS 15 m kolonnia ja lämpötila ohjelmoitua injektoria voidaan käyttää räjähdysaine jäämien määrittämiseen ppb tasolla. Tunnistus perustui tyypillisiin ionin osasiin räjähdysaineissa.



Kuva 9. TNT:n massakromatogrammi ja massaspektri.³²



kuva 10. RDX massaspektri.³²



Kuva 11. TNT ja RDX massakromatogrammi samassa kuvaajassa (neste-neste uutto vedestä (100-kertainen konsentroidi) räjähdainesyhdistelmä).³²

Räjähdysaineita on määritetty vedestä myös HPLC laitteella.³³ TNT, hydroksyyliaminodinitrotolueeni (HADNT), dihydroksyyliaminonitrotolueeni (2,4-DHANT), aminodinitrotolueeni (ADNT), atsoksi- ja atso-ryhmien erottumista on tutkittu HPLC laitteella saman ajon aikana. HPLC laitteessa on käytetty diodirivi detektoria ja C-8 kolonnia. Injektioitilavuutena 10 μ l ja kolonnin lämpötila-alueena 35 – 55 °C. Organisena liikkuvana faasina on käytetty metanolia. Vedellisenä liikkuvana faasina on käytetty natriumfosfaattipuskuriseosta (Na₂HPO₄). Gradientissa oli virtausnopeutena 1 ml/min ja aallonpituutena 254 nm. TNT metaboliittien erottumista on tutkittu vertaamalla eri kolonneja toisiinsa (C-8, C-18) sekä varmennuskolonnia ja liikkuvaa faasia muuttamalla. Optimointia on jatkettu myös muuttamalla lämpötilaa ja ioniparireagenssia.

Lämpötilan nosto 35 °C → 55 °C ioniparin läsnäollessa on aiheuttanut erottumisajan alenemisen.³³ Lämpötilassa 37 °C suhteellinen keskihajonta ja instrumenttien välinen hajonta on kasvanut. Siksi lämpötila 37 °C on valittu parhaiten soveltuvaksi lämpötilaksi. Resoluutio parantui $R_s > 1,3 \rightarrow R_s \geq 1,4$, kun lämpötila nousi 37 °C → 52,5 °C. Lämpötilan nosto 44 °C parantaa erotuskykyä. Ioniparireagenssin käyttö parantaa selektiivisyyttä, mutta hidastaa kolonnin tasapainon saavuttamista. Toistettavuustasoa on tutkittu

37 °C ja 52,5 °C lämpötiloissa ilman ioniparireagenssia ja 44 °C ioniparireagenssin kanssa. Hyvä toistettavuus ja suorituskkyky on havaittu kaikilla kolmella edellä mainitulla olosuhteella. EPA 8330 ongelma oli DNT:n ja ADNT:n yhdessä eluoituminen käytettäessä C-18 kolonnilla. Käytettäessä C-N kolonnilla yhdessä C-18 kolonnin kanssa ongelma saatiin häviämään.

TNT:a on määritetty jätevesistä tolueni uutolla toluenin nitrausprosessilla.³⁴ Määrittäykseen vaikuttavia tekijöitä ovat uutun lämpötila, liuostilavuus suhteessa jäteveteen, ravisteluaika, jäteveden happamuus ja uutun eri asteet. Jätevedestä on tutkittu kokonaisorgaanista hiilen määrää (TOC). TOC:n määrä kohoaa, kun uutun lämpötila kohoaa. Suuri liuostilavuus suhde (tolueeni/jätevesi) ja jäteveden alhainen happamuus muuttavat TOC saantoprosenttia. Nitrotolueenit saadaan lähes kokonaan määritettyä kolmivaiheisella tolueni-uutolla 12 minuutin ravisteluajalla ja pH:ssa 3,0. Näytteet on esikäsitelty autoklaavissa (303-333 K) lisäämällä toluenia. Uutto on suoritettu 6 minuutin aikana. Uutokset on määritetty kaasikromatografialla, jossa on liekki-ionisaatio detektori (FID).

Mittauksen muuttujina ovat ravistelu-aika (6 min-30 min), liuottimen suhde jäteveteen (1:1- 3:1) ja pH.³⁴ Kun suoritetaan toluenin uutto dinitraus- ja trinitrausprosessilla eri lämpötiloissa on havaittu, että orgaanisen yhdisteen määrä kasvaa, kun lämpötila kasvaa, mikä johtuu orgaanisten yhdisteiden muuttuvasta liukoisuudesta. Verrattaessa dinitraus- ja trinitrausprosessia samoissa lämpötiloissa, niin dinitrausprosessi on parempi, koska 2,4,6-TNT:n liukoisuus vesifaasiin on korkeampi kuin 2,4-DNT:n ja 2,6-DNT:n. Liuosolosuhteiden vaikutusta on tutkittu pH:ssa 7,0 ja lämpötilassa 323 K kuuden minuutin aikana. Saantoprosentti kasvaa, kun liuottimen määrä kasvaa suhteessa jäteveden määrään, jolloin saanto on 74 %. Ravisteluajan pituudella on huomattu olevan vaikutusta orgaanisen hiilen määrään. Ajan kasvaessa myös orgaanisen aineksen määrä nousee, mutta ravisteluajan noustessa yli 12 minuutin, TOC määrä muuttuu enää hieman. Nitrotolueenin tasapainotila saavutetaan 12 minuutin ravisteluajalla, 600 rpm nopeudella ja 323 K:ssä. Alhainen pH on parempi kuin korkea molemmilla prosesseilla. Monivaiheinen uutto parantaa saantoprosenttia. Parhaimmat olosuhteet räjähdysaineiden määrittämiseen kokeessa ovat kolmivaiheinen uutto lämpötilassa 323 K, pH:ssa 3,0 ja ravisteluajalla 12 min ja liuotinsuhteella tolueni:jätevesi (2:1). Toluenin nitrauksella on saatu hyvin määritettyä nitrotolueenit jätevedestä.

Maaperästä ja pohjavedestä voidaan analysoida räjähdysaineita HPLC-UV laitteella, jossa on lisäksi valoavusteinen elektrokemiallinen detektori (PAED).³⁵ On-Line kiinteäfaasiuutto minimoi näytteen esikäsittelyn, jolloin voidaan käyttää suoraa analysointia. Havainnointirajat ovat verrattavissa EPA metodi 8330 kanssa, joka ei ole herkkä eikä selektiivinen. Kahden detektorin yhdistelmä mahdollistaa (HPLC-UV-PAED) varmuuden, retentioaikojen vertailun ja vastesuhteiden vertailun (elektrokemiallinen signaali/UV signaali) standardeilla verrattuna analyytteihin. Maaperänäytteet uutetaan paineistetulla nesteuutolla (ASE) ja sitä on verrattu ultraääniuuttoon U. S. EPA Metodiin 8330 (vertaamalla aallonpituuksia 254 nm ja 366 nm).

Toistettavuus ja lineaarisuus ovat erinomaisia UV-detektorilla ja PAED:lla RDX:lle ja TNT:lle.³⁵ On saavutettu kohonnut herkkyys PAED:lla verrattuna UV-detektoriin. Pohjavesinäytteille käsittely ilman kiinteäfaasiuuttoa antaa suuren taustasignaalin elektrokemiallisessa detektoinnissa. PAED:lla ei pystytä analysoimaan pohjavesinäytteitä ilman esikäsittelyä. Havainnointi rajat ovat PAED:lla 0,004-0,9 $\mu\text{g/l}$ ja UV-detektorilla 0,07-2 $\mu\text{g/l}$. Molemmilla detektoreilla saavutetaan kuitenkin hyvä lineaarisuus, toistettavuus ja tarkkuus (RSD 1,06-14,97 %). Havainnointi rajat SPE kanssa pohjavesillä ovat alhaisempia kuin suoralla injektoinnilla.

Maaperänäytteille ASE tekniikkaa on käytetty uutossa.³⁵ Tärkein parametri on lämpötila. Lämpötilaa on vaihdeltu 100 °C , 125 °C , 150 °C ja 175 °C samalle uutokselle. Paras saanto on saatu 150 °C , muilla parametreilla ei ole saatu parannusta. Metanoli on yritetty korvata asetonilla, mutta metanolilla on saatu paremmat saannot. PAED ja UV detektoreilla RDX:n ja TNT:n tulokset ovat 95 % luottamusvälillä. EPA metodi 8330 18 h ultraääniuuttoa on verrattu ASE uuttoon HPLC-UV-PAED kanssa. Ultraääniuutto antaa n. 50 % enemmän saantoa kuin ASE metanolilla, kuitenkin UV ja PAED tulokset ovat verrattavissa. Käytettäessä mitä tahansa uuttoa HPLC-UV-PAED on herkkä ja selektiivinen menetelmä maaperänäytteille. HPLC-UV-PAED yhdistelmä yhdessä SPE kanssa on herkkä ja selektiivinen, mikä merkitsee vähemmän näytettä ja vähemmän näytteen esikäsittelyä. Menetelmä on yhteensopiva on-line analyysiin pohjavesillä ja maaperällä. PAED detektorilla voidaan erottaa nitroyhdisteet toisistaan tunnistamalla niiden funktionaaliset amiiniryhmät.

Ionin liikkuvuus spektrometrillä (IMS) tutkitaan räjähdysaineita suoraan nestemäisestä liuoksesta sähkösumutus ionisaatio (ESI) tekniikalla.³⁶ IMS:n edut ovat siinä, että sillä

on nopea vasteaika ja se on herkkä monille räjähdysaineille, koska niillä on vahva elektroniaffiniteetti. Ionisaatiokemia on riippuvainen ympäröivistä olosuhteista mm. ionisaatiomenetelmästä, virtausnopeudesta, ajokaasusta ja lämpötilasta, jotka vaikuttavat IMS spektriin. IMS vaatii uudelleen tuotettavan vasteen, joka on tuotettu selkeästi havaittavilla ioneilla. IMS:llä RDX:n spektrissä muodostui piikkejä, joista nitriitti ja nitraatti muodostuivat RDX hajoamisessa. Myös TNT muodostui. LOD TNT:lle oli $15 \mu\text{g/l}$ ja RDX:lle $40 \mu\text{g/l}$. Havaintorajat on määritetty konsentraationa ja siten, että kerrotaan piikin korkeus $\times 3 \times \text{S/N}$ (signaali-kohina-suhde).

Kiinteäfaasimikrouutto (SPME) on lupaava vesinäytteen keräyksessä, eristämässä, analyysin rikastamisessa ja analyysin syöttämisessä laitteelle yhdellä työvaiheella.³⁷ SPME sisältää ohuen silika päällysteisen kuidun, joka on peitetty sorbentilla. HPLC mittauksessa puhdistus tehdään HPLC:n desorptiokammiossa. Kuitu altistuu analyysille operaation aikana ja se uudelleenohjataan pidikkeeseen näytteenoton jälkeen. Jakaantumisen tasapainotila saavutetaan näytematriisin ja kuitupinnoitteen välille. Analyytit, jotka imeytyvät päällystetyn silikakuidun pinnalle, desorboituvat desorptiokammiossa SPME-HPLC systeemissä. Desorptio suoritetaan orgaanisen liuottimen tai liikkuvan faasin avulla. Analyytit liikkuvat kolonniin erottelua varten, jonka jälkeen ne tunnistetaan detektorilla. Näytteenkeräys perustuu näytteen siirtoon/adsorptioon päällystetyn SPME kuidun pinnalle ohueksi levyksi. Adsorptio riippuu näytteen ja pysyvän faasin jakaantumisesta. Räjähdysaineiden uutto voidaan suorittaa kahdella eri menetelmällä. Kuidut pitää pestä ennen analysointia, jotta estettäisiin korkea taustakohina, joka aiheutuu kontaminaatiosta.

Uutto olosuhteiden optimointi suoritetaan asettamalla tasapaino analyysin (uuttofaasisa) ja näytematriisin välille.³⁷ Näytteen ravistelemista, sisäistä jäähdytystä, suolan lisäämistä ja pH muuttamista voidaan käyttää muuttamaan tasapainotilaa. Sopiva kuidun valinta on myös tärkeä tekijä räjähdysaineiden uuttamisessa matriisista. Näytteen ravistelu suoritetaan magneettisekoittajalla. Ultraääntä ja tehokasta sekoitusta on käytetty myös näytteen ravisteluun. Sekoitus kiihdyttää analyysin siirtymistä vedestä kuidun päällystykseen. Sekoituksen astetta on tutkittu eri kuiduilla analysoitaessa räjähdysaineita. Pieni vaikutus on havaittu hiilivaha kuidulla. Toisaalta adsorption aste lisääntyy PDMS/DVB kuiduilla samalla, kun sekoitus aste kasvaa. Näytematriisin sekoitus kasvattaa analyyttien jakaantumista nestefaasin ja uuttofaasin välillä ja nopeuttaa termodynaamisen tasapainon asettumista.

Suolan lisäyksen vaikutusta on tutkittu lisäämällä suolaa näytteeseen, koska SPME kuitu päällyste on altis vahingoille hajotuksen aikana.³⁷ Vahinkojen estämiseksi uuttoa voidaan parantaa lisäämällä liukoisia suoloja näytteeseen, jotta saavutetaan täydellinen kyllästäminen. Suolan lisäys muuttaa näytteiden uuttamista ulossuolaus ilmiön kautta. Yleensä NaCl tai Na₂SO₄ käytetään räjähdysaineiden uuton parantamiseksi. Uuton parannus saavutetaan vain jos suolan konsentraatio saavuttaa 10 %. Alhaisemmissa konsentraatioissa uuton tehokkuuden tehostumista ei ole havaittu. Siksi uuton tehokkuus riippuu myös suolan konsentraatiosta. Kuitujen valinnalla on tärkeä vaikutus näytteiden uutossa. Uuttoprosessin tehokkuus riippuu kuitu päällysteen ominaisuuksista. Tämän takia kuidun tyyppin ja paksuuden optimointia vaaditaan analyysissä. Kasvattamalla filmin tiheyttä voidaan parantaa herkkyyttä, mutta tämä lisää näytteenkäsittely aikaa.

ACN:ä, SPME:a ja ylikriittistä hiilidioksidia (SC-CO₂) on käytetty analyyttien uuttoon.³⁷ Uutetut näytteet analysoidaan käyttäen HPLC-UV, kapillaarielektroforeesi-UV (CE-UV) ja GC-MS. Tulokset saadaan käyttäen SPME-GC-MS ja SPME-HPLC-UV, joita verrataan analysoimalla vettä ja maaperää TNT:n valmistus tehtaan läheltä. Korrelaatiokerroin on 90-100 % käytettäessä modifioitua SPME-HPLC. Optimoitujen desorptio ja injektointi muuttujien käyttö parantaa kammion ja nesteen laminaarivirtauksen käyttäytymistä. Erillisen desorptio ja erittelyn käyttö parantaa kromatogrammin pohjaviivan stabiilisuutta. Tämä yhdistelmä myös parantaa metodin herkkyyttä ja toistettavuutta. SPME on todettu olevan erittäin tehokas menetelmä räjähdysaineiden kromatografiseen määrittelyyn ppb tasolla ympäristönäytteissä. Räjähdysaineet, joilla on alhainen haihtuvuus, voidaan helposti arvioida käyttäen SPME-HPLC yhdistelmää.

SPME/GC-elektronin sieppausdetektorilla (ECD) ja SPME/HPLC-UV on tutkittu vesinäytteitä käyttäen hiilivaha päällystettyä kuitua.³⁸ Useiden kuitujen käyttöä kuten (Hiilivaha/TPR suodatin (CW/TPR), polydimetyylisiloksaani/divinyylibentseeni (PDMS/DVB) ja polyakrylaatti (PA)), on tutkittu ja optimoitu määrittäessä räjähdysaineita vedestä SPME/HPLC tekniikalla. Menetelmän tehokkuutta on verrattu SPE/HPLC:aan analysoitaessa luonnonvesiä ja pohjavettä. Tutkittaessa vesinäytteitä näytteet on otettu 0,5 m meren pinnan alapuolelta. Vesinäytteet uutetaan upottamalla ne kokonaan sekoite silikakuitu päällysteeseen. Adsorptio suoritetaan huoneenlämpötilassa ja sekoituksen aste, konsentroituminen NaCl:lla, kuidun sorbentti faasi, absorptio ja desorptioaika optimoidaan. Vesinäytteet uutetaan myös käyttäen kiinteäfaasiuutto tek-

niikkaa ja Porapak RDX Sep-Pak uuttopatruunoita. Vesinäytteet ajetaan patruunan läpi nopeudella 10 ml/min. Räjähdeaineet ulosuutetaan 5 ml ACN:ä ja näyte laimennetaan 5 ml MQ-vettä ennen HPLC ajoa. HPLC olosuhteina käytetään C-18 kolonnia, lämpötilana 35 °C :tta. Isograattisena ajona metanoli (50 %) –vesi (50 %)-seos, virtausnopeutena 1 ml/min sekä aallonpituutena 254 nm ja 50 μ l injektointi. Kuidut desorboidaan SPME desorptiokammiossa 50 μ l ACN-vesi liuoksella (1:1).

SPME/HPLC-UV analyysi on optimoitu tutkimalla desorptioajan valintaa kastamalla päällystetty kuitu, (CW/TPR, PDMS/DVB ja PA-kuidut) 30 minuutin ajan räjähdelaineliuoksessa (0,75 g NaCl +250 μ l räjähdysainetta (10 mg/l) 25 ml MQ-vettä) ja sekoittamalla 500 rpm.³⁸ Viiden minuutin desorptio aikaa on käytetty kaikilla SPME/HPLC kokeilla. Suolan läsnäolo mm. NaCl, vähentää joidenkin analyyttien liukoisuutta. Suolan konsentraatioerot vaikuttavat uutun tehokkuuteen. Kun suolan pitoisuus saavuttaa 10 %, PDMS/DVB kuidulla havaitaan muutos HPLC piikeissä. Maksimi räjähdysaineiden uutto on saavutettu 30 % NaCl liuoksella. Sekoitusasteen valinta suoritetaan kahden eri sekoitusasteen välillä, 500 ja 800 rpm. Sekoitus asteella on vain vähäinen vaikutus uutun tehokkuuteen hiilivahakuidulla, mutta PDMS/DVB kuidulla saavutetaan uutettujen pitoisuuksien kasvu.

Koska parametrit vaihtelivat kuidusta ja analyytistä toiseen, tasapainottumisaika pitäisi mitata jokaiselle kuidulle/analyyttille erikseen.³⁸ HPLC mittauksista saadaan selville, että kuidut käyttäytyivät eri tavalla. Tasapaino saavutetaan CW/TPR 30 minuutin kohdalla, PDMS/DVB kuidulla 60 minuutin jälkeen ja PA kuiduilla tasapaino ajat vaihtelevat 5 minuutista RDX:lla 30 minuuttiin muilla räjähddeaineilla. DVB:n läsnäolo pidentää analyyttien välimatkaa ja tarjoaa laajemman pinta-alan. 60 minuutin adsorbtiioaika on tehokas PDMS/DVB kuidulla, kun taas 30 minuutin adsorbtiioaika on tehokkain CW/TPR ja PA kuiduilla. PA kuidulla voitiin määrittää kaikkia räjähdysaineita alhaisessa pitoisuudessa, kun taas PDMS/DVB kuidulla ei voitu havaita TNT ja RDX.³⁸ Asetonitriilin läsnäolo ei vähentänyt uutun tehokkuutta. pH muuttaa tiettyjen analyyttien ionisaatiomuotoa ja vaikuttaa vesiliukoisuuteen. Kun pH on hapan, abioottinen ja biotoinen hajoaminen hidastui. Räjähdysaineiden uutettavuus ei vaihdellut pH mukaan. CW/TPR kuidussa havaittiin hyvä lineaarisuus ja toisen asteen yhtälö sopi paremmin kalibrointialueelle kuin lineaarinen sovitus. Kalibrointiyhtälöiden selitysasteet (R^2 - arvot) olivat loistavia. CW/TPR päällysteelle havaintorajat ovat 1-10 μ g/l. Suhteellinen

keskihajonta (RSD) on CW/TPR:lle 9-27 %. Saannot ovat 67-122% CW/TPR kuidulle. SPME:n havaintorajat ovat n. 10 kertaa korkeammat kuin SPE:n TNT:lle 1,3 g/l ja RDX:lle 5,6 g/l. SPE tekniikalla RSD oli 3-13 % ja SPME:lla 10-31 %. Hyvä uutto tehokkuus saavutetaan suolan lisäyksellä. Herkkyys on hyvä CW/TPR kuidulla.

6.5 Räjähdyksineiden määrittäminen maaperästä

Perinteinen menetelmä analysoitaessa alhaisen pitoisuuden maaperänäytteitä on laimennosuutto ja analysointi HPLC:lla.²⁷ Ongelmana on tulosten laatu ja se, että luonnonnäytteet ovat erittäin heterogeenisiä vaatien useita näytteitä ja useita testauksia. Konsentroidulla uutotekniikalla konsentrintitekijä saavutetaan 60-kertaiseksi ja havainnointirajat alenevat kaksinkertaisesti. Suurempi maaperänäytekoko myös auttaa alentamaan virhetä liittyen näytteen heterogeenisyyteen. HPLC systeemissä on UV-detektori (254 nm), C-18 kolonni (5 μ m) ensisijaisena kolonnina ja toissijaisena kolonnina C-CN-kolonni (5 μ m).²⁷ Esikolonnina on käytetty Novapak C-18 tai CN kolonnia. Kolonnia lämmitetään 30 °C, jotta retentioaika lyhenisi. Liikkuvana faasina on metanoli-vesi seos (1:1). Ultraääniuutto suoritetaan käyttäen lämpötilasäädettyä ultraäänihaudetta 4 °C. Näyte esikäsitellään kuivaamalla ja homogenisoimalla. Kuivattua näytettä otetaan 300 g. Maaperänäytteisiin lisättiin räjähdysaineita (2 mg/l) kahtena eri perusliuoksena ja ne uutettiin konsentroidun tekniikan avulla.

Artikkelissa on käytetty referenssimateriaalia havainnointirajojen määrittämiseen, jolloin on havaittu menetelmän hyvä toistettavuus.²⁷ Havaintoraja on määritetty siten, että 7 mittauksen keskihajonta on kerrottu kolmella. Menetelmän havainnointirajat yltyvät 1 - 23 μ g/kg maaperässä riippuen analyytistä. Kaikki uutokset on analysoitu HPLC/UV:lla EPA metodin 8330 mukaan. Koska saastuminen on tapahtunut pitkien aikojen kuluessa, näytteet on ”ikäännytetty” laboratoriossa. Tämän takia tutkituissa näytteissä on havaittu alentuneet pitoisuudet verrattuna tuoreisiin näytteisiin. Viittä maaperää on tutkittu verrattaessa perinteistä U.S. EPA 8330 menetelmää ja konsentroidun tekniikkaa. Konsentroidussa menetelmässä havainnointirajat ovat alentuneet merkittävästi nykyiseen menetelmään verrattuna ja keskihajonta on alhaisempi pienille pitoisuuksille käytettäessä konsentroidun menetelmää.

Konsentroivan tekniikan toistettavuus lisääntyy analyyttien pitoisuustasolla kahden tekijän vaikutuksesta.²⁷ Ensinnäkin korkeampi analyytin pitoisuus konsentroituneessa uutoksessa tuottaa merkittävästi suuremman signaalin havainnointi aallonpituudella kuin niillä, jotka on uutettu perinteisellä uututekniikalla samasta maaperänäytteestä. Tämä kohonnut signaali vähentää satunnaisen kohinan määrää kromatogrammi piikin koossa ja parantaa määrittämisen (mittauksen) toistettavuutta. Toiseksi käytettäessä suurempaa näyte kokoa ja homogeenisempaa seosta kohooa toistojen samankaltaisuus. Käytettäessä puhdistuskolonnia ei merkittäviä häiriötekijöitä ilmennyt. Häiriöitä estetään puhtailla reagensseilla, näytteen käsittelyvälineillä ja puhdistuskolonnilla. Konsentroivan tekniikan etuna on parantunut toistettavuus ja tarkkuuden lisäys. Pienet näytemäärät voivat antaa virheellisiä tuloksia räjähdysainepitoisuuksista. Suurempi näytemäärä konsentroivan tekniikan kanssa sallii edustavampien näytteiden keräämisen yhdestä paikasta tai pienempien näyte-erien keräämisen. Konsentroivalla uututekniikalla havaitaan räjähdysaineita ikäännytyistä maaperästä alhaisella havainnointitasolla ja korkeammalla toistettavuudella kuin perinteisellä liuotusmenetelmä.

Optimoitua mikroaltohajotusta sisältävää uuttoa on käytetty havaitsemaan TNT:a ja RDX:a maaperästä.³⁹ Uudella tekniikalla on saatu parantunut uuttoaanto, uuttotarkkuus ja näytteenkäsittelyaika. GC kytketään termoionianturiin, jotta saataisiin injektioinnissa toteamisrajat fg tasolla. Paikat, joihin on haudattu TNT:a, tunnistetaan parhaiten sen sivutuotteista, joita ovat mm. dinitrotolueeni (2,4-DNT), 2-amino-4,6-dinitrotolueeni (2-A-4,6-DNT) ja 4-amino-2,6-dinitrotolueeni (4-A-2,6-DNT). Havaintorajat ovat 1 ng/g di- ja trinitroaromaateille merkatussa maaperässä käyttäen kaasukromatografi-elektroninsieppausdetektori (GC-ECD) analyysiä EPA metodin 8095 mukaan. Toinen tapa on ollut käyttää liuotin uuttoa esim. asetonia ja sen jälkeen GC-NP detektoria (typpi-fosfori detektori), jolloin toteamisrajat ovat olleet 0,10 TNT:lle ja 0,11 $\mu g/g$ RDX:lle.

Mikroaltoaavusteinen uuttoa (MAE) maaperänäytteille on todettu paremmaksi uututekniikaksi kuin Soxhlet, ultraäänihajotus, ylikriittinen ja paineistettu nesteuututekniikka.³⁹ MAE on myös tehokas uutotapa lämpötilalabiileille (epävakaille) yhdisteille. Koikeellisessa osiossa valmistetaan natriumfosfaatti puskuri ja säädetään pH 8 NaOH:lla. Vertailu maanäytteeseen ja hiekkänäytteeseen lisättiin 5-175 ng kohdeanalyyttiä 50 μl :ssa MTBE:tä. GC kytketään NP termoionidetektoriin, jossa on kolonnina DB-1701 ja DB-XLB. Typpi on kantaja,- tuore,- ja havainnointikaasuna. Kolonniin injektioinnit

suoritetaan huoneenlämpötilassa. Lineaarinen havainnointialue perustuu piikin pinta-alaan. Uutto olosuhteet optimoidaan kolmella eri muuttujalla: lämpötila, energia ja aika. Varmentamiseksi käytetään DB-XLB-kolonnia tai LC/MS.

Tuloksissa on havaittu, että lineaarinen alue oli 10^4 .³⁹ Toteamisrajoissa on havaittu suurta hajontaa, jopa rakenteellisilla isomeereilla. RDX toteamisraja on 4 ng/injektointi. Metodi on optimoitu käyttäen merkattua puskuria ja maaperää. Saanto merkatuissa puskurissa on saavutettu pH:ssa 7,5 ja 8. pH:n alentaminen pH 5 tai 6,5 antaa hieman pienentyneen saannon ADNT:lle ja DANT:lle. SPE patruunan ja liuottimen kuumentaminen eluoinnin aikana alentaa eluutin tilavuutta viisinkertaisesti. Suurin saanto on saatu pH:ssa 8 lämpötilassa 80°C ja 15 min lämmityksen aikana 900 W teholla. Korkea pH johtaa TNT uutoksen alenemiseen. Ionivahvuuden kasvaminen yli 0,1 M ei vaikuttanut kohdeyhdisteen saantoihin tai uuton tarkkuuteen.

Uuton tehokkuus paranee kasvattamalla mikroaallon voimakkuutta, ylläpitäen taajuuspulssiin ja uuttoajan, mikä viittaa siihen, että yhdisteiden stabiilisuus ei muutu testatuilla olosuhteilla.³⁹ Korkea alkaliniteetti alentaa TNT saantoa, koska ilmenee Meisenheimerin anioneja. Uutto pH:ssa 8 on hyvä kompromissi hyvän saannon kannalta. Kytettäessä optimoitu uutomenetelmä ja termoionidetektoriksi keskenään saavutetaan korkea herkkyys, selektiivisyys ja lineaarisuus TNT:llä ja 2,4-DNT:lla. GC/MS havainnointi antaa tarkemman tuloksen analyyteille. RDX:lle havainnointiraja korkeampi TNT:lle. Tällä menetelmällä on saatu tuloksia 5 tunnissa. Haittana on se, että polaariset yhdisteet siirtyvät uuton mukana näytteeseen. Kuitenkin kiinteäfaasiuutto on tehokas puhdistustapa ja termoionidetektoriksi peittää muiden näytetaustassa olevien yhdisteiden havaitsemisen ja ainoastaan kohdeanalyytit havainnoidaan. SFE voisi olla vielä nopeampi tapa, mutta se voi vaatia vesinäytteen kuivatuksen. Myös paikanpäällä tapahtuva näytteenotto on mahdollista, joten se lyhentäisi näytteenkäsittely aikaa ja olisi nopeampi menetelmä. Mikroaaltouutto ja selektiiviset havainnointitekniikat fg tasolla tekevät menetelmästä herkän, selektiivisen, robustin ja nopean.

