

**ORGAANISTEN YHDISTEIDEN MÄÄRITTÄMINEN VÄKEVISTÄ
NIKKELISULFAATIN VESILIUOKSISTA**

Pro gradu –tutkielma

Jyväskylän yliopisto

Kemian laitos

13.12.2018

Tuomas Sinisaari

TIIVISTELMÄ

Pro gradu –tutkielmassa oli tarkoituksena kehittää analyttisen kemian menetelmä, jolla voidaan sekä tunnistaa että määrittää orgaanisten yhdisteiden pitoisuuksia väkevista nikkelisulfaatin vesiliuoksista.

Tutkielman kirjallisessa osassa käydään läpi työn teoreettista taustaa. Tarkasteltavia osa-alueita ovat analyttisen menetelmän kehittäminen, näytteen esikäsittelymenetelmät sekä mittalaitteiden rakenne ja toiminta. Lisäksi tarkastellaan orgaanisten yhdisteiden määrittämistä alumiinioksidin Bayer-tuotantoprosessin liuoksista. Tätä käytetään vertailukohtana orgaanisten yhdisteiden määrittämiseen nikkelisulfaatin tuotantoprosessin liuoksista. Kokeellisessa osassa käydään läpi käytännön työskentelyvaiheet orgaanisten yhdisteiden määrittämisessä. Yhdisteiden tunnistamisessa käytettiin massaselektiivisellä detektorilla varustettua kaasukromatografia ja pitoisuuksien määrittämisessä puolestaan liekki-ionisaatiodetektorilla varustettua kaasukromatografia.

Nikkelisulfaattiliuoksista saatiin tunnistettua 37 erilaista orgaanista yhdistettä vähintään 90 %:n yhtäläisyydellä vertailussa tietokannan (Wiley 8) massaspektreihin. Tunnistetut yhdisteet olivat pääasiassa pitkän hiilivetyketjun omaavia alkaaneja sekä yhden- ja kahdenarvoisia karboksyylihappoja. Myös erilaisia ftalaatteja tunnistettiin runsaasti.

Orgaanisten yhdisteiden pitoisuuksien määrittämisessä nikkelisulfaattiliuoksesta A saatiin 12 yhdistettä ja nikkelisulfaattiliuoksesta B saatiin 16 yhdistettä määritettyä toistettavasti kuudessa rinnakkaismäärittäyksessä. Rinnakkaismäärittäyksissä yhdisteiden retentioaikojen suhteelliset keskihajonnat vaihtelivat välillä 0,04 - 0,29 % (Liuos A) ja 0,03 – 0,57 % (Liuos B). Yhdisteiden aikaansaamien kromatogrammiikkien pinta-alojen suhteelliset keskihajonnat vaihtelivat välillä 9,0 – 46,0 % (Liuos A) ja 14,5 – 98,8 % (Liuos B).

Nikkelisulfaattiliuoksista määritettiin uutettujen orgaanisten yhdisteiden kokonaismassat. Tämän perusteella uutettujen orgaanisten yhdisteiden kokonaispitoisuuksiksi saatiin 1,0 mg/l (Liuos A) ja 0,5 mg/l (Liuos B). Nikkelisulfaattiliuoksista määritettyihin orgaanisen kokonaishiilen määriin verratessa orgaanisia yhdisteitä saatiin uutettua liuoksista seuraavat prosenttiosuudet: 7,4 % (Liuos A) ja 5,3 % (Liuos B).

ESIPUHE

Tämän Pro gradu –tutkielman sekä kirjallinen että kokeellinen osio tehtiin Norilsk Nickel Harjavalta Oy:n toimeksiantona. Tutkielma toteutettiin Jyväskylän yliopiston kemian laitoksen soveltavan kemian osastolla aikavälillä 2.1.-31.7.2018.

Tutkielman kirjallisessa osiossa lähdemateriaalin kokoamiseen käytettiin pääasiassa painettua kirjallisuutta. Kirjallisuudessa käsiteltiin analyttistä kemiaa yleensä, menetelmänkehitystä, näytteiden esikäsittelymenetelmiä sekä kromatografisia mittaustekniikoita. Tutkimusartikkelien etsinnässä käytettiin Google Scholar –hakukonetta.

Tutkielman ohjaajina toimivat Jyväskylän yliopistosta yliopistonlehtori Jarmo Louhelainen sekä laboratorioinsinööri Hannu Pakkanen, ja toimeksiantajayrityksen Norilsk Nickel Harjavalta Oy:n puolelta ohjaajina toimivat kemisti Paul Cooper sekä laboratoriopäällikkö Juha Parkkinen. Kiitän edellä mainittuja henkilöitä Pro gradu –tutkielmani ohjaamisesta. Laboratorion puolella käytännön työskentelyssä avustamisesta kiitän Jouni Väli-Toralaa. Lisäksi haluan kiittää vanhempiani tuesta, jota he ovat osoittaneet tutkielmani laatimisen aikana.

SISÄLLYSLUETTELO

TIIVISTELMÄ.....	i
ESIPUHE	ii
SISÄLLYSLUETTELO	iii
KÄYTETYT LYHENTEET JA VIERASPERÄISET SANAT	vi

KIRJALLINEN OSA

1 Kirjallisen osion johdanto.....	1
2 Kemiallinen analytiikka	2
2.1 Kvalitatiivinen ja kvantitatiivinen analytiikka	2
2.2 Menetelmän kehittäminen ja validointi	3
2.2.1 Selektiivisyys (<i>Selectivity</i>) ja spesifisyys (<i>Specificity</i>).....	3
2.2.2 Vaste (<i>Responsiveness</i>) ja herkkyys (<i>Sensitivity</i>).....	4
2.2.3 Lineaarisuus (<i>Linearity</i>) ja mittausalue (<i>Range</i>).....	4
2.2.4 Tarkkuus (<i>Accuracy</i>).....	5
2.2.5 Toistotarkkuus (<i>Precision</i>).....	5
2.2.6 Toistettavuus (<i>Repeatability</i>) ja uusittavuus (<i>Reproducibility</i>)	6
2.2.7 Toteamis- ja määritysraja (LOD ja LOQ).....	7
2.2.8 Toimintavarmuus (<i>Robustness</i>).....	8
3 Näytteiden esikäsittely orgaanisten yhdisteiden määrittämistä varten	8
3.1 Orgaanisten yhdisteiden uutto.....	8
3.1.1 Neste-nesteuutto	9
3.1.2 Dispersiivinen neste-nestemikrouutto	10
3.1.3 Jatkuva uutto Soxhlet-laitteistolla	11
3.2 Uuttoliuottimen haihduttaminen.....	13
3.2.1 Nesteiden haihtuvuus ja höyrynpaine	13
3.2.2 Rotavaporilaitteiston käyttö haihdutuksessa	14
3.3 Orgaanisten yhdisteiden derivatisointi silyloimalla.....	15

4	Orgaanisten yhdisteiden kromatografinen analysointi	16
4.1	Kromatografian fysikaalis-kemiallinen perusta	16
4.2	Kaasu- ja nestekromatografian käyttö orgaanisten yhdisteiden määrittämisessä	18
5	Kaasukromatografia	20
5.1	Kaasukromatografialaitteiston rakenne ja toiminta	20
5.1.1	Kantajakaasu.....	21
5.1.2	Injektori.....	21
5.1.3	Kolonniuuni	22
5.1.4	Kaasukromatografian kolonni	23
5.1.5	Kaasukromatografian detektori	24
5.2	Kaasukromatografinen kvalitatiivinen ja kvantitatiivinen analyysi	25
5.2.1	Orgaanisten yhdisteiden tunnistaminen massaselektiivisellä detektorilla	25
5.2.2	Massaselektiivisen detektorin rakenne ja toiminta	26
5.2.3	Orgaanisten yhdisteiden pitoisuuksien määrittäminen liekki-ionisaatiotetektorilla	27
5.2.4	Liekki-ionisaatiotetektorin rakenne ja toiminta	28
6	Nestekromatografia	29
6.1	Nestekromatografialaitteiston rakenne ja toiminta	29
6.1.1	Ajoliuottimen syöttösystemi	30
6.1.2	Näytteensyöttö	31
6.1.3	Nestekromatografian kolonni	32
6.1.4	Nestekromatografian detektori	33
6.2	Nestekromatografinen kvalitatiivinen ja kvantitatiivinen analyysi	33

KOKEELLINEN OSA

7	Kokeellisen osion johdanto.....	34
8	Käytetyt laitteet ja reagenssit	34

9 Työn suoritus.....	36
9.1 Nikkeli-sulfaatin vesiliuokset A ja B ja kiinteä lähtöaine.....	36
9.1.1 Nikkeli-sulfaattiliuoksen valmistaminen kiinteästä lähtöaineesta.....	37
9.1.2 Näytteenotto nikkeli-sulfaatin vesiliuoksista.....	37
9.1.3 Nikkeli-sulfaattiliuosten säilyvyys.....	38
9.2 Nikkeli-sulfaattiliuosten esikäsitteily orgaanisten yhdisteiden määrittämistä varten	39
9.2.1 Orgaanisten yhdisteiden uutto.....	40
9.2.2 Uuttoliuottimen haihduttaminen.....	42
9.2.3 Yhdisteiden derivatisointi	43
9.3 Kaasukromatografisten mittausten suorittaminen	44
9.3.1 Yhdisteiden tunnistaminen GC-MS-tekniikalla.....	45
9.3.2 Yhdisteiden pitoisuuksien määrittäminen GC-FID-tekniikalla	45
10 Työn tulokset.....	46
10.1 Käytettyjen uuttoliuottimien vertailu.....	46
10.2 Näytteen uuttokertojen määrän vaikutus kromatografisissa tuloksissa	47
10.3 Uuttoliuottimien sisältämät orgaaniset yhdisteet.....	48
10.4 Kiinteästä nikkeli-sulfaatista valmistetun liuoksen ja muovikanisterissa säilytetyn nikkeli-sulfaattiliuoksen orgaaniset yhdisteet	49
10.5 Nikkeli-sulfaattiliuosten säilyvyyden tarkastelu.....	50
10.6 Tunnistetut orgaaniset yhdisteet	51
10.7 Tunnistettujen orgaanisten yhdisteiden pitoisuuksien määrittäminen.....	53
10.8 Nikkeli-sulfaattiliuoksista uutettujen orgaanisten yhdisteiden kokonaismäärät	58
11 Yhteenveto	61
11.1 Johtopäätökset	62
11.2 Jatkotoimenpiteet	63
12 Kirjallisuusluettelo	65
13 Liitteet	69
13.1 Liitteissä käytetyt lyhenteet	70
13.2 Liiteluettelo	72

KÄYTETYT LYHENTEET JA VIERASPERÄISET SANAT

BHT	Butyloitu hydroksitolueeni
BSTFA	Bis(trimetyylisilyyli)trifluoroasetamidi
CI	<i>Chemical Ionization</i> (Kemiallinen ionisaatio)
CZE	<i>Capillary Zone Electrophoresis</i> (Kapillaarivyöhyke-elektroforeesi)
DETH	Dietylieetteri
DLLME	<i>Dispersive Liquid-Liquid Micro Extraction</i> (Dispersiivinen neste-neste-mikrouutto)
EI	<i>Electron Ionization</i> (Elektroni-ionisaatio)
ESTD	<i>External Standard</i> (Ulkoinen standardi)
FID	<i>Flame Ionization Detector</i> (Liekki-ionisaatiodetektor)
FDP	<i>Flame Photometric Detector</i> (Liekkifotometrinen detektor)
GC	<i>Gas Chromatography</i> (Kaasukromatografia)
HEKS	Heksaani
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> (Korkean erotuskyvyn nestekromatografia)
IC	<i>Ion Chromatography</i> (Ionikromatografia)
ISTD	<i>Internal Standard</i> (Sisäinen standardi)
KLOR	Kloroformi
LC	<i>Liquid Chromatography</i> (Nestekromatografia)
LLE	<i>Liquid-Liquid Extraction</i> (Neste-nesteuutto)
Liuos A	Nikkelisulfaatin väkevän vesiliuoksen tyyppi A
Liuos B	Nikkelisulfaatin väkevän vesiliuoksen tyyppi B

LOD	<i>Limit Of Detection</i> (Menetelmän toteamisraja)
LOQ	<i>Limit Of Quantification</i> (Menetelmän määrittäysraja)
MSD	<i>Mass Selective Detector</i> (Massaselektiivinen detektori)
MS	<i>Mass Spectrometry</i> (Massaspektrometria)
MTBE	Metyylitertiääributyylieetteri
RSD	<i>Relative Standard Deviation</i> (Suhteellinen keskihajonta)
TCD	<i>Thermal Conductivity Detector</i> (Lämmönjohtokykydetektori)
TMCS	Trimetyyliklorosilaani
TMSe	Trimetyylisilyyliesteri
TOC	<i>Total Organic Carbon</i> (Orgaanisen kokonaishiilen määrä)
UHQ	<i>Ultra High Quality</i>

KIRJALLINEN OSA

1 Kirjallisen osion johdanto

Pro gradu –tutkielman kirjallisessa osiossa käydään läpi analyyttisen kemian perusteita ja analyyttisen kemian menetelmän kehittämisen yhteydessä tarkasteltavia osa-alueita. Tutkielmassa taustoitetaan myös kokeellisessa osiossa käytettyjä ja jatkotutkimuksissa mahdollisesti käyttökelpoisia näytteiden esikäsittelymenetelmiä sekä orgaanisten yhdisteiden määrittämisessä käytettäviä mittausmenetelmiä.

Tutkittavalla näytemateriaalilla eli väkevillä nikkelisulfaattiliuoksilla tarkoitetaan esimerkiksi sellaisia nikkelisulfaatin heksahydraatin vesiliuoksia, joiden nikkeli-pitoisuus on yli 100 grammaa litraa kohden. Nikkellisulfaatin tuotannossa liuoksen on havaittu sisältävän epäpuhtauksina lukuisia erilaisia orgaanisia yhdisteitä. Aikaisemmissa tutkimuksissa rasvaliukoisten orgaanisten yhdisteiden on todettu haittaavan nikkelisulfaatin tuotantoprosessia, kun taas vesiliukoisten orgaanisten yhdisteiden vaikutuksia tuotantoprosessiin ei tunneta. Julkaistua tutkimustietoa nikkelisulfaatin tuotantoprosessiliuosten sisältämien orgaanisten yhdisteiden määrittämisestä ei löydetty Pro gradu –tutkielman laatimisen aikana. Sen sijaan tutkimusta¹ on tehty orgaanisten epäpuhtauksien määrittämisestä Bayer-tuotantoprosessin liuoksista, jossa tuotetaan alumiinioksidia bauksiitti-nimisestä mineraalista. Tutkielmassa läpikäytävien osa-alueiden yhteydessä kerrotaan paikoitellen siitä, että miten läpikäytyä asiaa on käytetty Bayer-prosessiliuosten orgaanisten yhdisteiden määrittämisen yhteydessä.

Bayer-prosessin liuoksista havaitut orgaaniset epäpuhtaudet ovat peräisin flokkulanteista (joissain tapauksissa käytettäessä tärkkelystä flokkulanttina mutta pääosin synteettisistä flokkulanteista), vedenpoistoaineista (*engl.* dewatering aids), kidemuokkaajista (*engl.* crystal modifiers) ja vedenkäsittelykemikaaleista.² Orgaanisten epäpuhtauksien on havaittu vaikuttavan Bayer-prosessissa kielteisesti prosessin saantoon, lopputuotteen laatuun,^{3, 4} ei-toivotun saostuman muodostumiseen tuotantolaitteistossa (*engl.* scale formation)⁵ sekä ympäristöpäästöihin.⁶ Bayer-prosessiliuoksista määritettyjen orgaanisten yhdisteiden joukossa on mm. pitkäketjuisia karboksyylihappoja ja alkaaneja.⁵

Nikkelisulfaattivesiliuosten sisältämien orgaanisten yhdisteiden määrittämisen yhteydessä voidaan tarkastella myös erotusmenetelmiä, joilla orgaanisia yhdisteitä saadaan siirrettyä erilleen alkuperäisestä vesifaasista orgaaniseen faasiin, joka sopii koostumukseltaan mittalaitteelle syötettäväksi ja on helpommin konsentroitavissa vesifaasiin nähden. Leenheerin⁷ mukaan veteen liuenneiden orgaanisten yhdisteiden määrittämisessä on kaksi keskeistä haastetta. Ensimmäisenä haasteena on menetelmän puuttuminen veteen liuenneiden orgaanisten yhdisteiden erottamiseen veden ja epäorgaanisten suolojen muodostamasta näytetaustasta. Toisena haasteena on menetelmän puuttuminen, jolla rakenteellisesti samankaltaiset orgaaniset yhdisteet voitaisiin osittaa eli fraktioida omiksi ryhmikseen analysointia varten. Neste-nesteuuton on raportoitu erottavan keskimäärin ainoastaan n. 10 % vesiliuoksen sisältämistä orgaanisista yhdisteistä. Orgaanisten yhdisteiden erottamisessa vedestä on kokeiltu myös erilaisten hartsien käyttöä.^{8,9}

2 Kemiallinen analytiikka

2.1 Kvalitatiivinen ja kvantitatiivinen analytiikka

Analyttinen kemia voidaan jakaa kahteen osa-alueeseen, jotka ovat kvalitatiivinen (*engl. quality*) eli laadullinen analytiikka sekä kvantitatiivinen (*engl. quantity*) eli määrällinen analytiikka.^{10a} Kvalitatiivisen analytiikan tarkoituksena on yhdisteiden ja niiden rakenneosasten tunnistaminen, jolloin tunnistettava aine voidaan osoittaa läsnäolevaksi tietyssä näytteenkohteessa. Kvantitatiivisessa analytiikassa puolestaan määritetään tunnistettuja yhdisteitä ja niiden rakenneosia lukumäärällisesti. Lukumäärät ilmoitetaan usein pitoisuuksina tietyn näytetyypin massassa tai tilavuudessa. Esimerkiksi vesiliuoksen voidaan ilmoittaa sisältävän yhden milligramman magnesiumia litraa kohden (Mg:n pitoisuus 1 mg/l) tai kiinteä massa voi sisältää kaksi milligrammaa orgaanista yhdistettä kilogrammaa kohden (orgaanisen yhdisteen pitoisuus 2 mg/kg).

Analyttinen kemia voidaan jakaa myös määritysmenetelmiensä mukaan klassiseen analytiikkaan ja instrumentaalianalytiikkaan.^{10b} Klassisessa analytiikassa aineiden laatu- ja määrien määrittämisessä käytetään hyväksi aineiden massoja ja tilavuuksia. Klassisen analytiikan menetelmiin kuuluvat mm. gravimetria eli painoanalyysi sekä volumetrinen analyysi eli titraus. Instrumentaalianalytiikassa puolestaan käytetään esimerkiksi erilaisia spektroskopian ja

kromatografian lajeja, joissa aineiden laatuja ja määrien määrittämisessä käytetään hyväksi laajempaa kirjoa aineiden fysikaalis-kemiallisia ominaisuuksia, kuten aineen vuorovaikuttamista sähkömagneettisen säteilyn kanssa.

2.2 Menetelmän kehittäminen ja validointi

Analyttisen kemian menetelmän validoinnilla eli kelpoistamisella tarkoitetaan sitä, että menetelmän osoitetaan soveltuvan käyttötarkoitukseensa ja sillä saatuja mittaustuloksia voidaan pitää luotettavina.¹¹ Validoinnin yhteydessä tarkasteltavia kriteerejä^{12a} ovat mm. selektiivisyys ja spesifisyys, vaste ja herkkyys, lineaarisuus ja mittausalue, tarkkuus ja toistotarkkuus, toistettavuus ja uusittavuus, toteamis- ja määritysrajat sekä menetelmän toimintavarmuus. Menetelmälle tehtävä validointi määräytyy sen käyttötarkoituksen, käytettyjen tekniikoiden sekä menetelmän käyttämiseen liittyvien toimintatapojen perusteella.¹³

Edellä mainittuja validoinnin kriteerejä käydään läpi yleisluontoisesti alla olevissa kappaleissa. Kokeellisessa osiossa tarkastellaan ainoastaan kehitetyn menetelmän toistotarkkuutta. Muita kriteereitä ei voitu tarkastella kokeellisessa osiossa esitetyn tutkimuksen suppeuden takia.

2.2.1 Selektiivisyys (*Selectivity*) ja spesifisyys (*Specificity*)

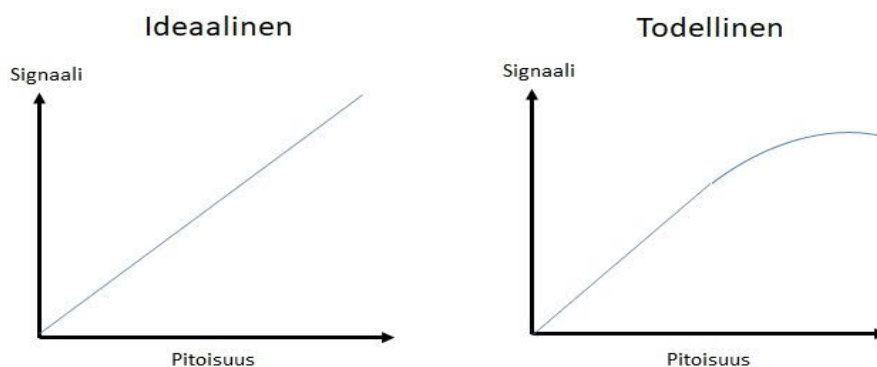
Selektiivisyydellä kuvataan menetelmän kykyä erottaa tutkittavat yhdisteet muista näytteessä olevien yhdisteiden joukosta, jolloin menetelmän voidaan sanoa olevan valikoiva (*engl. selective*) menetelmällä tutkittavien yhdisteiden suhteen.^{12a} Spesifisyydellä tarkoitetaan yksittäisen (*engl. specific*) yhdisteen määrittämistä. Selektiivisyys ja spesifisyys ovat yhteydessä menetelmässä käytettyyn detektointi- eli havaitsemistapaan, jolloin eri yhdisteiden havaitseminen näytteestä riippuu esimerkiksi käytetystä detektorin eli ilmaisimen tyypistä.

2.2.2 Vaste (*Responsiveness*) ja herkkyys (*Sensitivity*)

Vasteella tarkoitetaan menetelmässä käytetyssä mittalaitteessa tutkittavan yhdisteen pitoisuuden ja sen mittalaitteella aikaansaaman signaalin yhteyttä toisiinsa.^{12a} Herkkyydellä tarkoitetaan mittalaitteella saadun vasteen muuttumista tutkittavan yhdisteen pitoisuuden muuttuessa. Herkällä menetelmällä voidaan näin ollen havaita tarkasti tutkittavien yhdisteiden pitoisuusvaihteluita esim. eri näytteiden välillä.

2.2.3 Lineaarisuus (*Linearity*) ja mittausalue (*Range*)

Lineaarisuudella tarkoitetaan sitä, että tutkittavan yhdisteen pitoisuuden ja mittalaitteen antaman vasteen välinen suhde on lineaarinen. Saatu vaste on näin suoraan verrannollinen tutkittavan yhdisteen pitoisuuteen nähden.^{12a} Tällöin tutkittavan yhdisteen eri pitoisuuksien ja niiden aikaansaamien vasteiden avulla voidaan piirtää kalibrointisuora. Mittausalueella tarkoitetaan sitä tutkittavan yhdisteen pitoisuusväliä, jolla tutkittavan yhdisteen pitoisuuden ja sen aikaansaaman vasteen lineaarinen suhde pysyy vakiona. Useimmiten menetelmän lineaarisuus heikkenee pitoisuuden kasvaessa, jolloin pitoisuuden suureneminen ei enää kasvata siitä saatavan vasteen suuruutta lineaarisesti. Ideaalisessa kalibrointisuorassa mittalaitteen antama vaste kasvaa lineaarisesti tutkittavan yhdisteen pitoisuuden kasvaessa. Kuitenkin todellisessa kalibrointisuorassa mittalaitteella saatu vaste ei enää kasva mitattavan yhdisteen tietyn pitoisuusrajan ylittyessä, jolloin menetelmän mittausalueen yläraja on ylitetty. Ideaalista ja todellista kalibrointisuoraa havainnollistava kuva on esitetty alla (Kuva 1).