On myös tutkittu ylikriittisen hiilidioksidin (CO_2), ACN:n ja SPME:n käyttöä räjähdysaineiden ja niiden hajoamistuotteiden uutossa vedestä, maaperästä ja kasvien kudokset näytteistä HPLC-UV:lla, CE-UV:llä ja GC-MS:llä.⁴⁰ TNT, RDX ja HMX ovat heikosti liukoisia veteen (150 mg/l, 45 mg/l ja 5 mg/l). Tutkimuksessa on käytetty neljää erilaista ympäristönäytettä: pintanäyte maaperästä, pinnan alapuolinen näyte maaperästä, poh-

javesinäyte sekä kasvien kudokset näytteitä kasveista, jotka kasvavat ampumaradalla. SC-CO₂ tekniikan validointi uuton tehokkuuden kannalta on suoritettu käyttäen vertailuna kasvien kudoksien osalta EPA metodin 8330 asetonitriilin kanssa.

Maaperä näytteet on kerätty 0 ja 1,5 m syvyydestä ja pohjavesi näyte on kerätty kaivosta 9 m syvyydeltä läheltä maaperänäytteen keräyspaikkaa.⁴⁰ Kasvien uutto on suoritettu kasvihuoneessa kasvaville kasveille, jotka ovat kasvaneet saastuneessa maaperässä. Maaperä ja kasvien kudokset näytteiden analyysi suoritetaan ultraäänellä ACN kanssa siten, että kasveista otetut näytteet (n. 4 g) laitetaan 10-20 ml jääkylmää MQ-vettä ennen ultraäänihajotusta ACN kanssa. Hajotettu seos sentrifugoidaan ja uutokset erotellaan, sekoitetaan MQ-veteen ja suodatetaan. Maaperänäytteillä käytetään EPA Metodia 8330. Maaperä siivilöidään, jauhetaan huumareissa ja hajotetaan ultraäänihauuteessa 18 h ajan ja analysoidaan HPLC-UV (254 nm).

SC-CO₂-uutto suoritetaan ottamalla kasvien kudokset joko lehdistä, varresta tai juurista ja sekoittamalla natriumsulfaattiin tai inerttiin hiekkaan, jotta uutokammio täytyisi.⁴⁰ Kun SC-CO₂ läpäisee uutokammion, sen paine alennetaan vallitsevaan paineeseen, jolloin hiilidioksidi haihtuu. Analyytit uutetaan 300 atm (280 ml/min kaasua) ja kerätään vialleihin, jotka sisältävät 10 ml asetonitriiliä. Uutto toistetaan käyttäen vettä (5 %) ja asetonitriiliä (4%) apuliuottimena. CE-UV analyysi kasvien kudokset suoritetaan määrittämällä SC-CO₂ uutokset kasvien osista LC-UV tai HP^{3D} CE yhdistettynä UV detektoriin 254 nm aallonpituudella. Kokonaisajoaika on 12 minuuttia. Analyyttien ionisaatio suoritetaan ESI:lla käyttäen deprotonoituneita molekkulaarisia massaioneita [M-H]. Pohjaveden analysointi suoritetaan käyttäen HPLC-UV:ta. 50 μ l pohjavesinäytettä injektoidaan suoraan Supelcosil C-8 kolonniin (25 cm*4,6 mm, 5 μ m). Kolonnin lämpötila pidetään 35 °C. Liikkuvana faasina on vesi – 2-propanoli seos (82 %:18%), virtausnopeutena 1 ml/min ja ajoaikana 40 minuuttia. UV detektorin aallonpituutena on 254 nm. Luonnonvesinäytteet uutetaan ensin Sep-Pak Porapac RDX patruunoilla (Waters) ja ne ulosuuetaan 5 ml ACN ennen HPLC-UV analyysiä.

Pintaveden analysointi TNT:lle ja sen hajoamistuotteille on suoritettu käyttäen SPME-GC-MS.⁴⁰ Sekoite silikakapillaarikuituja käytetään näytteen puhdistukseen. Näytteet syötetään GC injektoriin ja määritetään MS:lla. Jotta validointi SPME:lla onnistuisi, määritetään termodynaaminen tasapainotila TNT:n ja sen aminotuotteiden jakaantumiseen vesifaasiin ja SPME päällysteen välille. 20 minuutin kontaktiaika analyytin ja

SPME päällysteen välillä kaikilla testatuilla analyyteillä on tehokkain. Käytettäessä standardikalibrointi menetelmää ja soveltaen signaali/kohina suhteen kriteeriä 1:3 on saatu määrittärajaksi TNT:lle $9 \mu\text{g}/\text{l}$. Tarkkuus on 8-20 % välillä perustuen 10 kpl SPME-GC-MS määrittäykseen samasta standardiliuoksesta ($25 \mu\text{g}/\text{l}$) jokaiselle analyytillle. TNT:n R^2 -arvo on 0,998 konsentraatioalueella 20-800 $\mu\text{g}/\text{l}$. TNT:n tulokseksi saadaan SPME-GC-MS:llä 50,2 mg/kg (RSD 3,25%) ja HPLC-UV:lle (EPA metodi 8330) 60,5 mg/kg (RSD 0,09). Korrelaatio LC-UV ja SPME-GC-MS välillä on 90-100%. SPME havainnointiraja TNT:lle on $9 \mu\text{g}/\text{l}$ ja $20 \mu\text{g}/\text{l}$ HPLC:lla.

Kohonneita TNT pitoisuuksia maaperästä ja kaivovedestä on löydetty läheltä pintaa ja konsentraatio alenee, kun mennään syvemmälle.⁴⁰ TNT pitoisuus pintamaassa on 20 256 mg/kg, 1,5 m syvyydessä se on 26 mg/kg ja pohjavedessä 0,7 mg/kg. Tämä viittaa aineiden kulkeutumiseen kerrosten läpi. Koska kasvit keräävät räjähdysaineita kudoksiinsa, voidaan kasvikunnostusta käyttää maa-alueiden puhdistamiseen räjähdysaineista. SC-CO₂ on liuotin vapaa uutto ja se vaatii noin kymmenes osan ajasta verrattuna ultraääniuuttoon. Räjähdysaineet ovat laajalle levinneitä ja voivat siirtyä vesistöihin ja pohjavesiin ja akkummuloitua kasveihin.

On tutkittu myös TNT:n ja RDX:n liukenemistä ja imeytymistä maaperästä.⁴¹ Erilainen imeytyminen on havaittu steriilin ja ei-steriilin maaperän välillä, kun laitetaan kiteistä TNT:a ja RDX:a maaperä-vesi systeemiin. TNT ja RDX liukoisuuteen vaikuttaa enemmän lämpötilan muutos kuin pieni pH muutos (pH 4,2-6,2). Kohonnut pH voi nopeasti käynnistää emäs katalysoidun hydrolyysin, joka voi muuttaa räjähteet energettiseksi materiaaliksi. TNT liukoisuusyhtälö voidaan derivoida ja sitä voidaan soveltaa RDX liukoisuuteen Clapeyron-Clausius yhtälön pohjalta olettaen, että liukoisuus on ajan ja lämpötilan funktio eikä pH:n.

TNT imeytyminen on riippuvainen maaperän jyvästen koosta. RDX imeytymiseen ei vaikuta lämpötila eikä pieni pH muutos.⁴¹ RDX ei imeydy maaperään juuri ollenkaan ja on vain vähän eroa steriilin ja ei-steriilin maaperän välillä. Imeytymiskapasiteetti RDX:lle on 0,21-0,37 l/kg ja TNT:lle 0,58-12 l/kg. Maaperissä, joilla on yhden arvoisia kationeja, on suuri adsorboitumisvakio (<21500 l/kg), kun taas maaperässä, jossa on kahdenarvoisia kationeja, adsorboitumisvakio on paljon pienempi (<1,7 l/kg). TNT:n sorptio saadaan selville paremmin Freudlich tai Langmuir lämpökäyrällä (isoterminen)

kuin lineaarisella, kun taas RDX:n Freundlich lämpökäyrällä paremmin kuin lineaarisella.

Liukoisuusastetta on tutkittu lämpötilan vaihtelulla, josta voidaan päätellä, että liukoisuus tuplaantuu, kun lämpötila nousee $10\text{ }^{\circ}\text{C}$.⁴¹ Liukoisuutta, liukenemistä ja imeytymistä on tutkittu kuudella eri maaperällä. Parametrit määritetään seoksille (liukoinen ja kiteinen TNT ja RDX) ei-steriilille ja steriilille maaperälle. TNT ja RDX on mitattu HPLC:lla, jossa liikkuvana faasina on metanoli (50 %)-vesi (50 %) seos. Lämpötila on $21 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ja mittaukset on suoritettu EPA metodin 8330 mukaan. Kolonnina C-18 kolonni ja varmennuskolonnina CN. Tutkitut maaperät vaihtelevat liejasta savimaahan. 8 pisteen kalibraatiosuoralle saatiin $R^2 > 0,999$. Kalibrointistandardien pitoisuudet saavat olla $\pm 10\%$ oikeista pitoisuuksista. Laadunvarmennus ja kontrollointi, joka suoritetaan, täytyy olla 20% sisällä oikeasta arvosta.

Tuloksissa on saatu, että liukoisuus C_{sol} TNT:lle on $91,75\text{ mg/l}$ ja RDX:lle $44,42\text{ mg/l}$.⁴¹ Liukoisuusvakio TNT:lle on $-3,37 * 10^{-5}\text{ min}^{-1}$ ja RDX:lle $-2,74 * 10^{-5}\text{ min}^{-1}$. Paras tulos saadaan 60 päivän liuotuksen jälkeen. Tällöin liukoisuus TNT:lle on $86,73\text{ mg/l}$ ja RDX:lle $40,32\text{ mg/l}$. 48 h kokeesta on saatu TNT:lle ja RDX:lle paras sovitus Freundlich lämpötilakäyrällä perustuen R^2 - arvoon. TNT:lla on suurempi imeytymiskapasiteetti kuin RDX:lla. Ei-steriili maaperä antaa kasvaneita imeytymisasteita, kuljetusominaisuuksia ja mahdollisen hajoamisen TNT:lle. Melkein kaikilla on tilastollisesti merkittävä ero veden konsentraatioissa steriilissä maaperässä verrattuna ei-steriiliin maaperään TNT:lla ja RDX:lla. Vain yhdellä tutkitulla kohteella ei ollut eroa. RDX:n imeytyminen on vähäisempää steriilissä maaperässä 48 h kokeen aikana. RDX:lla on vähemmän affiniteettiä (sitoutumishalukkuutta) steriilissä maaperässä kuin TNT:lla. Ei-steriili maaperä poistaa enemmän TNT:n ja RDX:n liuoksesta kuin steriili. 30 päivän jälkeen TNT:n hajoamistuotteita oli molemmissa stabiileissa ja steriileissä maaperässä. 4A-DNT oli enemmän ei-steriilissä kuin steriilissä maaperässä, kun taas 2-ADNT määrässä ei ollut eroja.

TNT:n liukoisuus alenee, kun maaperää lisätään.⁴¹ Tällöin liukoisuus maksimia ei aina saavuteta TNT:lle, mutta RDX:n liukoisuus maksimi saavutetaan. Maaperällä, jolla on eniten TNT:a ja RDX:a, on korkein TOC, keskipinta-ala ja saanto. Kun liuoksen TNT ja RDX konsentraatio laskee, niin kationien määrä maaperässä nousee. Ennustettuja liukoisuusvakioita ei saavutettu kilpailevista reaktioista johtuen. TNT:n sivutuotteita on

enemmän ei-steriilissä ympäristössä. TNT:lla oli suurempi tasapaino liukoisuus konsentraatio ja affiniteetti imeytymiseen kuin RDX:lla. Saastuneessa maaperässä RDX ei säilynyt, joten sitä vapautui enemmän.

6.6. Räjähdyksaineiden määrittäminen muista materiaaleista

Räjähdyksainejäämiä voidaan tutkia huokoisista materiaaleista (kuten auton sisustus ja kankaat), joista kerääminen suoritetaan vakuunostavalla menetelmällä suodattimelle sekä pehmeältä pinnalta (kuten iholta, lattialta, nahalta ja muovilta), joista näytteet voidaan kerätä puuvillatupolla.⁴² Työn tarkoituksena on kehittää uusi LC-Tandem-MS menetelmä räjähdysaineiden yhtäaikaiseen määrittämiseen käsipyyhkeistä. Räjähdyksaineita määritettäessä puuvillatupolla ja suodattimella liotinuuton avulla suoritetaan ensin puhdistus kiinteäfaasiuutolla. LC - tandem-MS kolonnina on C-18. Ajo-olosuhteet ovat ACN (70 %) ja H₂O (30 %) yhdessä 0,1 mM ammoniumasetaatin kanssa, virtausnopeutena 0,2 ml/min ja törmäyskaasuna N₂ (1,6 L/min). MS olosuhteista on testattu neulan jännitettä (-4500 V ja 4500 V).

Uutto suoritetaan siten, että puuvillatupot asetetaan lasiputkiin, jotka laitetaan 1,5 ml vialiin.⁴² Tuppoihin lisätään 1 ml metanolia ja putket suljetaan. Annetaan seisoa 5 minuutin ajan ja laitetaan sentrifugiin 5 minuutiksi 3000 rpm. 5 μ l injektoidaan LC-MS tandem systeemiin. Ammoniumasetatti parantaa S/N suhdetta ja antaa stabiilimman ja toistettavamman signaalin. Paras asetatin pitoisuus on 1 mM. Uuton optimointi suoritetaan tutkimalla liuottimen kykyä irrottaa analyytin jäännöksiä eri tupoissa. Palaset kostutetaan 1 ml isopropanolia ja ravistellaan ylimääräiset pois. Liuottimet, joita tutkitaan ovat vesi, metanoli, asetonitriili, asetoni ja etyyliasetatti. Verrattaessa eri tuppoja vesi, asetoni ja etyyliasetatti eivät antaneet tuloksia, kun taas asetonitriili antaa hyviä tuloksia (saannot 70-78 %), mutta parhaimman tuloksen antaa metanoli.

Analyytin pysyvyyttä metanolissa on tutkittu kahdella eri pitoisuudella (30 ng/ μ l ja 120 ng/ μ l).⁴² Liuokset säilytetään -18 °C ja analysoidaan 1 kk jaksoissa. Yhdistelmästandardi valmistetaan joka päivä. TNT hävisi kahden viikon säilytyksen jälkeen. Pumpulitupot analysoidaan heti tai viimeistään kahden viikon sisällä. Näytteet eluoidaan 1 ml metanolia. Saantokokeissa on käytetty puuvilla ja Alco prep tuppoja kahdella eri

analyyttitasolla (1,5 μ g ja 6 μ g analyyttiä) ja 10 eri toistoa jokaiselle tasolle. Tulokset on esitetty taulukossa 3. Toistettavuus on testattu päivien välillä ja päivien sisällä. Päivien välinen toistettavuus testattiin yhdellä analyytti tasolla (1,5 μ g) 5 kertaa 30 päivän aikana (taulukko 4.)

Taulukko 3. Pumpulituppojen saanto-%

analyytti	saanto-%			
	puuvilla tuppo		ALCO tuppo	
	1,5 μ g	6 μ g	1,5 μ g	6 μ g
TNT	88	93	89	94
RDX	86	91	88	91

Taulukko 4. Päivien välinen toistettavuus

reproducibility RSD (%) ja LOQ (ng)		
analyytti	reproducibility (RSD -%)	LOQ
TNT	12	1
RDX	11	0,2

Kalibroinnissa on käytetty ulkoisen standardin menetelmää.⁴² Pitoisuudet on laskettu piikin pinta-alan mukaan. Kalibrointi suoritetaan 8 eri standardilla. On testattu homoskedastisuutta viidellä eri kalibraatiosuoralla ja piirtämällä jäännökset konsentraation funktiona. Lineaarisuus alue on RDX:lle 0-100 ng ja TNT:lle 0-200 ng. Kalibraatiosuora on molemmilla $R^2 > 0,995$. (LOD määritettiin puuvilla tuposta, johon oli lisätty 1,5 μ g analyyttiä (TNT ja RDX).) Tutkittaessa oikeita näytteitä, näytteet on kerätty sellaisten ihmisten käsistä, jotka ovat käsitelleet räjähdysaineita. Käsitelyään räjähdysaineita koehenkilöt pyyhkivät kätensä Alco prep pyyheliinaan tai puuvilla pyyheliinaan. Tämä toistettiin myös 1 h ja 6 h jälkeen ilman pesua. On tutkittu myös tilannetta, kun kädet on pesty saippualla ja vedellä. Suuret pitoisuudet on laimennettu. Kontrollina otetaan 20 kpl näytteitä henkilöiden käsistä, jotka eivät olleet käsitelleet räjähdysaineita ja 20 kpl näytteitä henkilöiden käsistä, jotka olivat käsitelleet eri materiaaleja. Tulos oli se, että menetelmä on herkkä, tarkka ja nopea. Havaitaan pitoisuuksia ng-tasolla eli analyyttiä jäi käsiin.

Purkaus ionisaatioplasmaa (DBDI) voidaan käyttää desorptioon ja räjähdysaineiden ionisaatioon maaperässä.⁴³ Menetelmä sallii TNT:n ja RDX:n analysoimisen myös muista matriiseista kuin maaperästä, kuten paperista, kemiallisista kuiduista, vaatteista, lasista ja maalista. RDX ja TNT desorboituvat suoraan DBDI:lle muodostaen [TNT]⁻, [TNT-H]⁻, [RDX-NO₂]⁻ [RDX-ONO₂]⁻ - ioneja ja ne voidaan analysoida MS:lla. Havainnointirajat ovat TNT:lle 10 pg ja signaalikohina suhde 8:1 ja m/z 197 ja RDX:lle 0,1 ng (m/z = 284 ja S/N = 10:1). Suhteellinen keskihajonta 100 pg pitoisuustasolla TNT:a oli 5,57 % kaikissa matriiseissa.

Useita ionisaatiotekniikoita voidaan käyttää tutkittaessa maaperää mm. matriisi avusteista laseri-ionisaatiota (MALDI), sekundaarista ionisaatiota MS:a (SIMS), termodesorptio MS:a ja säteilyvarausionisaatiota.⁴³ Nämä tekniikat vaativat yleensä kohonneen lämpötilan, UV säteilytyksen, lasersäteilyn, nopean kaasunvirtauksen tai alennetun paineen. DBDI ei vaadi näytteen esikäsittelyä vallitsevassa lämpötilassa. DBDI perustuu kylmän, ei-tasapainossa olevan plasman tuottamiseen DBDI:llä yhdessä ilmanpaineen avustuksella, jolloin luodaan analysoitavat ionit. DBDI koostuu kahdesta elektronikerroksesta, jotka ovat kahden elektrodin välissä ja niitä voidaan ylläpitää paineen avulla. Analyytit desorboituvat ja ionisoituvat pinnalta ionin pommituksella plasman läpi. Työssä on käytetty DBDI-MS ionimoodina.

Mittausolosuhteina kaasunvirtaus on 50-200 ml/min.⁴³ Elektrodeina käytetään teräsneulaa ja kuparilevyä. Lasiobjekti asetetaan kuparilevyn pinnalle ja se on kahden elektrodin välillä. Plasma luodaan 3,5-4,5 kV välillä ja taajuudella 18,0-25,0 kHz. Ionin injektointiaika on 50 ms. Ionit, jotka on havaittu TNT:lla ja RDX:lla asetetaan erikseen suodatinpaperille ja lasilevyille desorptiota ja ionisaatiota varten. DBDI:ssa kaikki desorboituivat ja ionisoituivat hyvin ioneiksi pinnalta. Ominaiset ionit TNT:lle olivat [TNT]⁻, [TNT-H]⁻ ja [TNT-NO]⁻ sekä RDX:lle [M+NO₂]⁻ ja [M+NO₃]⁻. Orgaanisia happoja ja suoloja käytetään muodostamaan RDX:lle ns. addukti ioni (addukti ioni, hapan protoni). Yleensä käytetään vetykloridihappoa, natriumkloridia, etikkahappoa, ammoniumnitraattia, ammoniumkloridia ja kloroformia muodostamaan stabiileja happamia protoneja.

Tutkittaessa näitä kemikaaleja on saatu selville, että vetykloridihappo, kloroformi, etikkahappo ja ammoniumasetatti voivat muodostaa stabiileita addukti-ioneja räjähdysaineiden kanssa DBDI-MS:ssä.⁴³ Herkkyydessä ei kuitenkaan ole havaittu muutoksia käy-

tettäessä lisäaineita. TNT:lle (m/z 227) on havaittu MS:lla seuraavat lohkeamiset: m/z 197 havaittu ioni vastaa NO-ryhmän lohkeamista molekulaarisesta anionista (m/z 227). m/z 167 on ionituote, kun NO-ryhmä lohkeaa m/z 197:sta. Ioni m/z 139 syntyy, kun CO lohkeaa molekyylistä m/z 167 ja m/z 109 voi syntyä, kun NO-ryhmä lohkeaa m/z 139.

Ionisaatioparametreja optimoitaessa on tutkittu S/N suhteen parantamista tutkimalla neulan ja tason välistä varauksen siirtoa ja yhden tason varauksen siirtoa käyttäen 100 pg TNT:a.⁴³ Neulan ja tason välisellä systeemillä on havaittu seuraavat ionit m/z 197, 227 ja 226, kun vain ioni m/z 197 on havaittu yhden tason systeemillä. Tällöin neula/taso on parempi vaihtoehto. Tutkittaessa varauksensiirtokaasun vaikutusta on verrattu He₂, N₂, Ar₂ ja ilmaa TNT:n havaitsemiseksi. Suurin signaalin intensiteetti on havaittu He₂ samalla virtausnopeudella kuin muille. Virtausnopeuksia tutkittaessa välillä 50-200 ml/min, suurin S/N suhde on havaittu 150 ml/min (35 m/s) DBDI:lle. Poikkeuksena on se, että vaikka virtaus on 0 ml/min, kaikki ionit on havaittu silti. Desorptio sähkösumutus ionisaatiolla (DESI) virtausnopeus on yli 350 m/s ja suoralla reaaliaikaisella analyysillä 1500-3000 ml/min (DART), joten DBDI:lla saavutetaan paljon alhaisempi virtausnopeus. Tutkittaessa varauksensiirto virran vaikutusta on tutkittu 5 W-30 W. Signaalin intensiteetti kasvaa 7 tai 4 kertaiseksi m/z 197 ja 227 vastaavasti. Tämän takia on valittu varauksen siirtovirraksi 30 W.

Tutkittaessa TNT:a eri matriiseilla (paperi, kangas, kuitu, lasi, maali ja maaperä) on havaittu, että RSD oli 5,57 %.⁴³ Tästä on voitu päätellä, että TNT:lla ei ollut eroa eri matriisien välillä. LOD TNT:lle oli 10 pg (S/N (8:1) ja m/z 197) ja RDX:lle 0,1 ng (m/z = 284 ja S/N = 10:1). IMS:llä on saatu aikaisemmin LOD TNT:lle 70 pg ja RDX:lle 300 pg. DBDI:lla on havaittu samanlainen herkkyys kuin IMS:lla RDX:lle ja TNT:lle. DBDI on herkkä ng ja pg tasolla TNT:lla ja RDX:lla vastaavasti. Tulokset ovat verrattavissa DESI:lla ja DART:lla saataviin tuloksiin. DBDI on halpa, pieni ja yksinkertainen tapa määrittää räjähdaineita ja DBDI voidaan liittää yhteen MS kanssa.

Alhaisen lämpötilan plasma-anturi (LTP) on rakennettu käyttäen sähköä eristävää estettä.⁴⁴ Varauksen purkautuessa elektrodien välillä RDX ja TNT desorboituvat ja ionisoituvat kiinteästä pinnasta, jonka jälkeen ne analysoidaan MS:lla ionitilassa. LOD-arvot ovat 500 fg TNT:lle ja 1 pg RDX:lle. Metodien luotettavuutta on testattu kolmen räjähdäineen seoksella. Plasma voi muodostua vain tietyllä etäisyydellä ja suurella ionisaatiotehokkuudella ja se voidaan saavuttaa vain tietyllä ionilähteen muodolla, koolla ja

paksuudella. Verrattuna DESI ja DART antureihin LTP ei vaadi paljon liuotinta ja sen rakenne on yksinkertaisempi, jolloin se on hyvä massaspektrometrin kanssa yhdistettynä.

LTP-anturi on kehitetty huoneenlämpötilassa tapahtuvaan desorptioon ja ionisaatioon.⁴⁴ LTP anturia käytetään määrittämään TNT ja RDX polytetrafluoroetyleni (PTFE) kalvon pinnalta. LTP anturi ei vaadi suihkuliuotinta ja sen rakenne on yksinkertainen. Työssä on tutkittu LTP:lla mittaamista erilaisilta pinnoilta huoneenlämpötilassa ja ilman näytteen esikäsitteilyä. Kun ulospääsyä aukaistaan noin 2-3 mm plasma pääsee puhaltamaan ulospäin, minkä johdosta plasman lämpötila nousee ja desorptio lähteestä kohoaa. LTP anturi on kvartsi putki, jonka sisällä on 15 cm kuparielektrodi (sisäinen elektrodi) ja vastaelektrodina kvartsiputki, jossa on kiinni ulkopinnalla kuparia. Molemmilla elektrodeilla on vaihtoehtoinen volttimäärä (3,5-4,4 kV), jotta plasma syntyisi. Näytteet, jotka ovat laskeutuneet pinnoille, nousevat 3d siirtymistilaan. Etäisyys anturin ja näyteläsin välillä on 10 mm. Analyytit desorboituvat ja ionisoituvat plasmassa.

TNT ja RDX on liuotettu CH₃OH/H₂O/HCl liuokseen, asetettu lasilevyille, annettu kuivua ja analysoitu ioni moodilla.⁴⁴ RDX:n MS spektri saadaan näkyviin, kun kaasunvirtaus on 50-250 ml/min. Korkeammilla virtausnopeuksilla RDX:lle ei-tärkeät ionit tulevat rikkaammiksi ja alentavat S/N suhdetta. Kaasun virtaukseksi asetetaan 250 ml/min. Tutkittaessa virran vaikutusta on havaittu, että korkea purkautumisvoima aiheuttaa materiaali vaurioita, mikä saattaa aiheuttaa räjähdeseineiden hajoamista. Siksi on käytetty virtaa 2,5 W. Lasialustan vaikutusta on tutkittu eri alusta materiaaleilla: PTFE, polyetyleni, lasi ja kangas. Tutkittaessa johtavia alustoja 50 ng TNT:a ja RDX:a asetetaan kuparikalvolle ja mitataan LTP-MS:lla. Molemmat havaitaan helposti kaikilta alustoilta, joten voidaan mitata räjähdysaineita johtavilta ja ei-johtavilta alustoilta. Määritettäessä herkkyyttä 500 fg/ μ l - 160 ng/ μ l PETN liuoksia asetetaan lasimaljoille ja annetaan kuivua. On määritetty LOD RDX:lle, TNT:lle ja PETN:lle. LOD arvot on esitetty taulukossa 5.

Taulukko 5. Toteamisrajat

Explosives	DESI		DBDI		LTP	
	LOD	S/N	LOD	S/N	LOD	S/N
TNT	<1 pg	12:1	10 pg	8:1	500 fg	8:1
RDX	<1 pg	9:1	100 pg	10:1	1 pg	9:1

Verrattaessa DESI, DBDI-MS ja LTP-MS LOD keskenään herkimmäksi on todettu LTP-MS.⁴⁴ Etuna LTP-MS menetelmässä on suora desorptio huoneenlämpötilassa johtavilta ja ei-johtavilta pinnoilta ja se, että ionilähde ei vaadi suihkuliuotinta, mikä vaaditaan DESI:lla. Lisäksi LTP:lla on yksinkertaisempi rakenne verrattuna DART:iin. Tehokas desorboituminen ja ionisaatio johtaa parantuneeseen herkkyyteen. Pieni ja alhainen virta on myös huomattava etu.

7. Yhteenveto

TNT ja RDX ovat yleisimmin käytettyjä räjähdaineita Suomessa. TNT:a ja RDX:a voidaan käyttää yhdessä seoksena tai erikseen. Molemmat voivat imeytyä maaperään ja sedimentteihin ja monet niiden hajoamistuotteet ovat vaarallisempia kuin TNT ja RDX erikseen. Molemmat aineet liukenevat asetonitriiliin ja ovat ympäristölle erittäin vaarallisia. TNT ja RDX aiheuttavat terveysvaikutuksia ihmisille mm. maksavaurioita ja hermostollisia oireita. Toisen maailmansodan aikaan TNT oli eniten tuotettu räjähdysaine. TNT:a valmistetaan tolueenin nitrauksella ja RDX:a valmistetaan nitraamalla heksamii-nia puhtaalla typpihapolla. TNT:n ja RDX:n seoksista yleisempiä on heksotoli.

TNT ja RDX voidaan tutkia monista eri materiaaleista kuten mm. maaperästä, vedestä, ilmasta ja erilaisilta pinnoilta kuten kankaat ja paperi. Esikäsittelyä voidaan käyttää monia eri uuttotekniikoita kuten mm. kiinteäfaasiuuttoa, soxhlet uuttoa tai ultraääniuuttoa. Räjähdysaineiden määrittäminen voidaan suorittaa mm. GC:lla, HPLC:lla ja IMS:lla. Monet eri detektorit ovat myös mahdollisia kuten UV ja MS. Monet menetelmistä perustuvat EPA metodiin 8330, jolla määritetään räjähdaineita HPLC:lla, jossa liikkuvana faasina on metanoli ja vesi (50 % : 50 %), virtausnopeutena 1,5 ml/min, injektointitilavuutena 100 μ l ja aallonpituutena 254 nm. Yleisimmät ajoliuokset ovat ACN, metanoli ja vesi.

Kokeellinen osa

8. Työn tarkoitus

Työn tarkoituksena oli saada kehitettyä toimiva menetelmä räjähdysaineiden, erityisesti RDX:n ja TNT:n, määrittämiseksi luonnonvedestä. Tarkoitus oli päästä mahdollisimman pieniin pitoisuuksiin, mutta luotettavasti. Tutkittaessa pieniä pitoisuuksia täytyy vesinäytteet uuttaa kiinteäfaasiuuttolaitteistolla pitoisuuksien 100-kertaistamiseksi. Lisäksi menetelmälle suoritettiin validointi luotettavuuden toteamiseksi. Määritettyjä parametrejä ovat selektiivisyys, mittausalue, herkkyys, määritysraja, saanto-%, tarkkuus, toistettavuus, systemaattinen- ja satunnaisvirhe, kokonaismittausepävarmuus ja laajennettu epävarmuus.

9. Reagenssit

Taulukossa 6. on esitetty työssä käytetyt reagenssit

Taulukko 6. Käytetyt reagenssit

Reagenssi	valmistaja	puhtausaste	CAS- numero
1,3-dinitrobetseeni (DNB)	Merck	>98 %	99-65-0
2,4,6-trinitrotolueeni (TNT)	OY FORCIT AB	99,5 %	118-976-7
1,3,5-trinitro-1,3,5-triatsiini (RDX)	Bofors Explosive	syklotrimetyleenitrinitramiini (94 %), vaha (4 %), grafiitti (1 %)	121-82-4 (Syklo.) 7782-42-5 (grafiitti)
3M empore FA 400 suodatinapuaine	3M bioanalytical technologies		
NaHSO ₄ *H ₂ O	Merck	≥99 %	10034-88-5
Asetonitriili (ACN)	Rathburn	HPLC grade S (>20 %)	75-05-8

10. Käytetyt menetelmät

Vesinäytteen esikäsitteilyyn käytettiin suodatusta, kestäväointiä ja uuttoa. Näytteet säilyvät kaksi viikkoa kestäväointinä jääkaapissa ennen uuttoa. Standardinäytteet käsiteltiin samoin kuin varsinaiset näytteet. Uutto suoritettiin kiinteäfaasiuuttolaitteistolla ja analyysi suoritettiin Watersin HPLC laitteistolla (kuva 12.), joka koostuu pumpusta (Waters Alliance 2695 separation module), injektorista, detektorista (Waters 2487 dual Absorbance detector), kolonnista (Waters spherisorb® 5 μ m ODS2 4,6*150 mm analytical Cartridge) sekä PC-ohjelmistosta (Waters Alliance 2002). Lähtökohtana käytettiin puolustusvoimien teknillisen tutkimuslaitoksen (PVTT) työ ohjetta: PVTT:n työhöje 037.21, 2005, Jäte- ja luonnonvesien RDX- ja TNT-pitoisuuksien määrittäminen neste-kromatografisesti.⁴⁵ Varsinaisia vesinäytteitä tutkittaessa vesinäytteet suodatetaan kestäväöinnin ($\text{NaHSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) jälkeen MN 616 $\frac{1}{4}$ 240 mm suodatinpaperilla. 500 ml suodatettua vesinäytettä lisättiin sisäistä standardia n. 500 μ l siten, että sen pitoisuus uuton jälkeen on n. 1 mg/l (ennen uuttoa 0,01 mg/l). Tämän jälkeen näytteet uutetaan kiinteäfaasiuuttolaitteistolla ja määritetään Watersin HPLC laitteistolla.



Kuva 12. HPLC laitteisto (tekijän ottama kuva.)

10.1 Standardit

Valmistettiin kantaliuokset puhtaista (taulukko 6.) reagensseista (TNT, RDX ja DNB) kaikille erikseen (taulukko 7.) Sisäisenä standardina käytetään 1,3-dinitrobenseeniä (1,3-DNB). Valmistettiin vädilaimennosten kautta (taulukko 8.) varsinaiset standardit 500 ml:an MQ-vettä, jotka uutetaan (taulukko 9.).

Taulukko 7. Kantaliuokset:

reagenssit	massa [mg]	ACN [ml]	pitoisuus [mg/ml]	pitoisuus [mg/l]
1. TNT	10,4	10	1,040	1040
2. RDX	9,6	10	0,960	960
3. DNB	20,1	20	1,005	1005

Taulukko 8. Vädilaimennokset (tehty kantaliuoksista)

Kantaliuos	pipetointi [ml]	ACN [ml]	Pitoisuus [mg/l]
1. TNT	1,00	100	10,40
2. RDX	1,00	100	9,60
3. DNB	1,00	100	10,05

Taulukko 9. Standardit (tehty vädilaimennoksista)

		TNT	RDX	DNB	MQ-vesi
STD 1	Pitoisuus ennen uuttoa (mg/l)	0,0009984	0,0009984	0,01005	
	Pitoisuus uuton jälkeen (mg/l)	0,09984	0,09984	1,005	
	Pipetointi	48 μ l	52 μ l	500 μ l	500 ml
STD 2	Pitoisuus ennen uuttoa (mg/l)	0,004992	0,004992	0,01005	
	Pitoisuus uuton jälkeen (mg/l)	0,4992	0,4992	1,005	
	Pipetointi	240 μ l	260 μ l	500 μ l	500 ml
STD 3	Pitoisuus ennen uuttoa (mg/l)	0,009984	0,009984	0,01005	
	Pitoisuus uuton jälkeen (mg/l)	0,9984	0,9984	1,005	
	Pipetointi	480 μ l	520 μ l	500 μ l	500 ml

Taulukko 9. jatkuu

STD 4	Pitoisuus ennen uuttoa (mg/l)	0,014976	0,014976	0,01005	
	Pitoisuus uuton jälkeen (mg/l)	1,4976	1,4976	1,005	
	Pipetointi	720 μ l	780 μ l	500 μ l	500 ml
STD 5	Pitoisuus ennen uuttoa (mg/l)	0,019968	0,019968	0,01005	
	Pitoisuus uuton jälkeen (mg/l)	1,9968	1,9968	1,005	
	Pipetointi	960 μ l	1,04 ml	500 μ l	500 ml

10.2 Uutto

Kaikki näytteet uutettiin, myös standardit. Uuttolaitteistossa (kuva 13.) käytettiin Watersin Sep-Pak® Vac 6cc (500 mg) porapak® Rdx Cartridges uuttopatruunoita. Patruunat kiinnitettiin vakuumikammion kanteen. Patruunoiden pohjalle laitettiin 2-3 mm 3M EMPORE FA400 suodatinapuainetta. Patruunat pestiin kolme kertaa 5 ml:lla asetonitriiliä virtausnopeudella 1 ml/min. Patruunat huuhdottiin kuusi kertaa 5 ml:lla MQ-vettä. Patruunat eivät saa päästä kuivaksi käsittelyn aikana. Patruunat jätettiin täyteen MQ-vettä.

Varsinainen uutaminen aloitettiin laittamalla imuputket kiinni patruunaan. Käynnistettiin vakuumpumppu (KNF N 816.3 KN. 18). Säädettiin virtausnopeudeksi 5 ml/min ja säädettiin virtausnopeus kaikille patruunoille samaksi. Patruuna ei saa päästä tyhjäksi uuton aikana. Jos patruuna pääsee tyhjäksi, täytetään se MQ - vedellä. Kun uutto oli lopussa, huuhdottiin näyteastian seinämät MQ-vedellä. Patruunoita kuivattiin 30 minuutin ajan vakuumin avulla. Keruuputket asetettiin telineeseen ja teline vakuumikammioon. Laitettiin kannen alapuolelle muoviputket siten, että muoviputket osuvat keruuputkiin. Laitettiin 5 ml asetonitriiliä patruunoihin ja käynnistettiin vakuumpumppu. Säädettiin virtausnopeudeksi 1 ml/min. Kun näytteet ovat tulleet läpi, niin uutto on valmis ja näytteet voidaan suoraan ajaa HPLC laitteella.



Kuva 13. Uuttolaitteisto (tekijän ottama kuva)

Uuttoajat vaihtelivat eri standardeilla. Uuton pitäisi mennä samalla vauhdilla kaikille standardeille, mutta käytännössä tämä on erittäin vaikea saavuttaa. Uuttoajat standardeille taulukossa 10.

Taulukko 10. Uuton kesto ja nopeus

Standardi	uuton kesto	uuton nopeus
STD 1	2 h 40 min	3,125 ml/min
STD 2	2 h 35 min	3,2 ml/min
STD 3	3 h 7 min	2,67 ml/min
STD 4	3 h	2,78 ml/min
STD 5	3 h 15 min	2,56 ml/min

10.3 Mittausten suoritus

Räjähdeaineiden mittausta tutkittiin eri ajo-olosuhteilla. Kokeiltiin muuttaa injektointitilavuutta, lämpötilaa, aallonpituutta ja tutkittiin eroa gradientti ja isograattisen ajon välillä. Varsinaiset esikäsitellyt (uutetut) validoinnissa käytetyt näytteet mitattiin HPLC laitteella siten, että injektointitilavuus oli 30 μ l, ajoaika 10 min, lämpötila 25 °C ja aallonpituus 230 nm. Ajoliuoksina käytettiin vettä (55 %) ja asetonitriiliä (45 %). Virtausnopeus oli 1 ml/min. Tutkittiin eroa gradientti ja isograattisen ajon välillä. Isograattisessa ajossa liuosolosuhteet ovat samat koko ajon ajan. Tällöin A (vesi) = 55 % ja B (ACN) = 24 %. Gradienttijaossa olosuhteet muuttuvat ajon aikana taulukon 11. mukaan.

Taulukko 11. Gradientiajo

Aika (min)	A (H ₂ O)	%	B (ACN)	%
0	60		40	
3	55		45	
6,5	50		50	
8	40		60	
10	40		60	

30.07.09-10.08.09

Standardit ajettiin isokraattisella ajolla eli veden osuus oli 55 % ja asetonitriilin 45 %. Injektointitilavuus oli 30 μ l, lämpötila 25 °C, virtausnopeus 1 ml/min ja aallonpituus 230 nm. Retentioajat olivat RDX = 4,180 min, TNT = 8,229 min ja DNB = 6,009 min.

06.08.09

Kokeiltiin myös muuttaa ajo-olosuhteita: Standardit ajettiin isokraattisella ajolla eli veden osuus oli 55 % ja asetonitriilin 45 %. Injektointitilavuus oli 30 μ l, lämpötila 25 °C, virtausnopeus 1 ml/min, mutta muutettiin aallonpituus 254 nm. Toisessa ajossa olosuhteet olivat muuten samat, mutta injektointitilavuus oli 10 μ l ja aallonpituus normaali 230 nm. Kolmannessa ajossa olosuhteet olivat muuten normaalit isokraattisella ajolla (veden osuus oli 55 % ja asetonitriilin 45 %, injektointitilavuus oli 30 μ l, virtausnopeus 1 ml/min, aallonpituus 230 nm), mutta lämpötila 40 °C. Neljännessä ajossa ajo-olosuhteet olivat muuten samat (veden osuus oli 55 % ja asetonitriilin 45 %, injektointitilavuus oli 30 μ l, lämpötila 25 °C ja aallonpituus 230 nm), mutta virtausnopeus oli 2 ml/min.

RDX ja TNT piikkien löydettävyyttä varsinaisista luonnonvesinäytteistä todettiin hakeamalla luonnonvettä, johon lisättiin tietty pitoisuus TNT:a ja RDX:a. Piikit erottuivat selkeästi, eikä häiritseviä piikkejä ollut, jotka olisivat haitanneet varsinaisten piikkien tunnistamista. Tämän takia varsinainen validointi suoritettiin MQ-vedellä, johon on lisätty tietty määrä TNT:a ja RDX:a sekä sisäinen standardi.

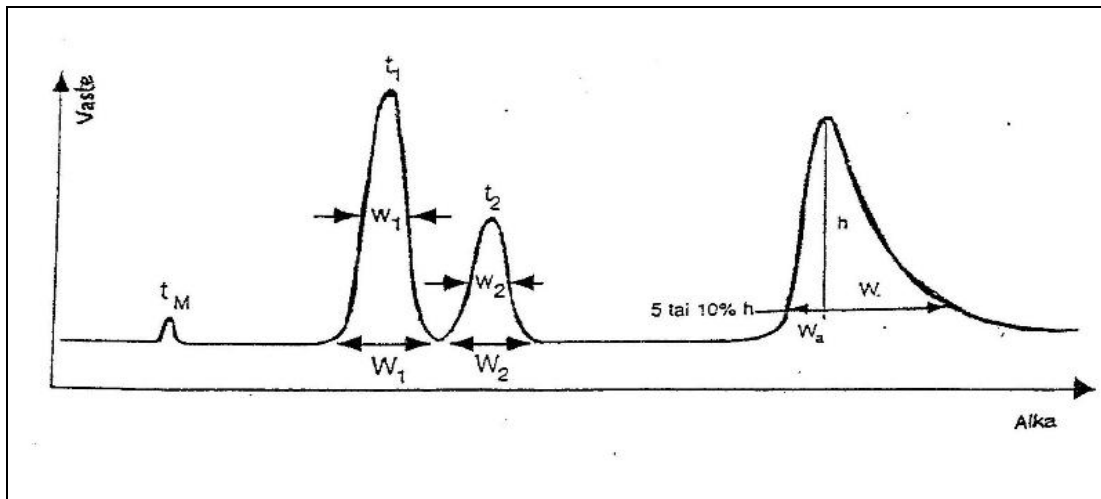
10.4 Validointi

Validointi on analyysimenetelmän luotettavuuden ja pätevyysominaisuuksien testaamista.^{46, ss. 6-11} Validoinnilla varmistetaan systemaattisesti, että menetelmä soveltuu siihen, mihin se on tarkoitettu. Menetelmän validoinnilla saadaan tietoa siitä, millä varmuudella määritys voidaan suorittaa. Validointi koostuu suunnitelmasta, kokeiden suorittamisesta, tulosten tilastollisesta arvioinnista ja dokumentoinnista. Seuraavassa on määritelty tärkeimmät validointi parametrit. Spesifisyyskokeilla varmistetaan, että mittalaitteesta saatu vaste muodostuu vain yhdestä analyytistä. HPLC:lla voidaan spesifisyys varmistaa ajo-olosuhteita muuttamalla, jolloin nähdään, että tutkittavan yhdisteen signaalin alle ei ole piiloutunut toista signaalia. HPLC spesifisyys voidaan varmentaa resoluutiolla, suhteellisella retentiolla, kapasiteetti tekijällä tai symmetrisyys tekijällä (Taulukko 12. Kuva 14).

Taulukko 12. Erottumista kuvaavat parametrit optimiarvoineen.^{46, ss.11}

Parametri	Laskukaava*	Optimiarvot
R, Resoluutio	$R = \frac{1,177 \cdot t_2 \cdot k_1'}{w_2 \cdot t_1}$	Kun $R > 1,5$ Piikit erottuneet pohjaväivästä Kun $R = 1$, piikit 3 % päällekkäin mutta erottuneet toisistaan
α , erotustekijä	$\alpha = \frac{t_2 \cdot k_2'}{t_1 \cdot k_1'}$	$1,05 < \alpha < 2,0$
k' ,Kapasiteettitekijä (retentiotekijä)	$k' = \frac{t_R \cdot t_M}{t_M}$	$k'=2$ optimiresoluutio lyhimmässä mahdollisessa ajassa. Optimalue $2 < k' < 10$
T, symmetrisyys tekijä	$T = \frac{W}{2W_a}$	$T = 1$, piikki täysin symmetrinen, kun $0,8 < T < 1,2$ piikin korkeutta voidaan käyttää kvantitointiin
N, kolonni tehokkuus	$N = 5,545 \cdot \frac{t_R^2}{W_a}$	Mitä suurempi sen tehokkaampi kolonni, Kolonni tyypistä riippuva

* Symbolit: Retentioajat: t_M = pidättymätön yhdiste, $t_R = t_1$ =analyyyti, t_2 = lähimpänä analyyytiä eluoituva yhdiste. Piikin leveydet: w_i = piikin puolikorkeuden leveys, W = Piikin leveys 5 tai 10 % korkeudella pohjasta ja W_a = piikin etureunan leveys



Kuva 14: Parametrit.^{46, ss.11}

Erityisesti resoluutio, erotustekijä ja kapasiteettitekijä ovat tärkeitä.⁴⁶

$$R = \frac{1,177 \cdot t_2 \cdot t_1}{w_2 \cdot w_1} \quad (5)$$

$$\checkmark \cdot \frac{t_2 \cdot t_M}{t_1 \cdot t_M} \cdot \frac{k_2}{k_1} \quad (6)$$

$$k' = \frac{t_R \cdot t_M}{t_M} \quad (7)$$

Selektiivisyys kokeilla selvitetään erilaisten taustatekijöiden aiheuttamaa systemaattista virhettä.^{46, ss.13} Erilaisten taustahäiriöiden aiheuttamaa systemaattista signaalia voidaan tutkia vertaamalla standardiliuoksen signaalia ennen näytematriisilisäystä ja sen jälkeen. Kokeiden tuloksia arvioidaan kaksisuuntaisella t-testillä. Selektiivisyyskokeissa voidaan myös tutkia standardilisäyksen takaisinsaantoa. Selektiivisyyden tarkastelu voidaan suorittaa myös vertaamalla normaalia standardisuoraa näytematriisiin tehtyyn kalibrointisuoraan.

Kalibrointisuoran lineaarisuuden arviointia voidaan suorittaa vertaamalla toisen asteen yhtälön suoraa lineaariseen kalibrointi suoraan ja näiden R^2 - arvoja.^{46, ss.18} Menetelmän mittausaluetta voidaan arvioida kalibrointisuorien avulla. Kalibrointisuoran lineaarisuuden arviointiin voidaan käyttää myös residuaaleja. Residuaalit, r_i , ovat mitattujen (y_i) ja regressiosuoralta laskettujen (\hat{y}_i) y-arvojen erotuksia (kaava 8.). Residuaaleista piirretään kuvaaja x:n funktiona.

$$r_i = y_i - \hat{y}_i \quad (8)$$

Herkkyys tarkoittaa menetelmän kykyä havaita näytepitoisuuksien pienet vaihtelut.^{46, ss.28} Menetelmä on herkkä kun pieni muutos pitoisuudessa aiheuttaa suuren muutoksen detektorin vasteessa. Menetelmän herkkyys määritetään kalibrointisuoran kulmakertoimen avulla. Käytettäessä lineaarista kalibrointia herkkyys on suoran kulmakerroin, b. Herkkyys kuvaa pienintä pitoisuutta, joka antaa havaittavan vasteen.⁴⁷

Toteamisraja (LOD) on se pitoisuus, jolla voidaan todeta onko näytteessä määritettävää yhdistettä vai ei ja joka eroaa nollanäytteen arvosta merkittävästi.^{46, ss.29-31} Määrittämisraja (LOQ) on se pitoisuus, joka voidaan määrittävää hyväksyttävällä tarkkuudella ja täsmällisyydellä. Tällöin tietyllä tilastollisella todennäköisyydellä (yleensä 95 %) voidaan sanoa, että näytteessä oleva pitoisuus poikkeaa merkittävästi nolasta. Toteamisraja voidaan arvioida myös kromatografiassa kertomalla taustan S/N-suhde kolmella. Saatua vastearvoa vastaava pitoisuus arvioidaan kalibraatiosuoran avulla. Menetelmän määrittämisraja saadaan kertomalla toteamisraja tietyllä kertoimella

Toteamis- ja määrittämisrajat voidaan määrittää laskemalla keskihajonta sellaisen näytteen rinnakkaismäärittämis tuloksista, joka ei sisällä määritettävää yhdistettä tai sen sisältämän yhdisteen määrä on vähäinen.^{46, ss. 29-31} Tapauksissa, jossa nollanäyte ei anna mittaus-signaalia, voidaan määrittämisrajan arviointiin käyttää lähellä määrittämisrajaa olevaa standardiliuosta. Toteamis- ja määrittämisraja arvioidaan yleensä 95 % todennäköisyydellä.

Saantoprosentti voidaan laskea kaavalla 9.^{46, ss.34}

$$\text{saanto-\%} = \frac{C_{\text{mitattu}}}{C_{\text{haluttu}}} * 100\% \quad (9)$$

missä, c_{mitattu} = Laitteella mitattu konsentraatio

c_{haluttu} = Näytteen todellinen pitoisuus

Tarkkuus voidaan määrittää silloin, kun näytteen todellinen pitoisuus tunnetaan.^{46, ss.33-34}

Tarkkuus lasketaan poikkeamana todellisesta tai odotetusta arvosta kaavalla 10 ja ilmoitetaan yleensä prosentteina

$$\text{Tarkkuus-\%} = \frac{100 \cdot \frac{c_{\text{mitattu}} - c_{\text{haluttu}}}{c_{\text{haluttu}}}}{1} \quad (10)$$

Missä μ = todellinen arvo

X = Mittaustulos

Toistettavuudella tarkoitetaan mittaustulosten yhtäpitävyyttä, kun mittaukset tehdään lyhyen aikavälin sisällä samalla menetelmällä, saman tekijän toimesta ja samoilla mittauslaitteilla.^{46, ss.40} Toistettavuuden arviointi suoritetaan analysoimalla näytettä monena päivänä. Vaikeissa ja monivaiheisissa analyyseissä ei pystytä tekemään rinnakkaismäärittäyksiä, jolloin toistettavuus arvioidaan keskihajonnan avulla ja se ilmoitetaan prosentteina keskiarvosta. Toistettavuutta tarkastellaan suhteellisen keskihajonnan avulla. Tulosten yhtäpitävyyttä keskenään kutsutaan täsmällisyydeksi. Täsmällisyyttä arvioidaan tulosten välisen hajonnan ja arvioidaan keskihajonnan avulla.

Luottamusväli = luottamusrajojen rajaama alue, jossa näytteen pitoisuus valitulla todennäköisyydellä on.⁴⁶

Keskipoikkeaman summa lasketaan kaavalla 11.

$$\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \quad (11)$$

Keskiarvo lasketaan kaavalla 12.

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (12)$$

Keskihajonta lasketaan kaavalla 13.

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (13)$$

Todellinen arvo lasketaan kaavalla 14.

$$\bar{x} \pm t^* \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (14)$$

missä, $t = t$ -arvo,

$s =$ keskihajonta,

$\bar{x} =$ keskiarvo

$n =$ mittausten lkm

Suhteellinen keskihajonta lasketaan kaavalla 15.

$$\text{RSD \%} = \frac{s}{\bar{x}} \quad (15)$$

Systemaattinen virhe lasketaan kaavalla 16.

$$s_{\text{dr}} (\%) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (d_{ri} (\%) - \bar{d}_r (\%))^2}{n-1}} \quad (16)$$

Satunnaisvirhe lasketaan kaavalla 17.

$$s_{\text{ri}} (\%) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (d_{ri} (\%))^2}{2n}} \quad (17)$$

Kokonaismittausepävarmuus saadaan kaavasta 18.

$$u_c = \sqrt{u_1^2 + u_2^2} \quad (18)$$

95 % laajennettu mittausepävarmuus saadaan kaavasta 19.

$$U = 2 * u_c \quad (19)$$

t-arvo systemaattisen virheen merkitsevyyteen lasketaan kaavalla 20.

$$t = \frac{|d_r(\%)|}{s_{dr}(\%)} * \sqrt{n} \quad (20)$$

Shewhart kartat piirrettiin seuraavien yhtälöiden 21-25 avulla:⁴⁹

$$\text{Ylempi toimenpide viiva: kohdearvo} + 3*s \quad (21)$$

$$\text{ylempi varoitusviiva : kohdearvo} + 2*s \quad (22)$$

$$\text{Kohdearvo: lisätty pitoisuus} \quad (23)$$

$$\text{Alempi varoitusviiva: kohdearvo} - 2*s \quad (24)$$

$$\text{Alempi toimenpideviiva: kohdearvo} - 3*s \quad (25)$$

Varsinaisista luonnonvesinäytteistä lasketaan oikea pitoisuus kaavoilla 26 ja 27.

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2 \quad (26)$$

missä C_1 = koneen antama tulos

V_1 = asetonitriilin pitoisuus = 0,005 l

C_2 = Lopullinen pitoisuus

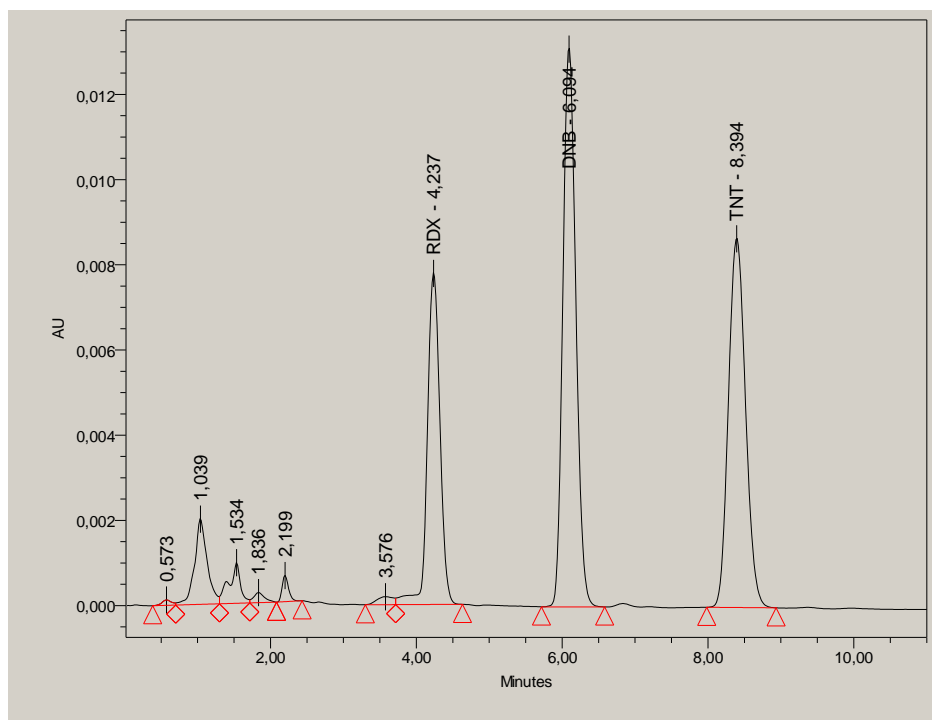
$$V_2 = \text{alkuperäinen tilavuus} = 0,5 \text{ l}$$

Tästä saadaan

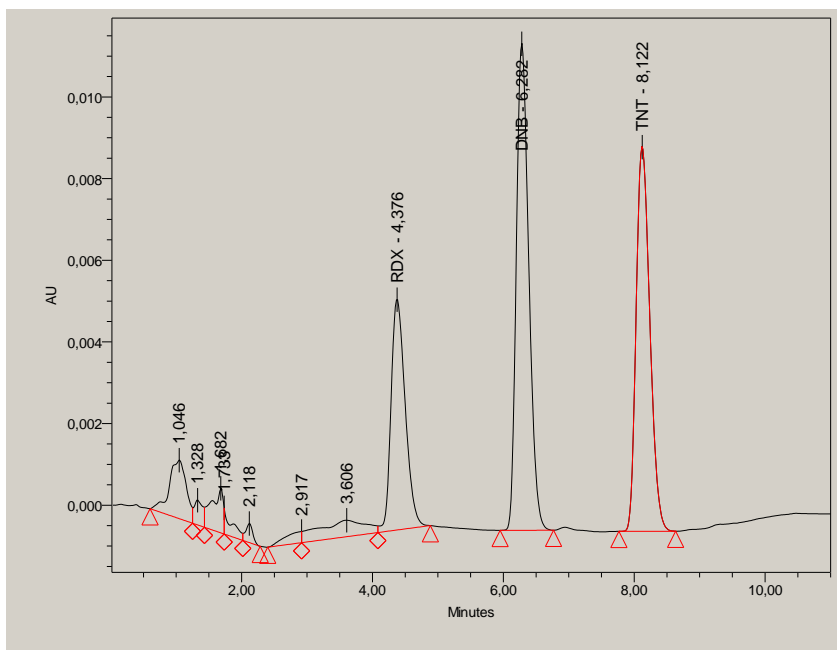
$$C_2 = \frac{C_1 * V_1}{V_2} \quad (27)$$

11. Saadut tulokset

Pohjaviiva oli tasaisempi ja piikit paremmat ajettaessa isokraattisella ajolla (kuva 15.) kuin gradienttijaolla (kuva 16.). Tulokset laskettiin piikin korkeuden mukaan, koska tällöin kalibrointisuora antoi paremmat R^2 -arvot kuin pinta-alan mukaan laskettuna. Laite myös tunnisti piikin paremmin korkeuden mukaan laskettuna. Tutkittaessa lineaarisen ja toisen asteen yhtälön sovitusta päädyttiin lineaariseen kalibrointisuoraan, koska epälineaarinen, toisen asteen yhtälön sovitus, ei laskenut tuloksia ollenkaan vahvimmalle standardille, STD 5, jonka pitoisuus oli 1,9968 mg/l sekä TNT:lle että RDX:lle. Retentioajat vaihtelivat RDX:lle 4,291-4,310 min välillä, TNT:lle 8,100 – 8,500 minuutin välillä sekä DNB:lle 5,900-6,200 minuutin välillä.