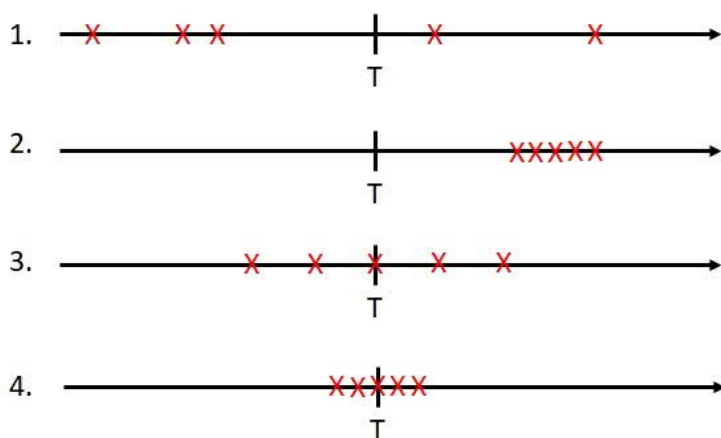
Kuva 1: Ideaalinen ja todellinen kalibrointisuora.

2.2.4 Tarkkuus (*Accuracy*)

Tarkkuudella tarkoitetaan menetelmän antaman mittaustuloksen ja todellisen tai todellisena pidetyn arvon yhtäpitävyyttä.^{12a} Menetelmän tarkkuus voidaan määrittää mittaamalla yhdisteen pitoisuus tunnetusta näytteestä, jolloin saatua mittaustulosta verrataan esimerkiksi punnittuun määritettävän yhdisteen määrään. Tarkkuutta määritettäessä käytetään usein termiä saanto, jolloin 100 %:n saannolla tarkoitetaan menetelmän antaman tuloksen ja todellisen arvon täydellistä yhtäpitävyyttä.

2.2.5 Toistotarkkuus (*Precision*)

Toistotarkkuus kuvastaa sitä, miten paljon menetelmällä saadut tulokset vaihtelevat eri mittauskertojen välillä.^{12a} Toistotarkkuutta pyritään usein määrittämään tilastollisin keinoin, jolloin mittaustuloksista määritetään tulosten keskihajonta, jolla kuvataan mittaustulosten poikkeavuuden suuruutta keskiarvoon nähden. Tärkeää on kuitenkin huomata, että toistotarkka menetelmä ei ole välttämättä tarkka, sillä toistotarkka menetelmä voi antaa säännöllisesti liian pienen tai suuren tuloksen todelliseen arvoon nähden. Tällöin puhutaan systemaattisesta virheestä. Toistotarkkuus määritetään kromatografiassa useimmiten kromatogrammeissa esiintyvien piikkien pinta-aloille tai korkeuksille sekä yhdisteiden aikaansaamien kromatogrammiempiikkien retentioajoille.^{12b} Menetelmän tarkkuutta ja toistotarkkuutta havainnollistava kuva on esitetty alla (Kuva 2).



Kuva 2: Menetelmän tarkkuuden ja toistotarkkuuden havainnollistaminen.

Yllä olevassa kuvassa samanlaisesta näytteestä saadut viisi mittaustulosta ovat merkittyinä punaisilla rasteilla ja musta T-kirjain kuvastaa mitattavan yhdisteen pitoisuuden todellista arvoa. Kuvassa esitetyt numeroidut (1.-4.) neljä eri tapausta ovat selostettuina alla.

1. Menetelmä ei ole tarkka eikä toistotarkka. Saadut mittaustulokset poikkeavat selkeästi todellisesta arvosta sekä toisistaan.

2. Menetelmä on toistotarkka muttei tarkka. Saatujen mittaustulosten välillä poikkeama on vähäistä, mutta tulokset eivät anna todellista arvoa. Tyypillinen systemaattisen virheen tapaus.

3. Menetelmä on tarkka muttei toistotarkka. Mittaustulokset antavat keskimäärin todellisen arvon, mutta tulosten väliset poikkeamat ovat suuria.

4. Menetelmä on tarkka sekä toistotarkka. Mittaustulokset ovat yhtäpitäviä todellisen arvon kanssa ja tulosten välillä hajonta on vähäistä. On tärkeää huomata, että täydellistä toistotarkkuutta ei voida saavuttaa satunnaisvirheiden vuoksi.

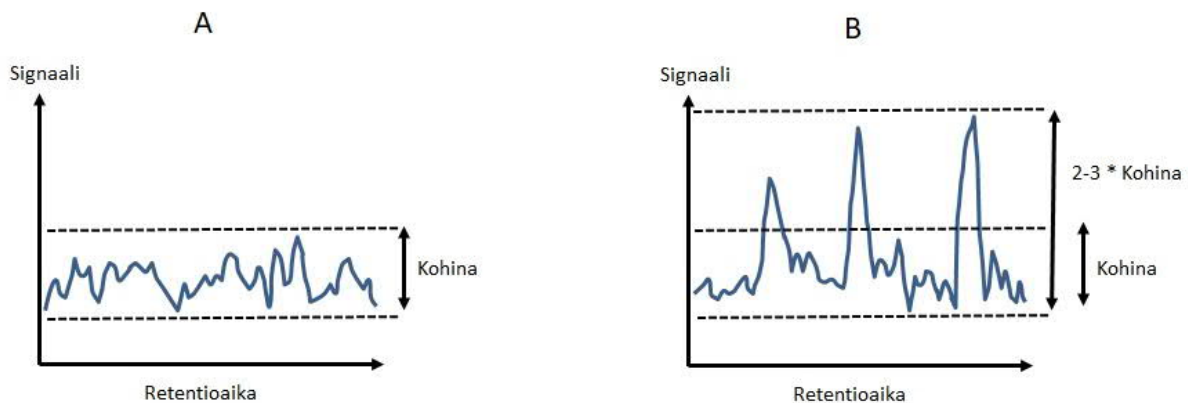
2.2.6 Toistettavuus (*Repeatability*) ja uusittavuus (*Reproducibility*)

Toistettavuudella tarkoitetaan menetelmällä saatujen mittaustulosten yhtäpitävyyttä silloin kun menetelmää käytetään vakio-olosuhteissa.^{12a} Vakio-olosuhteilla tarkoitetaan mm. sitä, että menetelmällä on sama käyttäjä, käyttöpaikka sekä mittalaite. Uusittavuudella tarkoitetaan menetelmällä saatujen tulosten yhtäpitävyyttä silloin, kun toistettavuuden kohdalla läpikäydyistä vakio-olosuhteista muutetaan vähintään yhtä tekijöistä: käyttäjää, käyttöpaikkaa tai mittalaitetta. Uusittavuutta voidaan tarkastella myös silloin, kun mittausten välillä on aikaväli, joka on selkeästi suurempi yksittäisen mittauksen keston nähden.¹³

2.2.7 Toteamis- ja määritysraja (LOD ja LOQ)

Menetelmän toteamisrajalla (LOD, *Limit Of Detection*) ja määritysrajalla (LOQ, *Limit Of Quantification*) tarkoitetaan seuraavia asioita.^{12a} Toteamisrajalla tarkoitetaan sitä pitoisuustasoa, jolla tutkittavan yhdisteen aikaansaama signaali voidaan erottaa mittalaitteen kohinan eli signaalin satunnaisvaihtelun joukosta. Toteamisrajana pidetään usein tutkittavan yhdisteen aikaansaaman signaalin suuruutta, joka on 2-3-kertainen mittalaitteen signaali-kohinasuhteeseen nähden. Määritysrajalla tarkoitetaan puolestaan sitä tutkittavan yhdisteen aikaansaaman signaalin suuruutta, jota voidaan käyttää yhdisteen pitoisuuden määrittämisessä. Tällöin tutkittavan yhdisteen aikaansaama signaali poikkeaa selkeästi kohinasta, ja määritysrajana pidetään usein signaalin suuruutta, joka on 10-kertainen signaali-kohinasuhteeseen nähden.

Menetelmän toteamisrajaa havainnollistava kuva on esitetty alla (Kuva 3). Alla olevassa kuvassa tapauksessa A havaitaan signaalin suuruuden vaihtelua, jossa ei ole merkittäviä poikkeamia (kohina). Tapauksessa B puolestaan havaitaan selkeästi suurempaa 2-3-kertaista signaalin vaihtelua kohinaan nähden, mitä voidaan pitää menetelmän toteamisrajana.



Kuva 3: Menetelmän toteamisraja.

2.2.8 Toimintavarmuus (*Robustness*)

Menetelmän toimintavarmuudella kuvataan sitä, miten suuret muutokset mittausolosuhteissa vaikuttavat menetelmällä saatuihin mittaustuloksiin.¹³ Toimintavarmalla menetelmällä saadaan samankaltaisia tuloksia mittausolosuhteiden vaihtelusta riippumatta. Toimintavarmuuden tarkastelua voidaan tehdä muuttamalla mittausolosuhteita hallitusti ja tarkastelemalla kunkin mittausolosuhteen muutoksen vaikutusta menetelmällä saataviin mittaustuloksiin.

3 Näytteiden esikäsittely orgaanisten yhdisteiden määrittämistä varten

3.1 Orgaanisten yhdisteiden uutto

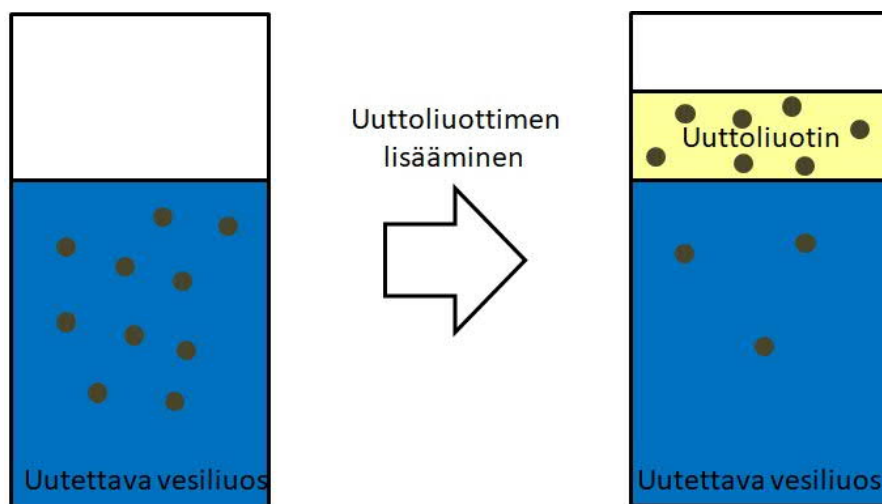
Uuttamisella tarkoitetaan yleisesti menetelmää, jossa haluttu yhdiste saadaan siirtymään yhdestä faasista toiseen.¹⁴ Uuttamisen tarkoituksena on saada haluttu yhdiste erilleen sen alkuperäisestä faasista, jossa yhdiste voi olla jakautuneena liian suureen tilavuuteen tai yhdisteen sisältämästä alkuperäisestä faasista voi olla haittaa analyysin myöhemmissä vaiheissa. Tyypillisiä uuttomenetelmiä ovat neste-nesteuutto ja kiinteäfaasiuutto. Neste-nesteuutossa yhdisteiden siirtyminen faasista toiseen tapahtuu kahden toisiinsa liukenemattoman nestefaasin välillä. Kiinteäfaasiuutossa sen sijaan kiinteä aines saatetaan kosketuksiin nestemäisen liuottimen kanssa, jolloin kiinteästä aineksestä saadaan siirrettyä sen sisältämiä yhdisteitä liuotinfasiin.

Bayer-prosessiliuoksissa esiintyviä orgaanisia yhdisteitä on pyritty uuttamaan sekä neste-nesteuutolla että kiinteäfaasiuutolla.¹⁵ Neste-nesteuutossa yksittäistä näytettä uutettiin kolmella eri uuttoliuottimella (dietyylieetteri, n-butanolin ja dietyylieetterin sekoitus sekä n-butanoli). Kolmen uuttoliuottimen käyttämisellä pyrittiin erottelemaan orgaaniset yhdisteet niiden poolisuuksien perusteella. Kiinteäfaasiuutossa käytettiin hydrofobista stationäärifasaa, jolla orgaaniset yhdisteet pyrittiin erottelemaan kolmeen fraktioon orgaanisten yhdisteiden molekyylipainojen perusteella.

3.1.1 Neste-nesteuutto

Neste-nesteuutossa (LLE, *Liquid-Liquid Extraction*) yhdistetään kaksi toisiinsa liukenematonta nestefaasia, jotka ovat usein pooliton orgaaninen faasi ja poolinen vesifaasi. Faasien sisältämät yhdisteet jakautuvat yhdistettyjen nestefaasien välillä yhdisteiden liukoisuusominaisuuksien perusteella. Tällöin esimerkiksi suurin osa poolisen vesifaasin sisältämistä poolittomista orgaanisista yhdisteistä saadaan siirrettyä poolittomaan orgaaniseen faasiin kahden faasin ollessa kosketuksissa keskenään. Yhdisteiden jakautuminen kahden eri faasin välillä riippuu sekä uutettavien yhdisteiden kemiallisesta koostumuksesta sekä käytetystä uuttoliuottimesta.^{16a}

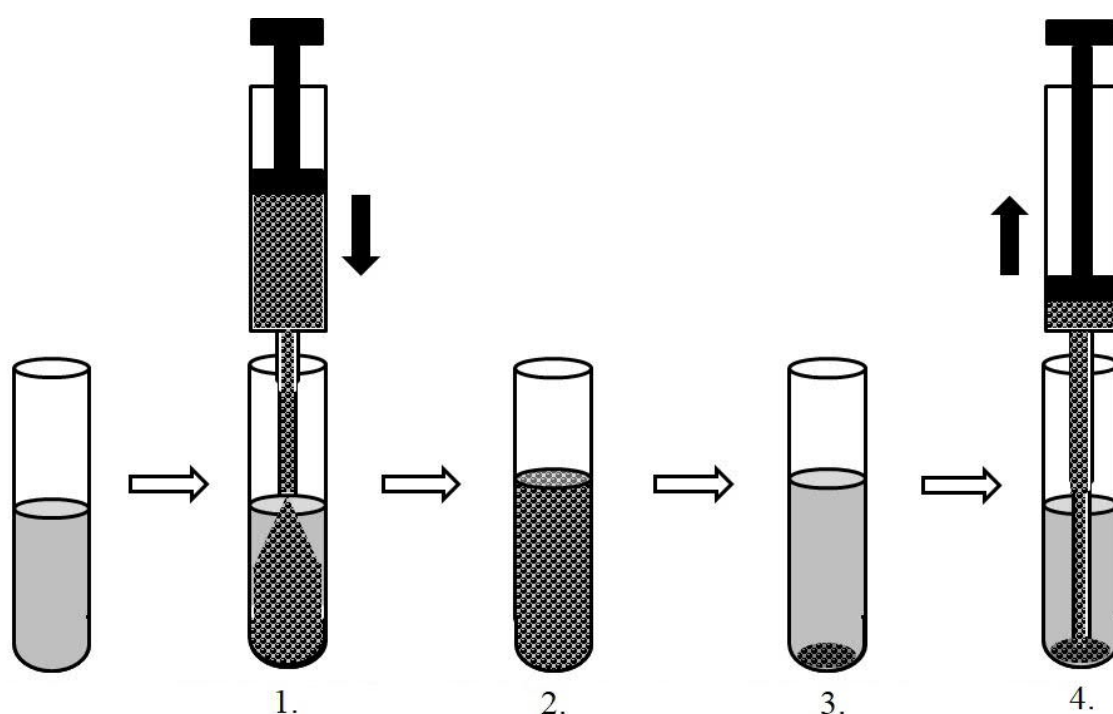
Neste-nesteuuttoa havainnollistava kaaviokuva on esitetty alla (Kuva 4). Alla olevassa kuvassa suurin osa vesinäytteen orgaanisista yhdisteistä (ruskeat ympyrät) saadaan siirrettyä orgaaniseen faasiin.



Kuva 4: Neste-nesteuuton suorittaminen.

3.1.2 Dispersiivinen neste-nestemikrouutto

Dispersiivinen neste-nestemikrouutto (DLLME, *Dispersive Liquid-Liquid Micro Extraction*) on vuonna 2006 kehitetty uuttomenetelmä.¹⁷ Menetelmän etuina ovat sekä uutettavan vesipohjaisen näytteen että uutossa käytettävien liuottimien vähäiset määrät, mikä tekee DLLME-menetelmästä edullisemmän ja ympäristölle ystävällisemmän perinteiseen neste-nesteuuttoon nähden. Alla on esitetty kaaviokuva dispersiivisen neste-nestemikrouuton suorittamisesta (Kuva 5). Kaaviokuvan jälkeen menetelmän käyttö on selostettuna vaiheittain.



Kuva 5: Dispersiivisen neste-nestemikrouuton (DLLME) suorittaminen vaiheittain.¹⁸

1. Uutettavaan vesiliuosnäytteeseen ruiskutetaan samanaikaisesti sekä uutto- että dispersioliuotinta.

2. Uutto- ja dispersioliuottimien ruiskuttamisen jälkeen vesiliuokseen muodostuu molempien liuottimien muodostamia partikkeleita, jotka pitävät sisällään uutettavat yhdisteet. Dispersioliuottimen tarkoituksena on saada uuttoluotin jakautumaan tasaisesti uutettavaan vesiliuosfaasiin sen sijaan, että orgaaninen uuttoluotinfääsi muodostaisi astiaan oman kerroksensa kuten neste-nesteuuttoa käytettäessä.

3. Liuosfaasi sentrifugoidaan, jolloin muodostuneet partikkelit saadaan sedimentoitumaan uuttoastian pohjalle.

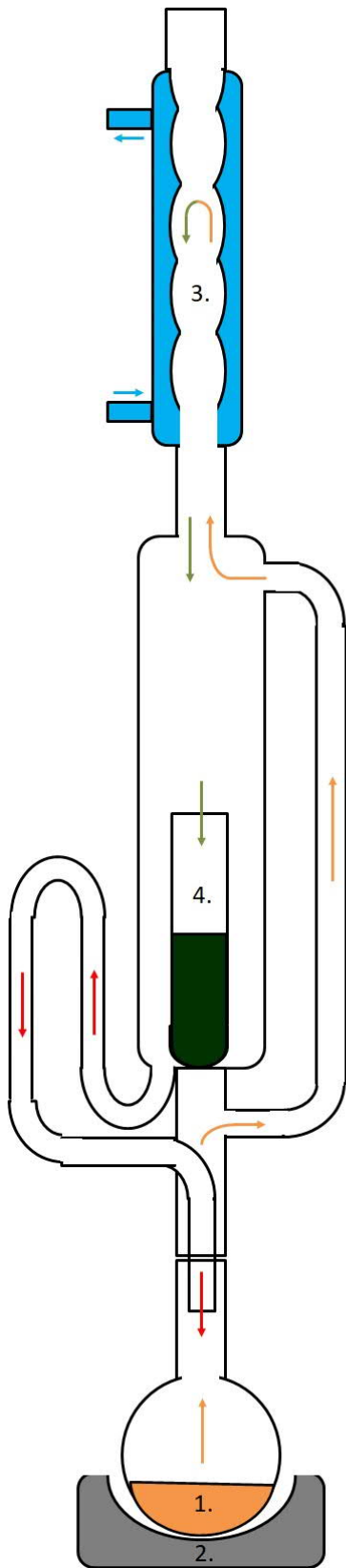
4. Sedimentoituneet partikkelit otetaan talteen vetämällä ne ruiskun avulla.

DLLME-menetelmää käytettäessä tulee ottaa huomioon seuraavat asiat käytettyjen uutto- ja dispersioluottimien osalta.¹⁸ Dispersioluottimen tulee olla vesiliukoinen, joten useimmiten käytettyjä liuottimia ovat asetoni, asetonitriili sekä metanoli. Uuttoliuottimen tulee sen sijaan olla liukeneva dispersioluottimeen muttei veteen, ja uuttoliuottimen tiheyden tulee myös erota merkittävästi veden tiheydestä. Esimerkkinä aikaisemmassa tutkimuksessa¹⁷ käytetyistä liuottimien ja näytteen tilavuuksista ovat seuraavat: 1 ml asetonia dispersioluottimena ja 8 µl tetrakloorieteeniä uuttoliuottimena, joita käytettiin 5 ml vesiliuosnäytteen uuttamisessa. Näin ollen sekä uutossa käytettävien liuottimien että uutettavan näytteen tilavuudet ovat selkeästi vähäisemmät perinteisessä neste-nesteuutossa käytettäviin tilavuuksiin nähden.

3.1.3 Jatkuva uutto Soxhlet-laitteistolla

Soxhlet-laitteistolla voidaan tehdä jatkuvaa uuttoa kiinteälle näytteelle yksittäisten uuttokertojen sijaan, jolloin yksittäinen uuttoliuotinerä kiertää toistuvasti laitteiston läpi uuttaen samaa näytettä useita kertoja.^{19, 20} Jatkuvan uuttamisen etuna useiden uuttokertojen käyttämiseen nähden on vähäinen käytettävän uuttoliuottimen tilavuus. Jatkuvasti laitteiston läpi kulkeutuvalla yksittäisellä uuttoliuotinerällä mahdollistetaan myös näytemateriaalin mahdollisimman täydellinen uutto ilman useamman uuttoliuotinerän käyttämistä. Jatkuvan uuttamisen käyttö on tarpeen myös silloin, mikäli tutkittavien yhdisteiden uuton näytemateriaalista tiedetään tapahtuvan hitaasti. Soxhlet -laitteistolla tehtävää jatkuvaa uuttoa voidaan pitää käynnissä yhtäjaksoisesti pitkiäkin aikoja, sillä jatkuvan uuton toimintaa ei tarvitse valvoa.

Soxhlet-laitteistoa on käytetty Bayer-prosessista saatujen huonosti liukenevien kiinteiden näytteiden uuttamisen yhteydessä.⁵ Tällöin uuttoliuottimena käytettiin metanolia ja jatkuvaa uuttoprosessia pidettiin yllä 24 h ajan.



Kaaviokuva Soxhlet-laitteistosta on esitetty alla (Kuva 6). Esitettyssä kaaviokuvassa uuttaminen tapahtuu seuraavissa vaiheissa:

1. Uuttoliuotin (1) kiehutetaan kolvistä lämpölähteen (2) avulla, jolloin höyrystynyt uuttoliuotin (oranssit nuolet) kulkeutuu laitteistossa ylöspäin.

2. Päätyessään pystyjäähdyttäjälle (3) höyrystynyt uuttoliuotin tiivistyy nesteeksi. Tällöin uuttoliuotin päätyy (vihreät nuolet) alla olevaan kammioon, jossa on suodatinpaperista valmistettu kiinteän näytemateriaalin sisältämä näyteastia (4). Näyteastiassa uuttoliuotin on kontaktissa uutettavan näytemateriaalin kanssa.

3. Näyteastian sisältämän kammion täytyessä uuttoliuottimella kammio tyhjentyy uuttoliuottimesta (punaiset nuolet) laitteiston sivussa olevan putken kautta takaisin kolviin, josta uuttoliuotin alunperin kiehutettiin. Näyteastian ajoittainen tyhjentyminen laitteiston sivulla olevan putken avulla mahdollistaa sen, että uutettavaa kiinteää näytemateriaalia ei pääse poistumaan näyteastiasta. Näytemateriaalista uutetut yhdisteet saadaan kuitenkin erotettua näytemateriaalista kolviin.