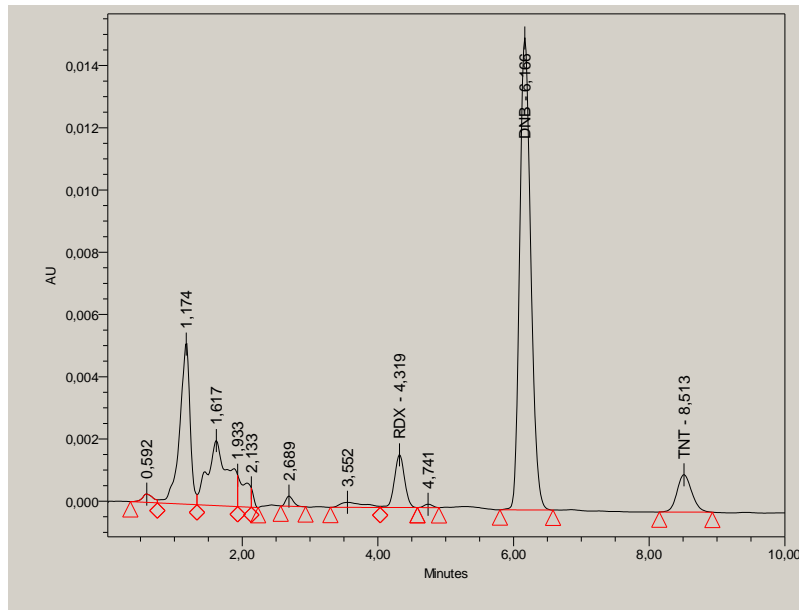


Kuva 15. Isokraattinen ajo , STD 3 (tehty 11.6.06)



Kuva 16. Gradientti ajo, STD 3

Verrattaessa ajo-olosuhteiden muutoksia huomattiin, että kun aallonpituus oli 254 nm laite ei tunnistanut pienintä RDX:n pitoisuutta, muuten ei ollut eroa valittujen olosuhteiden välillä. Injektointilavuuden ollessa 10 μ l ei havaittu eroa normaaliin ajo-olosuhteisiin. Kun virtausnopeus oli 2 ml/min RDX:lla ja TNT:lla oli lyhyempi retentioaika, muuten ei vaikutusta pitoisuuteen. Myös lämpötilan kohottaminen 40 °C :eseen lyhensi retentioaikoja, mutta vain hieman. Päädyttiin kuitenkin seuraaviin ajo-olosuhteisiin, koska ne antoivat pienimmät vaihtelut standardeille: Isokraattinen ajo eli veden osuus oli 55 % ja asetonitriilin 45 %. Injektointilavuus oli 30 μ l, lämpötila 25 °C :tta, virtausnopeus 1 ml/min ja aallonpituus 230 nm. Optimointi parametrit laskettiin standardi 1, joka oli ajettu 10.08.09 (Liite 1.) ja tehty 29.07.09. Seuraavat arvot saatiin kromatogrammista. (kuva 17. ja taul.13.)



Kuva 17. 10.08.09 ajettu standardi 1. Optimointiparametrin laskut.

Taulukko 13. Parametrien laskemiseen käytetyt arvot

	piikki			
Parametrit	tm	RDX	TNT	DNB
retentioaika, [s]	70,44	259,14	510,78	369,96
piikin puolikorkeuden		0,5 cm	0,65 cm	0,7 cm
leveys, w, [s]		=17,645 s	=22,9385 s	=24,703 s

Resoluutio laskettiin kaavalla 5.

$$R_{RDX} = (1,177 * (t_{DNB} - t_{RDX}) s) / (w_{DNB} + w_{RDX}) s$$

$$= (1,177 * (369,96 - 259,14)) / (24,703 + 17,645) = 3,08007 = 3,08$$

Kapasiteettitekijä laskettiin kaavan 7. avulla RDX:lle.

$$k'_{RDX} = (259,14 - 70,44) s / 70,44 s = 2,67887 = 2,70$$

Selektiivisyys laskettiin kaavan 6. avulla RDX:lle.

$$\alpha = (k'_{DNB} / k'_{RDX}) = (4,252129 / 2,67887) = 1,58728 = 1,60$$

Resoluutio ja kapasiteettitekijä olivat hyväksyttäviä, Selektiivisyys oli RDX:lle hyvä, mutta TNT:lle ja DNB:lle se ei ollut paras mahdollinen. Parametrien arvot on esitetty taulukossa 14.

Taulukko 14. Tulokset parametri testeille

Parametri	RDX	DNB	TNT
R, Resoluutio	3,08	3,08	3,50
suhteellinen retentio, selektiivisyys	1,60	0,60	0,70
Kapasiteettitekijä, k	2,70	4,30	6,30

Selektiivisyyttä voidaan arvioida takaisinsaanto kokeen perustella. Takaisin saanto lasketaan kaavasta 11. Selektiivisyys laskettiin standardisuoralla mitatuista pitoisuuksista, jotka mitattiin 10.8.09 (taulukko 15.). Tällöin TNT:lle R^2 oli 0,999748 ja RDX:lle R^2 oli 0,996799.

Taulukko 15. Mitatut ja halutut pitoisuudet TNT:lla ja RDX:lla

	mitattu pitoisuus, [mg/l]	TNT	Haluttu pitoisuus, [mg/l]	
	RDX		RDX	TNT
STD 1	0,055925	0,085505	0,09984	0,09984
STD 2	0,514371	0,508763	0,4992	0,4992
STD 3	1,064808	1,013495	0,9984	0,9984
STD 4	1,486148	1,493193	1,4976	1,4976
STD 5	1,970588	1,990884	1,9968	1,9968

Saanto % STD 1 TNT:lle kaavalla 11.

$$\text{saanto-\%} = (0,085505 \text{ mg/L} / 0,09984 \text{ mg/L}) * 100 \% = 85,6420 \% = 85,6 \%$$

Tulokset kaikille standardeille taulukossa 16.

Taulukko 16. Saanto % TNT:lle ja RDX:lle

Saanto %		
	RDX (%)	TNT (%)
STD 1	56,015	85,6
STD 2	103,04	101,9
STD 3	106,7	101,5
STD 4	99,2	99,7
STD 5	98,7	99,7

Saanto oli RDX STD 1. huono, mutta muille hyvä ja se oli välillä 98,7-106,7 % ja TNT:n saanto oli kaikille standardeille hyvä ja se oli välillä 86,5 %-101,9 %.

Mittaustulokset aikavälille 31.7.09-10.8.09 ovat taulukossa 17. Tuloksia 14.08.09 ei otettu huomioon, koska poikkesivat muista selvästi.

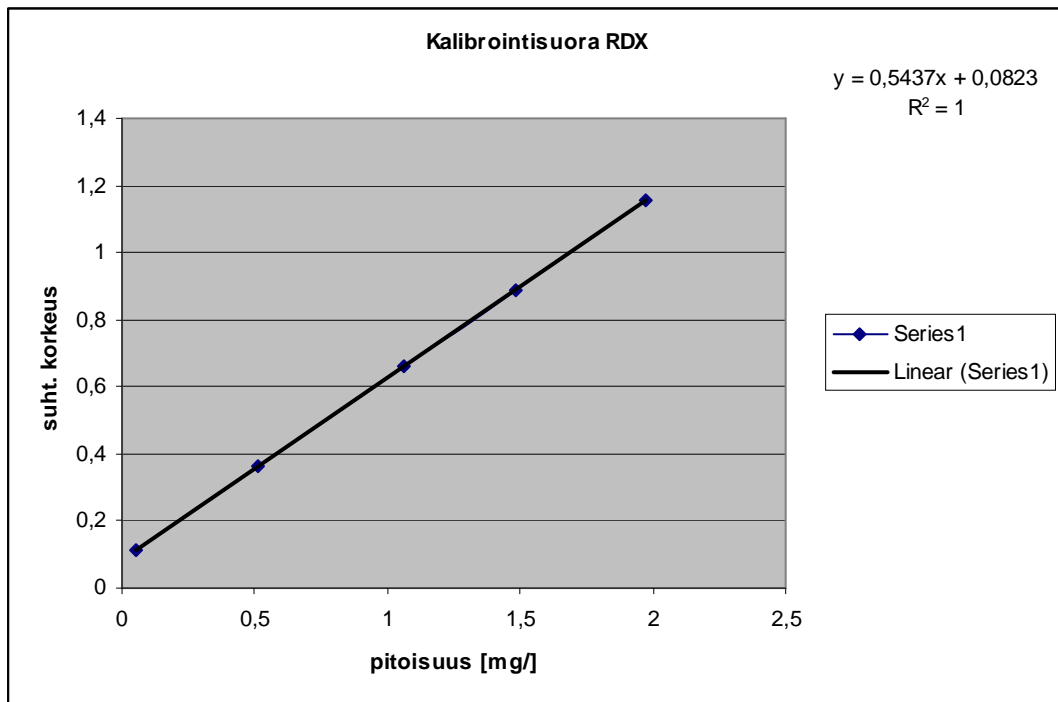
Taulukko 17. Mitatut pitoisuudet, [mg/l]

STD 1			STD 2			STD 3		
	RDX	TNT		RDX	TNT		RDX	TNT
30.7.2009	0,091	0,083	30.7.2009	0,469	0,507	30.7.2009	1,054	1,02
30.7.2009	0,096	0,087	31.7.2009	0,472	0,507	31.7.2009	1,049	1,017
	0,098	0,086		0,47	0,506		1,048	1,019
	0,095	0,086		0,469	0,508		1,047	1,024
	0,097	0,087		0,468	0,505		1,046	1,02
	0,097	0,086		0,465	0,511		1,05	1,026
	0,1	0,087	3.8.2009	0,471	0,507	3.8.2009	1,044	1,03
3.8.2009	0,101	0,08		0,469	0,506		1,04	1,029
	0,1	0,08		0,469	0,509		1,036	1,024
	0,097	0,081		0,47	0,509		1,031	1,026
	0,101	0,081		0,469	0,506		1,04	1,027
	0,101	0,08	3.08.09 (4p)	0,486	0,513	3.08.09 (4p)	1,058	1,035
3.08.09 (4p)	0,116	0,086		0,484	0,512		1,054	1,035
	0,116	0,086		0,484	0,515		1,051	1,03
	0,113	0,087		0,485	0,515		1,046	1,032
	0,116	0,087		0,484	0,512		1,055	1,033
	0,116	0,087	4.8.2009(4 p)	0,515	0,514	4.8.2009(4 p)	1,083	1,025
4.8.2009(4 p)	0,074	0,09	4.8.2009	0,496	0,509	4.8.2009	1,065	1,02
4.8.2009	0,055	0,085	5.8.2009	0,496	0,509	5.8.2009	1,06	1,021
5.8.2009	0,053	0,084		0,497	0,51		1,061	1,024
	0,052	0,085		0,5	0,514		1,055	1,022
	0,053	0,084		0,498	0,512		1,052	1,022
	0,052	0,084		0,501	0,511		1,049	1,021
	0,059	0,085	10.8.2009	0,506	0,512	10.8.2009	1,05	1,012
10.8.2009	0,056	0,084		0,499	0,509		1,047	1,015
	0,056	0,084		0,5	0,511		1,053	1,019
	0,054	0,085		0,502	0,511		1,04	1,018
	0,056	0,085	14.8.2009* (R2)	0,688	0,549	14.8.2009* (R2)	1,075	1,051
14.8.2009* (R2)	0,13	0,126						

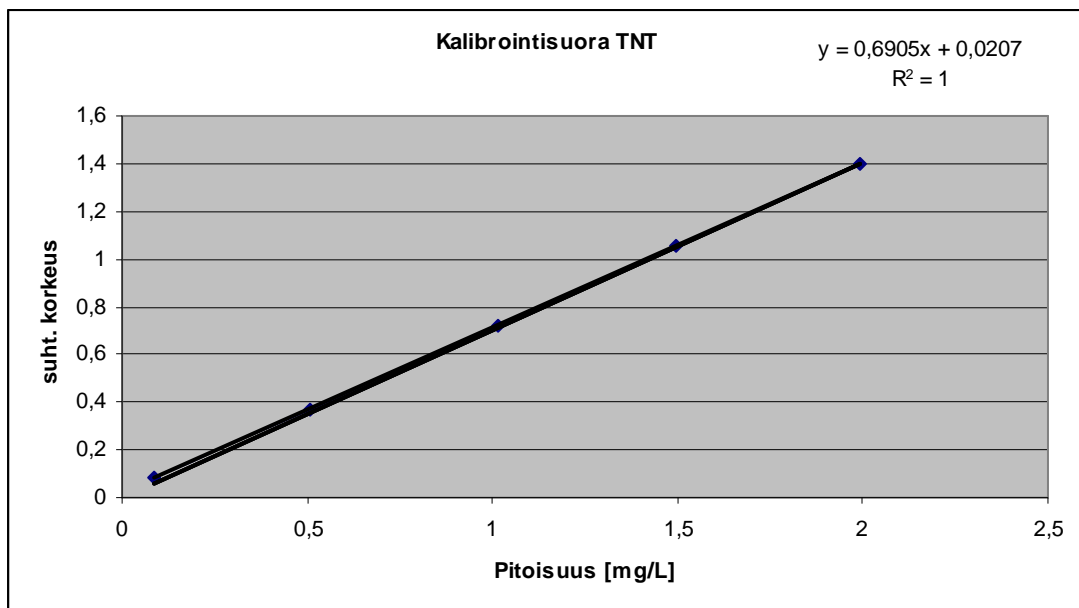
Taulukko 17 jatkuu.

STD 4			STD 5		
	RDX	TNT		RDX	TNT
30.7.2009	1,48	1,502	30.7.2009	1,976	1,992
31.7.2009	1,459	1,505	31.7.2009	1,97	2,002
	1,466	1,513		1,961	2,001
	1,466	1,51		1,961	2,005
	1,463	1,496		1,96	2,007
	1,468	1,509		1,959	2,013
3.8.2009	1,474	1,506	3.8.2009	1,974	2,006
	1,46	1,504		1,969	2,004
	1,465	1,506		1,969	1,997
	1,462	1,502		1,97	2,003
	1,464	1,508		1,975	2,005
3.08.09 (4p)	1,488	1,511	3.08.09 (4p)	1,988	2,012
	1,474	1,51		1,983	2,009
	1,479	1,512		1,983	2,003
	1,477	1,508		1,984	2,009
	1,478	1,513		1,989	2,011
4.8.2009(4 p)	1,489	1,498	4.8.2009(4 p)	1,982	1,997
4.8.2009	1,471	1,493	4.8.2009	1,964	1,992
5.8.2009	1,47	1,512	5.8.2009	1,953	2,002
	1,463	1,507		1,948	2,005
	1,457	1,504		1,952	2,005
	1,459	1,502		1,943	2,012
	1,463	1,509		1,958	2,019
10.8.2009	1,456	1,496	10.8.2009	1,943	1,997
	1,465	1,498		1,943	1,998
	1,466	1,499		1,956	2,015
	1,459	1,496		1,956	2,01
14.8.2009* (R2)	1,44	1,525	14.8.2009* (R2)	1,901	2,021

Kaikkien tulosten kalibrointisuorien R^2 arvot RDX:lle olivat välillä 0,996-0,9997 ja TNT:lle 0,9995-0,9998. Esimerkit kalibrointisuorista 10.8.09 mitatuille TNT:lle ja RDX:lle ovat kuvissa 18. ja 19.



Kuva 18. RDX Kalibrointisuora



Kuva 19. TNT kalibrointisuora

Kalibrointisuorille laskettiin residuaalit 10.8.09 suoritetuista mittauksista kaavalla 8. Esimerkkinä esitetään RDX:n 1. standardin residuaalien laskeminen: Lasketaan ensin haluttu y_i arvo kaavalla 28. Lineaarisen kalibrointisuoran yhtälöstä

$$y_i = b \cdot x + a \quad (28)$$

$$y_i = (0,5436556 * 0,09984) + 0,08225821 = 0,1365367851$$

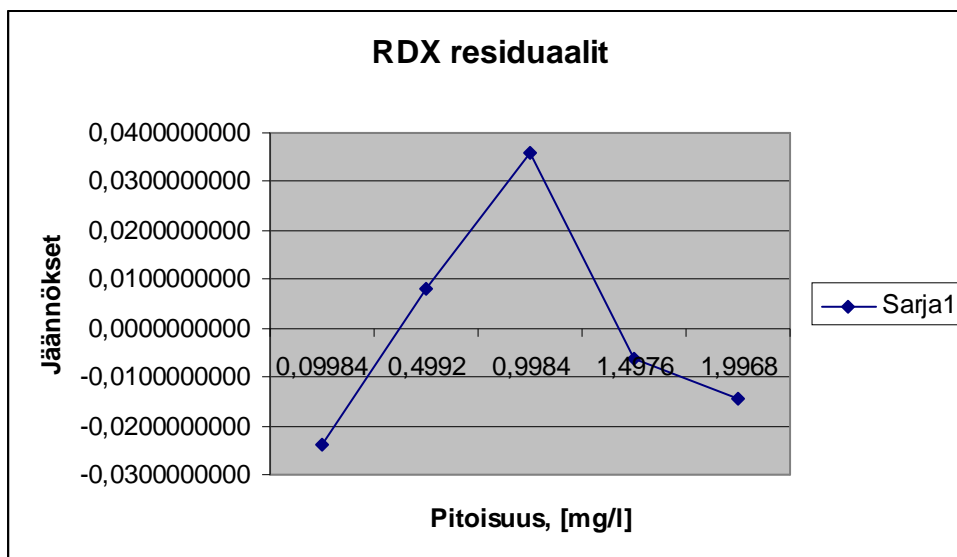
Tästä voidaan laskea residuaalit kaavalla 8.

$$\hat{y}_i = y_i - \hat{y}_i = y - y_i = 0,112662 - 0,1365367851 = -0,0238747851$$

Jos residuaalit jakaantuvat tasaisesti nollan molemmin puolin on kalibrointisuora lineaarinen. Saadut tulokset on esitetty RDX:lle taulukossa 18 ja kuvaajassa 20 sekä TNT:lle taulukossa 19 ja kuvaajassa 21.

Taulukko 18. Residuaalit RDX

a = 0,08225821		b = 0,5436556				
RDX	mitattu y	haluttu y _i	mitattu x	haluttu x _i (pitoisuus)	Jäännös, y-y _i	
1	0,112662	0,1365367851	0,055925	0,09984	-0,0238747851	
2	0,361899	0,3536510855	0,514371	0,4992	0,0082479145	
3	0,661147	0,625043961	1,064808	0,9984	0,0361030390	
4	0,890211	0,896436837	1,486148	1,4976	-0,0062258366	
5	1,153579	1,167829712	1,970588	1,9968	-0,0142507120	

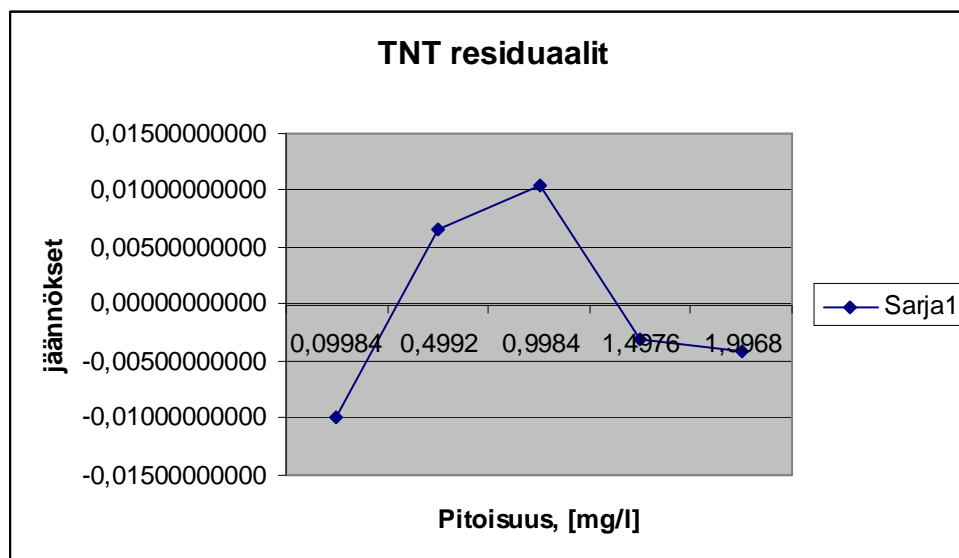


Kuva 20. RDX residuaali kuvaaja.

RDX:n standardisuora on lineaarinen, koska residuaalit jakaantuvat tasaisesti nollan molemmin puolin.

Taulukko 19. Residuaalit TNT

TNT	mitattu y	haluttu yi	mitattu x	haluttu xi (pitoisuus)	Jäännös, y-yi
1	0,079762	0,08966096270	0,085505	0,09984	-0,009898963
2	0,372041	0,3654372535	0,508763	0,4992	0,0066037465
3	0,720581	0,710157617	1,013495	0,9984	0,010423383
4	1,051835	1,054877981	1,493193	1,4976	-0,003042981
5	1,395513	1,399598344	1,990884	1,9968	-0,004085344



Kuva 21. TNT residuaali kuvaaja

TNT kalibrintisuora on lineaarinen, koska residuaalit jakaantuvat nollan molemmin puolin.

Kalibrintisuoran herkkyys laskettiin suoran kulmakertoimesta eli

TNT:n herkkyys oli $0,6905465$ suht. korkeus/mg/l = $0,7$ suht. korkeus /mg/l

RDX:n herkkyys oli $0,5436556$ suht. korkeus/mg/l = $0,5$ suht. korkeus/mg/l

Herkkyys oli hyvä sekä TNT:lle että RDX:lle.

Varsinaisista mittaustuloksista (taulukko 17.) laskettiin jokaiselle standardille erikseen keskiarvo, keskihajonta ja 95 % luottamusväli (taulukot 20. ja 21.)

Taulukko 20. RDX mittaustuloksista lasketut arvot

RDX	STD 1	STD 2	STD 3	STD 4	STD 5
oikea pitoisuus, [mg/l]	0,09984	0,4992	0,9984	1,4976	1,9968
k.a. [mg/l]	0,084679 =0,085	0,484963 =0,485	1,050519= 1,051	1,468185= 1,468	1,965519= 1,966
keskihajonta, s	0,024425= 0,02	0,015032 =0,015	0,01007= 0,010	0,008987= 0,009	0,014059 = 0,014
95 % luottamusväli	0,009471 =0,009	0,005946 =0,006	0,003984= 0,004	0,003555= 0,004	0,005561= 0,006
n [kpl]	28	27	27	27	27

Taulukko 21. TNT mittaustuloksista lasketut arvot

TNT	STD 1	STD 2	STD 3	STD 4	STD 5
oikea pitoisuus, [mg/l]	0,09984	0,4992	0,9984	1,4976	1,9968
k.a. [mg/l]	0,084714= 0,085	0,51=0,5	1,023926= 1,024	1,504778= 1,505	2,004852= 2,005
keskihajonta, s	0,002492=0,002	0,002909= 0,0029	0,006	0,005938= 0,006	0,006729= 0,007
95 % luottamusväli	0,000966= 0,001	0,001151= 0,0012	0,002373= 0,002	0,002349= 0,002	0,002662= 0,003
n [kpl]	28	27	27	27	27

RDX:lle STD:lle 1. lasketaan keskiarvo kaavalla 12.

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} = \frac{0,091 \del{0,096} \del{,} \del{,} 0,056}{28} = 0,08467857143 \text{ mg/l} = 0,08 \text{ mg/l}$$

Keskihajonta lasketaan kaavalla 13.

$$s = \sqrt{\frac{(0,091 \del{0,084679})^2 \del{0,096 \del{0,084679})^2 \del{,} \del{,} 0,056 \del{0,084679})^2}{27}}$$

$$= 0,024425326 \text{ mg/l} = 0,02 \text{ mg/l}$$

Tulokset ovat hyväksyttäviä jos todellinen arvo on 95 % luottamusrajojen sisällä. Rajat lasketaan kaavalla 14. Koska n = 28 niin t-arvo(n-1) on 2,052.

$$\bar{f} = 0,08467857143 \pm \frac{2,052 * 0,024425326 \text{ mg} / \text{L}}{\sqrt{28}}$$

$$= 0,08467857143 \pm 0,009471935012 = 0,085 \pm 0,009 \text{ mg/l}$$

Oikea tulos ei sisälly 95 % luottamusvälille, joten lasketaan systemaattinen ja satunnaisvirhe. Mikään RDX ja TNT standardi ei sisällynyt 95 % luottamusvälille, joten kaikissa oli systemaattista tai satunnaisvirhettä.

Systemaattinen virhe arvioitiin kaavalla 16.

$$s_{dr}(\%) = u_2 = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (d_r(\%) - \bar{d}_r(\%))^2}{n-1}} \quad (16)$$

$$\text{missä } d_r(\%) = \frac{x_i - x_{teor.}}{x_{teor.}} * 100\% \quad (28)$$

x_i = mitattu pitoisuus

$x_{teor.}$ = haluttu pitoisuus

$$\bar{d}_r(\%) = \frac{\sum_{i=1}^n d_{r1}, d_{r2}, \dots, d_{rn}}{n} = \text{keskiarvo } d_r(\%)$$

Laskettiin systemaattinen virhe. Laskettiin ensin mittaustuloksen ja halutun pitoisuuden erotus. esim. STD 1 RDX:lle

$$x_i - x_{teor.} = 0,091 \text{ mg/L} - 0,09984 \text{ mg/L} = -0,00884$$

Sitten lasketaan määrittelyn ja teoreettisen arvon suhteellinen erotus, $d_r(\%)$.

$$d_r(\%) = \frac{x - x_{teor.}}{x_{teor.}} * 100\% = \frac{-0,00884}{0,09984} * 100\% = -8,854166667\%$$

Sitten lasketaan suhteellisten erotusten keskiarvo, $\bar{d}_r(\%)$,

$$\bar{d}_r(\%) = \frac{\sum_{i=1}^n d_{r1}, d_{r2}, \dots, d_{rn}}{n} = \frac{8,85472 + \dots + 43,9103}{28} = 15,1857\%$$

Lasketaan $d_r(\%)$ - k.a $d_r(\%) = -8,85417 - (-15,1857) = 6,3315$

ja korotetaan tämä toiseen potenssiin (taulukko 22.).

$$(d_r(\%) - \text{k.a } d_r(\%))^2 = (-8,85417 - (-15,1857))^2 = 40,088$$

Lasketaan suhteellisen erotuksen keskihajonta, $s_{dr}(\%)$,

$$s_{dr}(\%) = u_2 = \sqrt{\frac{\sum (d_r(\%) - \bar{d}_r(\%))^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{(40,088 + 125,0986)}{27}} = 24,46447\% = 24,5\%$$

Taulukko 22. STD 1 RDX:n Systemaattisen virheen laskemiseen käytetyt arvot.