Kuva 6: Kaaviokuva Soxhlet-laitteistosta ja sen käytöstä jatkuvassa uutossa.

3.2 Uuttoliuottimen haihduttaminen

Uuttamisen yhteydessä käytetään usein suuria uuttoliuottimen tilavuuksia, ja uuttamisessa saadut yhdisteet on tärkeää saattaa pienempään tilavuuteen näytteen jatkokäsittelyjä ja mittauksia varten.²¹ Pienempään tilavuuteen saattaminen on tärkeää erityisesti silloin kun uutettujen tutkittavien yhdisteiden pitoisuuksien odotetaan olevan näytteessä pieniä. Xiaon²² mukaan tosin alhaisen molekyylipainon omaavia karboksyylihappoja menetetään haihdutuksella tehtävän konsentroinnin yhteydessä. Haihduttamista voidaan tehdä uuttoliuottimen sisältämän astian avoimena pitämisen lisäksi erilaisilla laitteistoilla, joilla haihduttamista voidaan tehostaa. Näitä laitteistoja ovat mm. kaasupuhalluslaitteistot (esim. typpivirtauskuivauslaitteisto) sekä pyöröhaihdutin- eli rotavaporilaitteisto.

3.2.1 Nesteiden haihtuvuus ja höyrynpaine

Höyrynpaineella tarkoitetaan nesteestä haihtuneen höyryn muodostaman paineen suuruutta suljetussa systeemissä tietyssä lämpötilassa.²³ Eri nesteille mitattuja höyrynpaineiden arvoja voidaan käyttää apuna arvioitaessa eri uuttoliuottimien haihtumisnopeuksia, jolloin korkean höyrynpaineen omaavan nesteen voidaan odottaa haihtuvan nopeammin alhaisen höyrynpaineen omaavaan nesteeseen nähden. Usein käytettyjen neljän uuttoliuottimen höyrynpaineet lämpötilassa 20 °C on esitetty alla (Taulukko 1).

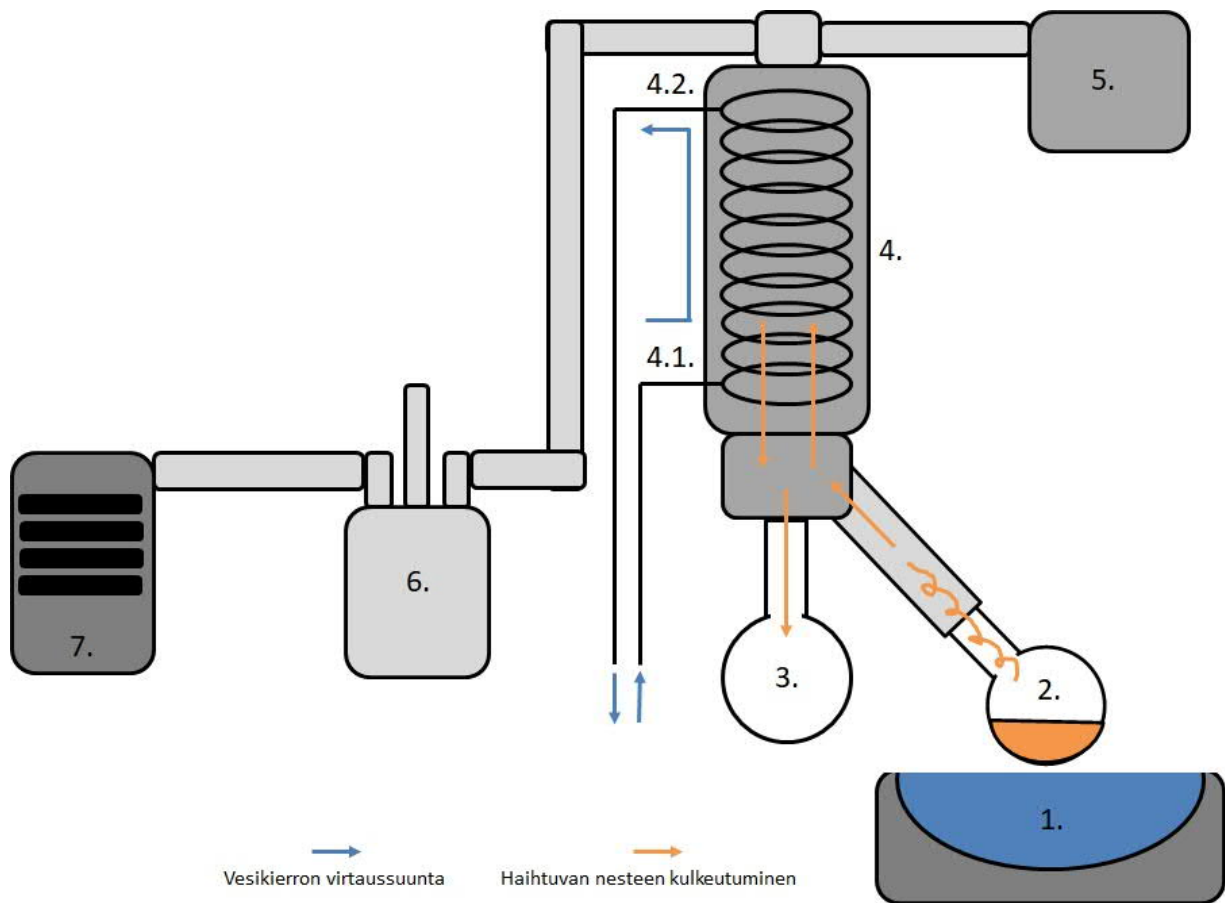
Taulukko 1: Usein käytettyjen uuttoliuottimien höyrynpaineet lämpötilassa 20 °C²⁴

Uuttoliuotin	Metyylitertiäributyylietteri	Dietylietteri	Heksaani	Kloroformi
Höyrynpaine (kPa)	27,0	58,6	17,0	212,0

Yllä olevasta taulukosta havaitaan, että lämpötilassa 20 °C korkein höyrynpaine on kloroformilla ja alhaisin heksaanilla. Näin ollen kloroformi on neljästä uuttoliuottimesta nopeimmin haihtuva ja heksaani hitaimmin haihtuva.²⁴

3.2.2 Rotavaporilaitteiston käyttö haihdutuksessa

Rotavapori- eli pyöröhaihdutinlaitteistoa voidaan käyttää nesteiden nopeaan haihduttamiseen, jolla voidaan pienentää tutkittavien yhdisteiden sisältämän nestefaasin tilavuutta tehokkaasti.²⁵ Haihduttamisen nopeutuminen perustuu laitteistossa muodostettavaan alipaineeseen. Alipainetta käytettäessä haihdutusta ei tarvitse tehdä korkean lämpötilan avulla, mikä saattaa vaikuttaa haitallisesti tutkittavien yhdisteiden koostumukseen esim. hajottaen tutkittavia yhdisteitä. Alipaineen muodostaminen tehdään laitteistoon liitettävän vakuumi- eli tyhjiöpumpun avulla. Kaaviokuva rotavaporilaitteistosta on esitetty alla (Kuva 7).



Kuva 7: Rotavapori- eli pyöröhaihdutinlaitteiston kaaviokuva.

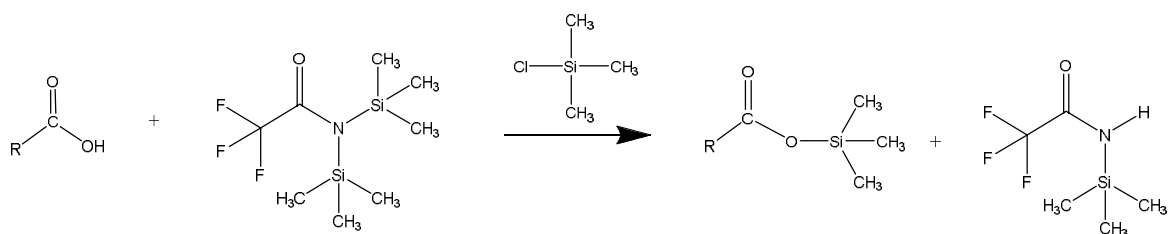
Nesteen haihduttaminen rotavaporilaitteistolla tapahtuu yllä olevassa kaaviokuvassa seuraavasti:

1. Haihdutettavan nesteen sisältävä kolvi (2) voidaan asettaa pyörimisliikkeeseen nesteen haihtumisen tehostamiseksi.
2. Kolvi voidaan laskea myös alla olevaan vesihauteeseen (1), jolloin vesihauteen kevyellä lämmityksellä voidaan tehostaa nesteen haihtumista. Lämmittämisellä voidaan myös kompensoida alipaineen muodostumisen aikaansaamaa kolvin viilenemistä. Kolvia lämmitettäessä tulee kuitenkin ottaa huomioon kolvin sisältämien yhdisteiden lämpötilakestävyys.
3. Kolvista haihtuva neste kulkeutuu höyrystyessään pystyjäähdyttäjälle (4), joka saadaan pidettyä viileänä vesikierron (4.1 ja 4.2) avulla. Pystyjäähdyttäjässä höyry tiivistyy nesteeksi, joka tippuu alla olevaan talteenkeruukolviin (3).
4. Laitteistoon saadaan muodostettua alipaine Wulffin pullon (6) sekä vakuumpumpun (7) avulla. Muodostuvan alipaineen suuruutta voidaan seurata vakuumikontrollerissa (5) olevan painemittarin avulla. Vakuumikontrollerilla säädellään myös vakuumpumpun muodostaman alipaineen suuruutta.

3.3 Orgaanisten yhdisteiden derivatisointi silyloimalla

Tutkittavat orgaaniset yhdisteet voidaan derivatisoida eli niistä voidaan tehdä johdokset kromatografisia mittauksia varten.^{16b} Derivatisoinnissa yhdisteiden kemiallista koostumusta muutetaan mm. yhdisteiden höyrystyvyyden parantamiseksi, mikä on eduksi mittausvaiheessa. Kaasukromatografian yhteydessä monipuolisin ja käytetyin derivatisoinnin menetelmä on silylointi. Silyloinnissa derivatisoitavan yhdisteen funktionaalisen ryhmän vetyatomi korvataan trimetyylisilyyliryhmällä. Vetyatomin poistamisella saadaan vähennettyä yhdisteiden muodostamia vetysidoksia, jolloin sidosmäärän vähentyessä yhdisteiden haihtuvuus kasvaa.

Orgaanisten yhdisteiden poolisten ryhmien silyloituminen tapahtuu alla olevan reaktiokaavion mukaisesti (Kuva 8).



Kuva 8: Karboksyylihapon deprotonoitumisen ja silyloitumisen reaktiokaavio.

Guthrie ja Ellis ovat käyttäneet^{26, 27} Bayer-prosessin liuosten sisältämien alhaisen ja keskimääräisen molekyylipainon omaavien alifaattisten ja aromaattisten karboksyylihappojen määrittämisen yhteydessä derivatisointimenetelmänä silylointia.

4 Orgaanisten yhdisteiden kromatografinen analysointi

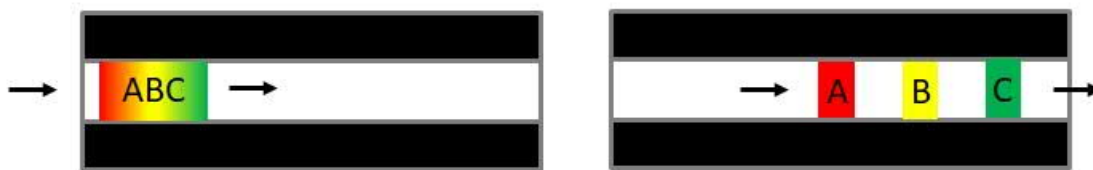
4.1 Kromatografian fysikaalis-kemiallinen perusta

Kromatografia on fysikaalis-kemiallinen erotusmenetelmä, joka perustuu analyyttien erilaiseen jakautumiseen kahden eri faasin välillä.^{12c} Faaseja kutsutaan stationäärifaasiksi ja liikkuvaksi faasiksi. Stationäärifaasi on paikallaan pysyvä faasi, kun taas liikkuva faasi kuljettaa analyyttejä. Stationäärifaasi voi olla kromatografisessa ajossa käytetyn putken sisäseinämä tai huokoinen materiaali, jolla putki on täytetty. Liikkuva faasi voi olla kaasu tai neste, jonka mukana kromatografiseen ajoon syötetty näyte kulkeutuu eteenpäin putkessa.

Kromatografisen ajon edetessä näytteen sisältämät yhdisteet ovat vuorovaikutuksessa molempien faasien kanssa. Faasien ja näytteen sisältämien yhdisteiden kemiallisesta koostumuksesta riippuen yhdisteet voivat olla joko enemmän tai vähemmän sitoutuneina stationäärifaasiin, jolloin puhutaan yhdisteiden pidättyvyydestä stationäärifaasiin. Yhdisteiden erilainen rakenne saa aikaan eri määrän pidättyvyyttä stationäärifaasin kanssa, jolloin yhdisteet erottuvat vähitellen seoksesta omiksi

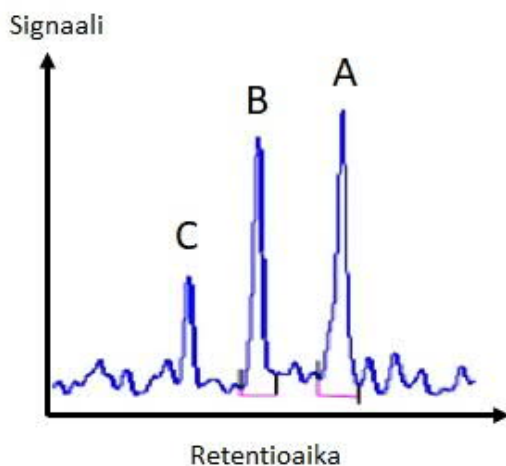
vyöhykkeikseen. Tällä tavoin useamman yhdisteen muodostamat seokset voidaan erotella näytekomponenteikseen.

Kromatografisen erottumisen kaaviokuva on esitetty alla (Kuva 9). Kuvassa näyteseoksen yhdisteet A, B ja C kulkeutuvat liikkuvan faasin mukana kolonniputken sisällä (valkoinen osa). Yhdisteet erottuvat omiksi vyöhykkeikseen ollessaan vuorovaikutuksessa putken seinämällä olevan stationäärifaasin kanssa (mustat osat).



Kuva 9: Näyteseoksen sisältämien yhdisteiden kromatografinen erottuminen.

Kromatografisessa ajossa erottuneiden yhdisteiden aikaansaamista vasteista voidaan piirtää kromatogrammi, jossa jokainen vasteen aikaansaanut yhdiste muodostaa oman piikkinsä kuvaajaan. Esimerkki kromatogrammista on esitetty alla (Kuva 10).



Kuva 10: Kromatogrammi, jossa eluoituneet yhdisteet muodostavat signaaleja retentioajan suhteen.

Yhdisteiden erottuminen kromatografisessa ajossa perustuu yhdisteiden erilaisiin fysikaalis-kemiallisiin ominaisuuksiin, joita ovat mm. liukoisuus, höyrystyvyys, adsorptio sekä partitio.^{16c} Liukoisuudella tarkoitetaan tässä yhteydessä yhdisteen liukenevuutta pysyvään (stationääri) ja liikkuvaan faasiin. Yhdisteen höyrystyvyys vaikuttaa kaasukromatografisessa ajossa siten, että helpoiten höyrystyvät yhdisteet vapautuvat ensimmäisinä stationäärifaasista, kun taas heikoiten höyrystyvät yhdisteet vapautuvat viimeisinä stationäärifaasista. Adsorptiolla eli kiinnittymisellä tarkoitetaan yhdisteiden kiinnittymistä kiinteän pysyvän faasin pinnalle. Yhdisteen suuri adsorptio johtaa sen suurempaan pidättyvyyteen pysyvässä faasissa, jolloin se kulkeutuu hitaammin vähemmän adsorptiota omaavaan yhdisteeseen nähden. Partitio eli yhdisteen jakaantuminen nestemäiseen/kiinteään faasiin vaikuttaa siten, että mikäli yhdiste jakaantuu enemmän pysyvään faasiin liikkuvaan faasiin nähden, niin yhdisteen pidättyvyys kasvaa.

4.2 Kaasu- ja nestekromatografian käyttö orgaanisten yhdisteiden määrittämisessä

Eri kromatografian lajeja voidaan käyttää orgaanisten yhdisteiden tunnistamisessa ja niiden pitoisuuksien määrittämisessä. Käytetyn kromatografian lajin valinnassa ensimmäisinä arvioitavina kriteereinä ovat analysoitavien yhdisteiden tyypit sekä näytetausta eli matriisi, jossa analysoitavat yhdisteet sijaitsevat.^{16d} Kaasu- ja nestekromatografioita pidetään usein vaihtoehtoisina tekniikoina orgaanisten yhdisteiden analysoimisessa.^{16e}

Keskeisenä eroavaisuutena kaasu- ja nestekromatografioiden välillä on tekniikoiden nimien mukaisesti niissä käytettävät liikkuvat faasit. Kaasukromatografiassa liikkuvana faasina käytetään inerttiä kaasua, jonka mukana höyrystynyt näyte saadaan kulkeutumaan kromatografialaitteiston lävitse. Nestekromatografiassa sen sijaan liikkuvana faasina käytetään yhtä tai useampaa nestemäistä liuotinta, joiden mukana nestekromatografialaitteistolle syötetty liuosmuotoinen näyte virtaa kromatografialaitteiston lävitse.

Käytettäessä kaasukromatografista menetelmää tutkittavien yhdisteiden tulee olla höyrystyviä. Tutkittavien yhdisteiden kiehumispisteiden tulee olla pääsääntöisesti alle 500 °C, vaihtoehtoisesti tutkittavilla yhdisteillä voi olla korkea höyrönpaine, jolloin yhdisteiden höyrystämiseen ei tarvita

korkeaa lämpötilaa. Lisäksi tutkittavat yhdisteet eivät saa hajota lämmityksessä eli yhdisteiden tulee olla termisesti stabiileja. Nestekromatografiaa käytettäessä tutkittavilta yhdisteiltä ei vaadita höyrystyvyyttä kuten kaasukromatografiassa. Tutkittavien yhdisteiden tulee olla kuitenkin liuotettavissa nestekromatografisessa ajossa käytettäviin ajoliuottimiin.

Kromatografiassa yhdisteiden tunnistaminen tehdään usein kytkettyjen laitetekniikoiden avulla, jossa kromatografialaitteistoon on liitettyä yhdisteiden tunnistamiseen tarkoitettu laitteisto. Yhdisteiden tunnistamista voidaan tehdä esim. massaspektrometrian ja infrapunaspektroskopian avulla, jolloin tutkittavat yhdisteet ensiksi erotellaan toisistaan kromatografisen ajon aikana, minkä jälkeen eri yhdisteet saadaan yksitellen tunnistuslaitteelle.

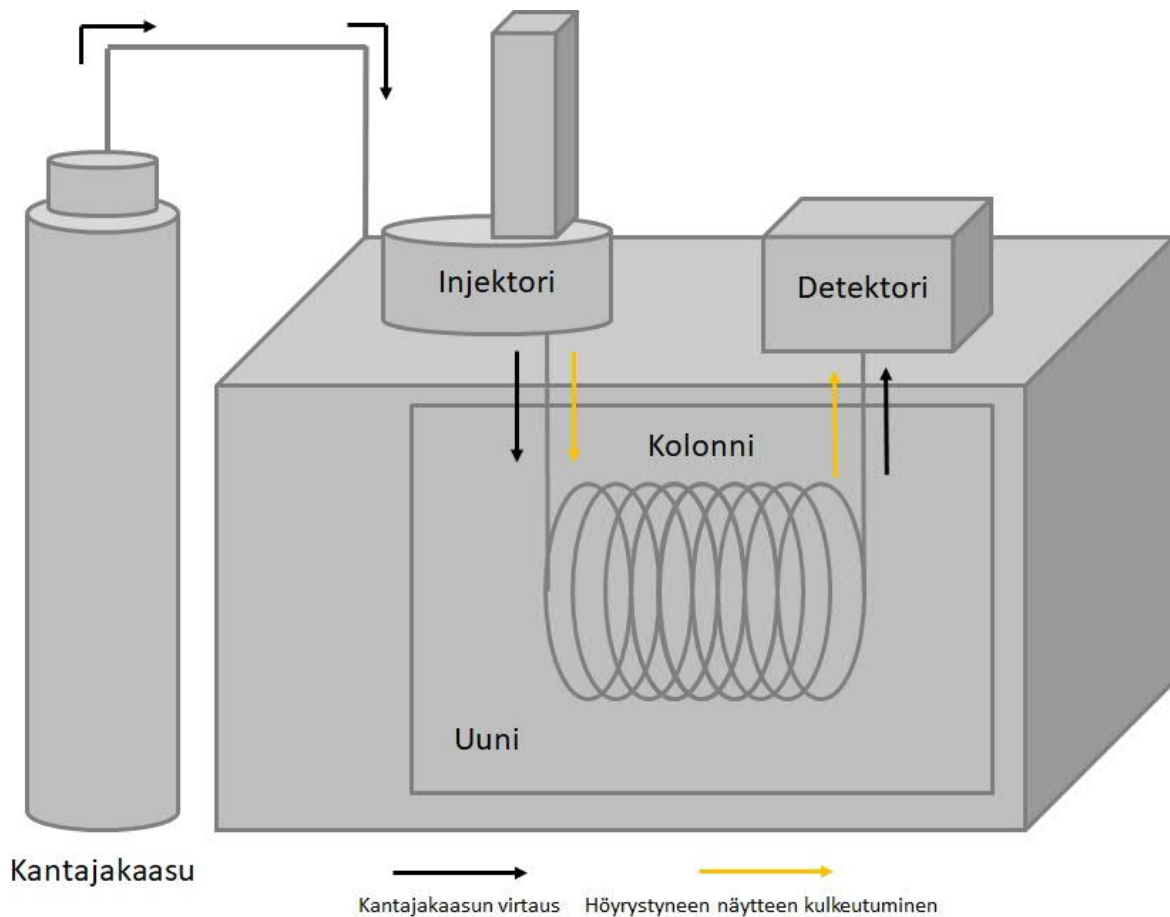
Yhdisteiden pitoisuuksien määrittämisessä kromatografiassa voidaan käyttää hyväksi erilaisia standardointimenetelmiä, joita ovat mm. ulkoisen standardoinnin (ESTD, External Standard) ja sisäisen standardoinnin (ISTD, Internal Standard) menetelmät.^{12d} Ulkoisessa standardoinnissa yhdisteen pitoisuuden määrittämistä varten laaditaan kalibrintisuora tunnetuilla määritettävän yhdisteen pitoisuuden sisältämällä liuksilla. Kalibrintisuoran avulla pyritään saamaan määritettävän yhdisteen pitoisuuden ja sen mittalaitteella aikaansaaman vasteen välille lineaarinen riippuvuus. Mitattaessa määritettävän yhdisteen pitoisuutta tuntemattomasta näytteestä yhdisteen pitoisuuden aikaansaaman vasteen suuruutta verrataan kalibrintisuoraan, jonka avulla saadaan se pitoisuus, joka vastaa yhdisteen aikaansaaman vasteen suuruutta. Sisäisessä standardoinnissa näytteeseen lisätään tunnettu määrä yhdistettä, jonka mittauksessa aikaansaama vasteen suuruus toimii vertailukohtana muiden yhdisteiden pitoisuuksien määrittämisessä.