RDX (0,09984 mg/l)	mittaustulos	teor. Erotus x_i	$d_r(\%)$	$d_r(\%)$ -k.a $d_r(\%)$	$(d_r(\%)$ -k.a $d_r(\%))^2$
30.7.2009	0,091	-0,00884	-8,85417	6,331559066	40,08864021
30.7.2009	0,096	-0,00384	-3,84615	11,33957189	128,5858906
	0,098	-0,00184	-1,84295	13,34277701	178,0296985
	0,095	-0,00484	-4,84776	10,33796932	106,8736097
	0,097	-0,00284	-2,84455	12,34117445	152,3045868
	0,097	-0,00284	-2,84455	12,34117445	152,3045868
	0,1	0,00016	0,160256	15,34598214	235,4991679
3.8.2009	0,101	0,00116	1,161859	16,34758471	267,2435258
	0,1	0,00016	0,160256	15,34598214	235,4991679
	0,097	-0,00284	-2,84455	12,34117445	152,3045868
	0,101	0,00116	1,161859	16,34758471	267,2435258
	0,101	0,00116	1,161859	16,34758471	267,2435258
3.08.09 (4p)	0,116	0,01616	16,1859	31,37162317	984,1787402
	0,116	0,01616	16,1859	31,37162317	984,1787402
	0,113	0,01316	13,18109	28,36681548	804,6762203
	0,116	0,01616	16,1859	31,37162317	984,1787402
	0,116	0,01616	16,1859	31,37162317	984,1787402
4.8.2009(4 p)	0,074	-0,02584	-25,8814	-10,69568452	114,3976674
4.8.2009	0,055	-0,04484	-44,9119	-29,72613324	883,6429975
5.8.2009	0,053	-0,04684	-46,9151	-31,72933837	1006,750913
	0,052	-0,04784	-47,9167	-32,73094093	1071,314494
	0,053	-0,04684	-46,9151	-31,72933837	1006,750913
	0,052	-0,04784	-47,9167	-32,73094093	1071,314494
	0,059	-0,04084	-40,9054	-25,71972299	661,5041504
10.8.2009	0,056	-0,04384	-43,9103	-28,72453068	825,0986627
	0,056	-0,04384	-43,9103	-28,72453068	825,0986627
	0,054	-0,04584	-45,9135	-30,72773581	944,1937478
	0,056	-0,04384	-43,9103	-28,72453068	825,0986627

Arvot laskettiin kaikille TNT:n ja RDX:n standardeille vastaavasti (Liite 2).

Satunnaisvirhe voidaan arvioida kaavalla 17.

d_{ri} on rinnakkaisten mittausten suhteellinen poikkeama

$$d_{ri} = \frac{x_1 - x_2}{x_{k.a}} * 100\% = \frac{0,098 - 0,095}{0,0965} * 100\% = 3,10880829\%$$

Lasketaan satunnaisvirhe kaavalla 17.

$$s_{ri}(\%) = u_1 = \sqrt{\frac{\sum (d_{ri}(\%))^2}{2n}} = \sqrt{\frac{9,664689 + \dots + 13,22314}{2 * 10}} = 1,247680648 \%$$

Satunnaisvirheen laskemiseen käytetyt arvot RDX:lle STD 1 (Taulukko 23.). Kaikille standardeille satunnaisvirheen laskemiseen käytetyt arvot ovat liitteessä 3.

Taulukko 23. STD 1. RDX:n satunnaisvirheen laskemiseen käytetyt arvot

RDX	mittaus 1, x_1	mittaus 2, x_2	keskiarvo, \bar{x}	d_i , (ero- tus)	$d_{ri}(\%)$	$(d_{ri}(\%))^2$
30.7.2009	0,098	0,095	0,0965	0,003	3,108808	9,664689
	0,097	0,097	0,097	0	0	0
3.8.2009	0,101	0,1	0,1005	0,001	0,995025	0,990075
	0,101	0,101	0,101	0	0	0
3.08.09 (4p)	0,116	0,116	0,116	0	0	0
	0,116	0,116	0,116	0	0	0
5.8.2009	0,053	0,052	0,0525	0,001	1,904762	3,628118
	0,053	0,052	0,0525	0,001	1,904762	3,628118
10.8.2009	0,056	0,056	0,056	0	0	0
	0,054	0,056	0,055	-0,002	-3,63636	13,22314

Kokonaismittausepävarmuus lasketaan kaavan 18. avulla

$$u_c = \sqrt{u_1^2 + u_2^2} = \sqrt{24,4644^2 + 1,24768^2} = 24,4962 \% = 24,5 \%$$

95 % laajennettu mittausepävarmuus saadaan kaavasta 19.

$$U = 2 \cdot u_c = 2 \cdot 21,4962 \% = 48,992528 \% = 49 \%$$

Lasketaan systemaattisen virheen merkitsevyys kaavalla 20. Jos laskettu t-arvo on suurempi kuin t_{kriit} , niin systemaattinen virhe on merkitsevä. $t_{\text{kriit}} = 2,052$.

$$t = \frac{|d_r(\%)|}{s_{dr}(\%)} \cdot \sqrt{n} = \frac{|15,1857|}{24,46446937} \cdot \sqrt{28} = 3,284955617$$

Eli standardi 1 RDX on systemaattista virhettä. Kaikille standardeille tulokset taulukossa 24. ja 25.

Taulukossa 24. RDX mittausepävarmuuden tulokset

RDX	satunnaisvirhe (%)	systemaattinen virhe (%)	summa dri %2	yhdistetty mittausepävarmuus (%)	Laajennettu mittausepävarmuus (%)	t-arvo	t-kriittinen
STD 1	1,3	24,5	31,13413981	24,5	49	3,285	2,048
STD 2	0,4	3,011	2,753428052	3,03	6,07	4,9214	2,052
STD 3	1,11	1,009	2,48553132	1,5	3,007	26,892	2,052
STD 4	0,20	0,6	1,223902296	0,6	1,3	17,007	2,052
STD 5	0,14	0,7	0,409489161	0,7	1,4	11,562	2,052

Taulukko 25. TNT mittausepävarmuuden tulokset

TNT	satunnaisvirhe (%)	systemaattinen virhe (%)	summa dri %2	yhdistetty mittausepävarmuus (%)	Laajennettu mittausepävarmuus, (%)	systemaattisen virheen merkitsevyys	t-kriittinen
STD 1	0,5	2,5	4,07350	2,5	5,02	32,4608	2,048
STD 2	0,3	0,6	1,422695711	0,6	1,3	19,292	2,052
STD 3	0,15	0,6	0,437289912	0,6	1,2	22,108	2,052
STD 4	0,3	0,4	1,199035194	0,5	1,013	6,2813	2,052
STD 5	0,11	0,3	0,249368545	0,4	0,7	4,827	2,052

Kaikista t-arvoista voitiin päätellä, että kaikilla standardeilla oli systemaattista virhettä. Satunnaisvirheet taas olivat kaikilla erittäin pienet. RDX systemaattinen virhe STD 1:llä oli erittäin suuri, mutta muille systemaattinen virhe oli luokkaa 3,01-0,3 %. Satunnainen virhe oli 1,3-0,1 % välillä, mikä oli erittäin pieni. Laajennettu mittausepävarmuus oli RDX:lle STD1 melkein 50 %, jolloin tulos ei ole luotettava. Muille laajennettu epävarmuus oli 0,7-6 % luokkaa. Samoin TNT:lle systemaattinen ja satunnaisvirhe olivat suurimmat STD 1:llä

Tarkkuus kertoo tulosten keskiarvon yhtäpitävyydestä todellisen arvon kanssa ja se lasketaan kaavasta 10. Tulokset on esitetty taulukossa 26.

$$\text{Tarkkuus-\%} = \frac{|100 \cdot \frac{0,084679 \text{ mg/l} - 0,09984 \text{ mg/l}}{0,09984 \text{ mg/l}}|}{1} \cdot 15,18529 \% = 15,2 \%$$

Taulukko 26. Tarkkuus %

Tarkkuus	RDX (%)	TNT (%)
STD 1	15,2	15,2
STD 2	2,9	2,2
STD 3	5,2	2,6
STD 4	2,0	0,5
STD 5	1,6	0,4

Keskiarvo poikkesi enimmillään 1. standardeilla oikeasta arvosta. Muilla tarkkuus oli hyvä.

Toistettavuus voidaan laskea kaavalla 15 ja esimerkiksi RDX:n stand 1 saadaan:

$$\text{RSD \%} = \frac{0,024425 \text{ mg/l}}{0,084679 \text{ mg/l}} * 100\% = 28,844 \% = 28,8 \%$$

Kaikkien standardien RDS arvot RDX:lle ja TNT:lle on esitetty taulukossa 27.

Taulukko 27. RSD % TNT:lle ja RDX:lle

RSD	RDX (%)	TNT (%)
STD 1	28,8	2,9
STD 2	3,1	0,06
STD 3	1,0	0,6
STD 4	0,6	0,4
STD 5	0,7	0,3

Toistettavuudelle raja-arvot taulukossa 28.

Taulukko 28. Raja-arvot toistettavuudelle

erinomainen	0,5-1 %
hyvä	<1,5 %
ei hyvä	> 2 %

STD 1 oli huono toistettavuus niin TNT:lle kuin RDX:llekin sekä STD 2 RDX oli huono toistettavuus. Muilla standardeilla oli erinomainen toistettavuus. Yhteenvedona voitiin todeta, että standardilla 2. saadaan riittävällä luotettavuudella hyviä tuloksia sekä RDX:lle että TNT:lle, joten standardi 2. arvoa voidaan käyttää totemis- ja määrittäysrajojen laskemiseen.

Toteamisrajaa RDX:lle ja TNT:lle ei määritetty. Laskettiin vain määrittäysraja käyttäen pienintä luotettavaa standardin pitoisuutta kaavan 27 avulla. Tällöin saadaan oikea pitoisuus ennen uuttoa. Esimerkiksi RDX:lle, jonka pitoisuus uuttoa jälkeen oli 0,4992 mg/l (C_1), ACN tilavuus oli 0,005 l (V_1) ja alkuperäinen tilavuus oli 0,5 l (V_2), saadaan pitoisuudeksi ennen uuttoa:

$$C_2 \text{ (RDX)} = \frac{C_1 * V_1}{V_2} = \frac{0,4992 \text{ mg/l} * 0,005 \text{ l}}{0,5 \text{ l}} = 4,992 \text{ } \mu\text{g/l} = 5,0 \text{ } \mu\text{g/l}$$

Tällöin määrittäysrajoiksi saatiin:

$$LOQ_{\text{RDX}} = 5,0 \text{ } \mu\text{g/l}$$

$$LOQ_{\text{TNT}} = 5,0 \text{ } \mu\text{g/l}$$

Piirrettiin Shewhart kartat oikean halutun arvon ja keskihajonnan perusteella kaavojen 21-25 mukaan. Kohdearvo on haluttu pitoisuus. Laskemiseen käytetyt arvot saatiin taulukoista 20-21 .

Esimerkkinä RDX STD 1:

$$\text{Ylempi toimenpide viiva: } 0,09984 + 3 * 0,024425 = 0,173115 \text{ mg/l}$$

$$\text{ylempi varoitusviiva : } 0,09984 + 2 * 0,024425 = 0,14869 \text{ mg/l}$$

$$\text{Kohdearvo: } 0,09984 \text{ mg/l}$$

$$\text{Alempi varoitusviiva: } 0,09984 - 2 * 0,024425 = 0,05099 \text{ mg/l}$$

Alempi toimenpideviiva: $0,09984 - 3 \cdot 0,024425 = 0,026565 \text{ mg/l}$

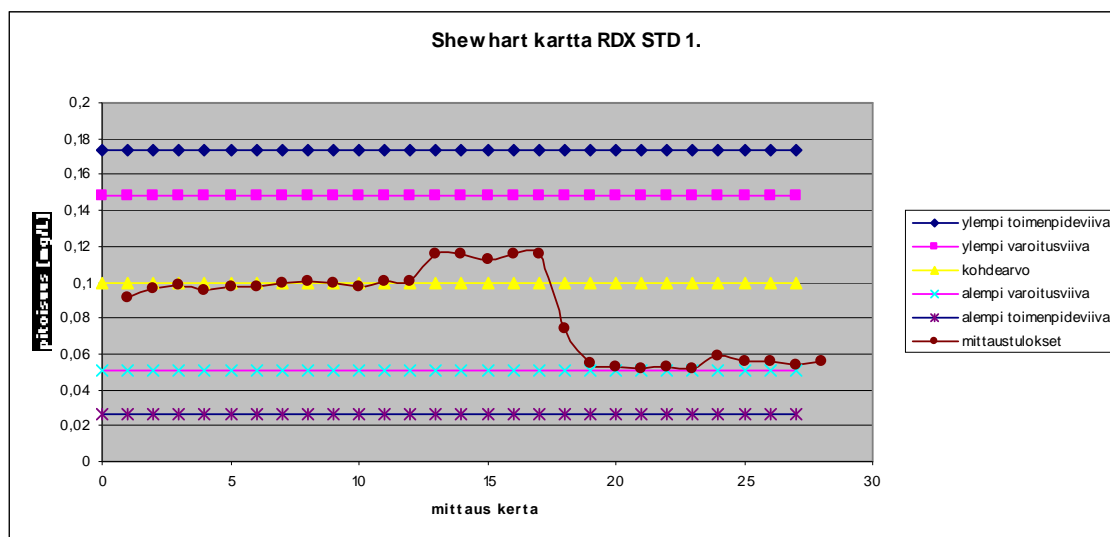
Shewhart kartan lasketut arvot ovat taulukoissa 29. ja 30. ja esimerkki shewhart kartasta on kuvassa 22. TNT:lle vastaavasti tulokset taulukossa 30.

Taulukko 29. RDX Shewhart karttaan käytetyt arvot

RDX	STD 1	STD 2	STD 3	STD 4	STD 5
ylempi toimenpideviiva	0,173115	0,544296	1,02861	1,524561	2,038977
ylempi varoitusviiva	0,14869	0,529264	1,01854	1,515574	2,024918
kohdearvo	0,09984	0,4992	0,9984	1,4976	1,9968
alempi varoitusviiva	0,05099	0,469136	0,97826	1,479626	1,968682
alempi toimenpideviiva	0,026565	0,454104	0,96819	1,470639	1,954623

Taulukko 30. TNT Shewhart karttaan käytetyt arvot

TNT	STD 1	STD 2	STD 3	STD 4	STD 5
ylempi toimenpideviiva	0,100588	0,500073	1,0164	1,515414	2,016987
ylempi varoitusviiva	0,100338	0,499782	1,0104	1,509476	2,010258
kohdearvo	0,09984	0,4992	0,9984	1,4976	1,9968
alempi varoitusviiva	0,099342	0,498618	0,9864	1,485724	1,983342
alempi toimenpideviiva	0,099092	0,498327	0,9804	1,479786	1,976613



Kuva 22. STD 1 RDX Shewhart kartta.

Shewhart kartat kaikille standardeille on esitetty liitteessä 4. Kartoista voitiin päätellä, että TNT kolmella pienimmällä standardilla mitatut arvot menivät yli toimenpideviivojen. Eli tuloksissa oli systemaattista virhettä. STD 4 ja STD 5 arvot sijoittuivat hyvin kohdearvon ja varoitusviivan väliin, muutama poikkeus oli. RDX STD 1 ja STD 2 si-

joittuivat hyvin kohdearvon ja varoitusviivojen väliin, mutta STD 3, 4 ja 5 olivat yli toimenpideviivojen. Tästä voitaisiin päätellä, että mittauksissa systemaattista virhettä.

Varsinaiset vesinäytteiden mittaustulokset voidaan laskea kaavalla 26. Lasketaan tulokset piikin korkeuden mukaan. Otetaan huomioon uutossa ollut asetonin pitoisuus (5 ml), alussa ollut tilavuus (n. 500 ml) ja koneen antama tulos, joka lasketaan piikin korkeuden mukaan. Tällöin saadaan lopullinen pitoisuus kaavalla 27.

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2 \quad (26)$$

missä C_1 = koneen antama tulos

V_1 = asetonitriilin pitoisuus = 0,005 L

C_2 = Lopullinen pitoisuus

V_2 = alkuperäinen tilavuus = 0,5 L

Tästä saadaan oikea pitoisuus ennen uuttoa kaavalla 27.

$$C_2 = \frac{C_1 * V_1}{V_2} \quad (27)$$

12. Yhteenveto

Ensin katsottiin ajo-olosuhteiden soveltuvuus, josta tuloksena saatiin, että isokraattinen ajo antoi vähemmän pohjavaihtelua ja luotettavampia tuloksia pitoisuuksille kuin gradienttijajo. ACN:n osuus saatiin pienemmäksi kuin monilla kirjallisessa osiossa tarkastellulla menetelmällä. Kuitenkin resoluutio säilyi hyvänä, mikä alentaa käyttökustannuksia. Ajoliuoksina käytettiin vettä ja asetonitriiliä. Isograattisessa ajossa liuosolosuhteet ovat samat koko ajan. Työssä ACN:n osuus oli 45 % ja veden osuus 55 %, injektointitilavuus oli 30 μ l, ajoaika 10 min, lämpötila 25 °C:ta ja aallonpituus 230 nm sekä virtausnopeus oli 1 ml/min. Piikin korkeuden mukaan mitattaessa saatiin paremmat tulokset lineaarisella sovituksella, kuin toisen asteen yhtälön sovituksella, joka ei antanut tulosta isoimmalle standardille. Tämä voitiin todistaa myös residuaali tarkastelulla, jossa jäännökset jakaantuivat tasaisesti nollan molemmiin puolin lineaarisella sovitusel-

la. Korkeuden mukaan mitattuna lineaariset suorat antoivat R^2 - arvoksi TNT:lle 0,9995-0,9998 ja RDX:lle 0,996-0,9997.

Mikään standardi ei antanut hyväksyttävää tulosta 95 % luottamusvälillä. Tämän takia tarkasteltiin satunnaisvirheen ja systemaattisen virheen osuutta mittauksissa. Satunnaisvirheet olivat RDX:lle 0,14-1,11 % ja TNT:lle 0,11-0,3 %. Systemaattiset virheet olivat RDX 0,6-3,0 % ja TNT 0,3-0,6 % standardeille 2-5. Suurimmat virheet aiheutuivat uutosta, koska satunnaisvirhe oli pieni, mutta systemaattinen virhe oli suuri varsinkin pienemmällä standardilla. Toistettavuus itsessään laitteella oli erittäin hyvä. Menetelmä voitiin todeta selektiiviseksi standardi 2. (0,004992 mg/l) lähtien ja saanto oli 98-106 % välillä standardeilla 2-5. Yhteenvedona voitiin päätellä, että menetelmä antoi luotettavia tuloksia standardista 2. lähtien sekä RDX:lla ja TNT:lla. Tämän takia määritysrajat laskettiin standardi 2. mukaan. $LOQ_{RDX} = 5,0 \text{ } \mu\text{g/l}$ ja $LOQ_{TNT} = 5,0 \text{ } \mu\text{g/l}$. Standardien säilyvyudeksi saatiin 12 päivää eli n. 2 viikkoa, joka vastasi monissa artikkeleissa esitettyä säilyvyys aikaa.

Kehitetty menetelmä validoitiin vain vesinäytteiden määrittämiseen pienillä pitoisuuksilla, jolloin käytetään kiinteäfaasiuuttoa. Suurilla pitoisuuksilla tulee käyttää uuttamattomia standardeja ja varsinaiset vesinäytteet voidaan joutua laimentamaan. Koska menetelmä oli erittäin toistettava jo uutetuilla näytteillä niin tämä ei aiheuta ongelmaa uuttamattomillakaan. HPLC soveltuu myös maaperänäytteiden tutkimiseen, mutta se jätettiin ajan puutteen vuoksi tällä erää tekemättä. Maaperänäytteiden käsittely voitaisiin suorittaa kuivaamalla ja homogenisoimalla maaperä- ja sedimenttinäytteet ensin. Kuivattu näyte uutetaan esim. ultraäänellä asetonin kanssa, jonka jälkeen se sentrifugoidaan ja erotellaan. Tämän jälkeen erotettu asetonikerros uutetaan normaalisti patruunoiden avulla kuten vesinanalyysissä ja ulosuutettaisiin asetonitriiliin.

Työn suorittamisessa parempi lähtökohta olisi ehkä ollut lähteä purkamaan validointia eri lähtökohdasta. Lähtisin tutkimaan ensin lämpötilan ja virtausnopeuden vaikutusta. Ajan puutteen vuoksi sedimenttinäytteiden käsittely jäi gradun ja validoinnin osalta valitettavasti tekemättä. Jotta saataisiin luotettavia tuloksia sedimenttinäytteille tulisi menetelmä validoida sedimenttinäytteille erikseen. Varsinaista vesinäytteiden käsittelymenetelmää voisi kokeilla vielä parantaa lyhentämällä kolonnia, parantamalla uuton tehokkuutta pienentämällä sen nopeutta ja vähentämällä ACN:n määrää entisestään, mutta tällöin työajat pitenisivät ja erottelukyvyyssä voitaisiin joutua karsimaan sekä menetelmä

tulisi kalliimmaksi. Menetelmä oli herkkä, selektiivinen, toistettava ja sillä päästiin $\mu\text{g}/\text{l}$ oleviin pitoisuuksiin määritys- ja havainnointirajoissa vesinäytteille. RDX:n ja TNT:n pitoisuuksien määritysohjeet (Liite 5.) laadittiin yhdessä Armi Tervämäen kanssa puolustusvoimien käyttöön.

13. Kirjallisuusluettelo

1. PVMatLE:n Räjähdekurssi 4, opintokokonaisuus 1, Terhi Meriläinen/PvTT, So-tilasräjähdysaineet. ss. 7-12 (21.03.2006).
2. <http://www.epa.gov/waterscience/criteria/drinking/dwstandards.html#organics> (27.08.09) (EPA: United States Environmental Protection Agency: 2006 Edition of the Drinking Water Standards and Health Advisories)
3. S. Jaarinen ja J. Niiranen, *Laboratorion analyysitekniikka*, 1. Painos, Oy Edita Ab, Helsinki, **1996**, ss. 144-164.
4. T. Suortti, Nestegromatografia, Luentomateriaali, AEL kurssi, **1994**, 3.-5.3.1997.
5. P. O. Lehtonen, *Kemian laskut laboratoriossa*, Hakapaino Oy, Helsinki, 2000, ss. 144.
6. Suomen kemian seura, Räjähdeyhdistys, *Räjähdekirja*, Gummerus kirjapaino Oy, Jyväskylä, **2005**, ss. 29,
7. S. Singh, Sensor - An effective approach for the detection of explosives, *J. Hazard. Mater.*, **2007**, *144*, 15-28.
8. R. Martel, T. J. Robertson, M.Q. Doan, S. Thiboutot, G. Ampleman, A. Provas and T. Jenkins, 2,4,6-Trinitrotoluene in soil and groundwater under a waste lagoon at the former Explosives Factory Maribyrnong (EFM), Victoria, Australia, *Environ. Geol.*, **2008**, *53*, 1249-1259
9. A. Hilmi, J. Luong and A.-L. Nguyen, Determination of explosives in soil and ground water by liquid chromatography - amperometric detection, *J. Chromatogr. A*, **1999**, *844*, 97-110.

10. R. Meyer, J. Köhler and A. Homburg, *Explosives*, 6. Painos, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co, Weinheim, 2007.
11. Esitelmä: Puolustusvoimien teknillinen tutkimuslaitos, Sotilasräjähdysaineet, T. Meriläinen (15.02.2005).
12. H. Ek, E. Nilsson, G. Birgersson and G. Dave, TNT leakage through sediment to water and toxicity to *Nitocra spinipes*, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **2007**, *67*, 341-348.
13. P. Bajerová, A. Eisner, V. Ježová, M. Adam and K. Ventura, Comparison of supercritical fluid and Soxhlet extractions for the isolation of nitro compounds from soils, *J. Sep. Sci.*, **2008**, *31*, 1408-1414.
14. R.T. Echols, M.M. Christensen, R.M. Krisko and J.H. Aldstadt, Selective determination of TNT in soil extracts by sequential injection spectrophotometry, *Anal. Chem.*, **1999**, *71*(14), 2739-2744.
15. S. Letzel, Th. Göen, M. Bader, J. Angerer and T. Kraus, Exposure to nitroaromatic explosives and health effects during disposal of military waste, *Occup. Environ. Med.*, **2003**, *60*, 483-488
16. Puolustusvoimien tutkimuskeskus, Laaja tutkimus "Räjähteiden ympäristövaikutukset, YLÖJÄRVI, loppuraportti (.5.1995).
17. E.P.H. Best, H.E. Tatem, K.N. Geter, M.L. Wells and B.K. Lane, Effects, uptake, and fate of 2,4,6-trinitrotoluene aged in soil in plants and worms, *Environ. Toxicol. Chem.*, **2008**, *27* (12), 2539-2547.
18. W.-T. Ma, W. Chan, K. Steinbach and Z. Cai, Determination of five nitrobenzoic acids in groundwater by solid-phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2007**, *387*, 2219-2225

19. C.W. Williford Jr and R.M. Bricka, Extraction of TNT from aggregate soil fractions, *J. Hazard. Mater.*, **1999**, *66*, 1-13.
20. J. Sjöström, R.M. Karlsson and U. Qvarfort, Environmental risk assessment of dumped ammunition in natural waters in Sweden-a summary, *Swedish defence research agency*, **2004**, 1-28.
21. D. Kalderis, S.B. Hawthorne, A.A. Clifford and E. Gidarakos, Interaction of soil, water and TNT during degradation of TNT on contaminated soil using subcritical water, *J. Hazard. Mater.*, **2008**, *159*, 329-334.
22. M. Qasim, Y. Kholad, L. Gorb, D. Magers, P. Honea and J. Leszczynski, Application of quantum-chemical approximations to environmental problems: Prediction of physical and chemical properties of TNT and related species, *Chemosphere*, **2007**, *69*, 1144-1150.
23. H. Ryu, J.K. Han, J.W. Jung, B. Bae and K. Nam, Human health risk assessment of explosives and heavy metals at a military gunnery range, *Environ. Geochem. Health*, **2007**, *29*, 259-269.
24. Method 3535A, SOLID-PHASE EXTRACTION (SPE), Revision 1, February **2007**.
25. Method 3540C, SOXHLET EXTRACTION, Revision 3, December **1996**
26. Method 3550C, ULTRASONIC EXTRACTION, Revision 3, February **2007**
27. D.R. Felt, S.L. Larson and L. Escalon, An extraction/concentration procedure for analysis of low-level explosives in soils, *Talanta*, **2008**, *76*, 21-28.
28. Method 8330A, NITROAROMATICS AND NITRAMINES BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC), Revision 1, February **2007**.

29. R. Battle, H. Carlsson, P. Tollbäck, A. Colmsjö and C. Crescenzi, Enhanced detection of nitroaromatic explosive vapors combining solid-phase extraction-air sampling, supercritical fluid extraction, and large-volume injection-GC, *Anal. Chem.* **2003**, 75 (13), 3137-3144.
30. R. Battle, H. Carlsson, E. Holmgren A. Colmsjö and C Crescenzi, On-line coupling of supercritical fluid extraction with high-performance liquid chromatography for the determination of explosives in vapour phases, *J. Chromatogr. A.*, **2002**, 963, 73-82.
31. C. Sanchez, H. Carlsson, A. Colmsjö, C. Crescenzi and R. Battle, Determination of nitroaromatic compounds in air samples at femtogram level using C₁₈ membrane sampling and on-line extraction with LC-MS, *Anal. Chem.*, **2003**, 75 (17), 4639-4645.
32. J. Yinon, Trace analysis of explosives in water by gas chromatography - mass spectrometry with a temperature-programmed injector, *J. Chromatogr. A.*, **1996**, 742, 205-209.
33. T. Borch and R. Gerlach, Use of reversed-phase high-performance liquid chromatography-diode array detection for complete separation of 2,4,6-trinitrotoluene metabolites and EPA Method 8330 explosives: influence of temperature and an ion-pair reagent, *J. Chromatogr. A.*, **2004**, 1022, 83-94.
34. W.-S. Chen, W.-C. Chiang and C.-C. Lai, Recovery of nitrotoluenes in wastewater by solvent extraction, *J. Hazard. Mater.*, **2007**, 145, 23-29.
35. R.L. Marple and W.R. LaCourse, Application of photoassisted electrochemical detection to explosive-containing environmental samples, *Anal. Chem.* **2005**, 77(20), 6709-6714
36. G.R. Asbury, J. Klasmeier and H.H. Hill Jr, Analysis of explosives using electrospray ionization/ion mobility spectrometry (ESI/IMS), *Talanta*, **2000**, 50, 1291-1298

37. Gaurav, V. Kaur, A. Kumar, A.K. Malik and P.K. Rai, SPME-HPLC: A new approach to the analysis of explosive, *J. Hazard. Mater.*, **2007**, *147*, 691-697.
38. F. Monteil-Rivera, C. Beaulieu, S. Deschamps, L. Paquet and J. Hawari, Determination of explosives in environmental water samples by solid-phase microextraction - liquid chromatography, *J. Chromatogr. A.*, **2004**, *1048*, 213-221
39. A. Kjellström, M. Brantlind and C. Eldsäter, Optimized microwave extraction for trace detection of 2,4,6-trinitrotoluene in soil samples, *Chemosphere*, **2008**, *71*, 1701-1708.
40. A. Halasz, C. Groom, E. Zhou , L. Paquet , C. Beaulieu , S. Deschamps , A. Corriveau, S. Thiboutot, G. Ampleman, C. Dubois and J. Hawari, Detection of explosives and their degradation products in soil environments, *J. Chromatogr. A.*, **2002**, *963*, 411-418.
41. S.L. Larson, W.A. Martin, B.L. Escalon and M. Thompson, Dissolution, sorption, and kinetics involved in systems containing explosives, water and soil, *Environ. Sci. Technol.*, **2008**, *42*(3), 786-792.
42. D. Perret, S. Marchese, A. Gentili, R. Curini, A. Terracciano, E. Bafile and F. Romolo, LC-MS-MS determination of stabilizers and explosives residues in hand-swabs, *Chromatographia*, **2008**, *68*, 517-524.
43. N. Na, C. Zhang, M. Zhao, S. Zhang, C. Yang, X. Fang and X. Zhang, Direct detection of explosives on solid surfaces by mass spectrometry with an ambient ion source based on dielectric barrier discharge, *J. Mass. Spectrom.*, **2007**, *42*, 1079-1085.
44. Y. Zhang, X. Ma, S. Zhang, C. Yang, Z. Ouyang and X. Zhang, Direct detection of explosives on solid surfaces by low temperature plasma desorption mass spectrometry, *Analyst*, **2009**, *134*, 176-181.

45. PVTT:n työohje 037.21, versio 01, Jäte- ja luonnonvesien RDX- ja TNT-pitoisuuksien määrittäminen nestekromatografisesti, 2005
46. I. Mäkinen, A.M. Suortti, R. Saares, R. Niemi ja J.J. Marjanen, Ohjeita ympäristönäytteiden kemiallisten analyysimenetelmien validointiin, Suomen ympäristökeskus, **1998**, 59
47. K. Salminen, Kemiallisten analyysimenetelmien validointiohje, Valvonta 10/1007, Helsinki 1997
48. D.C. Harris, *Quantitative Chemical Analysis*, 6. Painos, W. H. Freeman and Company, New York, 2003, s. 726-728
49. Kurssimoniste: KEMS304 Kemiallisten tulosten tarkastelu tilastollisin menetelmin, Syksy 2006.

Liitteet

Liite 1. Mittaustulokset esimerkki

Liite 2. Systemaattisen virheen laskemiseen käytetyt arvot

Liite 3. Satunnaisen virheen laskemiseen käytetyt arvot

Liite 4. RDX:n ja TNT:n Shewhart kartat

Liite 5. Synteesiohjeet

Liite 6. Esimerkki standardien valmistuksesta

Mittaustulokset 10.08.09

Liite 1.



Component Summary

Reported by User: System

Project Name: Susanna2009

Component Summary For Retention Time
Channel: 2487Channel 1

	SampleName	Inj	Channel	Vial	RDX	DNB	TNT
1	STD r1 1	1	2487Channel 1	8	4,207	6,303	8,230
2	STD r1 1	1	2487Channel 1	8	4,319	6,166	8,513
3	STD r1 2	1	2487Channel 1	9	4,318	6,177	8,531
4	STD r1 3	1	2487Channel 1	10	4,318	6,186	8,542
5	STD r1 4	1	2487Channel 1	11	4,307	6,175	8,524
6	STD r1 5	1	2487Channel 1	12	4,302	6,169	8,513
7	STD r2 1	1	2487Channel 1	14	4,316	6,159	8,495
8	SRD r2 2	1	2487Channel 1	15	4,294	6,154	8,495
9	STD r2 3	1	2487Channel 1	16	4,290	6,158	8,503
10	STD r2 4	1	2487Channel 1	17	4,290	6,157	8,501
11	STD r2 5	1	2487Channel 1	18	4,290	6,157	8,501
12	STD r1 1	1	2487Channel 1	8	4,319	6,165	8,510
13	STD r1 1	2	2487Channel 1	8	4,320	6,165	8,508
14	STD r1 1	3	2487Channel 1	8	4,317	6,157	8,498
15	STD r1 1	4	2487Channel 1	8	4,319	6,164	8,511
16	STD r1 2	1	2487Channel 1	9	4,312	6,165	8,508
17	STD r1 2	2	2487Channel 1	9	4,309	6,160	8,499
18	STD r1 2	3	2487Channel 1	9	4,307	6,159	8,503
19	STD r1 2	4	2487Channel 1	9	4,310	6,162	8,504
20	STD r1 3	1	2487Channel 1	10	4,306	6,169	8,513
21	STD r1 3	2	2487Channel 1	10	4,310	6,174	8,520
22	STD r1 3	3	2487Channel 1	10	4,306	6,170	8,511
23	STD r1 3	4	2487Channel 1	10	4,303	6,164	8,504
24	STD r1 4	1	2487Channel 1	11	4,296	6,158	8,499
25	STD r1 4	2	2487Channel 1	11	4,290	6,152	8,488
26	STD r1 4	3	2487Channel 1	11	4,294	6,158	8,497
27	STD r1 4	4	2487Channel 1	11	4,294	6,155	8,489
28	STD r1 5	1	2487Channel 1	12	4,291	6,155	8,492
29	STD r1 5	2	2487Channel 1	12	4,295	6,158	8,496
30	STD r1 5	3	2487Channel 1	12	4,297	6,160	8,499
31	STD r1 5	4	2487Channel 1	12	4,295	6,161	8,498



Component Summary

Reported by User: System

Project Name: Susanna2009

Component Summary For Retention Time
Channel: 2487Channel 1

	SampleName	Inj	Channel	Vial	RDX	DNB	TNT
32	STD r2 1	1	2487Channel 1	14	4,312	6,150	8,482
33	STD r2 1	2	2487Channel 1	14	4,311	6,151	8,486
34	STD r2 1	3	2487Channel 1	14	4,315	6,156	8,494
35	STD r2 1	4	2487Channel 1	14	4,311	6,152	8,487
36	SRD r2 2	1	2487Channel 1	15	4,295	6,156	8,498
37	SRD r2 2	2	2487Channel 1	15	4,293	6,151	8,487
38	SRD r2 2	3	2487Channel 1	15	4,289	6,147	8,482
39	SRD r2 2	4	2487Channel 1	15	4,292	6,148	8,478
40	STD r2 3	1	2487Channel 1	16	4,276	6,137	8,467
41	STD r2 3	2	2487Channel 1	16	4,283	6,147	8,483
42	STD r2 3	3	2487Channel 1	16	4,285	6,148	8,482
43	STD r2 3	4	2487Channel 1	16	4,283	6,148	8,486
44	STD r2 4	1	2487Channel 1	17	4,294	6,164	8,511
45	STD r2 4	2	2487Channel 1	17	4,300	6,170	8,520
46	STD r2 4	3	2487Channel 1	17	4,295	6,163	8,511
47	STD r2 4	4	2487Channel 1	17	4,300	6,170	8,521
48	STD r2 5	1	2487Channel 1	18	4,302	6,173	8,525
49	STD r2 5	2	2487Channel 1	18	4,301	6,172	8,524
50	STD r2 5	3	2487Channel 1	18	4,299	6,168	8,517
51	STD r2 5	4	2487Channel 1	18	4,303	6,176	8,532
52	sokea	1	2487Channel 1	20	4,342	6,173	8,524
53	sokea	2	2487Channel 1	20	4,342	6,173	8,524
54	sokea	3	2487Channel 1	20	4,341	6,171	8,519
55	sokea	4	2487Channel 1	20	4,341	6,169	8,517
56	seos	1	2487Channel 1	21	4,301	6,171	8,524
57	seos	2	2487Channel 1	21	4,300	6,170	8,523
58	seos	3	2487Channel 1	21	4,301	6,172	8,527
59	seos	4	2487Channel 1	21	4,301	6,172	8,525
60	ACN	1	2487Channel 1	25	4,325	6,133	8,230
61	ACN	2	2487Channel 1	25	4,321	6,133	8,230
62	ACN	3	2487Channel 1	25	4,321	6,133	8,230
63	ACN	4	2487Channel 1	25	4,323	6,133	8,230



Component Summary

Reported by User: System

Project Name: Susanna2009

Component Summary For Retention Time Channel: 2487Channel 1

	SampleName	Inj	Channel	Vial	RDX	DNB	TNT
Mean					4,304	6,163	8,484
Std. Dev.					0,019	0,021	0,077
% RSD					0,4	0,3	0,9

Component Summary For Amount Channel: 2487Channel 1

	SampleName	Inj	Channel	Vial	RDX	DNB	TNT
1	STD r1 1	1	2487Channel 1	8		1,005	
2	STD r1 1	1	2487Channel 1	8	0,100	1,005	0,100
3	STD r1 2	1	2487Channel 1	9	0,499	1,005	0,499
4	STD r1 3	1	2487Channel 1	10	0,998	1,005	0,998
5	STD r1 4	1	2487Channel 1	11	1,498	1,005	1,498
6	STD r1 5	1	2487Channel 1	12	1,997	1,005	1,997
7	STD r2 1	1	2487Channel 1	14	0,027	1,004	0,075
8	SRD r2 2	1	2487Channel 1	15	0,434	1,004	0,450
9	STD r2 3	1	2487Channel 1	16	0,911	1,004	0,930
10	STD r2 4	1	2487Channel 1	17	1,413	1,004	1,445
11	STD r2 5	1	2487Channel 1	18	2,072	1,004	1,988
12	STD r1 1	1	2487Channel 1	8	0,056	1,005	0,084
13	STD r1 1	2	2487Channel 1	8	0,056	1,005	0,084
14	STD r1 1	3	2487Channel 1	8	0,054	1,005	0,085
15	STD r1 1	4	2487Channel 1	8	0,056	1,005	0,085
16	STD r1 2	1	2487Channel 1	9	0,506	1,005	0,512
17	STD r1 2	2	2487Channel 1	9	0,499	1,005	0,509
18	STD r1 2	3	2487Channel 1	9	0,500	1,005	0,511
19	STD r1 2	4	2487Channel 1	9	0,502	1,005	0,511
20	STD r1 3	1	2487Channel 1	10	1,050	1,005	1,012
21	STD r1 3	2	2487Channel 1	10	1,047	1,005	1,015
22	STD r1 3	3	2487Channel 1	10	1,053	1,005	1,019
23	STD r1 3	4	2487Channel 1	10	1,040	1,005	1,018
24	STD r1 4	1	2487Channel 1	11	1,465	1,005	1,496
25	STD r1 4	2	2487Channel 1	11	1,465	1,005	1,498
26	STD r1 4	3	2487Channel 1	11	1,466	1,005	1,499



Component Summary

Reported by User: System

Project Name: Susanna2009

Component Summary For Amount Channel: 2487Channel 1

	SampleName	Inj	Channel	Vial	RDX	DNB	TNT
27	STD r1 4	4	2487Channel 1	11	1,459	1,005	1,496
28	STD r1 5	1	2487Channel 1	12	1,943	1,005	1,997
29	STD r1 5	2	2487Channel 1	12	1,943	1,005	1,998
30	STD r1 5	3	2487Channel 1	12	1,956	1,005	2,015
31	STD r1 5	4	2487Channel 1	12	1,956	1,005	2,010
32	STD r2 1	1	2487Channel 1	14	0,023	1,004	0,078
33	STD r2 1	2	2487Channel 1	14	0,024	1,004	0,077
34	STD r2 1	3	2487Channel 1	14	0,024	1,004	0,077
35	STD r2 1	4	2487Channel 1	14	0,022	1,004	0,077
36	SRD r2 2	1	2487Channel 1	15	0,429	1,004	0,455
37	SRD r2 2	2	2487Channel 1	15	0,426	1,004	0,455
38	SRD r2 2	3	2487Channel 1	15	0,426	1,004	0,454
39	SRD r2 2	4	2487Channel 1	15	0,426	1,004	0,456
40	STD r2 3	1	2487Channel 1	16	0,891	1,004	0,938
41	STD r2 3	2	2487Channel 1	16	0,902	1,004	0,938
42	STD r2 3	3	2487Channel 1	16	0,900	1,004	0,940
43	STD r2 3	4	2487Channel 1	16	0,905	1,004	0,938
44	STD r2 4	1	2487Channel 1	17	1,423	1,004	1,460
45	STD r2 4	2	2487Channel 1	17	1,414	1,004	1,456
46	STD r2 4	3	2487Channel 1	17	1,419	1,004	1,461
47	STD r2 4	4	2487Channel 1	17	1,423	1,004	1,462
48	STD r2 5	1	2487Channel 1	18	2,078	1,004	2,003
49	STD r2 5	2	2487Channel 1	18	2,079	1,004	2,002
50	STD r2 5	3	2487Channel 1	18	2,070	1,004	1,998
51	STD r2 5	4	2487Channel 1	18	2,089	1,004	2,008
52	sokea	1	2487Channel 1	20		1,004	0,016
53	sokea	2	2487Channel 1	20		1,004	0,015
54	sokea	3	2487Channel 1	20		1,004	0,015
55	sokea	4	2487Channel 1	20		1,004	0,015
56	seos	1	2487Channel 1	21	0,934	1,004	1,003
57	seos	2	2487Channel 1	21	0,934	1,004	1,003
58	seos	3	2487Channel 1	21	0,938	1,004	1,005



Component Summary

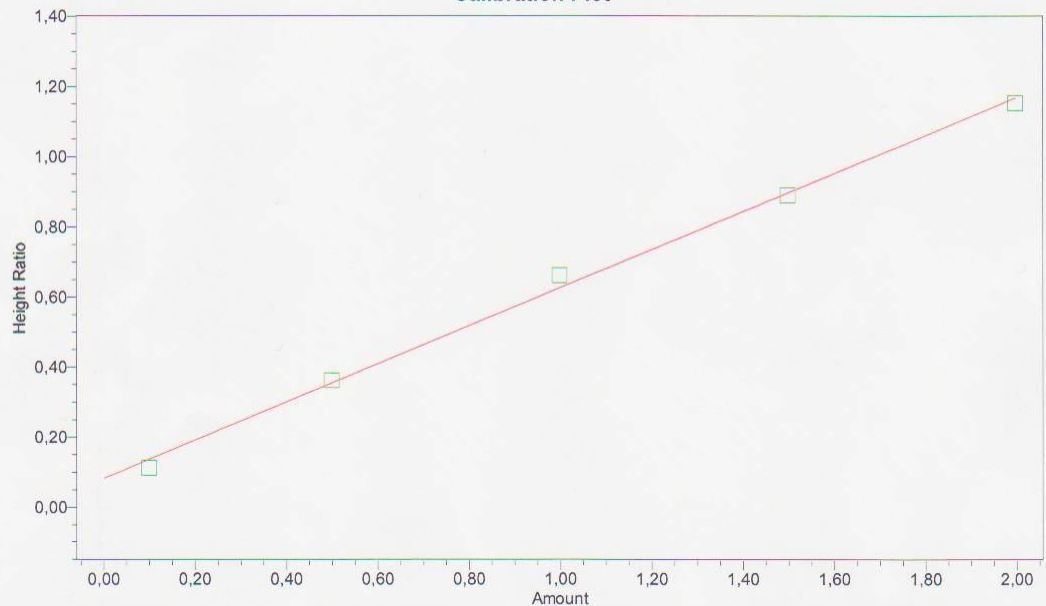
Reported by User: System

Project Name: Susanna2009

Component Summary For Amount
Channel: 2487Channel 1

	SampleName	Inj	Channel	Vial	RDX	DNB	TNT
59	seos	4	2487Channel 1	21	0,931	1,004	1,002
60	ACN	1	2487Channel 1	25			
61	ACN	2	2487Channel 1	25			
62	ACN	3	2487Channel 1	25			
63	ACN	4	2487Channel 1	25			
Mean					0,984	1,005	0,935
Std. Dev.					0,679	0,000	0,689
% RSD					69,0	0,0	73,7

Calibration Plot



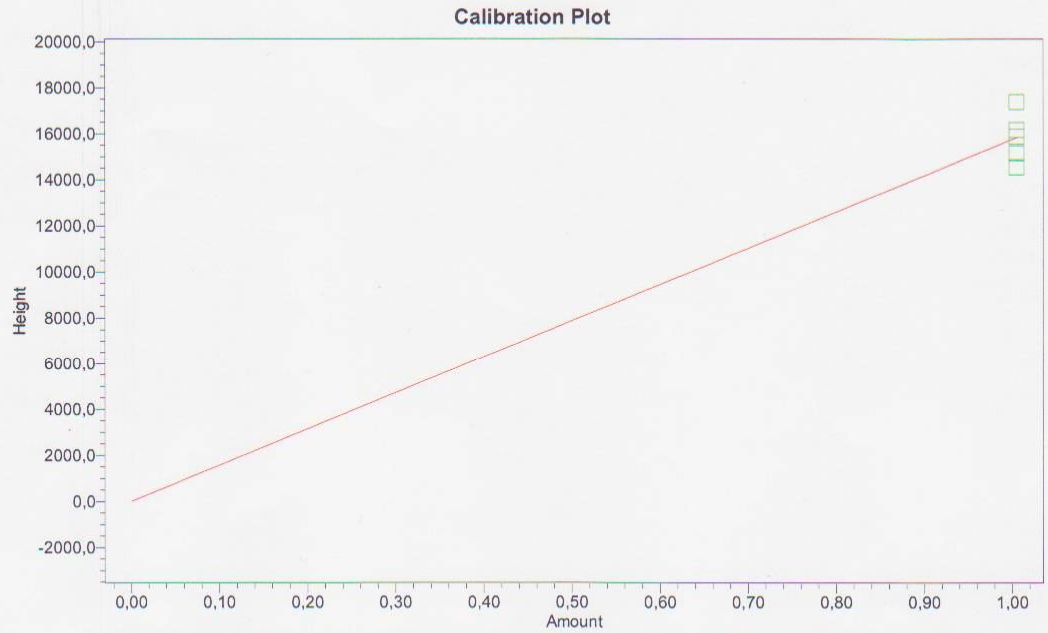
Name: RDX; Processing Method: tutkimus09_04082009hlsu; Fit Type: Linear (1st Order); Cal
 Curve Id: 24197; A: 8,225821e-002; B: 5,436556e-001; C: 0,000000e+000; D: 0,000000e+000;
 R²: 0,996799



Component Summary

Reported by User: System

Project Name: Susanna2009



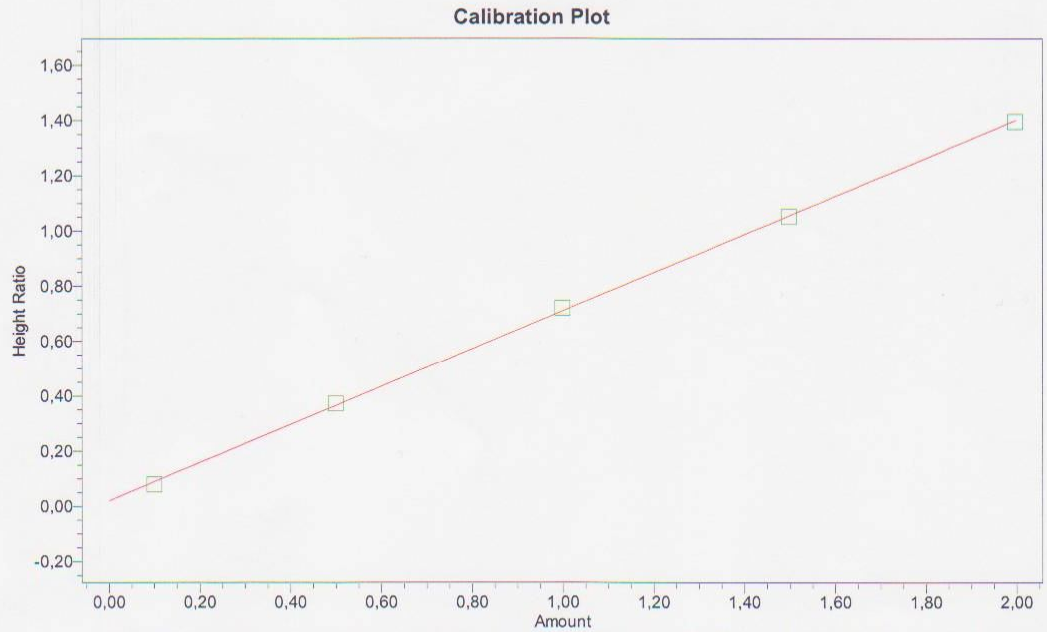
Name: DNB; Processing Method: tutkimus09_04082009hlsu; Fit Type: Linear (1st Order); Cal Curve
Id: 24198; A: 0,000000e+000; B: 1,575767e+004; C: 0,000000e+000; D: 0,000000e+000; R²:
1,000000



Component Summary

Reported by User: System

Project Name: Susanna2009



Name: TNT; Processing Method: tutkimus09_04082009hlsu; Fit Type: Linear (1st Order); Cal
Curve Id: 24199; A: 2,071689e-002; B: 6,905456e-001; C: 0,000000e+000; D: 0,000000e+000;
R²: 0,999748



Component Summary

Reported by User: System

Project Name: Susanna2009

Calibration Plot group for RDX contains no data.

Calibration Plot group for DNB contains no data.

Calibration Plot group for TNT contains no data.

Peak: RDX

	Name	Level	X Value	Response	Calc. Value	% Deviation	Manual	Ignore
1	RDX	1	0,099840	0,112662	0,055925	-43,985	No	No
2	RDX	2	0,499200	0,361899	0,514371	3,039	No	No
3	RDX	3	0,998400	0,661147	1,064808	6,651	No	No
4	RDX	4	1,497600	0,890211	1,486148	-0,765	No	No
5	RDX	5	1,996800	1,153579	1,970588	-1,313	No	No

Peak: DNB

	Name	Level	X Value	Response	Calc. Value	% Deviation	Manual	Ignore
1	DNB	1	1,005000	15164,574106	0,962362	-4,243	No	No
2	DNB	2	1,005000	14559,422713	0,923958	-8,064	No	No
3	DNB	3	1,005000	17397,076375	1,104039	9,855	No	No
4	DNB	4	1,005000	16177,745803	1,026659	2,155	No	No
5	DNB	5	1,005000	15883,468163	1,007983	0,297	No	No

Peak: TNT

	Name	Level	X Value	Response	Calc. Value	% Deviation	Manual	Ignore
1	TNT	1	0,099840	0,079762	0,085505	-14,358	No	No
2	TNT	2	0,499200	0,372041	0,508763	1,916	No	No
3	TNT	3	0,998400	0,720581	1,013495	1,512	No	No
4	TNT	4	1,497600	1,051835	1,493193	-0,294	No	No
5	TNT	5	1,996800	1,395513	1,990884	-0,296	No	No

Point Information ' Peak: RDX' table contains no data.

Point Information ' Peak: DNB' table contains no data.

Point Information ' Peak: TNT' table contains no data.

Systemaattisen virheen laskemiseen käytetyt arvot

Liite 2.

Taulukko 1. STD 1. RDX:lle Systemaattisen virheen laskemiseen käytetyt arvot.

RDX	mittaustulos	teor. Erotus xi	d _r (%)	dr(%) -k.a dr(%)	(dr(%) -k.a dr(%))^2
30.7.2009	0,091	-0,00884	-8,85417	6,331559066	40,08864021
30.7.2009	0,096	-0,00384	-3,84615	11,33957189	128,5858906
	0,098	-0,00184	-1,84295	13,34277701	178,0296985
	0,095	-0,00484	-4,84776	10,33796932	106,8736097
	0,097	-0,00284	-2,84455	12,34117445	152,3045868
	0,097	-0,00284	-2,84455	12,34117445	152,3045868
	0,1	0,00016	0,160256	15,34598214	235,4991679
3.8.2009	0,101	0,00116	1,161859	16,34758471	267,2435258
	0,1	0,00016	0,160256	15,34598214	235,4991679
	0,097	-0,00284	-2,84455	12,34117445	152,3045868
	0,101	0,00116	1,161859	16,34758471	267,2435258
	0,101	0,00116	1,161859	16,34758471	267,2435258
3.08.09 (4p)	0,116	0,01616	16,1859	31,37162317	984,1787402
	0,116	0,01616	16,1859	31,37162317	984,1787402
	0,113	0,01316	13,18109	28,36681548	804,6762203
	0,116	0,01616	16,1859	31,37162317	984,1787402
	0,116	0,01616	16,1859	31,37162317	984,1787402
4.8.2009(4 p)	0,074	-0,02584	-25,8814	-10,69568452	114,3976674
4.8.2009	0,055	-0,04484	-44,9119	-29,72613324	883,6429975
5.8.2009	0,053	-0,04684	-46,9151	-31,72933837	1006,750913
	0,052	-0,04784	-47,9167	-32,73094093	1071,314494
	0,053	-0,04684	-46,9151	-31,72933837	1006,750913
	0,052	-0,04784	-47,9167	-32,73094093	1071,314494
	0,059	-0,04084	-40,9054	-25,71972299	661,5041504
10.8.2009	0,056	-0,04384	-43,9103	-28,72453068	825,0986627
	0,056	-0,04384	-43,9103	-28,72453068	825,0986627
	0,054	-0,04584	-45,9135	-30,72773581	944,1937478
	0,056	-0,04384	-43,9103	-28,72453068	825,0986627

Taulukko 2. STD 2. RDX:lle Systemaattisen virheen laskemiseen käytetyt arvot

RDX	X	teor. Erotus xi	d _r (%)	dr(%) -k.a dr(%)	(dr(%) -k.a dr(%))^2
30.7.2009	0,469	-0,0302	-6,0496795	-3,197708927	10,22534238
31.7.2009	0,472	-0,0272	-5,4487179	-2,596747388	6,743096999
	0,47	-0,0292	-5,849359	-2,997388414	8,984337305
	0,469	-0,0302	-6,0496795	-3,197708927	10,22534238
	0,468	-0,0312	-6,25	-3,39802944	11,54660407
	0,465	-0,0342	-6,8509615	-3,998990978	15,99192884
3.8.2009	0,471	-0,0282	-5,6490385	-2,797067901	7,823588844
	0,469	-0,0302	-6,0496795	-3,197708927	10,22534238
	0,469	-0,0302	-6,0496795	-3,197708927	10,22534238
	0,47	-0,0292	-5,849359	-2,997388414	8,984337305
	0,469	-0,0302	-6,0496795	-3,197708927	10,22534238
3.08.09 (4p)	0,486	-0,0132	-2,6442308	0,207739791	0,043155821

Taululukko 2. jatkuu

	0,484	-0,0152	-3,0448718	-0,192901235	0,037210886
	0,484	-0,0152	-3,0448718	-0,192901235	0,037210886
	0,485	-0,0142	-2,8445513	0,007419278	5,50457E-05
	0,484	-0,0152	-3,0448718	-0,192901235	0,037210886
4.8.2009(4 p)	0,515	0,0158	3,1650641	6,017034663	36,20470613
4.8.2009	0,496	-0,0032	-0,6410256	2,210944919	4,888277436
5.8.2009	0,496	-0,0032	-0,6410256	2,210944919	4,888277436
	0,497	-0,0022	-0,4407051	2,411265432	5,814200984
	0,5	0,0008	0,1602564	3,012226971	9,073511322
	0,498	-0,0012	-0,2403846	2,611585945	6,820381148
	0,501	0,0018	0,3605769	3,212547483	10,32046133
10.8.2009	0,506	0,0068	1,3621795	4,214150047	17,75906062
	0,499	-0,0002	-0,0400641	2,811906458	7,906817927
	0,5	0,0008	0,1602564	3,012226971	9,073511322
	0,502	0,0028	0,5608974	3,412867996	11,64766796

Taulukko 3. STD 3. RDX:lle Systemaattisen virheen laskemiseen käytetyt arvot.

RDX	X	teor. Erotus xi	d,(%)	dr(%)-k.a dr(%)	(dr(%)-k.a dr(%))^2
30.7.2009	1,054	0,0556	5,5689103	0,348706078	0,121595929
31.7.2009	1,049	0,0506	5,068109	-0,152095204	0,023132951
	1,048	0,0496	4,9679487	-0,252255461	0,063632817
	1,047	0,0486	4,8677885	-0,352415717	0,124196838
	1,046	0,0476	4,7676282	-0,452575973	0,204825012
	1,05	0,0516	5,1682692	-0,051934948	0,002697239
3.8.2009	1,044	0,0456	4,5673077	-0,652896486	0,426273822
	1,04	0,0416	4,1666667	-1,053537512	1,109941289
	1,036	0,0376	3,7660256	-1,454178538	2,114635219
	1,031	0,0326	3,2652244	-1,95497982	3,821946095
	1,04	0,0416	4,1666667	-1,053537512	1,109941289
3.08.09 (4p)	1,058	0,0596	5,9695513	0,749347104	0,561521082
	1,054	0,0556	5,5689103	0,348706078	0,121595929
	1,051	0,0526	5,2684295	0,048225309	0,00232568
	1,046	0,0476	4,7676282	-0,452575973	0,204825012
	1,055	0,0566	5,6690705	0,448866334	0,201480986
4.8.2009(4 p)	1,083	0,0846	8,4735577	3,253353514	10,58430909
4.8.2009	1,065	0,0666	6,6706731	1,450468898	2,103860025
5.8.2009	1,06	0,0616	6,1698718	0,949667616	0,901868582
	1,061	0,0626	6,2700321	1,049827873	1,102138562
	1,055	0,0566	5,6690705	0,448866334	0,201480986
	1,052	0,0536	5,3685897	0,148385565	0,022018276
	1,049	0,0506	5,068109	-0,152095204	0,023132951
10.8.2009	1,05	0,0516	5,1682692	-0,051934948	0,002697239
	1,047	0,0486	4,8677885	-0,352415717	0,124196838
	1,053	0,0546	5,46875	0,248545821	0,061775025
	1,04	0,0416	4,1666667	-1,053537512	1,109941289

Taulukko 4. STD 4. RDX:lle Systemaattisen virheen laskemiseen käytetyt arvot.