Bayer-prosessin liuosten sisältämien orgaanisten yhdisteiden määrittämisessä on käytetty seuraavia mittaustekniikoita. Ensimmäisenä raportoituina tekniikkana on käytetty liekki-ionisaatiodetektorilla varustettua kaasukromatografialaitteistoa.²⁸ Massaselektiivisen detektorin yhdistäminen kaasukromatografialaitteistoon on mahdollistanut orgaanisten yhdisteiden tarkemman tunnistuksen liekki-ionisaatiodetektoriin nähden.²⁶ Myös nestekromatografiaa on käytetty Bayer-liuosten sisältämien orgaanisten yhdisteiden hajoamistuotteiden analysoinnissa.²⁹ Muita käytettyjä tekniikoita, joita on käytetty enimmäkseen pienimassaisten yhdisteiden analysointiin tai yhdessä edellä mainittujen tekniikoiden kanssa, ovat mm. ionikromatografia (IC)^{30, 31} ja kapillaarivyöhyke-elektroforeesi (CZE).³²⁻³⁵

5 Kaasukromatografia

5.1 Kaasukromatografialaitteiston rakenne ja toiminta

Kaasukromatografia (GC, *Gas Chromatography*) on kromatografian laji, jossa liikkuvana faasina käytetään kaasua. Stationäärifaasina voidaan käyttää joko nestettä tai kiinteää ainetta. Kaaviokuva kaasukromatografialaitteistosta on esitetty alla (Kuva 11). Kuvassa kantajakaasua virtaa kaasupullostasta, joka saa injektorin kautta laitteelle syötetyn höyrystyneen näytteen kulkeutumaan kelamaisen kolonnin läpi detektorille.



Kuva 11: Kaasukromatografialaitteiston kaaviokuva.^{12e}

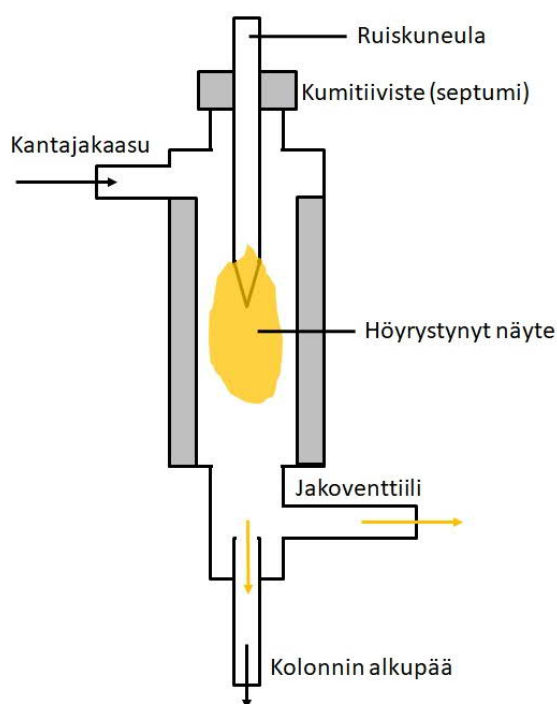
5.1.1 Kantajakaasu

Kantajakaasun tehtävänä on kuljettaa höyrystynyt näyte kaasukromatografialaitteiston lävitse. Kantajakaasu virtaa kaasupullostasta ensiksi injektorille, josta se kuljettaa injektorille syötetyn höyrystyneen näytteen kolonniputken alkupäähän. Kolonniputken alkupäähän päästyään näyte kulkeutuu kantajakaasun mukana kolonnin läpi detektorille. Näin ollen kantajakaasu toimii kaasukromatografisen ajon liikkuvana faasina. Tyypillisiä kantajakaasuja ovat He, N₂ ja H₂, ja käytetty kantajakaasu vaikuttaa kolonnin tehokkuuteen, resoluutioon, analyysiaikaan ja herkkyteen.^{12f} Toivottavia kantajakaasun ominaisuuksia ovat reagoimattomuus tutkittavien yhdisteiden kanssa (inertiys), palamattomuus sekä edullisuus.^{16f}

5.1.2 Injektori

Injektorin tehtävänä on syöttää näyte kaasukromatografiin kolonnin alkupäähän.^{12g} Injektoinnissa näyteviallista liuosta otetaan automatisoidulla ruiskulla pieni määrä (esim. 1 µl), joka injektoidaan kumitiivisteeseen (septumin) läpi kuumaan höyrystyskammioon. Höyrystyskammiossa liuotin ja sen sisältämät tutkittavat yhdisteet siirtyvät höyrystymisen myötä kantajakaasun virtauksen avustamina kolonnin alkupäähän ja siitä eteenpäin kulkeutumaan kolonnin lävitse. Käytettyjä injektointitekniikoita ovat mm. suorainjektio ja jakoinjektio. Suorainjektiossa syötetään koko injektorilla otettu näytemäärä kolonniin, kun taas jakoinjektiossa syötetään vain osa näytteestä. Suorainjektiossa jakoventtiili pidetään kiinni, jolloin kolonniin saadaan syötettyä koko injektoitu näytemäärä. Näin ollen suorainjektio soveltuu hyvin mitattavien yhdisteiden pitoisuudet ollessa pieniä. Jakoinjektio sopii hyvin tutkittavien yhdisteiden pitoisuuksien ollessa suuria.

Injektorilla tehtävässä näytteensyötössä on huomioitava seuraavia asioita.^{16g} Näyte tulee saada syötetyksi laitteistoon ja siitä eteenpäin kolonniin siten, ettei kolonnille päätyvän näytemateriaalin määrä ole liian suuri kolonnin näytekapasiteettia ajatellen eikä käytetyn detektorin lineaarinen mittausalue ylitä. Lisäksi syötetyn näytteen tulee höyrystyä nopeasti laitteistoon päästyään. Kaaviokuva injektorin rakenteesta on esitetty alla (Kuva 12).



Kuva 12: Kaasukromatografian injektorin kaaviokuva.^{12g}

5.1.3 Kolonniuuni

Kaasukromatografiassa kolonni on sijoitettu uuniin, jonka lämmittämällä ja jäädyttämällä voidaan säädellä kolonnin ja siinä etenevien eroteltavien yhdisteiden lämpötilaa.^{12h} Kaasukromatografinen ajo voidaan tehdä joko pitämällä uunia vakio­lämpötilassa tai käyttämällä lämpötilaohjelmaa, jossa uunin lämpötilaa säädetään ajon edetessä ennalta määritetyn ajo­ohjelman mukaisesti. Lämpötilaohjelman käytöllä voidaan parantaa tutkittavien yhdisteiden erotustehokkuutta erityisesti silloin, kun tutkittavien yhdisteiden väliset haihtuvuuserot ovat suuria.

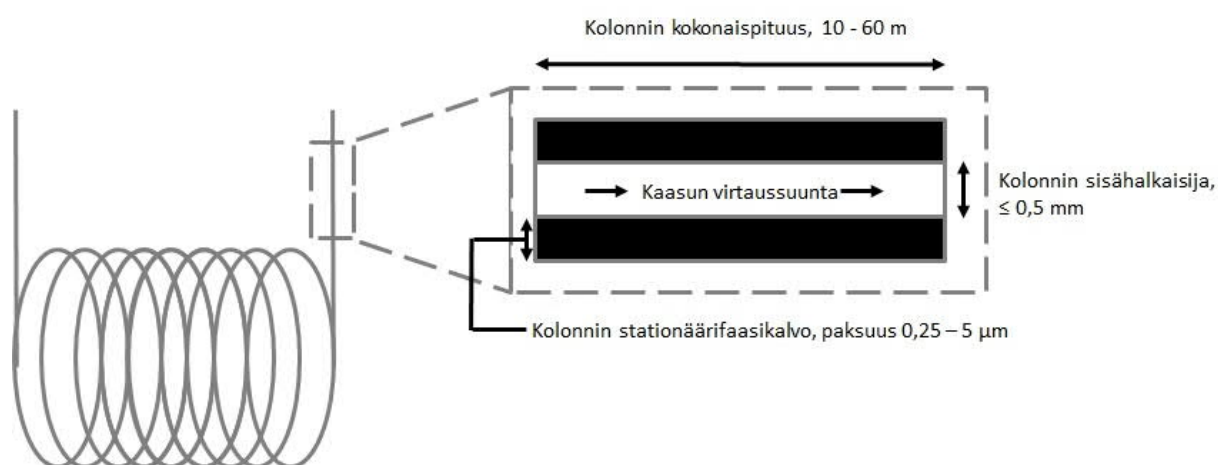
Kolonnin lämmittämisen tärkeimpänä vaikutuksena kaasukromatografisessa ajossa on se, että korkea lämpötila pakottaa suuremman osan näytteen yhdisteistä siirtymään höyryfaasiin.^{16h} Muita lämmittämisen vaikutuksia ovat mm. yhdisteiden diffuusiokertoimien ja viskositeettien muuttuminen lämmityksen seurauksena.

5.1.4 Kaasukromatografian kolonni

Kolonni on tyypillisesti ontto putki, jota pitkin kantajakaasu ja sen kuljettama näytekaasuseos pääsevät kulkeutumaan kaasukromatografialaitteiston lävitse.¹²ⁱ Kaasukromatografian kolonni on kelamainen (*engl.* coil) putki, jolloin pitkä kolonni on mahdollista sijoittaa uunin sisälle pieneen tilavuuteen. Kolonnin sisäpuolen seinämällä on stationäärifaasikalvo, jossa tapahtuu kaasukromatografialaitteistoon syötetyn näytteen sisältämien yhdisteiden erottuminen. Stationäärifaasina voidaan käyttää kiinteää tai nestemäistä pintamateriaalia. Nestemäinen materiaali pysyy kiinni kolonnin sisäpinnalla sen korkean viskositeetin ja kiehumispisteen ansioista, jolloin se ei kulkeudu pois kantajakaasun virtauksen tai lämpötilan nostamisen seurauksena.

Kolonnin erotustehokkuuteen vaikuttavat mm. seuraavat kolonnin ominaisuudet.¹⁶ⁱ Kolonnin stationäärifaasin koostumuksella voidaan vaikuttaa erilaisten näytekomponenttien erottumiseen kaasukromatografisen ajon aikana. Stationäärifaasin koostumuksen lisäksi kolonnin erotustehokkuuteen vaikuttavat kolonnin pituus, sisähalkaisijan suuruus sekä stationäärifaasikalvon paksuus.

Kaaviokuva kaasukromatografilla käytettävän avoputkikolonnin poikkileikkauksesta on esitetty alla (Kuva 13).



Kuva 13: Kaasukromatografian avoputkikolonnin poikkileikkauskuva.³⁶

5.1.5 Kaasukromatografian detektori

Detektorin eli ilmaisimen tehtävänä on havaita kolonnin läpi eluoituvat yhdisteet.^{12j} Detektorin havainnointikyky perustuu eluoituvien yhdisteiden fysikaalis-kemiallisiin ominaisuuksiin, kuten esimerkiksi tutkittavien yhdisteiden kykyyn palaa liekissä. Detektorin havaitsema yhdisteen fysikaalis-kemiallinen ominaisuus voidaan puolestaan muuntaa sähkövirraksi, ja muodostuvan sähkövirran suuruuden avulla voidaan määrittää detektorille päätyneen yhdisteen määrä.

Detektorit voidaan jakaa niiden havaitsemiskyvyn perusteella yleisdetektoreihin, selektiivisiin detektoreihin sekä spesifisiin detektoreihin. Yleisdetektorilla tarkoitetaan detektoria, joka kykenee havaitsemaan kaikki sille päätyvät yhdisteet. Selektiivinen detektori havaitsee tietyn havaittavien yhdisteiden ominaisuuden, ja spesifinen detektori havaitsee ainoastaan yksittäisen yhdisteen tai yhdistetyypin.

Kaasukromatografiassa käytettyjä detektorityyppejä ovat mm. liekki-ionisaatiotektori (FID, *Flame Ionization Detector*), lämmönjohtokykydetektori (TCD, *Thermal Conductivity Detector*) sekä liekkifotometrinen detektori (FDP, *Flame Photometric Detector*). Edellä mainituista detektorityypeistä lämmönjohtokykydetektori on yleisdetektori, sillä se reagoi käytännössä kaikkiin yhdisteisiin, jotka saavat aikaan muutoksen kantajakaasun lämmönjohtokyvyssä. Liekki-ionisaatiotektoriä pidetään usein yleisdetektorina, vaikka se onkin selektiivinen havaitessaan ainoastaan orgaanisia yhdisteitä. Liekkifotometrinen detektori on spesifinen detektori, sillä se havaitsee ainoastaan rikkiä ja fosforia sisältäviä hiilivetyjä.

Detektoreita voidaan jakaa havaittavien yhdistetyyppien lisäksi muilla tavoilla.^{16j} Detektorit voidaan jakaa konsentraatio- ja massaherkkiin detektoreihin, jolloin konsentraatioherkissä detektoreissa vaste saadaan tutkittavien yhdisteiden ainemäärän perusteella tietyssä kantajakaasun tilavuudessa. Massaherkillä detektoreilla vaste muodostuu puolestaan detektorille päätyvän kaasun massan perusteella tiettyä aikayksikköä kohden, jolloin detektorille päätyvä kaasun tilavuudella ei ole merkitystä. Toinen detektorien jaottelutapa on jakaa detektorit ns. destruktiiivisiin ja ei-destruktiiivisiin detektoreihin. Destruktiivisessa eli tuhoavassa detektorissa detektorille päätyvän

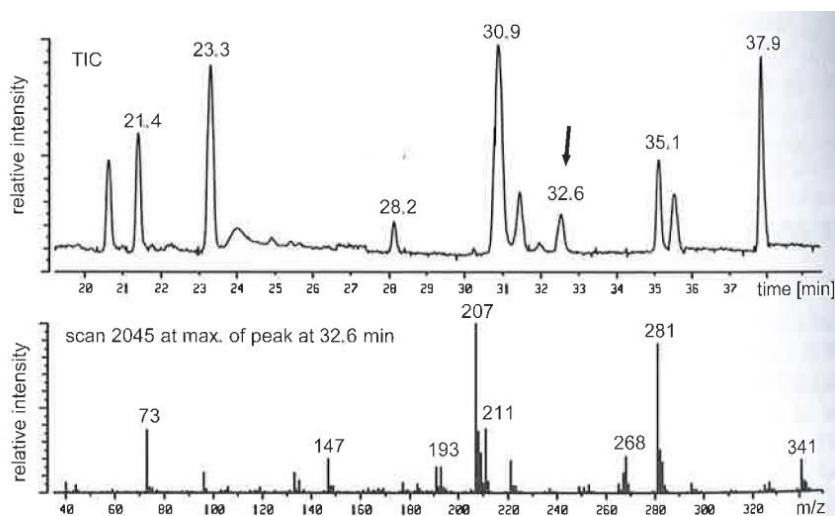
yhdisteen kemiallinen koostumus muuttuu peruuttamattomasti, kun taas ei-destruktiivisella eli ei-tuhoavalla detektorilla detektorille päätyvän yhdisteen kemiallinen koostumus ei muutu detektoinnin yhteydessä.

5.2 Kaasukromatografinen kvalitatiivinen ja kvantitatiivinen analyysi

5.2.1 Orgaanisten yhdisteiden tunnistaminen massaselektiivisellä detektorilla

Kromatografialaitteistoon liitettyllä massaspektrometrillä voidaan tunnistaa kromatografisen ajon aikana erottuneet yhdisteet. Kromatografisessa ajossa erotellut yhdisteet päätyvät yksitellen massaspektrometrille, jossa määritetään yhdisteiden massaspektrit. Saatuja massaspektrejä verrataan tietokannan sisältämiin tunnetuista yhdisteistä mitattuihin massaspektreihin, jolloin mittauksissa saaduille massaspektreille voidaan määrittää niitä vastaavat yhdisteet.

Esimerkki kaasukromatografisen ajon kromatogrammipiikin muodostumisen kanssa samanaikaisesti mitatusta massaspektristä on esitetty alla (Kuva 14). Kuvassa ylhäällä on esitetty kromatogrammi, josta tarkastellaan retentioajalla 32,6 min. muodostuneesta kromatogrammipiikistä mitattua massaspektriä, joka on esitetty kuvassa alhaalla. Saatua tuntemattomasta yhdisteestä peräisin olevaa massaspektriä verrataan tunnetuista yhdisteistä mitattuihin massaspektreihin, jolloin voidaan määrittää vastaavuuden prosenttiosuus tuntemattoman ja tunnetun massaspektrin välille.

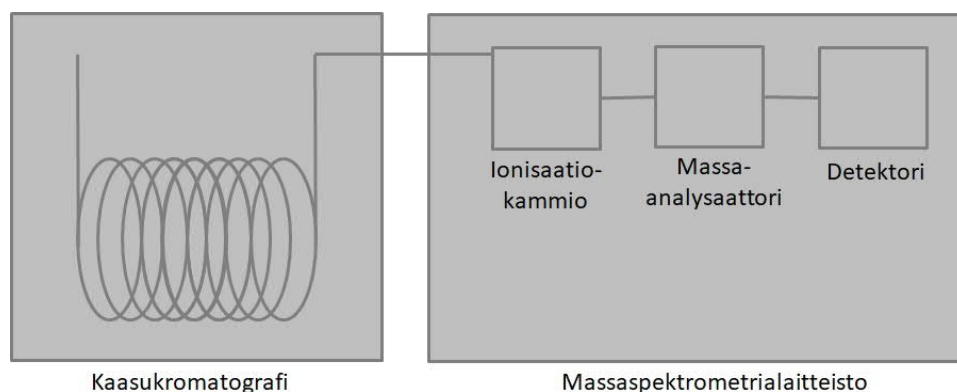


Kuva 14: Kromatogrammiin muodostumisen aikana samanaikaisesti mitattu massaspektri.^{37a}

5.2.2 Massaselektiivisen detektorin rakenne ja toiminta

Massaselektiivinen detektori (MSD, *Mass Selective Detector*) on massaspektrometriaan perustuva detektori, joka voidaan liittää kromatografialaitteistoon. Massaspektrometriassa näytteen sisältämät yhdisteet ionisoidaan, minkä jälkeen muodostuneet ionit erotellaan ja havaitaan niiden massa/varaus-suhteen (m/z) mukaisesti. Erotellut ionit muodostavat massaspektrin, josta havaitaan muodostuneiden ionien suhteelliset määrät näytteessä sekä niiden massa/varaus-suhteet.^{12k}

Kaaviokuva kaasukromatografiin liitetystä massaselektiivisestä detektorista on esitetty alla (Kuva 15).



Kuva 15: Kaaviokuva kaasukromatografiin liitetystä massaselektiivisestä detektorista.^{37b}

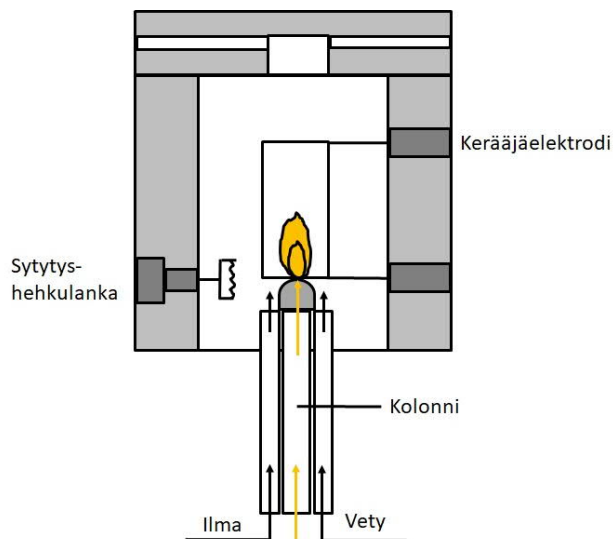
Massaspektrometrialaitteisto muodostuu näytteensyöttösystemistä, ionisaatiokammioista, massa-analysointilaitteesta sekä detektorista.³⁸ Yhdistettäessä massaspektrometri kromatografialaitteiston detektoriksi näytteensyöttö tapahtuu kromatografialaitteiston ja massaspektrometrin yhteenliitännänä, jolloin kromatografisen ajon aikana erottuneet yhdisteet päätyvät yksitellen massaspektrometrille. Massaspektrometrille kulkeutuessaan yhdisteet päätyvät ensiksi ionisaatiokammioon, jossa yhdisteet saadaan muutettua ioneiksi erilaisilla ionisaatiotekniikoilla kuten elektroni-ionisaatiolla (EI) tai kemiallisella ionisaatiolla (CI). Ionisaation jälkeen yhdisteet päätyvät massa-analysointilaitteelle, jossa muodostuneet ionit saadaan eroteltua niiden massa/varaus-suhteen perusteella. Erottelu tapahtuu ionien energian, liikemäärän tai nopeuden perusteella, ja ionin massa/varaus-suhte voidaan selvittää määrittämällä kaksi kolmesta edellä mainitusta ominaisuudesta. Tyypillisiä massa-analysointilaitteita ovat kvadrupoli-, sektori- ja lentoaikalaitteistot, joista yleisimpänä kromatografialaitteistojen ja massaspektrometrien yhteenliitännöissä käytetään kvadrupolilaitteistoa. Massa-analysointilaitteen erottelemien ionien detektoinnissa käytetään useimmiten elektronimonistinputkia. Ionien päätyminen elektronimonistinputkeen saa aikaan elektronien irtoamisen suuremmissa määrin, jolloin irtoavat elektronit saavat aikaan mitattavan sähkövirran.

5.2.3 Orgaanisten yhdisteiden pitoisuuksien määrittäminen liekki-ionisaatiodetektorilla

Kromatografisessa ajossa orgaanisten yhdisteiden pitoisuuksien määrittämiseen voidaan käyttää esimerkiksi liekki-ionisaatiodetektoria. Liekki-ionisaatiodetektorille päätyvät kromatografisen ajon aikana erotellut orgaaniset yhdisteet muodostavat kromatogrammiin piikkejä, joiden pinta-alojen suuruuksia voidaan useimmissa tapauksissa pitää verrannollisina yhdisteiden pitoisuuksiin näytteessä. Standardoinnin avulla kromatogrammissa esiintyville yhdisteille voidaan määrittää yhteys yhdisteen pitoisuuden ja sen aikaansaaman kromatogrammiipiikin pinta-alan välille.

5.2.4 Liekki-ionisaatiotektorin rakenne ja toiminta

Liekki-ionisaatiotektorin (FID, *Flame Ionization Detector*) toiminta perustuu kolonnista eluotuvien orgaanisten yhdisteiden palamiseen ilmalla ja vedyllä ylläpidetyssä liekissä.¹²¹ Yhdisteiden palaminen tapahtuu metallisessa polttimossa, johon yhdisteet päätyvät poistuessaan kolonnista. Palaessaan liekissä orgaaniset yhdisteet muodostavat ionisoituneita hajoamistuotteita, jotka saadaan detektoriin muodostetun sähkökentän avulla kulkeutumaan polttimon yläpuolella sijaitsevaan kerääjäelektrodiin, jossa ionisoituneista hajoamistuotteista muodostuu mitattava sähkövirta. Liekki-ionisaatiotektorin kaaviokuva on esitetty alla (Kuva 16).