RDX	Xi	teor. Erotus xi	d _i (%)	dr(%) ^{-k.a} dr(%)	(dr(%) ^{-k.a} dr(%) ²)
30.7.2009	1,48	-0,0176	-1,1752137	0,788916588	0,622389382
31.7.2009	1,459	-0,0386	-2,5774573	-0,613327002	0,376170012
	1,466	-0,0316	-2,1100427	-0,145912472	0,02129045
	1,466	-0,0316	-2,1100427	-0,145912472	0,02129045
	1,463	-0,0346	-2,3103632	-0,346232985	0,11987728
	1,468	-0,0296	-1,9764957	-0,012365464	0,000152905
3.8.2009	1,474	-0,0236	-1,5758547	0,388275562	0,150757912
	1,46	-0,0376	-2,5106838	-0,546553498	0,298720726
	1,465	-0,0326	-2,1768162	-0,212685977	0,045235325
	1,462	-0,0356	-2,3771368	-0,413006489	0,17057436
	1,464	-0,0336	-2,2435897	-0,279459481	0,078097601
3.08.09 (4p)	1,488	-0,0096	-0,6410256	1,323104622	1,75060584
	1,474	-0,0236	-1,5758547	0,388275562	0,150757912
	1,479	-0,0186	-1,2419872	0,722143083	0,521490633
	1,477	-0,0206	-1,3755342	0,588596075	0,346445339
	1,478	-0,0196	-1,3087607	0,655369579	0,429509285
4.8.2009(4 p)	1,489	-0,0086	-0,5742521	1,389878126	1,931761205
4.8.2009	1,471	-0,0266	-1,7761752	0,187955049	0,0353271
5.8.2009	1,47	-0,0276	-1,8429487	0,121181545	0,014684967
	1,463	-0,0346	-2,3103632	-0,346232985	0,11987728
	1,457	-0,0406	-2,7110043	-0,746874011	0,557820788
	1,459	-0,0386	-2,5774573	-0,613327002	0,376170012
	1,463	-0,0346	-2,3103632	-0,346232985	0,11987728
10.8.2009	1,456	-0,0416	-2,7777778	-0,813647515	0,662022279
	1,465	-0,0326	-2,1768162	-0,212685977	0,045235325
	1,466	-0,0316	-2,1100427	-0,145912472	0,02129045
	1,459	-0,0386	-2,5774573	-0,613327002	0,376170012

Taulukko 5. STD 5. RDX:lle Systemaattisen virheen laskemiseen käytetyt arvot.

RDX	Xi	teor. Ero- tus xi	d _i (%)	dr(%) ^{-k.a} dr(%)	(dr(%) ^{-k.a} dr(%) ²)
30.7.2009	1,976	-0,0208	-1,041666667	0,5249139	0,275534641
31.7.2009	1,97	-0,0268	-1,342147436	0,2244332	0,050370247
	1,961	-0,0358	-1,79286859	-0,226288	0,051206253
	1,961	-0,0358	-1,79286859	-0,226288	0,051206253
	1,96	-0,0368	-1,842948718	-0,2763681	0,076379335
	1,959	-0,0378	-1,893028846	-0,3264482	0,106568455
3.8.2009	1,974	-0,0228	-1,141826923	0,4247537	0,180415689
	1,969	-0,0278	-1,392227564	0,174353	0,030398982
	1,969	-0,0278	-1,392227564	0,174353	0,030398982
	1,97	-0,0268	-1,342147436	0,2244332	0,050370247
	1,975	-0,0218	-1,091746795	0,4748338	0,225467145
3.08.09 (4p)	1,988	-0,0088	-0,440705128	1,1258755	1,267595585
	1,983	-0,0138	-0,691105769	0,8754748	0,766456185

Taulukko 5. jatkuu

	1,983	-0,0138	-0,691105769	0,8754748	0,766456185
	1,984	-0,0128	-0,641025641	0,925555	0,856651988
	1,989	-0,0078	-0,390625	1,1759556	1,38287158
4.8.2009(4 p)	1,982	-0,0148	-0,741185897	0,8253947	0,68127642
4.8.2009	1,964	-0,0328	-1,642628205	-0,0760476	0,005783238
5.8.2009	1,953	-0,0438	-2,193509615	-0,626929	0,393039987
	1,948	-0,0488	-2,443910256	-0,8773297	0,769707321
	1,952	-0,0448	-2,243589744	-0,6770091	0,458341376
	1,943	-0,0538	-2,694310897	-1,1277303	1,271775617
	1,958	-0,0388	-1,943108974	-0,3765284	0,141773614
10.8.2009	1,943	-0,0538	-2,694310897	-1,1277303	1,271775617
	1,943	-0,0538	-2,694310897	-1,1277303	1,271775617
	1,956	-0,0408	-2,043269231	-0,4766886	0,227232048
	1,956	-0,0408	-2,043269231	-0,4766886	0,227232048

Taulukko 6. TNT:lle STD 1. Systemaattisen virheen laskemiseen käytetyt arvot.

TNT	mittaustulos	teor. Erotus	d,(%)	dr(%)-k.a dr(%)	(dr(%)-k.a dr(%))^2
30.7.2009	0,083	-0,01684	-16,86698718	-1,717033	2,94820221
30.7.2009	0,087	-0,01284	-12,86057692	2,2893773	5,241248373
	0,086	-0,01384	-13,86217949	1,2877747	1,658363743
	0,086	-0,01384	-13,86217949	1,2877747	1,658363743
	0,087	-0,01284	-12,86057692	2,2893773	5,241248373
	0,086	-0,01384	-13,86217949	1,2877747	1,658363743
	0,087	-0,01284	-12,86057692	2,2893773	5,241248373
3.8.2009	0,08	-0,01984	-19,87179487	-4,7218407	22,29577921
	0,08	-0,01984	-19,87179487	-4,7218407	22,29577921
	0,081	-0,01884	-18,87019231	-3,7202381	13,84017149
	0,081	-0,01884	-18,87019231	-3,7202381	13,84017149
	0,08	-0,01984	-19,87179487	-4,7218407	22,29577921
3.08.09 (4p)	0,086	-0,01384	-13,86217949	1,2877747	1,658363743
	0,086	-0,01384	-13,86217949	1,2877747	1,658363743
	0,087	-0,01284	-12,86057692	2,2893773	5,241248373
	0,087	-0,01284	-12,86057692	2,2893773	5,241248373
	0,087	-0,01284	-12,86057692	2,2893773	5,241248373
4.8.2009(4 p)	0,09	-0,00984	-9,855769231	5,294185	28,02839462
4.8.2009	0,085	-0,01484	-14,86378205	0,2861722	0,081894506
5.8.2009	0,084	-0,01584	-15,86538462	-0,7154304	0,511840661
	0,085	-0,01484	-14,86378205	0,2861722	0,081894506
	0,084	-0,01584	-15,86538462	-0,7154304	0,511840661
	0,084	-0,01584	-15,86538462	-0,7154304	0,511840661
	0,085	-0,01484	-14,86378205	0,2861722	0,081894506
10.8.2009	0,084	-0,01584	-15,86538462	-0,7154304	0,511840661
	0,084	-0,01584	-15,86538462	-0,7154304	0,511840661
	0,085	-0,01484	-14,86378205	0,2861722	0,081894506
	0,085	-0,01484	-14,86378205	0,2861722	0,081894506

Taulukko 7. STD 2. TNT:lle Systemaattisen virheen laskemiseen käytetyt arvot.

	mitattu arvo	teor. Erotus xi	d _i (%)	dr(%) - k.a dr(%)	(dr(%) - k.a dr(%)) ²
30.7.2009	0,507	0,0078	1,5625	-0,600961538	0,3611548
31.7.2009	0,507	0,0078	1,5625	-0,600961538	0,3611548
	0,506	0,0068	1,3621795	-0,801282051	0,6420529
	0,508	0,0088	1,7628205	-0,400641026	0,1605132
	0,505	0,0058	1,161859	-1,001602564	1,0032077
	0,511	0,0118	2,3637821	0,200320513	0,0401283
3.8.2009	0,507	0,0078	1,5625	-0,600961538	0,3611548
	0,506	0,0068	1,3621795	-0,801282051	0,6420529
	0,509	0,0098	1,963141	-0,200320513	0,0401283
	0,509	0,0098	1,963141	-0,200320513	0,0401283
	0,506	0,0068	1,3621795	-0,801282051	0,6420529
3.08.09 (4p)	0,513	0,0138	2,7644231	0,600961538	0,3611548
	0,512	0,0128	2,5641026	0,400641026	0,1605132
	0,515	0,0158	3,1650641	1,001602564	1,0032077
	0,515	0,0158	3,1650641	1,001602564	1,0032077
	0,512	0,0128	2,5641026	0,400641026	0,1605132
4.8.2009(4 p)	0,514	0,0148	2,9647436	0,801282051	0,6420529
4.8.2009	0,509	0,0098	1,963141	-0,200320513	0,0401283
5.8.2009	0,509	0,0098	1,963141	-0,200320513	0,0401283
	0,51	0,0108	2,1634615	0	0
	0,514	0,0148	2,9647436	0,801282051	0,6420529
	0,512	0,0128	2,5641026	0,400641026	0,1605132
	0,511	0,0118	2,3637821	0,200320513	0,0401283
10.8.2009	0,512	0,0128	2,5641026	0,400641026	0,1605132
	0,509	0,0098	1,963141	-0,200320513	0,0401283
	0,511	0,0118	2,3637821	0,200320513	0,0401283
	0,511	0,0118	2,3637821	0,200320513	0,0401283

Taulukko 8. STD 3. TNT:lle Systemaattisen virheen laskemiseen käytetyt arvot

STD 3	X	teor. Erotus xi	d _i (%)	dr(%) - k.a dr(%)	(dr(%) - k.a dr(%)) ²
30.7.2009	1,02	0,0216	2,1634615	-0,393221747	0,1546233
31.7.2009	1,017	0,0186	1,8629808	-0,693702517	0,4812232
	1,019	0,0206	2,0633013	-0,493382004	0,2434258
	1,024	0,0256	2,5641026	0,007419278	5,505E-05
	1,02	0,0216	2,1634615	-0,393221747	0,1546233
	1,026	0,0276	2,7644231	0,207739791	0,0431558
3.8.2009	1,03	0,0316	3,1650641	0,608380817	0,3701272
	1,029	0,0306	3,0649038	0,50822056	0,2582881
	1,024	0,0256	2,5641026	0,007419278	5,505E-05
	1,026	0,0276	2,7644231	0,207739791	0,0431558
	1,027	0,0286	2,8645833	0,307900047	0,0948024
3.08.09 (4p)	1,035	0,0366	3,6658654	1,109182099	1,2302849
	1,035	0,0366	3,6658654	1,109182099	1,2302849
	1,03	0,0316	3,1650641	0,608380817	0,3701272
	1,032	0,0336	3,3653846	0,80870133	0,6539978
	1,033	0,0346	3,4655449	0,908861586	0,8260294
4.8.2009(4 p)	1,025	0,0266	2,6642628	0,107579535	0,0115734

Taulukko 8. jatkuu

4.8.2009	1,02	0,0216	2,1634615	-0,393221747	0,1546233
5.8.2009	1,021	0,0226	2,2636218	-0,293061491	0,085885
	1,024	0,0256	2,5641026	0,007419278	5,505E-05
	1,022	0,0236	2,3637821	-0,192901235	0,0372109
	1,022	0,0236	2,3637821	-0,192901235	0,0372109
	1,021	0,0226	2,2636218	-0,293061491	0,085885
10.8.2009	1,012	0,0136	1,3621795	-1,194503799	1,4268393
	1,015	0,0166	1,6626603	-0,894023029	0,7992772
	1,019	0,0206	2,0633013	-0,493382004	0,2434258
	1,018	0,0196	1,963141	-0,59354226	0,3522924

Taulukko 9. STD 4. TNT:lle Systemaattisen virheen laskemiseen käytetyt arvot

TNT	xi	teor. Erotus xi	dr(%)	dr(%) -k.a dr(%)	(dr(%) -k.a dr(%) ²
30.7.2009	1,502	0,0044	0,293803419	-0,185481956	0,0344036
31.7.2009	1,505	0,0074	0,494123932	0,014838557	0,0002202
	1,513	0,0154	1,028311966	0,549026591	0,3014302
	1,51	0,0124	0,827991453	0,348706078	0,1215959
	1,496	-0,0016	-0,106837607	-0,586122982	0,3435401
	1,509	0,0114	0,761217949	0,281932574	0,079486
3.8.2009	1,506	0,0084	0,560897436	0,081612061	0,0066605
	1,504	0,0064	0,427350427	-0,051934948	0,0026972
	1,506	0,0084	0,560897436	0,081612061	0,0066605
	1,502	0,0044	0,293803419	-0,185481956	0,0344036
	1,508	0,0104	0,694444444	0,215159069	0,0462934
3.08.09 (4p)	1,511	0,0134	0,894764957	0,415479582	0,1726233
	1,51	0,0124	0,827991453	0,348706078	0,1215959
	1,512	0,0144	0,961538462	0,482253086	0,232568
	1,508	0,0104	0,694444444	0,215159069	0,0462934
	1,513	0,0154	1,028311966	0,549026591	0,3014302
4.8.2009(4 p)	1,498	0,0004	0,026709402	-0,452575973	0,204825
4.8.2009	1,493	-0,0046	-0,30715812	-0,786443495	0,6184934
5.8.2009	1,512	0,0144	0,961538462	0,482253086	0,232568
	1,507	0,0094	0,62767094	0,148385565	0,0220183
	1,504	0,0064	0,427350427	-0,051934948	0,0026972
	1,502	0,0044	0,293803419	-0,185481956	0,0344036
	1,509	0,0114	0,761217949	0,281932574	0,079486
10.8.2009	1,496	-0,0016	-0,106837607	-0,586122982	0,3435401
	1,498	0,0004	0,026709402	-0,452575973	0,204825
	1,499	0,0014	0,093482906	-0,385802469	0,1488435
	1,496	-0,0016	-0,106837607	-0,586122982	0,3435401

Taulukko 10. STD 5. TNT:lle Systemaattisen virheen laskemiseen käytetyt arvot

TNT	Xi	teor. Erotus xi	d _i (%)	dr(%) ^{-k.a} dr(%)	(dr(%) ^{-k.a} dr(%) ²)
30.7.2009	1,992	-0,0066	-0,330231162	-0,643042722	0,4135039
31.7.2009	2,002	0,0034	0,170119083	-0,142692477	0,0203611
	2,001	0,0024	0,120084059	-0,192727502	0,0371439
	2,005	0,0064	0,320224157	0,007412596	5,495E-05
	2,007	0,0084	0,420294206	0,107482645	0,0115525
	2,013	0,0144	0,720504353	0,407692792	0,1662134
3.8.2009	2,006	0,0074	0,370259181	0,057447621	0,0033002
	2,004	0,0054	0,270189132	-0,042622428	0,0018167
	1,997	-0,0016	-0,080056039	-0,3928676	0,154345
	2,003	0,0044	0,220154108	-0,092657453	0,0085854
	2,005	0,0064	0,320224157	0,007412596	5,495E-05
3.08.09 (4p)	2,012	0,0134	0,670469329	0,357657768	0,1279191
	2,009	0,0104	0,520364255	0,207552694	0,0430781
	2,003	0,0044	0,220154108	-0,092657453	0,0085854
	2,009	0,0104	0,520364255	0,207552694	0,0430781
	2,011	0,0124	0,620434304	0,307622743	0,0946318
4.8.2009(4 p)	1,997	-0,0016	-0,080056039	-0,3928676	0,154345
4.8.2009	1,992	-0,0066	-0,330231162	-0,643042722	0,4135039
5.8.2009	2,002	0,0034	0,170119083	-0,142692477	0,0203611
	2,005	0,0064	0,320224157	0,007412596	5,495E-05
	2,005	0,0064	0,320224157	0,007412596	5,495E-05
	2,012	0,0134	0,670469329	0,357657768	0,1279191
	2,019	0,0204	1,0207145	0,707902939	0,5011266
10.8.2009	1,997	-0,0016	-0,080056039	-0,3928676	0,154345
	1,998	-0,0006	-0,030021015	-0,342832575	0,1175342
	2,015	0,0164	0,820574402	0,507762841	0,2578231
	2,01	0,0114	0,570399279	0,257587719	0,0663514

Taulukko 1. STD 1. RDX:lle satunnaisvirheen laskemiseen käytetyt arvot

STD 1						
RDX	x 1	x 2	keskiarvo	di (erotus)	d _n %	d _n %2
30.7.2009	0,098	0,095	0,0965	0,003	3,10880829	9,664689
	0,097	0,097	0,097	0	0	0
3.8.2009	0,101	0,1	0,1005	0,001	0,995024876	0,9900745
	0,101	0,101	0,101	0	0	0
3.08.09 (4p)	0,116	0,116	0,116	0	0	0
	0,116	0,116	0,116	0	0	0
5.8.2009	0,053	0,052	0,0525	0,001	1,904761905	3,6281179
	0,053	0,052	0,0525	0,001	1,904761905	3,6281179
10.8.2009	0,056	0,056	0,056	0	0	0
	0,054	0,056	0,055	-0,002	-3,636363636	13,22314

Taulukko 2. STD 2. RDX:lle satunnaisvirheen laskemiseen käytetyt arvot

STD 2				di		
RDX	x 1	x 2	keskiarvo	di (erotus)	d _n %	d _n %2
31.7.2009	0,472	0,47	0,471	0,002	0,42462845	0,1803093
	0,469	0,468	0,4685	0,001	0,213447172	0,0455597
3.8.2009	0,471	0,469	0,47	0,002	0,425531915	0,1810774
	0,469	0,47	0,4695	-0,001	-0,212992545	0,0453658
5.8.2009	0,496	0,497	0,4965	-0,001	-0,201409869	0,0405659
	0,5	0,498	0,499	0,002	0,400801603	0,1606419
10.8.2009	0,506	0,499	0,5025	0,007	1,393034826	1,940546
	0,5	0,502	0,501	-0,002	-0,399201597	0,1593619

Taulukko 3. STD 3. RDX:lle satunnaisvirheen laskemiseen käytetyt arvot

STD 3				di		
RDX	x 1	x 2	keskiarvo	di (erotus)	d _n %	d _n %2
31.7.2009	1,049	1,048	1,0485	0,001	0,095374344	0,0090963
	1,047	1,046	1,0465	0,001	0,095556617	0,0091311
3.8.2009	1,044	1,04	1,042	0,004	0,383877159	0,1473617
	1,036	1,031	1,0335	0,005	0,483792937	0,2340556
3.08.09 (4p)	1,058	1,054	1,056	0,004	0,378787879	0,1434803
	1,051	1,046	1,0485	0,005	0,476871722	0,2274066
5.8.2009	1,06	1,061	1,0605	-0,001	-0,094295144	0,0088916
	1,055	1,052	1,0535	0,003	0,284765069	0,0810911
10.8.2009	1,05	1,047	1,0485	0,003	0,286123033	0,0818664
	1,053	1,04	1,0465	0,013	1,242236025	1,5431503

Taulukko 4. STD 4 RDX:lle satunnaisvirheen laskemiseen käytetyt arvot

STD 4				di		
RDX	x 1	x 2	keskiarvo	di (erotus)	d _n %	d _n % ²
31.7.2009	1,466	1,466	1,466	0	0	0
	1,463	1,468	1,4655	-0,005	-0,3411805	0,1164041
3.8.2009	1,46	1,465	1,4625	-0,005	-0,3418803	0,1168822
	1,462	1,464	1,463	-0,002	-0,1367054	0,0186884
3.08.09 (4p)	1,474	1,479	1,4765	-0,005	-0,3386387	0,1146762
	1,477	1,478	1,4775	-0,001	-0,0676819	0,0045808
5.8.2009	1,463	1,457	1,46	0,006	0,4109589	0,1688872
	1,459	1,463	1,461	-0,004	-0,2737851	0,0749583
10.8.2009	1,456	1,465	1,4605	-0,009	-0,6162273	0,3797361
	1,466	1,459	1,4625	0,007	0,4786325	0,229089

Taulukko 5. STD 5. RDX:lle satunnaisvirheen laskemiseen käytetyt arvot

RDX						
STD 5	x 1	x 2	keskiarvo	di (erotus)	d _n %	d _n % ²
31.7.2009	1,961	1,961	1,961	0	0	0
	1,96	1,959	1,9595	0,001	0,0510334	0,0026044
3.8.2009	1,969	1,969	1,969	0	0	0
	1,97	1,975	1,9725	-0,005	-0,2534854	0,0642549
3.08.09 (4p)	1,983	1,983	1,983	0	0	0
	1,984	1,989	1,9865	-0,005	-0,251699	0,0633524
5.8.2009	1,953	1,948	1,9505	0,005	0,2563445	0,0657125
	1,952	1,943	1,9475	0,009	0,4621309	0,213565
10.8.2009	1,943	1,943	1,943	0	0	0
	1,956	1,956	1,956	0	0	0

Taulukko 6. STD 1. TNT:lle satunnaisvirheen laskemiseen käytetyt arvot

TNT						
STD 1	x 1	x 2	keskiarvo	di (erotus)	d _n %	d _n % ²
30.7.2009	0,087	0,086	0,0865	0,001	1,156069364	1,3364964
	0,086	0,087	0,0865	-0,001	-1,156069364	1,3364964
3.8.2009	0,08	0,08	0,08	0	0	0
	0,081	0,081	0,081	0	0	0
3.08.09 (4p)	0,086	0,086	0,086	0	0	0
	0,087	0,087	0,087	0	0	0
5.8.2009	0,084	0,085	0,0845	-0,001	-1,183431953	1,4005112
	0,084	0,084	0,084	0	0	0
10.8.2009	0,084	0,084	0,084	0	0	0
	0,085	0,085	0,085	0	0	0

Taulukko 7. STD 2. TNT:lle satunnaisvirheen laskemiseen käytetyt arvot

STD 2						
TNT	x 1	x 2	keskiarvo	di (erotus)	d _n %	d _n % ²
31.7.2009	0,507	0,506	0,5065	0,001	0,197433366	0,0389799
	0,508	0,505	0,5065	0,003	0,592300099	0,3508194
3.8.2009	0,507	0,506	0,5065	0,001	0,197433366	0,0389799
	0,509	0,509	0,509	0	0	0
5.8.2009	0,51	0,514	0,512	-0,004	-0,78125	0,6103516
	0,512	0,511	0,5115	0,001	0,195503421	0,0382216
10.8.2009	0,512	0,509	0,5105	0,003	0,587659158	0,3453433
	0,511	0,511	0,511	0	0	0

Taulukko 8. STD 3. TNT:lle satunnaisvirheen laskemiseen käytetyt arvot

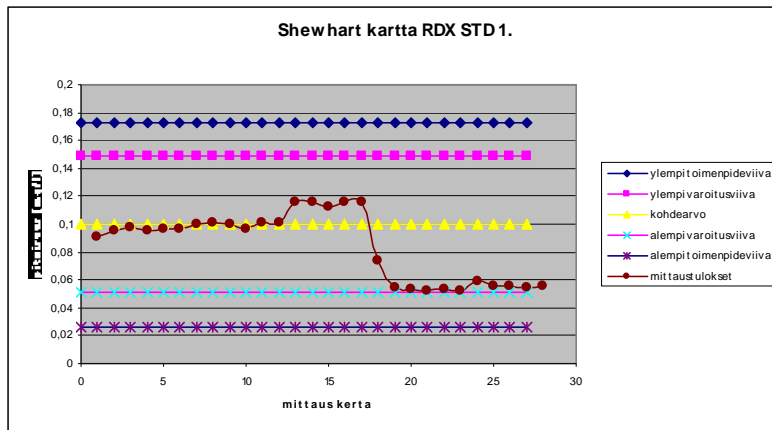
STD 3						
TNT	x 1	x 2	keskiarvo	di (erotus)	d _n %	d _n % ²
31.7.2009	1,017	1,019	0,743	-0,002	-0,269179	0,072457336
	1,024	1,02	1,022	0,004	0,3913894	0,153185688
3.8.2009	1,03	1,029	1,0295	0,001	0,0971345	0,009435117
	1,026	1,027	1,0265	-0,001	-0,0974184	0,009490347
3.08.09 (4p)	1,035	1,035	1,035	0	0	0
	1,032	1,033	1,0325	-0,001	-0,0968523	0,009380368
5.8.2009	1,021	1,024	1,0225	-0,003	-0,2933985	0,086082699
	1,022	1,022	1,022	0	0	0
10.8.2009	1,012	1,015	1,0135	-0,003	-0,2960039	0,087618336
	1,019	1,018	1,0185	0,001	0,0981836	0,00964002

Taulukko 9. STD 4. TNT:lle satunnaisvirheen laskemiseen käytetyt arvot

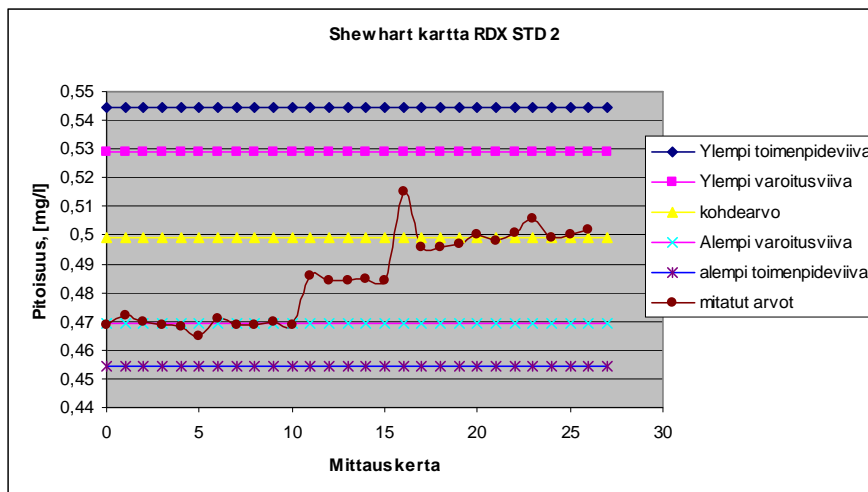
STD 4						
TNT	x 1	x 2	keskiarvo	di (erotus)	d _n %	d _n % ²
31.7.2009	1,513	1,51	1,5115	0,003	0,1984783	0,0393936
	1,496	1,509	1,5025	-0,013	-0,8652246	0,7486137
3.8.2009	1,506	1,504	1,505	0,002	0,1328904	0,0176598
	1,506	1,502	1,504	0,004	0,2659574	0,0707334
3.08.09 (4p)	1,511	1,51	1,5105	0,001	0,0662032	0,0043829
	1,512	1,513	1,5125	-0,001	-0,0661157	0,0043713
5.8.2009	1,507	1,504	1,5055	0,003	0,1992693	0,0397083
	1,502	1,509	1,5055	-0,007	-0,4649618	0,2161895
10.8.2009	1,496	1,498	1,497	-0,002	-0,1336005	0,0178491
	1,499	1,496	1,4975	0,003	0,2003339	0,0401337

Taulukko 10. STD 5. TNT:lle satunnaisvirheen laskemiseen käytetyt arvot

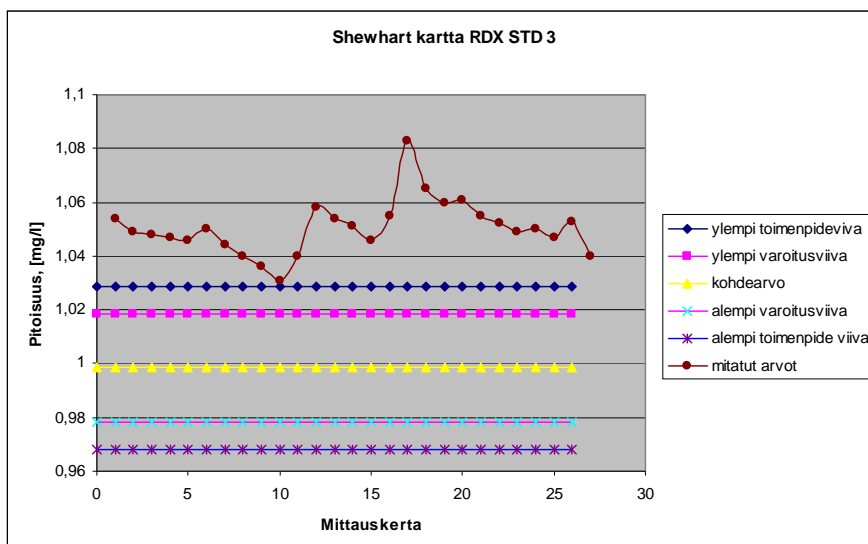
STD 5				di		
TNT	x 1	x 2	keskiarvo	di (erotus)	d _i %	d _i % ²
31.7.2009	2,002	2,001	2,0015	0,001	0,0499625	0,0024963
	2,005	2,007	2,006	-0,002	-0,0997009	0,0099403
3.8.2009	2,006	2,004	2,005	0,002	0,0997506	0,0099502
	2,003	2,005	2,004	-0,002	-0,0998004	0,0099601
3.08.09 (4p)	2,012	2,009	2,0105	0,003	0,1492166	0,0222656
	2,009	2,011	2,01	-0,002	-0,0995025	0,0099007
5.8.2009	2,005	2,005	2,005	0	0	0
	2,012	2,019	2,0155	-0,007	-0,3473084	0,1206231
10.8.2009	1,997	1,998	1,9975	-0,001	-0,0500626	0,0025063
	2,015	2,01	2,0125	0,005	0,2484472	0,061726



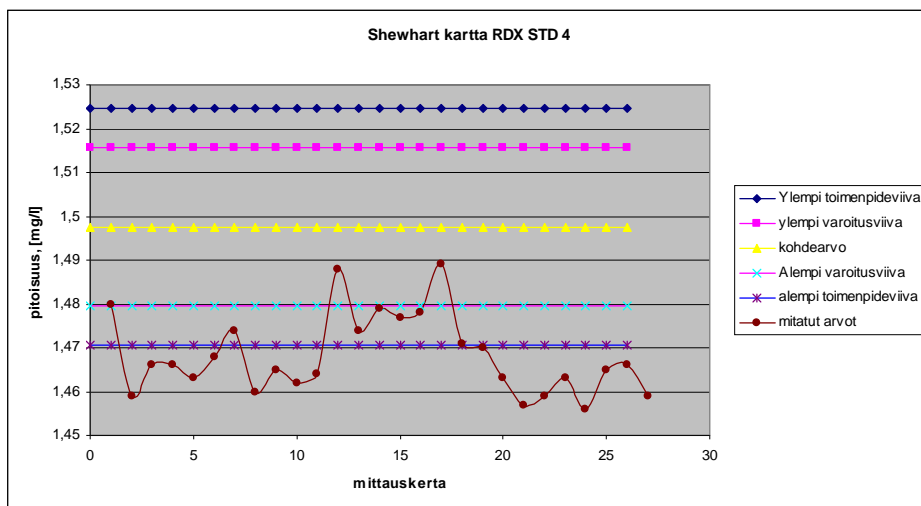
Kuva 1. Shewhart kartta RDX:lle STD 1.