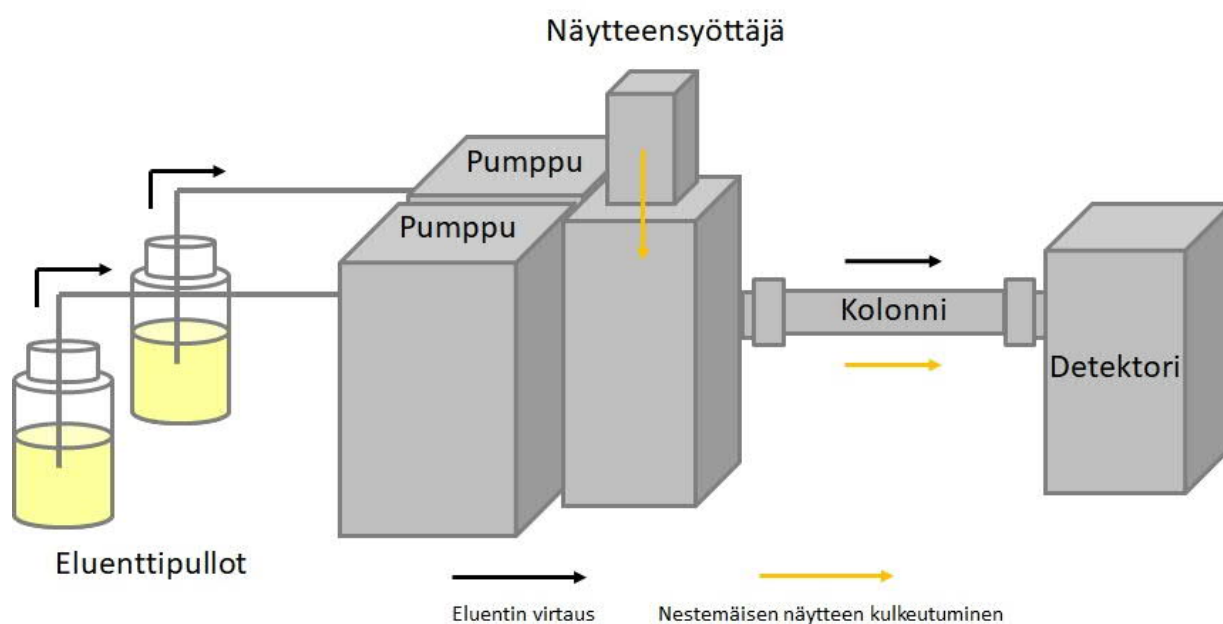


Kuva 16: Liekki-ionisaatiotektorin kaaviokuva.¹²¹

6 Nestekromatografia

6.1 Nestekromatografialaitteiston rakenne ja toiminta

Nestekromatografia (LC, *Liquid Chromatography*) on kromatografian laji, jossa liikkuvana faasina toimii neste. Pääsääntöisesti stationäärifaasina toimii kiinteä faasi, avoputkikolonneissa pysyvänä faasina tosin voidaan käyttää myös nestettä. Nykyisin käytettävät nestekromatografialaitteistot ovat pääasiassa korkean suorituskyvyn/paineen nestekromatografeja (HPLC, *High Performance Liquid Chromatography*). Nestekromatografialaitteiston kaaviokuva on esitetty alla (Kuva 17). Kuvassa laitteistoon pumpataan yhtä tai useampaa ajoliuotinta (eluenttia), jonka mukana laitteistoon syötetty nestemäinen näyte kulkeutuu suoraputkisen kolonnin läpi detektorille.

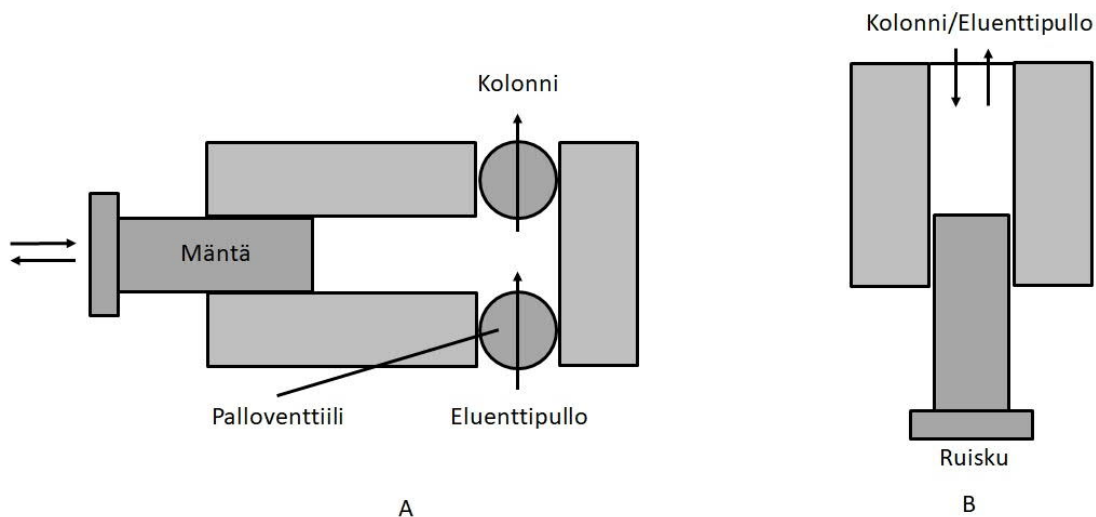


Kuva 17: Nestekromatografialaitteiston kaaviokuva.^{12m}

6.1.1 Ajoliuottimen syöttösystemi

Nestekromatografisessa ajossa liikkuvana faasina toimiva ajoliuotin eli eluentti syötetään laitteistoon yhdestä tai useammasta eluenttisäiliöstä, jolloin nestekromatografisessa ajossa voidaan käyttää yhtä tai useampaa ajoliuotinta.¹²ⁿ Käytettäessä yksittäistä liuotinta puhutaan isokraattisesta ajosta, ja useampaa liuotinta käytettäessä puhutaan gradienttiasjasta. Isokraattisessa ajossa ajoliuottimen koostumus pidetään samanlaisena nestekromatografisen ajon alusta loppuun. Gradienttiasjassa ajoliuottimen koostumusta muutetaan nestekromatografisen ajon edetessä joko jatkuvasti tai portaittain. Ajoliuottimen koostumusta muuttamalla on mahdollista erotella näytteen sisältämät yhdisteet paremmin toisistaan isokraattiseen ajoon verrattuna.

Liikkuvan faasin kulkeutuminen laitteistossa saadaan aikaan pumppusysteemin avulla, jonka tarkoituksena on tuottaa tasainen ja sykkeetön ajoliuottimen virtaus halutulla virtausnopeudella. Virtausnopeuden tulee olla muutettavissa suurissakin määrin kromatografisen ajon aikana. Pumppusysteeminä käytetään tyypillisesti resiprookki- ja ruiskupumppuja. Resiprookkipumpussa eluentin imeminen eluenttisäiliöstä ja eluentin työntäminen kolonniin tapahtuu jaksoittain, kun taas ruiskupumpussa ajossa käytettävä tilavuus eluenttia imetään ja työnnetään kolonniin yhdellä kerralla. Kaaviokuvat resiprookkipumpusta ja ruiskupumpusta on esitetty alla (Kuva 18).

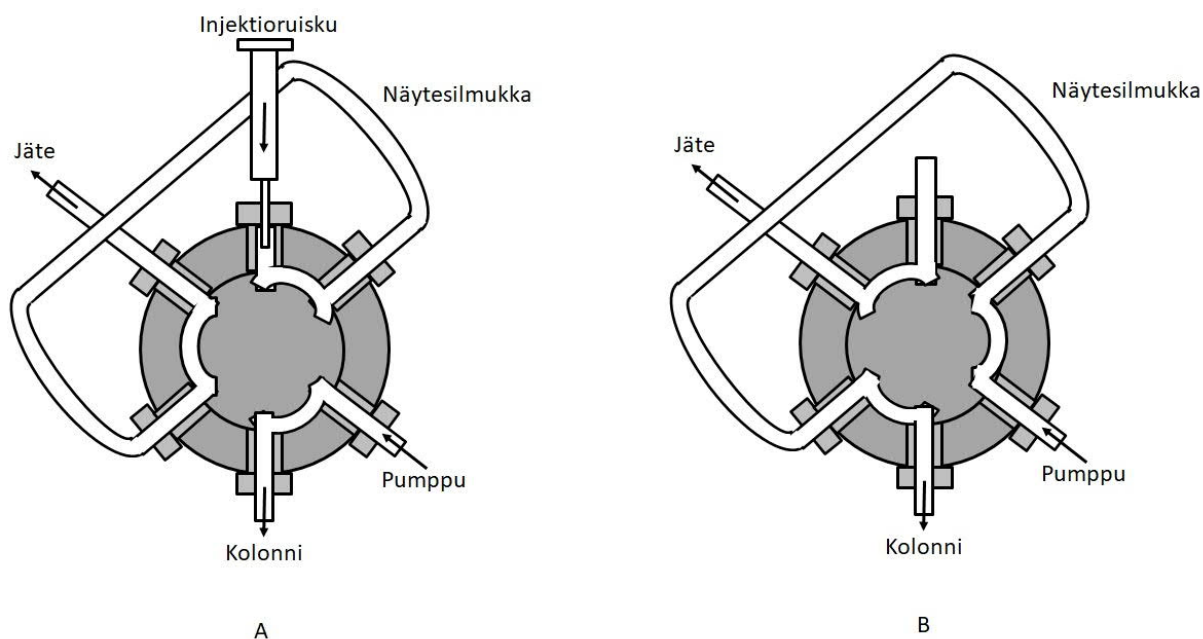


Kuva 18: Kaaviokuva resiprookkipumpusta (A) ja ruiskupumpusta (B).

6.1.2 Näytteensyöttö

Nestekromatografisessa ajossa näyte pyritään liuottamaan käytettävään eluenttiin, minkä jälkeen näyte voidaan syöttää laitteistoon. Nestekromatografiassa näytteensyötössä käytetään usein monitieventtiiliä.^{12o} Monitieventtiilin käyttö nestekromatografialaitteiston näytteensyötössä mahdollistaa sen, että näyte voidaan syöttää normaalipaineessa korkean paineen omaavaan nestekromatografialaitteistoon hyvällä toistettavuudella. Tämä mahdollistaa nestekromatografian käytön myös kvantitatiivisessa analytiikassa.^{39a}

Kaaviokuva monitieventtiilistä ja sen toiminnasta on esitetty alla (Kuva 19). Alla olevassa kuvassa vaiheessa A näytettä syötetään ensiksi injektioruiskun avulla näytesilmukkaan. Vaiheessa B monitieventtiiliä käännetään siten, että näytesilmukkaan syötetty näyte siirtyy pumpun avulla ajoliuotinvirtaan, minkä mukana näyte kulkeutuu kolonnille ja sen lävitse detektorille.



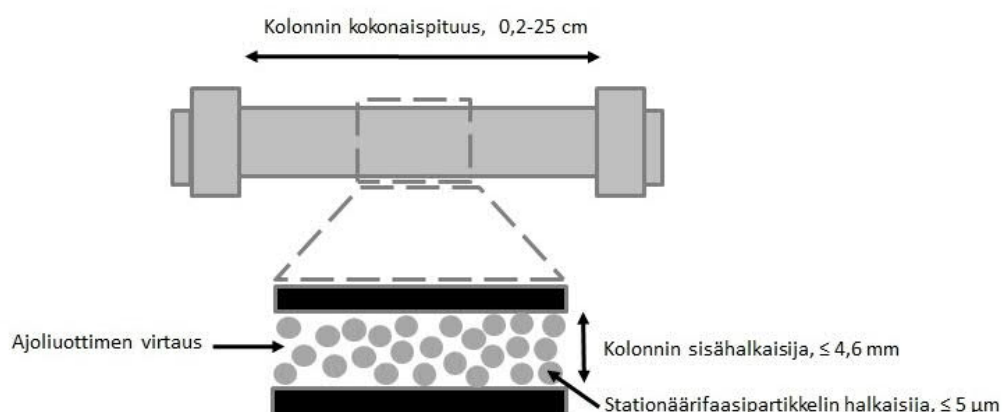
Kuva 19: Monitieventtiilin käyttö näytteensyötössä nestekromatografialaitteistossa.^{12o}

6.1.3 Nestekromatografian kolonni

Nestekromatografiassa kolonnina käytetään kaasukromatografiassa käytettävästä kelamaisesta kolonnista poiketen suoraa putkea, joka on tyypillisesti valmistettu teräksestä tai PEEK (polyeetterieetteriketoni)-polymeeristä. Nestekromatografiassa kolonni on tyypillisesti pakattu täyteen partikkeleita, jotka toimivat nestekromatografisessa ajossa stationäärifaasina ja joiden läpi ajoliuottimen sisältämä näyte pääsee kulkeutumaan kolonnin lävitse detektorille.^{12p} Stationäärifaasina voidaan käyttää eri kokoisia ja huokoisuudeltaan vaihtelevia partikkeleita. Partikkelien muodot voivat vaihdella pallomaisista tankomaisiin ja epäsäännöllisiin. Käytettyjen partikkelien huokoisuudella ja muodolla voidaan vaikuttaa yhdisteiden nestekromatografiseen erottumiseen eri näytetyypeissä.

Nestekromatografian tyypit jaetaan stationäärifaasin koostumuksen mukaan normaalifaasi- ja käänteisfaasinestekromatografiaan.^{39b} Normaalifaasinestekromatografiassa stationäärifaasi on poolisempi kuin liikkuva faasi, jolloin liikkuvana faasina käytetään poolittomia ajoliuottimia kuten heksaania tai dietyylieetteriä. Käänteisfaasinestekromatografiassa käytettävä ajoliuotin on puolestaan poolisempi kuin stationäärifaasi, jolloin ajoliuottimina voidaan käyttää esim. vettä tai metanolia.

Kaaviokuva nestekromatografisen kolonnin rakenteesta on esitetty alla (Kuva 20).



Kuva 20: Nestekromatografisen kolonnin poikkileikkauskuva.³⁶

6.1.4 Nestekromatografian detektori

Nestekromatografiassa detektorien havainnointikyky perustuu niiden kykyyn mitata muutoksia liikkuvana faasina käytetyn ajoliuottimen koostumuksessa.^{12q} Detektorit voidaan jaotella niiden mittaamien ominaisuuksien perusteella, joita ovat fysikaaliset, sähkökemialliset ja spektrometriset ominaisuudet. Nestekromatografiassa käytetyimpiä detektorityyppejä ovat taitekerroin- ja UV-Vis-detektorit.^{39c} Taitekerroindetektoria voidaan pitää nestekromatografian yleisdetektorina, sillä se antaa vasteen ajoliuottimen taitekertoimen muuttuessa. UV-Vis-detektori on käytetyin detektorityyppi nestekromatografian yhteydessä sen käytön yksinkertaisuuden sekä mitattavien yhdistetyyppien laajan kirjon vuoksi.

Nestekromatografiassa samaan laitteistoon voidaan liittää peräkkäin useampia detektoreja, jolloin yksittäisessä nestekromatografisessa ajossa voidaan mitata hyvinkin erilaisia näytteen sisältämiä yhdisteitä eri detektorityyppien avulla. Myös massaspektrometriä voidaan käyttää detektorina nestekromatografialaitteistossa, vaikka sen käyttö on huomattavasti haastavampaa kaasukromatografialaitteistossa käyttöön verrattuna. Haasteita massaspektrometrin käytössä nestekromatografiassa ovat liikkuvan faasin nestemäinen olomuoto sekä detektorille päätyvä liikkuvan faasin määrä, mikä on huomattavasti suurempi kaasukromatografiassa detektorille päätyvään liikkuvan faasin määrään nähden.

6.2 Nestekromatografinen kvalitatiivinen ja kvantitatiivinen analyysi

Nestekromatografiassa kvalitatiivinen ja kvantitatiivinen analyysi toteutetaan pitkälti samoilla tavoilla kuin kaasukromatografian yhteydessä. Kvalitatiivisessa analytiikassa nestekromatografisen ajon aikana erottuneita yhdisteitä voidaan tunnistaa kromatografialaitteistoon kytkettyjen laitetekniikoiden kuten massaspektrometrian avulla, jonka käyttö on viime aikoina yleistynyt myös nestekromatografian käytön yhteydessä.^{12r} Kvantitatiivisessa analytiikassa nestekromatografian yhteydessä voidaan käyttää samoja standardoinnin menetelmiä kuin kaasukromatografisten menetelmien käytön yhteydessä.^{16k}

KOKEELLINEN OSA

7 Kokeellisen osion johdanto

Pro gradu –tutkielman kokeellisessa osiossa oli tavoitteena kehittää analyttisen kemian menetelmää, jolla väkevien nikkelisulfaattiliuosten sisältämiä orgaanisia yhdisteitä voidaan tunnistaa ja niiden pitoisuuksia määrittää. Menetelmällä on tarkoituksena seurata orgaanisten yhdisteiden tyyppien ja pitoisuuksien vaihteluja nikkelisulfaattiliuoksissa, jolloin voidaan tarkastella yhteyksiä orgaanisten yhdisteiden ja nikkelisulfaatin tuotantoprosessin ongelmien välillä. Tutkielmassa kehitetty menetelmä pitää sisällään nikkelisulfaattiliuoksen näytteenoton, näytteen esikäsittelyn sekä varsinaiset mittaukset orgaanisten yhdisteiden tunnistamista ja pitoisuuksien määrittämistä varten. Tiivistelmä tutkielmassa kehitetyn menetelmän käytännön työskentelyvaiheista on esitetty liitteissä (Liite 12).

8 Käytetyt laitteet ja reagenssit

Pro gradu -tutkielman kokeellisessa osassa käytettiin laitteistoina pääasiassa kahta kaasukromatografiaa, jotka oli varustettu erilaisilla detektorityypeillä (FID ja MSD). Neste-nesteuuttojen yhteydessä kolveja ravisteltiin ravistelulaitteen avulla ja uuttoliuottimien haihduttamiseen käytettiin pyöröhaihdutin- eli rotavaporilaitteistoa. Reagensseina käytettiin pääasiassa neste-nesteuuton yhteydessä neljää eri uuttoliuotinta. Lisäksi reagensseja käytettiin näytteiden derivatisoinnissa sekä sisäisen standardin valmistuksessa. Tutkielmassa käytettyjen laitteiden ja reagenssien tarkemmat tiedot on esitetty alla (Taulukot 2, 3 ja 4).

Taulukko 2: Tutkielman kokeellisessa osassa käytetyt laitteet, niiden tyypit ja valmistajat

Valmistaja ja nimi	Laitteen tyyppi
Agilent 6850 Series	GC-FID (Kaasukromatografi liekki-ionisaatiodektoilla)
Agilent 6890 Series	GC-MS (Kaasukromatografi massaselektiivisellä dekteilla (5973N))
Stuart Scientific Flask Shaker SF 1	Pullojen ravistelulaite, jossa on kahdeksan pullon kiinnityskouraa
Büchi R-114	Rotavaporilaitteisto, jossa on vakuumpumppu (Büchi Vac® V-500), vakuumikontrolleri (Büchi B-720) sekä vesihaude (Büchi B-480)

Taulukko 3: Kromatografialaitteistoissa käytettyjen kolonnien ominaisuudet

Kolonnin ominaisuus	Kromatografialaitteiston tyyppi	
	GC-FID	GC-MS
Tyyppinimi	Agilent HP-5 (19091J-413E)	Phenomenex ZB-5MSi (7HG-6018-11)
Pituus (m)	30	30
Sisähalkaisija (mm)	0,32	0,25
Stationäärifaasikalvon paksuus (µm)	0,25	0,25
Lämpötilaminimi (°C)	*	-60
Lämpötilamaksimi (°C)	325/350	360/370

*Kolonnilla käytettävän lämpötilaminimin tietoa ei ollut saatavilla

Taulukko 4: Tutkielmassa käytetyt reagenssit, niiden valmistajat ja puhtausasteet

Reagenssin nimi	Valmistaja	Puhtausaste (%)
Metyylitertiääributyylieetteri	Sigma Aldrich	≥ 99,8
Dietyylieetteri	VWR Chemicals	100,0
Heksaani	VWR Chemicals	99,0
Kloroformi	VWR Chemicals	99,3
Pyridiini	VWR Chemicals	100,0
Silylointireagenssi (BSTFA + 1 % TMCS)	Regis Technologies	*
Heneikosaanihappo	Fluka Analytical	99,0
Asetoni	VWR Chemicals	100,0
Nikkelisulfaatin heksahydraatti	Norilsk Nickel Harjavalta Oy	*

*Tietoa reagenssin puhtausasteesta ei ollut saatavilla

9 Työn suoritus

9.1 Nikkelisulfaatin vesiliuokset A ja B ja kiinteä lähtöaine

Toimeksiantajayritykseltä saatiin tutkimusta varten kahta eri nikkelisulfaattivesiliuoksen tyyppiä: elektrolyysin syöttöliuos (liuos A) ja liuottamon tuoteliuos (liuos B). Liuoksia säilytettiin borosilikaattilasipulloissa, ja liuosten A ja B nikkelpitoisuuksiksi ilmoitettiin toimeksiantajan puolelta seuraavat lukemat: Liuos A: 112 g/l ja Liuos B: 113 g/l.

Toimeksiantajayritykseltä saatiin myös nikkelisulfaattiliuosta A muovikanisterissa, jolla voitiin tarkastella nikkelisulfaattiliuoksen säilytysastian materiaalin vaikutusta mittauksissa havaittaviin orgaanisiin yhdisteisiin. Alustavien tietojen mukaan oli epäiltävissä, että muovikanisterissa säilytetystä nikkelisulfaattiliuoksesta havaittaisiin mittauksissa muovien lisäaineina käytettäviä ftalaatteja. Muovikanisterissa olevasta liuoksesta valmistettiin näytteet käyttämällä neste-

nesteuutoissa kaikkia neljää tutkielmassa käytettävää uuttoliuotinta ja valmistetuista näytteistä tehtiin kaasukromatografiset mittaukset samalla tavalla kuin muista näytteistä.

9.1.1 Nikkelisulfaattiliuoksen valmistaminen kiinteästä lähtöaineesta

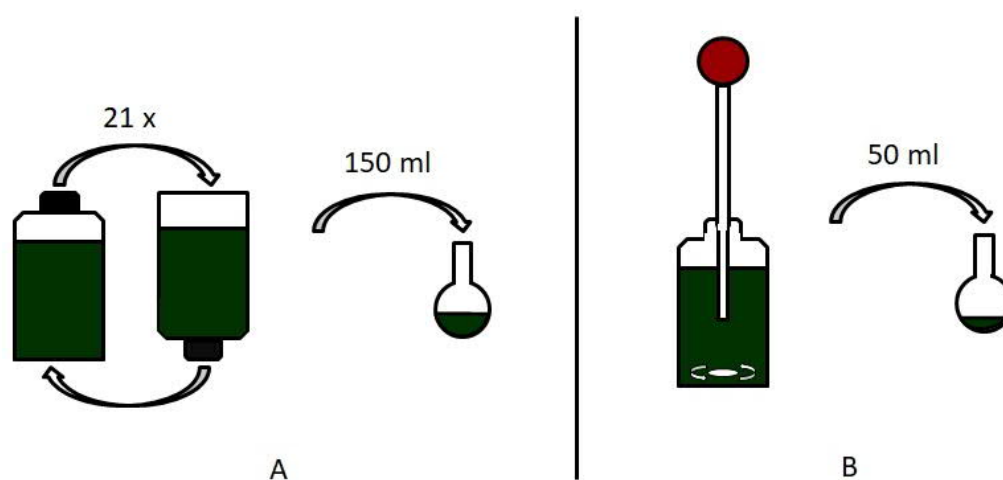
Toimeksiantajayritykseltä saatiin myös kiinteää nikkelisulfaatin heksahydraattia ($\text{NiSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$), josta valmistettiin vesiliuos ultrapuhtaaseen (UHQ, *Ultra High Quality*) veteen. Valmistetun liuoksen tarkoituksena oli jäljitellä koostumukseltaan toimeksiantajayrityksen toimittamaa nikkelisulfaattiliuosta. Kiinteästä nikkelisulfaatista valmistetusta liuoksesta tehtyjen mittausten avulla voitiin vertailla sitä, että eroavatko nikkelisulfaatin vesiliuos ja valmiiksi asti prosessoitu kiinteä nikkelisulfaatti toisistaan niiden sisältämien orgaanisten yhdisteiden osalta. Valmistetusta liuoksesta tehtiin näytteenkäsittely ja mittaukset samalla tavalla kuin liuoksista A ja B, ja neste-nesteuutoissa käytettiin kaikkia neljää tutkielmassa käytettävää uuttoliuotinta.

Nikkelisulfaattiliuos valmistettiin liuottamalla 504,571 g kiinteää nikkelisulfaatin heksahydraattia ultrapuhtaaseen veteen. Tällöin liuoksen nikkelpitoisuudeksi pyrittiin saamaan 112,5 g/l, joka otettiin keskiarvoistuksena liuosten A ja B toimeksiantajan ilmoittamista keskimääräisistä nikkelpitoisuuksista. Kiinteän nikkelisulfaatin liuotuksessa veteen käytettiin apuna lämmitystä ja ultraäänihajotusta, ja kaikki kiintoainne saatiin liukenemaan veteen 30 min lämmityksen ja ultraäänihajotuksen käytön jälkeen.

9.1.2 Näytteenotto nikkelisulfaatin vesiliuoksista

Tutkimuksen alkupuolella nikkelisulfaattiliuoksista tehtiin näytteenotto 5 l borosilikaattilasipulloista siten, että pulloa ravisteltiin kääntämällä pullo ylösalaisin 21 kertaa, minkä jälkeen pullosta kaadettiin välittömästi näytteenkäsittelyyn tarvittava määrä nikkelisulfaattiliuosta. Tällä tavalla pyrittiin varmistamaan se, että nikkelisulfaattiliuospullostsa saataisiin mahdollisimman edustava näyte mittauksia varten, jolloin näytteenotossa saatu nikkelisulfaattiliuos edustaisi koko näytettä, eikä pullon pinta- tai pohjaosista saatavaa näytettä.

Tutkimuksen loppupuolella näytteenotossa käytettiin lasista täyspipettiä. Pipettiä käytettäessä näytteenottokohtaa pullosta voitiin vaihdella pinta-, pohja- ja keskiosien välillä, jolloin voitiin vertailla näytteenottokohdan vaikutusta mittauksissa havaittaviin yhdisteisiin. Pipetillä tehdyissä näytteenotoissa pulloissa käytettiin kevyttä magneettisekoitusta pipetoinnin aikana. Molemmat edellä kuvatut näytteenottotavat nikkelisulfaatin vesiliuoksista on esitetty alla (Kuva 21). Alla olevassa kuvassa A on esitetty näytteenotto tutkimuksen alkuvaiheessa ja kuvassa B näytteenotto tutkimuksen loppupuolella.



Kuva 21: Näytteenottomenetelmät nikkelisulfaatin vesiliuoksista.

9.1.3 Nikkeli-sulfaattiliuosten säilyvyys

Tutkimuksen aikana nikkeli-sulfaattiliuoksen tyyppissä B havaittiin muodostuvan vaaleankellertävää saostumaa säilytyspullojen pohjalle. Vaaleankellertävään saostumaan epäiltiin päätyvän osa tutkittavista orgaanisista yhdisteistä, sillä nikkeli-sulfaattiliuoksista tehdyissä mittauksissa havaittiin orgaanisten yhdisteiden pitoisuustasojen laskevan ajan myötä. Vaaleankellertävästä saostumasta tehtiin mittauksia samalla tavalla kuin nikkeli-sulfaattiliuoksista, jotta voitaisiin tarkastella mahdollisesti saostumaan päätyvien orgaanisten yhdisteiden tyyppejä ja pitoisuuksia.

Saostumasta tehtiin näytteenotto käyttämällä muovista täyspipettiä, jolla otettiin näytepullon pohjalta n. 75 ml verran saostumaa. Saostuman pipetoimisen mukana pipetoitiin myös nikkelisulfaattiliuosta, jolloin saostuman ja pipetoidun nikkelisulfaattiliuoksen kokonaistilavuudeksi saatiin 300 ml. Pipetoitu saostuman ja nikkelisulfaattiliuoksen seos jaettiin näytteiksi kahteen yhtä suureen osaan. Saostumanäytteiden uuttamisessa käytettiin uuttoliuottimina metyyliertääributyylieetteriä sekä dietyylieetteriä.

Saostuman muodostumisen johdosta toimeksiantajalta saatiin tuoretta stabiloitua ja stabiloimatonta nikkelisulfaattiliuosta tutkimuksen loppuosaa varten. Nikkellisulfaattiliuoksen stabilointi tehtiin säätämällä liuoksen pH arvoon 3 rikkihapon (H_2SO_4) avulla. Tuoreesta nikkelisulfaattiliuoksesta tehtiin sen säilyvyyden tarkastelua siten, että stabiloiduista ja stabiloimattomista liuksista A ja B tehtiin mittaukset mahdollisimman pian liuosten saamisen jälkeen sekä kahden viikon jälkeen liuosten vastaanottamisesta. Tällöin voitiin tarkastella sitä, havaitaanko nikkelisulfaattiliuosten sisältämien orgaanisten yhdisteiden pitoisuustasojen laskevan merkittävästi kahden viikon ajanjakson aikana.

9.2 Nikkellisulfaattiliuosten esikäsittely orgaanisten yhdisteiden määrittämistä varten

Nikkelisulfaattiliuosten sisältämien orgaanisten yhdisteiden määrittämistä varten tulee suorittaa esikäsittelyvaiheita, jotta liuosten sisältämät orgaaniset yhdisteet saadaan mittalaitteelle syötettävään muotoon. Tässä tutkimuksessa nikkelisulfaattiliuosnäytettä uutettiin orgaanisella liuottimella, jotta nikkelisulfaattiliuoksen sisältämät orgaaniset yhdisteet saatiin siirrettyä alkuperäisestä vesifaasista orgaaniseen uuttoliuotinfasiin. Tämän jälkeen tutkittavat yhdisteet sisältävä orgaaninen uuttoliuotin saatettiin pienempään tilavuuteen haihduttamisen avulla. Haihduttamisen jälkeen osa tutkittavista orgaanisista yhdisteistä derivatisoitiin tutkittavien yhdisteiden haihtuvuuden lisäämiseksi, mikä on eduksi mittausvaiheessa. Tämän jälkeen valmistettu näyte voitiin asettaa kaasukromatografialaitteistoon mittaamista varten.

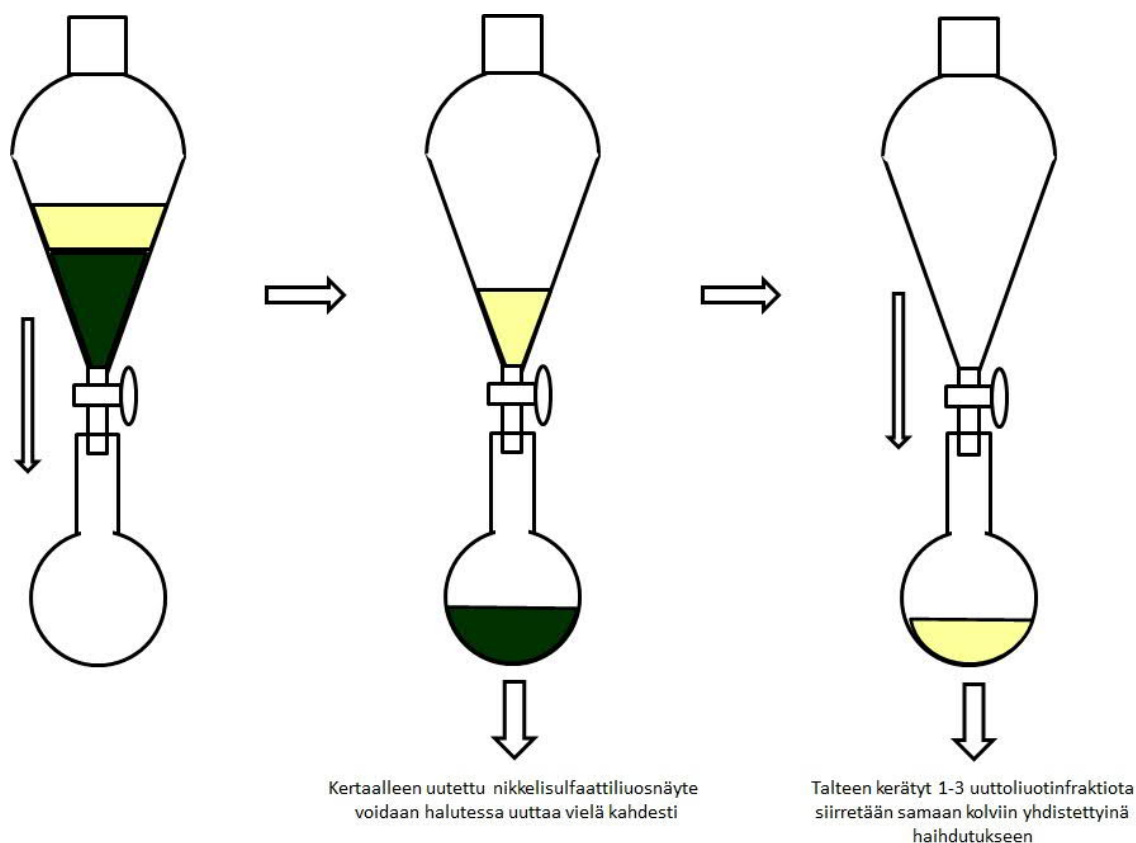
9.2.1 Orgaanisten yhdisteiden uutto

Nikkelisulfaattiliuosnäytteiden sisältämät orgaaniset yhdisteet pyrittiin siirtämään nikkelisulfaatin vesiliuoksesta orgaaniseen liuottimeen neste-nesteuuton avulla. Uuttamisessa kokeiltiin neljää eri uuttoliuotinta, jotka olivat metyyli-tertäärilybutyylietteri, dietyylietteri, heksaani ja kloroformi. Mittaustulosten merkinnöissä uuttoliuottimista on käytetty seuraavia lyhenteitä: MTBE, DETH, HEKS ja KLOR.

Neste-nesteuutoissa kokeiltiin kahta eri nikkelisulfaattiliuosnäytteen ja uuttoliuottimen tilavuuden suhdetta, jotka olivat 5:1 ja 1:1. Siten 150 ml nikkelisulfaattiliuosnäytteeseen lisättiin 30 ml uuttoliuotinta, kun taas 50 ml nikkelisulfaattiliuosnäytteeseen lisättiin 50 ml uuttoliuotinta. Suurempaa nikkelisulfaattiliuosnäytteen tilavuutta käytettiin tutkimuksen alkuvaiheissa ja pienempää tutkimuksen loppuvaiheessa. Mittaustuloksia tarkasteltaessa on hyvä ottaa huomioon se, että nikkelisulfaattiliuosnäytteen tilavuuden ollessa 150 ml saadaan lähtökohtaisesti kolminkertaiset orgaanisten yhdisteiden pitoisuudet 50 ml nikkelisulfaattiliuosnäytteisiin nähden.

Neste-nesteuutot suoritettiin lisäämällä uuttoliuotin samaan 250 ml pyöröpohjakolviin nikkelisulfaattiliuosnäytteen kanssa, minkä jälkeen pyöröpohjakolvia ravisteltiin käsin 30 sekunnin ajan uuttoliuottimesta muodostuvan paineen poistamiseksi. Käsin ravistelun jälkeen pyöröpohjakolvit asetettiin Stuart Scientific Flask Shaker SF1 -ravistelulaitteeseen 30 min ajaksi ravistelunopeudella 400 osc/min. Ravistelujen jälkeen uuttoliuotinfaasi erotettiin nikkelisulfaattiliuosfaasista erotussupilon avulla, ja uuttoliuotinfraktio kerättiin talteen uuteen pyöröpohjakolviin haihuttamista varten.

Alla olevassa kuvassa on esitetty erotussuppilon käyttö nikkelisulfaattiliuosnäytteen ja uuttoliuotinfraction erottamisen yhteydessä (Kuva 22).



Kuva 22: Erotussuppilon käyttö nikkelisulfaattiliuosnäytteen ja uuttoliuotinfraction erottamisessa.

Yksittäisen nikkelisulfaattiliuosnäytteen neste-nesteeutto voitiin toistaa haluttaessa kaksi kertaa siten, että kertaalleen uutettuun nikkelisulfaattiliuosnäytteeseen lisättiin sama määrä uuttoliuotinta kuin ensimmäisellä uuttokerralla ja toistettiin ravistelut kuten edellä. Ravistelujen jälkeen uuttoliuotinfraction erotettiin nikkelisulfaattiliuosnäytteestä ja uusi uuttoliuotinfraction lisättiin samaan pyöröpohjakolviin aiemmin saadun uuttoliuotinfraction kanssa.

Osasta uutetuista nikkelisulfaattiliuosnäytteistä tehtiin orgaanisen kokonaishiilen eli TOC (*Total Organic Carbon*) –määrityksiä. Määritysten tarkoituksena oli selvittää uuttamisen onnistuneisuutta, toisin sanoen saatiinko nikkelisulfaattiliuoksesta siirrettyä kaikki orgaaniset yhdisteet uuttoliuottimeen. Ongelmaksi kokonaishiilen määrittämisessä muodostui kuitenkin se, että

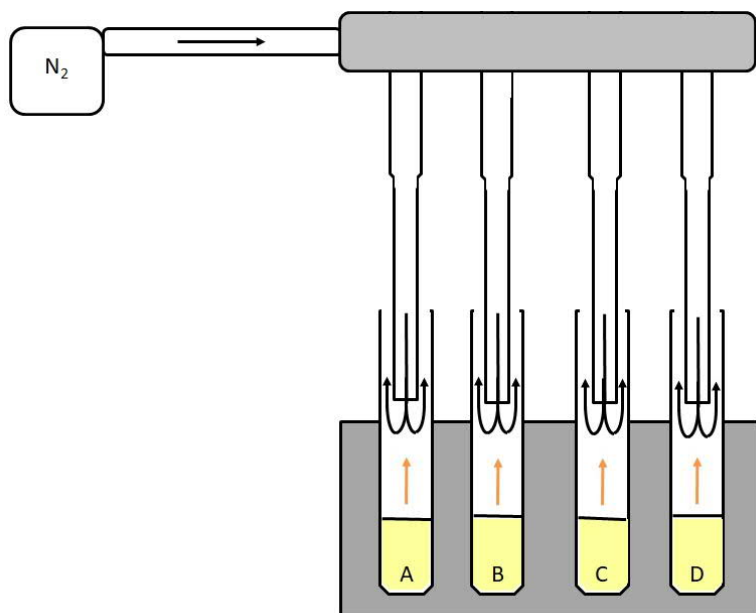
uutetut nikkelisulfaattinäytteet sisälsivät pieniä määriä käytettyjä uuttoliuottimia, joiden läsnäolo odotettavasti vaikutti näytteiden orgaanisen kokonaishiilen määrään. Näin ollen toimeksiantajayrityksen tekemien TOC-määritysten tuloksia ei voitu käyttää apuna jäljelle jääneiden orgaanisten yhdisteiden kokonaismäärän arvioinnissa. Pitkän aikavälin keskiarvot nikkelisulfaattiliuoksista saaduista TOC-määrityksistä ovat toimeksiantajan mukaan seuraavat: Liuos A: 13,5 mg/l ja Liuos B: 9,8 mg/l. Bayer-prosessin liuoksissa orgaanisen kokonaishiilen määriksi on mitattu² 5-40 g/l, jolloin Bayer-prosessin liuosten sisältämät orgaanisen kokonaishiilen määrät ovat huomattavan paljon suurempia nikkelisulfaattiliuoksiin nähden.

9.2.2 Uuttoliuottimen haihduttaminen

Pyöröpohjakolveihin talteen kerätyt uuttoliuotinfraaktiot voitiin haihduttaa kuiviin pitämällä kolveja avoimina vetokaapissa, jolloin uuttoliuottimen haihtuminen kesti useita tunteja käytetystä uuttoliuottimesta riippuen. Haihduttamisessa käytettiin apuna pyöröhaihdutin- eli rotavaporilaitteistoa, jolloin uuttoliuotin saatiin haihtumaan pyöröpohjakolvista nopeimmillaan 5-10 minuutissa.

Rotavaporilaitteistossa alipaineen muodostumista voitiin seurata painemittarilla varustetun vakuumikontrollerin avulla, jolla voitiin myös säätää muodostettavan alipaineen suuruutta. Rotavaporilaitteiston Wulffin pullon hanan sulkemisella päästiin painelukemaan 500 mbar, ja vakuumpumpun käynnistämisen jälkeen saavutettiin 100 mbar paine. Nopeissa alipaineen muodostumisissa havaittiin haihdutettavan uuttoliuottimen kuplimista, jota voitiin vähentää tarvittaessa Wulffin pullon hanan lyhytkestoisen aukaisemisen avulla. Pyöröpohjakolvissa olevan liuottimen höyrystyminen sai aikaan kolvin viilenemistä, jota kompensoitiin pitämällä kolvin alapuolella olevaa vesihaudetta asetettuna lämpötilaan 30 °C.

Uuttoliuottimen haihduttamisen jälkeen pyöröpohjakolviin jäljelle jääneet orgaaniset yhdisteet huuhdottiin kolvista muovisella kierrekorkilla varustettuun Kimax-lasiputkeen käyttämällä 5 ml käytettyä uuttoliuotinta. Uuttoliuotin haihdutettiin Kimax-putkesta käyttämällä typpivirtauskuivauslaitteistoa. Kaaviokuva typpivirtauskuivauslaitteistosta on esitetty alla (Kuva 23).



Kuva 23: Typpivirtauskuivauslaitteiston kaaviokuva ja toimintaperiaate.

Typpivirtauskuivauslaitteistossa uuttoliuottimen haihduttaminen tapahtui seuraavalla tavalla. Näytteet A-D ovat koeputkitelineeseen asetetuissa Kimax-putkissa. Kuhunkin putkeen on asetettu pasteur-pipetti, ja pipetit ovat kiinnitettyinä onttoon putkeen. Onttoon putkeen syötetään typpikaasua (N_2) (mustat nuolet), joka virtaa pipettien avulla kuhunkin putkeen. Kimax-putkeen muodostuva typpi-atmosfääri nopeuttaa putkessa olevan uuttoliuottimen (oranssit nuolet) haihtumista.

9.2.3 Yhdisteiden derivatisointi

Typpivirtauskuivauksen jälkeen Kimax-putkiin lisättiin automaattipipetillä pyridiiniä ja silylointireagenssia (BSTFA + 1 % TMCS) tutkittavien orgaanisten yhdisteiden derivatisoimiseksi. Tutkimusten alkuvaiheessa pyridiiniä lisättiin 0,6 ml ja silylointireagenssia 0,3 ml, ja tutkimuksen loppuvaiheessa lisäykset olivat 0,3 ml pyridiiniä ja 0,2 ml silylointireagenssia. Pyridiinin ja silylointireagenssin lisäämisen jälkeen putket siirrettiin muovisilla kierrekorkeilla suljettuina 1 h ajaksi 70 °C asteiseen uuniin derivatisoitumisen tapahtumiseksi. Derivatisoinnin jälkeen Kimax-putkien sisältämät näytteet siirrettiin pasteur-pipettien avulla ~1 ml kartiopohjaisiin näytepulloihin kaasukromatografisia mittauksia varten.

9.3 Kaasukromatografisten mittausten suorittaminen

Nikkelisulfaattiliuosnäytteiden sisältämien orgaanisten yhdisteiden tunnistamiseen ja pitoisuuksien määrittämiseen käytettiin kahdella eri detektorityypillä varustettuja Agilent 6890 ja 6850 –kaasukromatografialaitteistoja. Laitteistossa 6890 käytettiin massaselektiivistä detektoria, kun taas 6850-laitteistossa detektorina käytettiin liekki-ionisaatiodektoria. Laitteistolla 6850 tehdyissä ajoissa käytettiin laitteiston osissa seuraavia lämpötiloja: injektorin 290 °C ja detektorin 300 °C.

Molemmilla laitteistoilla käytettiin suoraa näytteensyöttötekniikkaa (*splitless injection*) tilavuuden ollessa 1 µl. Näytteensyötössä käytettiin automaattisia näytteensyöttäjälaitteistoja Agilent Technologies 7683 Injector (GC-MS) ja Agilent Technologies 6850 Auto Sampler (GC-FID).

Kaasukromatografi-ajoissa käytettyjen metodien eli ajo-ohjelmien sekä uunin lämpötilaohjelmien tiedot on esitetty alla (Taulukko 5). Taulukossa esitetyn lämpötilaohjelman tulkitseminen tapahtuu seuraavasti: Uunia pidetään aloituslämpötilassa 100 °C 1,5 minuutin ajan, minkä jälkeen uunia lämmitetään lämmitysnopeudella 6 °C/min lämpötilaan 180 °C. Tästä lämpötilasta lämmitystä jatketaan lämmitysnopeudella 4 °C/min lämpötilaan 290 °C, jossa uunia pidetään 15 min ajan.

Taulukko 5: GC-MS- ja GC-FID-ajoissa käytettyjen metodien ja uunien lämpötilaohjelmien tiedot

Käytetty uunin lämpötilaohjelma			
Metodin tyyppi	Metodin ajoaika (min)	Aloituslämpötila (°C)	Lämpötilaohjelma
Pesuajo* (GC-MS)	12,00	290	-
Näyteajo (GC-MS)	57,33	100 (1,5 min)	=> 6 °C/min => 180 °C => 4 °C/min => 290 °C (15 min)
Pesuajo* (GC-FID)	15,00	290	-
Näyteajo (GC-FID)	62,33	100 (1,5 min)	=> 6 °C/min => 180 °C => 4 °C/min => 290 °C (20 min)

*Kolonnin pesuajossa kolonniin injektointiin pyridiiniä

9.3.1 Yhdisteiden tunnistaminen GC-MS-tekniikalla

Nikkelisulfaattiliuosten sisältämien orgaanisten yhdisteiden tunnistamisessa käytettiin massaselektiivisellä detektorilla varustettua kaasukromatografiaa. Sellaisista nikkelisulfaattiliuosnäytteistä, joiden sisältämien orgaanisten yhdisteiden pitoisuustaso ei ollut aiempien mittausten perusteella tunnettu, tehtiin ensiksi mittaukset GC-FID-tekniikalla. Pitoisuustason määrittämisessä käytettiin liekki-ionisaatiodetektoria, sillä kyseiselle detektorityypille päätyvä näytemateriaali palaa pois detektorilta mittaustapahtuman aikana. Näin ollen näytemateriaali ei pääsääntöisesti likaa detektoria. Massaselektiivistä detektoria käytettäessä detektori likaantuu siihen päätyvästä näytemateriaalista, jolloin erityisen suuria orgaanisten yhdisteiden pitoisuuksia ei ole järkevää mitata massaselektiivisellä detektorilla. Näytteiden sisältämien orgaanisten yhdisteiden pitoisuustason tarkistamisen jälkeen näytettä voitiin laimentaa tarvittaessa siten, että näytteen sisältämien orgaanisten yhdisteiden pitoisuustaso saatiin massaselektiiviselle detektorille sopivaksi. Näytteiden laimentamista voitiin tehdä massaselektiivistä detektoria varten sen suuremman herkkyyden johdosta liekki-ionisaatiodetektorin herkkyyteen nähden.

9.3.2 Yhdisteiden pitoisuuksien määrittäminen GC-FID-tekniikalla

Nikkelisulfaattiliuoksesta tunnistettujen orgaanisten yhdisteiden pitoisuuksien määrittämisessä käytettiin laitteistona liekki-ionisaatiodetektorilla varustettua kaasukromatografiaa. Liuostyypeistä A ja B tehtiin molemmista kuusi rinnakkaismäärittystä siten, että näytteenotto tehtiin lasisella täyspipetillä näytepullojen keskiosista (näytetilavuus 50 ml). Pulloissa käytettiin näytteenoton aikana magneettisekoitusta. Kuhunkin näytteeseen lisättiin sisäisenä standardina asetoniin liuotettua heneikosaanihappoa sen rakenteellisen samankaltaisuuden johdosta tutkittaviin yhdisteisiin nähden. Sisäisen standardin valmistaminen ja lisääminen nikkelisulfaattiliuosnäytteisiin on kuvattu alla.