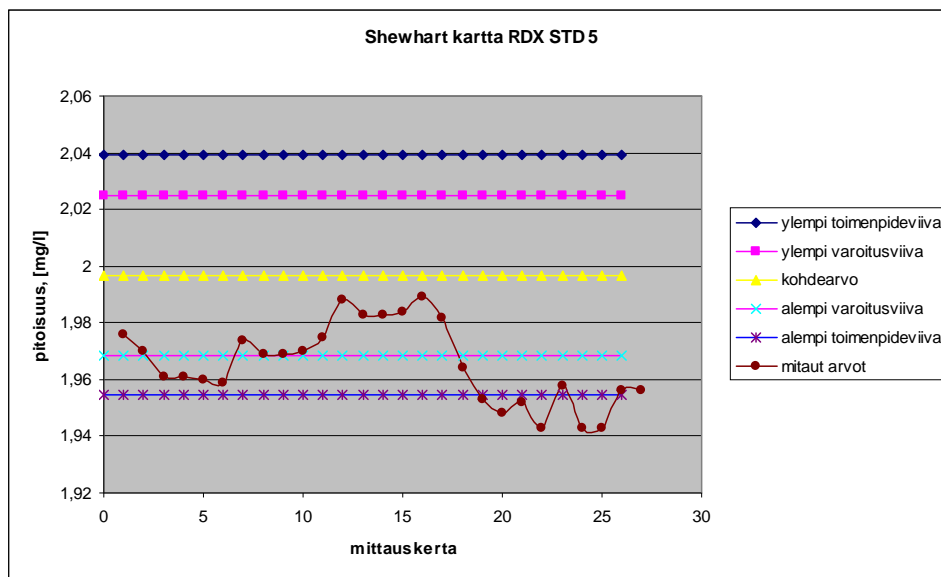
Kuva 2. Shewhart kartta RDX:lle STD 2.



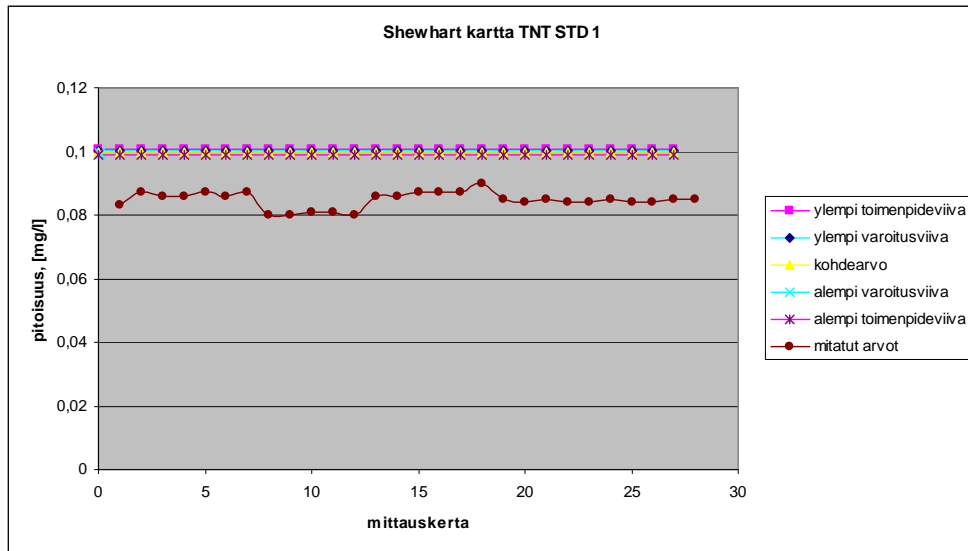
Kuva 3. Shewhart kartta RDX:lle STD 3.



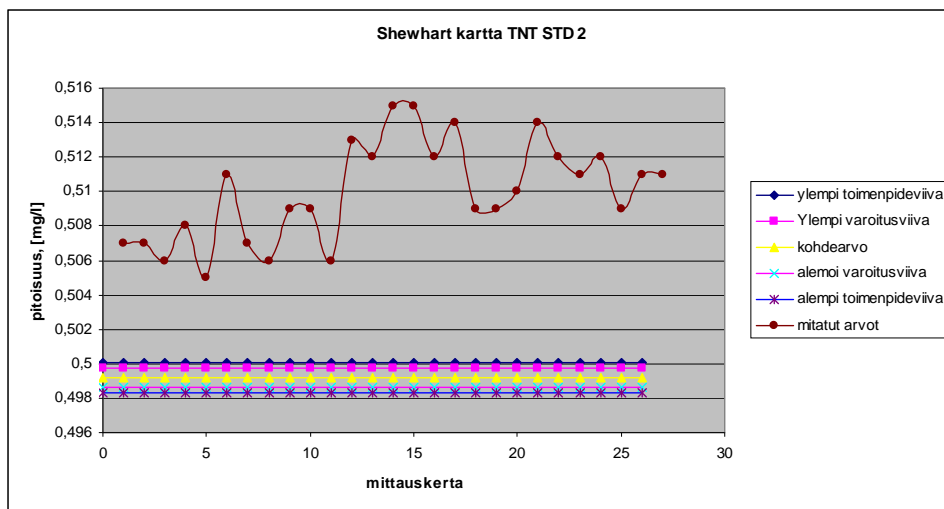
Kuva 4. Shewhart kartta RDX:lle STD 4.



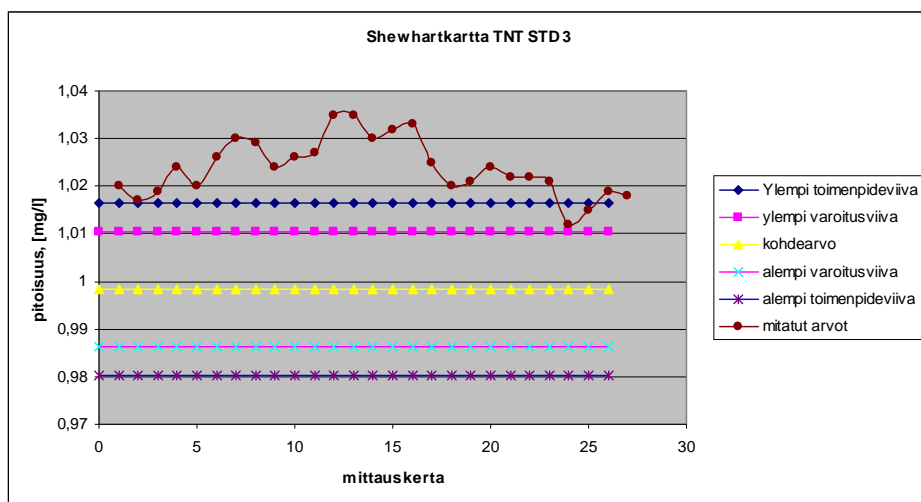
Kuva 5. Shewhart kartta RDX:lle STD 5.



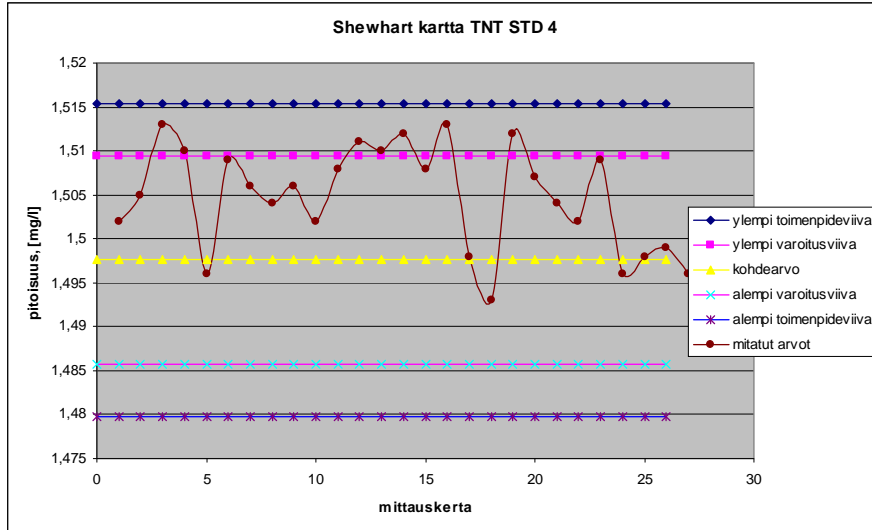
Kuva 6. Shewhart kartta TNT:lle STD 1.



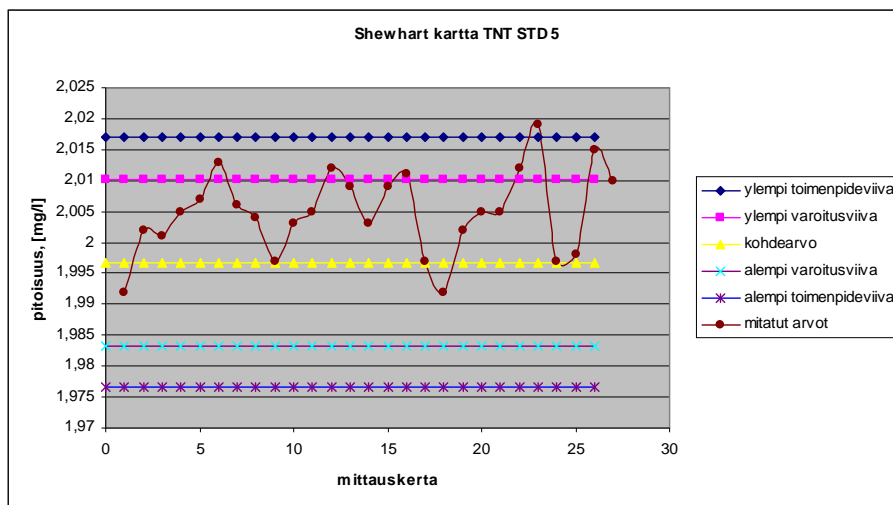
Kuva 7. Shewhart kartta TNT:lle STD 2.



Kuva 8. Shewhart kartta TNT:lle STD 3.



kuva 9. Shewhart kartta TNT:lle STD 4.



kuva 10. Shewhart kartta TNT:lle STD 5.

JÄTE- JA LUONNONVESIEN RDX- JA TNT PITOISUUKSIEN MÄÄRITTÄMINEN NESTEKROMATOGRAFISESTI

Sisällysluettelo

JÄTE- JA LUONNONVESIEN RDX- JA TNT PITOISUUKSIEN MÄÄRITTÄMINEN NESTEKROMATOGRAFISESTI	108
Sisällysluettelo	108
1. Tarkoitus	109
2. Periaate	109
3. Henkilöstö	109
4. Laitteet	109
5. Välineet	110
6. Reagenssit	110
7. Työn suoritus	110
7.1 Esivalmistelut	111
7.1.1 Kalibrintistandardit:	111
7.1.2 Kontrollinäytteet (laadunvertailu)	111
7.1.3 Näytteet	111
7.2. Kiinteäfaasiuutto	112
7.2.1 Patruunoiden kunnostus	112
7.2.2 Uuttaminen	112
7.3. HPLC- ajo	113
7.3.1 Nestekromatografia laitteiston tarkastus:	113
8. Tulokset	114
9. Tulosten toistettavuus	114
10. Työturvallisuus	114
11. Ympäristönäkökohdat	114
12. Hävittäminen	114
13. Välineiden puhdistus	115
14. Lähdeluettelo	115

1. Tarkoitus

Räjähdyksaineiden RDX ja TNT tunnistaminen ja analysointi jäte- ja luonnonvesistä korkean erotuskyvyn nestekromatografiaa (HPLC) käyttäen.

2. Periaate

Näytteet suodatetaan ja tarvittaessa väkevöidään kiinteäfaasiuutolla tai laimennetaan, jonka jälkeen räjähdysainepitoisuudet määritetään HPLC:lla käyttäen sisäisen standardin menetelmää.

3. Henkilöstö

Koulutetut henkilöt, jotka on lueteltu laboratoriokansiossa. (kohta 4)

4. Laitteet

Kiinteäfaasiuuttolaitteisto (MERCK 12-paikkainen)

- vakuumikammio
- imupullo
- vakuumpumppu
- tarvittavat letkut

Nestekromatografia -laitteisto:

- pumppu
- UV- detektori
- automaattinen näytteensyöttäjä
- injektori
- kolonni: Waters Spherisorb® 5 µm ODS2 4,6 x 150 mm
- integroiva PC-ohjelma
- Analyysivaaka, jonka lukematarkkuus on 0,1 mg

- Ultraäänihaude
- Annostelija, Hamilton

5. Välineet

A-luokan mittapullot

Mittalasis

Kierrekorkilliset lasiset koeputket

Spaattelit

Dekantterilasit

Pipetit

Suppilot

Suodatinpaperia (esim. MN 616 1/4 Ø 240 mm)

Suojakäsineet

Uuttopatruunat, (esim. Waters Sep-Pak[®] Vac Porapak 6 cc, 500 mg)

Teflon-holkki, LiChrolut

6. Reagenssit

1,3- Dinitrobenseeni (DNB)

2,4,6-trinitrotolueeni (TNT)

1,3,5-trinitro-1,3,5-triatsiini, (RDX)

Asetonitriili (ACN), HPLC-laatu

MilliQ-vesi (ominaisvastus > 18 M_Ω·cm)

3M Empore[™] FilterAid 400 (suodatinapuaine)

Natriumvetysulfaatti (NaHSO₄·H₂O)

7. Työn suoritus

Laboratorioon tulevat näytteet kirjataan laboratoriossa olevaan näytteiden vastaanottovihkoon, jolloin näyte saa yksilöidyn numeron, joka seuraa työvaiheittain aina tutkimustodistukseen asti. Jos näytteitä ei voida analysoida kahden päivän sisälle näytteenotosta, tulee näytteet kestävöidä Natriumvetysulfaatilla, n. 1½ g/l.

7.1 Esivalmistelut

7.1.1 Kalibrointistandardit:

TNT:sta, RDX:stä ja DNB:stä valmistetaan 1 mg/ml kantaliuokset (10 ml). Näistä kantaliuoksista tehdään sopivien välilaimennosten kautta käytettävät standardiseokset. Standardien valmistusohje on liitteessä 6.

7.1.2 Kontrollinäytteet (laadunvertailu)

Laadunvarmistusnäytteiksi valmistetaan sokea näyte ja seosstandardi, joista määritetään pitoisuudet normaalien näytteiden yhteydessä. Valmistusohjeet ovat liitteessä 6.

7.1.3 Näytteet

Vesinäytteet suodatetaan suodatinpaperilla ja näytteistä ajetaan yksi kvalitatiivinen ajo HPLC:lla. Ajosta saadun informaation perusteella näytteet joko laimennetaan tai uuteetaan siten, että näytteet pystytään määrittämään käytettävällä kalibrointisuoralla (kalibrointistandardit, vähintään kolme eri pitoisuutta).

Jos kvalitatiivinen ajo osoittaa näytteessä selvästi olevan RDX- ja TNT- pitoisuuksia (esim. prosessijätevedet), näytettä laimennetaan siten, että se pystytään määrittämään luotettavasti kalibrointisuoran avulla (kalibrointistandardit). Näytteeseen (kaksi rinnakkaista) lisätään sisäistä standardia (1,3- DNB), niin että laimennoksessa sen pitoisuus on 1 mg/l. Tätä näytettä ei käsitellä kiinteäfaasiuuttopatruunalla.

Jos kvalitatiivinen ajo näytteestä osoittaa, että RDX- ja TNT-pitoisuudet ovat erittäin pieniä tai pitoisuuksia ei mahdollisesti ole lainkaan (esim. luonnonvesinäytteet), näytteet käsitellään seuraavasti. Suodatettua näytettä otetaan tarkasti 500 ml dekanterilasiin tai mittapulloon (kaksi rinnakkaista) ja lisätään sisäistä standardia (1,3- DNB) niin, että pitoisuus lopullisessa näytteessä (5 ml) on 1 mg/l. Nämä näytteet tulee käsitellä/väkevoidä kiinteäfaasiuuttopatruunalla.

7.2. Kiinteäfaasiutto

7.2.1 Patruunoiden kunnostus

1. Kiinnitä tarvittava määrä uuttopatruunoita vakuumikammion kanteen.
2. Laita patruunoiden pohjalle 2-3 mm FilterAid-400 rakeita.
3. Pese patruunoita kolme (3) kertaa 5 ml:lla asetoniiriä, virtausnopeus n. 1 ml/min.
4. Huuhtelee patruunat kuusi (6) kertaa 5 ml:lla MQ-vettä. **HUOM! Patruuna ei saa päästä kuivaksi käsittelyn aikana.**
5. Jätä patruunat täyteen MQ-vettä.
6. Laita imuputket kiinni patruunoihin.

7.2.2 Uuttaminen

1. Laita imuputket näyteastioihin.
2. käynnistä vakuumpumppu.
3. Säädä virtausnopeudeksi n. 5 ml/min.
HUOM! Virtausnopeuden säätäminen riittävän hitaaksi on erittäin tärkeää, koska liian nopealla virtauksella näyteaineet eivät ehdi tarttua patruunaan.
4. Säädä virtausnopeus samaksi kaikille patruunoille ja ylläpidä virtausta alipainetta säätämällä.
5. **ÄLÄ** päästä patruunaa tyhjäksi. Jos patruuna näyttää tyhjenevän kesken uuton, keskeytä uutto sammuttamalla pumppu ja täytä tyhjentyneet patruuna MQ-vedellä, jonka jälkeen voit taas jatkaa uuttamista.
6. Tarkkaile veden määrää keruupullossa (imupullo), tyhjennä tarvittaessa sammuttamalla pumppu siksi aikaa.
7. Kun uutettava näyte alkaa olla lopussa, huuhtelee näyteastian seinämiä pienellä määrällä MQ-vettä.
8. Kuivaa patruunoita 30 min. vakuumilla, jonka jälkeen sammuta pumppu.
9. Aseta lasiset keruuputket telineeseen ja teline vakuumikammioon.
10. Liitä vakuumikammion kannen alapuolelle teflon-holkit, joiden avulla uutettu näyte ohjataan keruuputkiin.
11. Laita uuttokammion kansi paikoilleen siten, että kaikki kannessa olevat teflon-holkit osuvat keruuputkiin.
12. Varmista, että kannessa kaikki venttiilit on kiinni.

13. Lisää viisi (5) ml asetoniiriä patruunoihin.
14. Käynnistä vakuumpumppu.
15. Säädä virtausnopeudeksi n. 1 ml/min.
16. Kun näytteet on tullut läpi keruuputkiin, uutto on valmis. Näytteitä voi vielä kon-
sentroida haihduttamalla.

7.3. HPLC- ajo

7.3.1 Nestekromatografia laitteiston tarkastus:

Tarkista, että eluenteja (ajoliuokset) on riittävästi ja imuputki on nesteessä. Liuoksia vaihdettaessa on aina pumppu sammutettava. Nestelinjat ja pumppu ilmataan tarvittaessa. Tarkista, ettei jätepullo ole täysi. Tarkista, että detektorin lamppu on päällä. Varaa laitteiston stabiloitumiselle tarpeeksi aikaa. Määritysolosuhteet ovat: virtaus (1 ml/min), UV-detektori (230 nm), injektointilavuus (30 µl), kolonni RP-18 5 µm ODS2.4,6x150 mm tai erotuskyvyltään vastaava, eluentti 45 % ACN/55 % MQ-vesi, kolonnin lämpötila 25 °C.

Luodaan ja nimetään käytettävä Method Set, joka pitää sisällään instrumentti-, prosessointi- ja raportointimetodin. Kalibrointiliuoksesta ajetaan ensin yksittäinen ajo, josta saadaan retentioajat määritettäville komponenteille. Piikkien retentioaikojen perusteella tehdään prosessointimenetelmä, jonka avulla komponentit tunnistetaan ja integroidaan. Valmistettujen standardiliuosten pitoisuudet laitetaan myös prosessointimetodiin.

Esikäsiteltyjen/uutettujen näytteiden ollessa näyteyksikössä, luodaan näytelistä ja ajot käynnistetään käyttäen määritykseen käytettävää nimettyä Method Settiä. Tarkat ohjeet ovat erillisessä laiteohjeessa. Kalibrointistandardien käyttökelpoisuutta tulee seurata kontrolliliuoksilla, joiden pitoisuus tunnetaan. Laite kalibroidaan valmistetuilla kalibrointistandardeilla (vähintään kolme (3) erivahvuista standardiseosta). Kalibrointistandardeja ajetaan ajon aikana myös näytteenä, jolloin määritettävän standardin tulee pysyä virherajoissa $\pm 5\%$ (?), muussa tapauksessa asia tulee selvittää ja kalibrointi tulee tehdä uudestaan, (mahdollisesti uusilla kalibrointiliuoksilla).

8. Tulokset

Tulostus tehdään PC-ohjelmalla piikin korkeuden mukaan käyttäen sisäisen standardin (DNB) menetelmää. Menetelmän laskennallinen toteutus tapahtuu PC-ohjelmaa käyttäen. Räjähdyksainepitoisuus ilmoitetaan kahden desimaalin tarkkuudella (esim.0,98). Laitteen antamat tulokset ovat muodossa mg/l injektoidussa näytteessä. Näiden tulosten avulla lasketaan alkuperäisessä näytteessä olevat pitoisuudet yksikössä mg/l, ottaen huomioon laimennustilavuus 500 ml MQ-vettä sekä patruunasta komponenttien ulos ajo 5 ml ACN. Epäselvissä tapauksissa otetaan yhteys Puolustusvoimien Teknilliseen Tutkimuslaitokseen. Tuloksista laaditaan tutkimustodistus, malli laboratoriokansiossa. Tutkimustodistuksen jakelu tehdään asiakkaan kanssa katselmuksessa sovitulla tavalla.

9. Tulosten toistettavuus

Tulosten toistettavuus varmistetaan rinnakkaismäärityksillä.

10. Työturvallisuus

Työssä noudatetaan laboratorion työturvallisuusohjetta, joka on laboratoriokansiossa toimintaohjeen Laboratoriotoinimista Räjähdelaitoksessa liitteenä kaksi (2) ja käyttöluvan asettamia määräyksiä ja rajoituksia. Kaikkien kemikaalien ja räjähdysaineiden käytössä noudatetaan lisäksi käyttöturvallisuustiedotteen antamia ohjeita.

11. Ympäristönäkökohdat

Näyteliuokset kerätään merkittyyn jätetulloon. Ajoliuos kerätään omaan jätetulloon (asetonitriili-vesijäte).

12. Hävittäminen

Käsitellyt näytteet sekä vesi-asetonitriilijäte toimitetaan autohallille ongelmajätteenä hävitettäväksi.

13. Välineiden puhdistus

Välineiden puhdistus tehdään toimintaohjeen Laboratoriotoiminta Räjähdelaitoksessa liitteen kolme (3), välinehuollon yleisohje mukaisesti. (ohje laboratorioskansiossa).

14. Lähdeluettelo

PvTT:n työohje 037.21, 2005 (Jäte- ja luonnonvesien RDX ja TNT pitoisuuksien määrittäminen nestekromatografisesti).

Kantaliuosten valmistus:

RDX (1 mg/ml) = 1000 mg/l

- punnitse n. 10 mg RDX / 10 ml ACN, täytä merkkiin

TNT (1 mg/ml) = 1000 mg/l

- punnitse n. 10 mg TNT / 10 ml ACN, täytä merkkiin

1,3-DNB (1 mg/ml) = 1000 mg/l

- punnitse n. 10 mg 1,3-DNB / 10 ml ACN, täytä merkkiin

Välilaimennosten valmistus:

RDX (0,01 mg/ml) = 10 mg/l

- pipetoi kantaliuosta 1 ml /100 ml ACN, täytä merkkiin

TNT (0,01 mg/ml) = 10 mg/l

- pipetoi kantaliuosta 1 ml /100 ml ACN, täytä merkkiin

1,3-DNB (0,01 mg/ml) = 10 mg/l

- pipetoi kantaliuosta 1 ml /100 ml ACN, täytä merkkiin

Standardiliuosten valmistus 500 ml MQ-vettä välilaimennoksista (esimerkki):

Taulukko 31. standardien pitoisuudet ennen uuttoa

	Standardi				
pitoisuudet ennen uuttoa	STD 1	STD 2	STD 3	STD 4	STD 5
RDX, n.[mg/l]	0,001	0,005	0,01	0,015	0,02
pipetointi	52 µl	260µl	520 µl	780 µl	1000 µl
TNT, n.[mg/l]	0,001	0,005	0,01	0,015	0,02
pipetointi	52 µl	260µl	520 µl	780 µl	1000 µl
DNB n.[mg/l]	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
pipetointi	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl

Taulukko 32. Standardien pitoisuudet uuton jälkeen

	Standardi				
pitoisuudet	STD 1	STD 2	STD 3	STD 4	STD 5

uuton jäl- keen					
RDX, n.[mg/l]	0,1	0,5	1,0	1,5	2,0
TNT, n.[mg/l]	0,1	0,5	1,0	1,5	2,0
DNB n.[mg/l]	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Laadunvarmistusnäytteeksi valmistetaan sokea näyte ja seosstandardi (2. rinnakkaista), joista määritetään pitoisuudet normaalien näytteiden yhteydessä.

Esimerkki

Sokea näyte:

Sokeaa näytettä varten mitataan mittapulloon tai dekanterilasiin 500 ml MQ-vettä, johon lisätään sisäistä standardia 1,3-DNB:iä siten, että sen pitoisuus on n. 0,01 mg/l ennen uuttoa (1 mg/l uuton jälkeen). Tämä näyte käsitellään kuten standardiseokset ja normaalit näytteet uuttamalla kiinteäfaasiuuttolaitteistolla.

Seosstandardit:

Seosstandardia varten mitataan mittapulloon tai dekanterilasiin 500 ml MQ-vettä, johon lisätään esim, TNT:a n. 0,012 mg/l, RDX:a 0,012 mg/l ja 1,3-DNB:ä 0,01 mg/l pitoisuudet ennen uuttoa. Uuton jälkeiset pitoisuudet ovat: TNT n. 1,2 mg/l, RDX 1,2 mg/l ja 1,3-DNB 1,0 mg/l.

Nämä laadunvarmennusnäytteet (sokea ja seos) voi valmistaa standardeihin käytetyistä välilaimennoksista, ottaen huomioon valmistuksessa käytetyt pitoisuudet ja pipetoimalla niitä oikea tilavuus.