Orgaanisten yhdisteiden pitoisuuksien määrittämistä varten valmistettiin sisäisen standardin (ISTD) liuos, jossa sisäisenä standardina käytettyä kiinteää heneikosaanihappoa liuotettiin asetoniin. Sisäisen standardin liuos valmistettiin punnitsemalla kiinteää heneikosaanihappoa 1,23 mg verran mikrogrammavaa'an avulla ja liuottamalla punnittu määrä asetonia sisältävään 100 ml

mittapulloon. Valmistettua ISTD-liuosta säilytettiin jääkaapissa liuoksen säilyvyyden varmistamiseksi tutkimuksen ajaksi. Valmistettua ISTD-liuosta lisättiin 5 ml tarvittaviin nikkelisulfaattiliuoksista saatuihin uuttoliuotinfraktioihin ennen uuttoliuottimen haihduttamista. Tällä tavoin yksittäiseen näytteeseen odotettavasti päätyi $\sim 0,06 \text{ mg} = 60 \mu\text{g}$ verran sisäistä standardia. Näin ollen yksittäisen kaasukromatografisen mittauksen injektio-tilavuuden ollessa $1 \mu\text{l}$ mittaukseen päätyi $60 \mu\text{g} * 1/500 = 0,12 \mu\text{g}$ verran sisäistä standardia silloin kun kaasukromatografisesti mitattavan näytteen tilavuus oli n. $0,5 \text{ ml}$.

Orgaanisten yhdisteiden pitoisuuksien määrittämisessä tutkittiin myös näytteenottokohdan vaikutusta mittauksissa havaittaviin yhdisteisiin. Nikkellisulfaattiliuosten näytepullojen keskiosista tehtyjen näytteenottojen lisäksi näytteenottoja tehtiin pullojen pinta- ja pohjaosista. Tekemällä mittauksia pinta- ja pohjaosista saaduilla näytteillä saatiin tietoa nikkelisulfaattiliuosten sisältämien orgaanisten yhdisteiden sijainnista näyteliuoksissa.

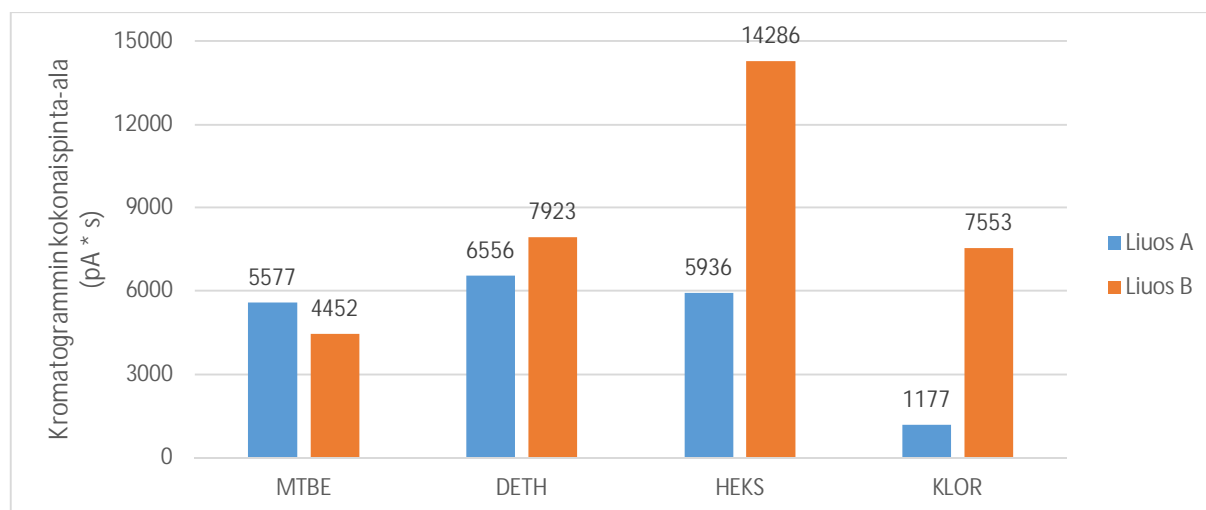
Oli odotettavaa, että nikkelisulfaattiliuosten pinta- ja pohjaosista tehdyistä kromatografisista mittauksista havaittaisiin suurempia orgaanisten yhdisteiden pitoisuuksia pullojen keskiosiin nähden seuraavista syistä. Ensinnäkin useimpien tunnistettujen orgaanisten yhdisteiden tiheys on pienempi veden tiheyteen nähden, jolloin ne odotettavasti asettuvat nikkelisulfaatin vesiliuoksen pinnalle. Toisekseen nikkelisulfaattiliuostyyppiin B ajan myötä muodostuvan vaaleankellertävän saostuman perusteella oli oletettavaa, että yhdisteitä havaittaisiin suurissa määrin pullojen pohjaosien saostumasta.

10 Työn tulokset

10.1 Käytettyjen uuttoliuottimien vertailu

Nikkelisulfaattiliuosten orgaanisten yhdisteiden neste-nesteuutoissa kokeiltiin neljän eri uuttoliuottimen (MTBE, DETH, HEKS ja KLOR) vaikutusta mittauksissa havaittaviin orgaanisten yhdisteisiin. Käytettäessä heksaania uuttoliuottimena nikkelisulfaattiliuosten sisältämät hiilivedyt saatiin odotetusti uutettua hyvin uuttoliuottimen ja hiilivetyjen rakenteellisen samankaltaisuuden johdosta. Tutkimuksen aikana päädyttiin käyttämään uuttoliuottimena enimmäkseen dietyylieetteriä sen suuren höyrystyvyyden johdosta, jolloin se voitiin haihduttaa nopeasti

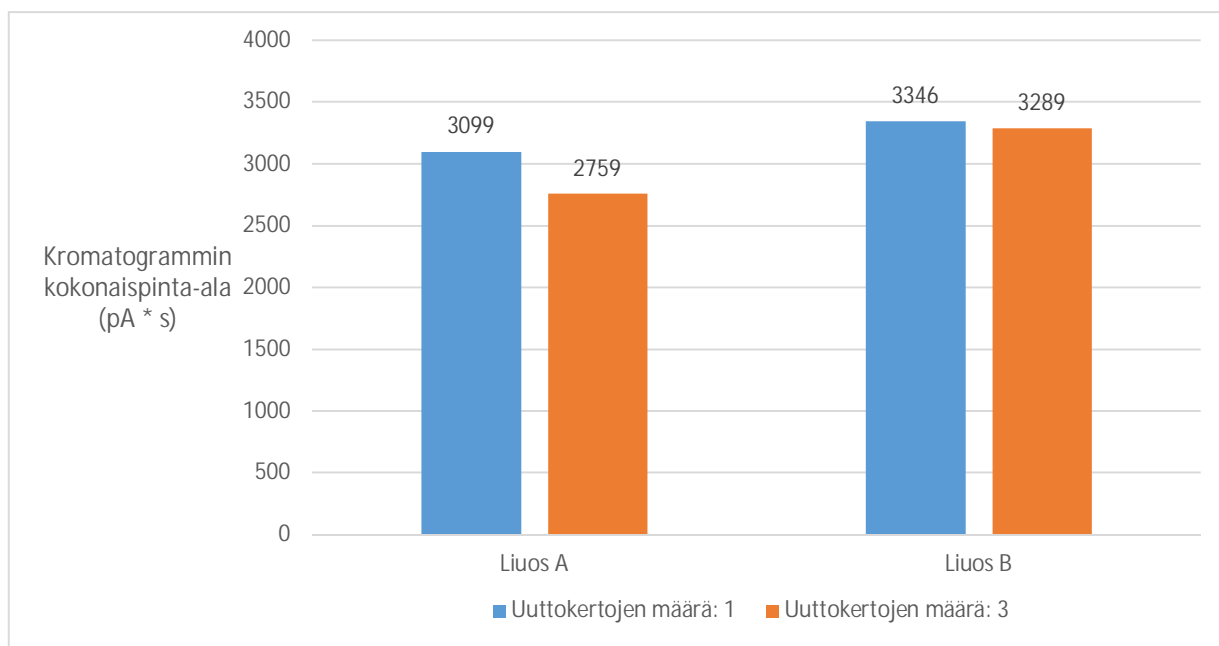
näytekäsittelyn eri vaiheissa. Kirjallisuuden²⁴ mukaan kuitenkin kloroformilla on suurin höyrynpaine käytetystä neljästä uuttoliuottimesta, vaikka tutkimuksen aikana dietyylieetterin havaittiin olevan nopeimmin haihtuva neljästä käytetystä uuttoliuottimesta. Nikkelisulfaattiliuoksista A ja B neljällä eri uuttoliuottimella käsiteltyjen näytteiden kromatografisten mittaustulosten kromatogrammien kokonaispinta-alat on esitetty alla (Kuva 24).



Kuva 24: Neljällä eri uuttoliuottimella käsiteltyjen näytteiden kromatogrammien kokonaispinta-alat.

10.2 Näytteen uuttokertojen määrän vaikutus kromatografisissa tuloksissa

Neste-nesteuutoissa tutkittiin uuttokertojen määrän vaikutusta mittauksissa havaittavien yhdisteiden pitoisuuksiin. Uuttokertojen määrän vaikutusta yhdisteiden pitoisuuksiin tutkittiin vertailemalla yhden kerran uutettujen näytteiden mittaustuloksia kolme kertaa uutettujen näytteiden tuloksiin käytettäessä uuttoliuottimena dietyylieetteriä. Mittaustulosten perusteella voidaan havaita, että kolmella uuttokerralla ei saada selkeästi parempia tuloksia yhteen uuttokertaan nähden. Näin ollen nikkelisulfaattiliuosten sisältämät orgaaniset yhdisteet saatiin neste-nesteuuttoa käytettäessä siirrettyä käytettävään uuttoliuottimeen jo yksittäisellä uuttokerralla. Yhden ja kolmen uuttokerran vertailemisen kromatografiset mittaustulokset on esitetty liitteissä (Liite 1), ja kromatografisista mittaustuloksista saatujen kromatogrammien kokonaispinta-alat on esitetty alla (Kuva 25).



Kuva 25: Näytteen uuttokertojen määrän vaikutus liuosten A ja B kromatografisissa tuloksissa.

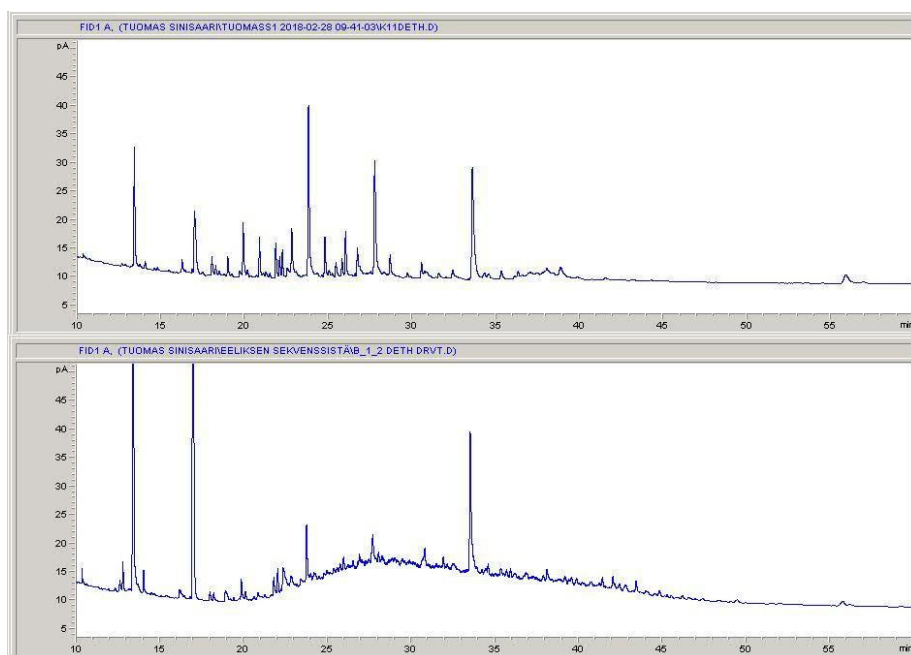
10.3 Uttoliuottimien sisältämät orgaaniset yhdisteet

Käytetyistä uuttoliuottimista tehtiin kaasukromatografisia mittauksia siten, että dietyylieetterillä ja heksaanilla tehtiin näytekäsittely samalla tavalla kuin nikkelisulfaattiliuosnäytteen kanssa mutta ilman nikkelisulfaattiliuosnäytettä. Tällä tavoin voitiin tarkastella käytettyjen astioiden ja reagenssien vaikutusta kaasukromatografisissa mittauksissa havaittaviin orgaanisiin yhdisteisiin. Käytettäessä dietyylieetteriä havaittiin selkeästi suuremmat kromatogrammi- ja retentioajoilla ~13,4 ja ~17,0 min, joiden tunnistettiin kuuluvan yhdisteille 4-metyyli-2,6-bis(1,1-dimetyylietyyli)fenoli ja (2,6-ditert-butyli-4-metyylifenoksi)(trimetyyli)silaani. Ensin mainittu yhdiste tunnetaan yleisemmin nimellä butyloitu hydroksitolueeni (BHT). Uttoliuottimen valmistajan mukaan BHT:tä käytetään dietyylieetterissä säilöntäaineena. Sekä dietyylieetteristä että heksaanista tehtyjen näytteiden kromatogrammeissa havaittiin jonkin verran epäpuhtauksina olevista orgaanisista yhdisteistä johtuvia kromatogrammi- ja retentioajoja. Uttoliuottimien sisältämistä orgaanisten yhdisteiden epäpuhtauksista johtuen nikkelisulfaattiliuosten sisältämien orgaanisten yhdisteiden tarkastelussa on hyvä pyrkiä erottamaan mitkä nikkelisulfaattiliuosten kromatografisissa mittauksissa esiintyvistä orgaanisista yhdisteistä ovat todellisuudessa peräisin

nikkelisulfaattiliuoksista eikä käytetyistä uuttoliuottimista. Uuttoliuottimista tehtyjen kromatografisten mittausten tulokset on esitetty liitteissä (Liite 2).

10.4 Kiinteästä nikkelisulfaatista valmistetun liuoksen ja muovikanisterissa säilytetyn nikkelisulfaattiliuoksen orgaaniset yhdisteet

Kiinteästä nikkelisulfaatista valmistetusta liuoksesta saatujen mittaustulosten ei havaittu poikkeavan kovin paljoa nikkelisulfaattiliuoksista A ja B saaduista tuloksista. Kiinteästä nikkelisulfaatista valmistetusta liuoksesta tunnistettiin GC-MS-tekniikalla pääsääntöisesti samoja yhdisteitä kuin liuoksista A ja B vaikka kromatogrammien muodoissa havaittiinkin eroja GC-FID-tekniikalla tehdyissä mittauksissa. Erityishuomiona tunnistetuista orgaanisista yhdisteistä voidaan mainita, että kiinteästä nikkelisulfaatista tunnistettiin lukuisia erilaisia karboksyylihappoja. Dietyylieetterillä uutetuista kiinteästä nikkelisulfaatista ja nikkelisulfaattiliuoksesta B saadut kromatogrammit on esitetty vertailun vuoksi päällekkäin alla (Kuva 26), ja kaikilla neljällä uuttoliuottimella kiinteästä nikkelisulfaatista valmistetusta liuoksesta saadut kromatogrammit on esitetty liitteissä (Liite 3).



Kuva 26: Dietyylieetterillä uutetuista kiinteästä nikkelisulfaatista (ylempi kuva) ja nikkelisulfaattiliuoksesta B (alempi kuva) saadut kromatogrammit.

Muovikanisterissa säilytetystä nikkelisulfaattiliuoksesta A saadut kromatografiset mittaustulokset jäivät heikoiksi käytettäessä kaikkia neljää uuttoliuotinta, eikä syytä tähän saatu selville. Muovikanisterissa säilytetystä nikkelisulfaattiliuoksesta A neljällä eri uuttoliuottimella saadut kromatogrammit on esitetty liitteissä (Liite 4).

10.5 Nikkellisulfaattiliuosten säilyvyyden tarkastelu

Nikkelisulfaattiliuosten säilyvyyttä tarkasteltiin tekemällä kaasukromatografisia mittauksia sekä stabiloiduista että stabiloimattomista nikkelisulfaattiliuoksista A ja B. Mittaukset tehtiin kahdessa sarjassa siten, että mittaukset tehtiin mahdollisimman pian nikkelisulfaattiliuosten vastaanottamisen jälkeen sekä kahden viikon jälkeen liuosten vastaanottamisesta. Kaasukromatografiset mittaustulokset stabiloiduista ja stabiloimattomista liuoksista A ja B on esitetty liitteissä (Liite 5). Mittaustuloksista voidaan havaita, että kahden viikon jälkeen saaduissa mittauksissa havaitaan enemmän orgaanisten yhdisteiden muodostamia piikkejä kromatogrammissa kuin mahdollisimman pian liuosten vastaanottamisen jälkeen tehdyissä mittauksissa. Saadut tulokset ovat päinvastaiset siihen nähden mitä tulosten odotettiin olevan, sillä tutkimuksen alkupuolella tehtyjen mittausten perusteella vaikutti siltä, että kromatografisissa mittauksissa havaittujen orgaanisten yhdisteiden pitoisuustasot laskivat ajan myötä. Mittaustulosten perusteella orgaanisten yhdisteiden pitoisuustasoissa ei havaittu selkeää eroa stabiloidun ja stabiloimattoman liuoksen välillä.

Stabiloimattomaan nikkelisulfaattiliuostyyppiin B muodostuneesta vaaleankellertävästä saostumasta tehtiin näytteenkäsittely käyttämällä uuttoliuottimina MTBE:tä ja dietyylieetteriä. Saostumanäytteistä saadut kaasukromatografiset mittaustulokset on esitetty liitteissä (Liite 6). Mittaustuloksista voidaan havaita, että dietyylieetterillä uutetusta saostumanäytteestä havaitaan dietyylieetterin sisältämien lisäaineiden lisäksi lukuisia erilaisia orgaanisia yhdisteitä. MTBE:llä uutetusta saostumanäytteestä ei saatu kromatogrammipiikkejä näkyviin mittauksissa ollenkaan. Dietyylieetterillä uutetusta saostumanäytteestä havaitut yhdisteiden kromatogrammipiikit ovat korkeudeltaan välillä 25-50 pA, jolloin korkeudet eivät ole suurempia samalla ajanjaksolla mitattuihin liuosnäytteisiin nähden. Näin ollen saostumanäytteistä ei saatu mitattua selkeästi suurempia orgaanisten yhdisteiden pitoisuuksia liuosnäytteisiin nähden.

Tutkimuksen perusteella havaittiin, että stabilointi auttoi liuosten säilyvyydessä saostuman muodostumisen osalta, sillä ainoastaan stabiloimattomassa liuoksessa B havaittiin saostumaa kahden viikon jälkeen liuosten vastaanottamisesta. Nikkelisulfaattiliuostyyppissä A vaaleankellertävän saostuman muodostumista ei havaittu tutkimuksen aikana.

10.6 Tunnistetut orgaaniset yhdisteet

Nikkelisulfaatin vesiliuoksista tunnistettiin 37 orgaanista yhdistettä vähintään 90 %:n vastaavuudella vertailtaessa mittaustuloksissa saatuja massaspektrejä tietokannan Wiley 8 massaspektreihin. Tunnistetut yhdisteet ovat pääasiassa pitkän hiilivetyketjun omaavia alkaaneja sekä karboksyylihappoja. Lisäksi tunnistettiin lukuisia erilaisia ftalaatteja. Tunnistetuista yhdisteistä ftalaattien rakennekaavat on esitetty liitteessä 7.

Orgaanisten yhdisteiden tunnistaminen tehtiin eri retentioajoilla saatujen kromatogrammi- ja massaspektreiden samanaikaisesti mitattujen massaspektreiden tarkastelun avulla. Mitattua massaspekttriä verrattiin tietokannan massaspektreihin, jolloin mitatulle massaspekttrille löydettiin vastaavuus tietokannasta. Tällä tavoin kromatogrammi- ja massaspektreillä voitiin määrittää kuuluvan tietyille yhdisteille. Nikkelisulfaatin vesiliuoksista tunnistetut yhdisteet on esitetty alla (Taulukot 6-9). Taulukoissa on esitetty yhdisteen nimen ja molekyylikaavan lisäksi retentioaika, jolla yhdiste on yksittäisestä mittauksesta havaittu. Lisäksi on esitetty vastaavuusprosentti tunnistettavan yhdisteen yhtäläisyydestä tietokannan massaspekttriin nähden. Suurimmassa osassa yhden tai useamman hydroksyyli-ryhmän (-OH) omaavassa tunnistetussa yhdisteessä havaitaan yhteenliittyneenä trimetyylisilyyli-ryhmä (-Si(CH₃)₃). Yhteenliittymisessä yhdisteen yhden tai useamman hydroksyyli-ryhmän vetyatomi on korvautunut trimetyylisilyyliesteri-ryhmällä (TMS_e), joka on tullut yhdisteisiin derivatisoinnin yhteydessä.

Yksittäistä kromatogrammia, josta nikkelisulfaattiliuosten sisältämät orgaaniset yhdisteet voidaan tunnistaa, ei voida esittää mittaustulosten perusteella. Tämä johtuu siitä, että näytteistä havaituissa orgaanisissa yhdisteissä on vaihtelua eri uuttoluottimilla käsiteltyjen näytteiden sekä jonkin verran myös samanlaisen käsittelyn omaavien näytteiden välillä. Tämä taas johtuu eri uuttoluottimien käytön lisäksi mahdollisesti orgaanisten yhdisteiden alhaisista pitoisuuksista näytteissä. Tällöin

samanlaisista nikkelisulfaattiliuosnäytteistä saadaan erilaisia kromatogrammeja riippuen yksittäisiin näytteisiin päätyneistä orgaanisten yhdisteiden tyypeistä ja niiden pitoisuuksista. Näin ollen yksittäisestä näytteestä tehdystä mittauksesta ei saada vielä kattavaa kuvaa nikkelisulfaattiliuosten sisältämistä orgaanisista yhdisteistä ja niiden pitoisuuksista, vaan useampien rinnakkaismääritysten ja käsittelymenetelmien käyttö (esim. uuttoliuottimet) ovat tarpeen.

Taulukko 6: Tunnistetut pitkäketjuiset alkaanit

Retentioaika (min)	Yhdiste	Molekyylikaava	Vastaavuusprosentti (%)
18,800	Oktadekaani	C ₁₈ H ₃₈	98
20,873	Nonadekaani	C ₁₉ H ₄₀	98
22,972	Eikosaani	C ₂₀ H ₄₂	94
25,071	Heneikosaani	C ₂₁ H ₄₄	97
27,191	Dokosaani	C ₂₂ H ₄₆	99
29,230	Trikosaani	C ₂₃ H ₄₈	95
31,215	Tetrakosaani	C ₂₄ H ₅₀	99
33,085	Pentakosaani	C ₂₅ H ₅₂	97
35,010	Heksakosaani	C ₂₆ H ₅₄	99
36,813	Heptakosaani	C ₂₇ H ₅₆	99
38,563	Oktakosaani	C ₂₈ H ₅₈	99
40,285	Nonakosaani	C ₂₉ H ₆₀	99
41,920	Triakontaani	C ₃₀ H ₆₂	99
43,529	Heksatriakontaani	C ₃₆ H ₇₄	90

Taulukko 7: Tunnistetut suoraketjuiset karboksyylihapot

Retentioaika (min)	Yhdiste	Molekyylikaava	Vastaavuusprosentti (%)
12,128	Dekaanihappo, TMSe	C ₁₀ H ₂₀ O ₂ (C ₃ H ₈ Si)	96
15,880	Dodekaanihappo, TMSe	C ₁₂ H ₂₄ O ₂ (C ₃ H ₈ Si)	91
17,875	Tridekaanihappo, TMSe	C ₁₃ H ₂₆ O ₂ (C ₃ H ₈ Si)	97
19,901	Tetradekaanihappo, TMSe	C ₁₄ H ₂₈ O ₂ (C ₃ H ₈ Si)	97
21,965	Pentadekaanihappo, TMSe	C ₁₅ H ₃₀ O ₂ (C ₃ H ₈ Si)	93
24,059	Heksadekaanihappo, TMSe	C ₁₆ H ₃₂ O ₂ (C ₃ H ₈ Si)	99
26,067	Heptadekaanihappo, TMSe	C ₁₇ H ₃₄ O ₂ (C ₃ H ₈ Si)	91
28,161	Oktadekaanihappo, TMSe	C ₁₈ H ₃₆ O ₂ (C ₃ H ₈ Si)	98
32,077	Eikosaanihappo, TMSe	C ₂₀ H ₄₀ O ₂ (C ₃ H ₈ Si)	94

TMSe = Trimetyylisilyliesteri

Taulukko 8: Tunnistetut suoraketjuiset dikarboksyylihapot

Retentioaika (min)	Yhdiste	Molekyylikaava	Vastaavuusprosentti (%)
13,101	Heksaanidihappo, bis(TMS)e	C ₆ H ₁₀ O ₄ (C ₃ H ₈ Si) ₂	91
14,991	Heptaanidihappo, bis(TMS)e	C ₇ H ₁₂ O ₄ (C ₃ H ₈ Si) ₂	91
18,867	Nonaanidihappo, bis(TMS)e	C ₉ H ₁₆ O ₄ (C ₃ H ₈ Si) ₂	90
20,893	Dekaanidihappo, bis(TMS)e	C ₁₀ H ₁₈ O ₄ (C ₃ H ₈ Si) ₂	91
22,938	Undekaanidihappo, bis(TMSe)	C ₁₁ H ₂₀ O ₄ (C ₃ H ₈ Si) ₂	90
29,008	Tetradekaanidihappo, bis(TMSe)	C ₁₄ H ₂₈ O ₄ (C ₃ H ₈ Si) ₂	90

TMSe = Trimetyylisilyyliesteri

Taulukko 9: Tunnistetut kuusihiilisen rengasrakenteen omaavat dikarboksyylihapot ja ftaalihapon esterit

Retentio- aika (min)	Yhdiste	Molekyylikaava	Vastaavuus- prosentti (%)
34,108	1,2-bentseenidikarboksyylihappo	C ₈ H ₆ O ₄	91
16,896	1,2-bentseenidikarboksyylihappo, bis(TMS)e	C ₈ H ₆ O ₄ (C ₃ H ₈ Si) ₂	97
18,813	1,4-bentseenidikarboksyylihappo, bis(TMS)e	C ₈ H ₆ O ₄ (C ₃ H ₈ Si) ₂	90
22,240	1,2-bentseenidikarboksyylihappo, dibutyyliesteri	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	93
22,292	1,2-bentseenidikarboksyylihappo, 5,6-dibutyyli	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	96
22,348	1,2-bentseenidikarboksyylihappo, butyyli 2-metyylipropyyliesteri	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	97
34,068	1,2-bentseenidikarboksyylihappo, di-iso-oktyyliesteri	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	91
34,122	1,2-bentseenidikarboksyylihappo, mono(2-etyyliheksyyli)esteri	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	91

TMSe = Trimetyylisilyyliesteri

10.7 Tunnistettujen orgaanisten yhdisteiden pitoisuuksien määrittäminen

Liusten A ja B dietyylieetterillä tehdyistä rinnakkaismäärittämisistä saaduista kromatogrammeista tehtiin vertailua rinnakkaismäärittäysten välillä seuraavasti. Molempien liuostyyppien rinnakkaismäärittämisistä valikoitiin ne kromatogrammi-peakit, joiden havaittiin esiintyvän kaikissa liuostyyppien rinnakkaismäärittämisissä. Peakien retentioajoille ja pinta-aloille määritettiin keskiarvot ja suhteelliset keskihajonnat, joiden avulla voidaan tarkastella menetelmän toistotarkkuutta, eli esiintyykö kromatografisissa mittauksissa yhdisteiden retentioajoissa ja pinta-aloissa suuria poikkeavuuksia eri rinnakkaismäärittäysten välillä.

Yhdisteiden retentioaikojen vaihtelu oli hyvin vähäistä rinnakkaismääritysten välillä, yhdisteiden pinta-alojen välillä vaihtelu oli sen sijaan suurempaa. Rinnakkaismäärityksissä yhdisteiden retentioaikojen suhteelliset keskihajonnat vaihtelivat välillä 0,04 - 0,13 % (Liuos A) ja 0,03 – 0,57 % (Liuos B). Yhdisteiden aikaansaamien kromatogrammipiikkien pinta-alojen suhteelliset keskihajonnat vaihtelivat välillä 9,0 – 46,0 % (Liuos A) ja 14,5 – 98,8 % (Liuos B).

Molempien liuostyyppien rinnakkaismääritysten kromatogrammit on esitetty liitteissä (Liitteet 8 ja 9), ja edellä mainitut kromatogrammipiikkien retentioaikojen ja pinta-alojen keskiarvot sekä suhteelliset keskihajonnat ovat taulukoituina alla (Taulukot 10 ja 11).

Liuksessa A havaittiin 12 ja liuksessa B 16 yhteistä yhdistettä kaikissa liuostyyppien rinnakkaismäärityksissä. Osa rinnakkaismäärityksissä esiintyvistä yhdisteistä jäi tosin tunnistamatta GC-MS-mittauksista saatujen tietojen perusteella, 7 yhdistettä liuksesta A ja 6 yhdistettä liuksesta B. Tunnistamattomat yhdisteet ovat esitettynä taulukoissa nimikkeillä [Tunnistamaton A-I].

Näytteisiin sisäisenä standardina lisätty heneikosaanihappo havaittiin käytetyillä laiteasetuksilla kromatografisissa mittauksissa retentioajalla ~33,4 min. Heneikosaanihapon retentioaika selvitettiin liuottamalla 1 mg kiinteää heneikosaanihappoa 1 ml tilavuuteen pyridiiniä, ja valmistetusta näytteestä tehtiin kromatografinen mittaus. Mittauksesta saatu kromatogrammi on esitetty liitteissä (Liite 10).

Liuosten A ja B rinnakkaismäärityksissä sisäinen standardi saatiin näkymään retentioajoilla 33,38 min \pm 0,02 % (Liuos A) ja 33,36 min \pm 0,02 % (Liuos B). Sisäisten standardien aikaansaamat kromatogrammipiikkien pinta-alat suhteellisine keskihajontoineen olivat seuraavat: 1939,2 pA * s \pm 9,1 % (Liuos A) ja 2079,2 pA * s \pm 7,3 % (Liuos B).

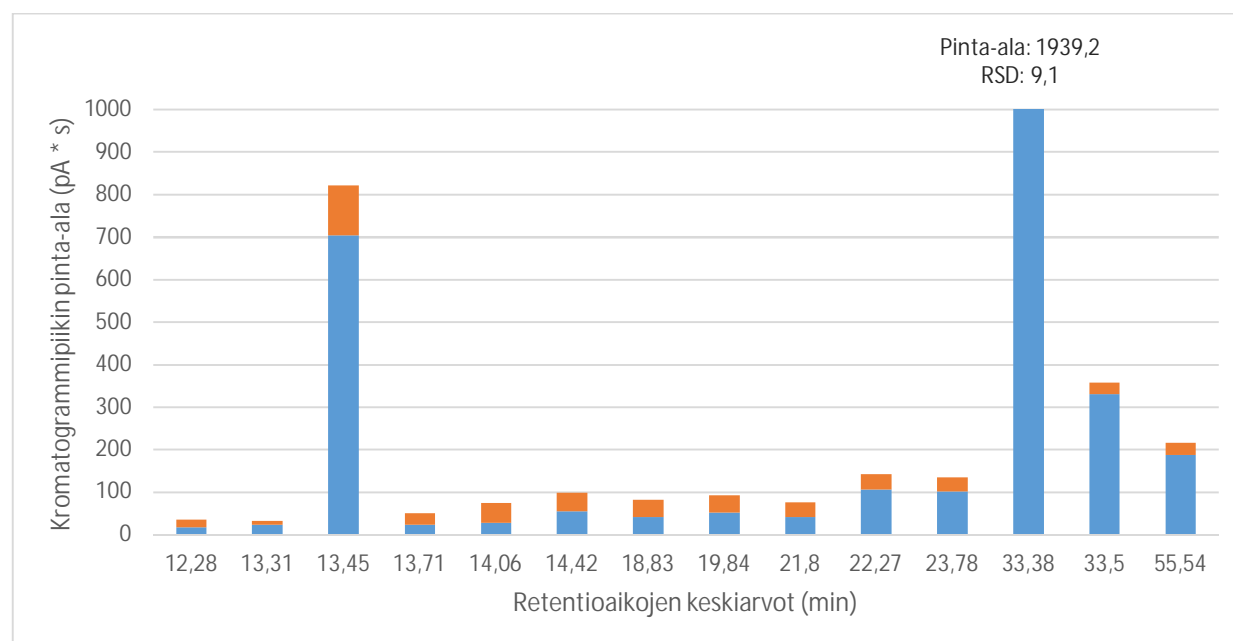
Alla olevissa pylväsdiagrammeissa (Kuvat 27 ja 28) orgaanisten yhdisteiden aikaansaamien kromatogrammipiikkien pinta-alojen keskiarvot rinnakkaismäärityksissä on esitetty sinisillä palkeilla ja pinta-alojen suhteelliset keskihajonnat on esitetty oransseilla palkeilla.

Taulukko 10: Liuoksen A kuuden rinnakkaismäärityksen yhteisten kromatogrammiikkien retentioaikojen ja pinta-alojen keskiarvot ja suhteelliset keskihajonnat

Yhdiste	Retentioaika (min)		Pinta-ala (pA * s)		% -osuus ISTD:n pinta-alaan nähden
	Keskiarvo	RSD	Keskiarvo	RSD	
Dekaanihappo, TMSe	12,28	0,08	18,7	17,5	1,0
[Tunnistamaton A]	13,31	0,06	24,	9,0	1,2
4-metyyli-2,6-bis(1,1-dimetyylietyyli)fenoli*	13,45	0,10	703,6	118,0	36,3
[Tunnistamaton B]	13,71	0,05	23,5	27,6	1,2
[Tunnistamaton C]	14,06	0,04	28,8	45,8	1,5
[Tunnistamaton D]	14,42	0,04	54,5	45,0	2,8
Nonaanidihappo, bis(TMS)e	18,83	0,13	42,1	40,2	2,2
Tetradekaanihappo, TMSe	19,84	0,11	52,1	41,3	2,7
Pentadekaanihappo, bis(TMS)e	21,80	0,08	41,8	34,7	2,2
Undekaanidihappo, bis(TMS)e	22,27	0,29	106,5	36,6	5,5
[Tunnistamaton F]	23,78	0,06	101,1	34,9	5,2
Heneikosaanihappo (ISTD)	33,38	0,02	1939,2	9,1	-
[Tunnistamaton H]	33,50	0,04	330,4	28,3	17,0
[Tunnistamaton I]	55,54	0,06	188,5	27,9	9,7

TMSe = Trimetyylisilyyliesteri

*BHT, butyloitu hydroksitolueeni, uuttoliuottimena käytetyn dietyylietterin sisältämä säilöntäaine



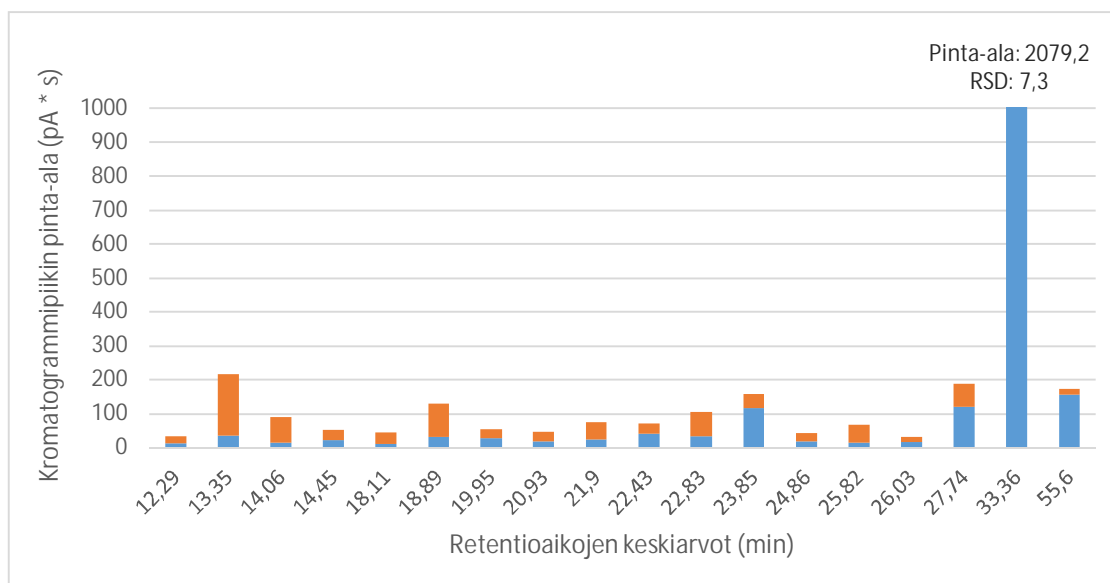
Kuva 27: Liuoksen A rinnakkaismääritysten kromatogrammiikkien pinta-alat ja suhteelliset keskihajonnat.

Taulukko 11: Liuoksen B kuuden rinnakkaismäärityksen yhteisten kromatogrammiikkien retentioaikojen ja pinta-alojen keskiarvot ja suhteelliset keskihajonnat

Yhdiste	Retentioaika (min)		Pinta-ala (pA * s)		% -osuus ISTD:n pinta-alaan nähden
	Keskiarvo	RSD	Keskiarvo	RSD	
Dekaanihappo, TMSe	12,29	0,09	13,1	21,0	0,6
4-metyyli-2,6-bis(1,1-dimetyylietyyli)fenoli*	13,35	0,30	36,3	181,0	1,6
[Tunnistamaton C]	14,06	0,05	15,4	74,2	0,7
[Tunnistamaton D]	14,45	0,20	22,1	30,9	1,1
[Tunnistamaton E]	18,11	0,60	11,6	33,9	0,6
Nonaanidihappo, bis(TMS)e	18,89	0,30	31,5	98,8	1,5
Tetradekaanihappo, TMSe	19,95	0,30	27,5	27,8	1,3
Dekaanidihappo, bis(TMS)e	20,93	0,20	19,1	28,2	0,9
Pentadekaanihappo, bis(TMS)e	21,90	0,20	24,4	51,8	1,2
Undekaanidihappo, bis(TMS)e	22,43	0,20	41,8	29,1	2,0
Eikosaani	22,83	0,20	32,4	73,3	1,6
[Tunnistamaton F]	23,85	0,12	118,5	40,1	5,7
Heneikosaani	24,86	0,07	19,1	25,5	0,9
[Tunnistamaton G]	25,82	0,07	15,6	51,7	0,8
Heptadekaanihappo, TMSe	26,03	0,06	17,5	14,5	0,8
Dokosaani	27,74	0,03	121,0	68,0	5,8
Heneikosaanihappo (ISTD)	33,36	0,02	2079,2	7,3	-
[Tunnistamaton I]	55,60	0,09	157,1	16,8	7,6

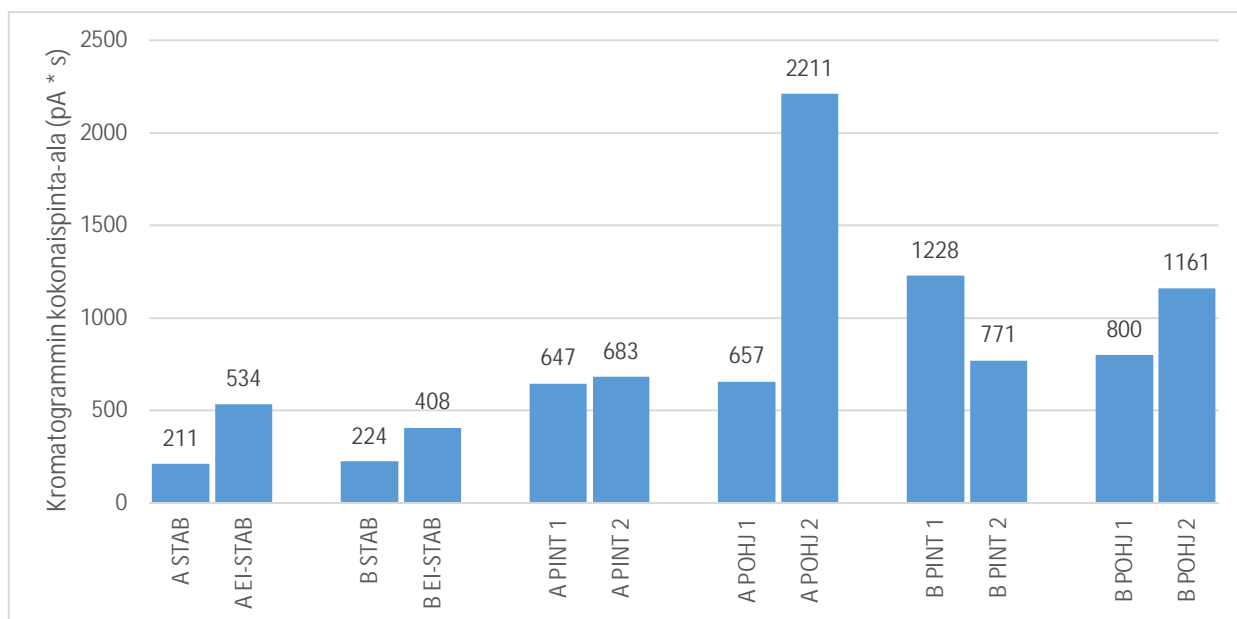
TMSe = Trimetyylisilyyliesteri

*BHT, butyloitu hydroksitolueeni, uuttoliuottimena käytetyn dietyylieetterin sisältämä säilöntäaine



Kuva 28: Liuoksen B rinnakkaismääritysten kromatogrammiikkien pinta-alat ja suhteelliset keskihajonnat.

Nikkelisulfaattiliuosten näytepulloista tutkittiin myös näytteenottokohdan vaikutusta näytteistä havaittavien orgaanisten yhdisteiden pitoisuustasoihin. Näytteenottoja tehtiin nikkelisulfaattiliuostyyppien A ja B näytepullojen pinta- ja pohjaosista. Saatua kromatografisia mittaustuloksia verrattiin pullojen keskiosista saatuihin tuloksiin. Pullojen pinta- ja pohjaosista otettujen näytteiden kanssa verrattavina pullojen keskiosista otettuina näytteinä käytettiin edellisenä päivänä valmistettuja näytteitä. Näitä käytettiin ensisijaisesti stabiloidun ja stabiloimattomien nikkelisulfaattiliuoksen pitoisuustasojen tarkistamiseen mahdollisimman pian nikkelisulfaattiliuosten vastaanottamisen jälkeen. Mittaustuloksista voidaan havaita, että pullojen pinta- ja pohjaosista otetuista näytteistä saatiin suuremmat orgaanisten yhdisteiden pitoisuudet pullojen keskiosista otettuihin näytteisiin nähden. Mittaustuloksista saatujen kromatogrammien kokonaispinta-alat on esitetty alla (Kuva 29). Kuvassa vasemmalta katsoen neljä ensimmäistä pylvästä ovat näytepullojen keskiosista saaduista näytteistä ja muut pylväät ovat liuosten A ja B pinta- ja pohjaosista saaduista näytteistä, joista kustakin tehtiin kaksi rinnakkaismäärittystä. Sisäisen standardin omaavista näytteistä ISTD:n aikaansaama pinta-ala on vähennetty kromatogrammin kokonaispinta-alasta. Sisäistä standardia käytettiin pullojen pinta- ja pohjaosista otetuissa näytteissä. Mittaustulokset on esitetty liitteissä (Liitteet 5.1-5.4 ja 11).



Kuva 29: Näytteenotuskohtien vaikutus kaasukromatografisissa mittauksissa saatujen kromatogrammien pinta-aloihin.

10.8 Nikkeli-sulfaattiliuoksista uutettujen orgaanisten yhdisteiden kokonaismäärät

Nikkeli-sulfaattiliuosten A ja B rinnakkaismäärittämissä uutettujen orgaanisten yhdisteiden kokonaismäärää arvioitiin seuraavalla tavalla. Rinnakkaismäärittämissä kromatogrammien pinta-aloja verrattiin ISTD:n tunnetun massan antamaan kromatogrammiin pinta-alaan. Näin ollen ISTD:n pinta-ala voidaan käyttää uutettujen orgaanisten yhdisteiden kokonaismassojen arvioimiseen.

Liuosten A ja B rinnakkaismäärittämissä kromatogrammien pinta-alojen keskiarvoiksi saatiin seuraavat lukemat:

Liuos A: 1675 pA*s

Liuos B: 907 pA*s

Rinnakkaismääritysten pinta-alojen keskiarvoista vähennettiin kunkin rinnakkaismäärittelyn ISTD:n pinta-ala sekä uuttoliuottimena käytetyn dietyylieetterin sisältämien lisäaineiden aikaansaamat pinta-alat.

Sisäisten standardien pinta-alojen keskiarvot liuosten A ja B rinnakkaismäärittelyissä olivat seuraavat:

Liuos A (ISTD): 1939 pA*s

Liuos B (ISTD): 2079 pA*s

Verratessa rinnakkaismääritysten pinta-alojen keskiarvoja sisäisten standardien pinta-alojen keskiarvoihin saadaan seuraavat prosenttiosuudet:

Liuos A: $1675 \text{ pA*s} / 1939 \text{ pA*s} = 0,8638... \approx 86,4 \%$

Liuos B: $907 \text{ pA*s} / 2079 \text{ pA*s} = 0,4362... \approx 43,6 \%$

ISTD:n massa yksittäisessä kaasukromatografisessa näyteajossa oli 0,12 µg kaasukromatografisen ajon injektio-tilavuuden ollessa 1 µl. Injektointi tehtiin viallissa olevasta 0,5 ml tilavuuden omaavasta näytteestä. Näin ollen injektiossa kaasukromatografiseen ajoon siirrettiin 1/500-osa viallissa olevan näytteen tilavuudesta. Näytteisiin lisätyn ISTD:n massan laskeminen on esitetty tarkemmin osiossa 9.3.2.

$$1 \mu\text{l} / 0,5 \text{ ml} = 0,001 \text{ ml} / 0,5 \text{ ml} = 0,002 = 1/500$$

Tällöin ISTD:n massa 0,5 ml tilavuuden omaavassa näytteessä on $0,12 \mu\text{g} * 500 = 60 \mu\text{g}$.

Liuosten A ja B 50 ml tilavuuden omaavista nikkelisulfaattiliuosnäytteistä uutettujen orgaanisten yhdisteiden kokonaismassat ovat näin ollen seuraavat:

Liuos A: $0,864 * 60 \mu\text{g} = 50,04 \mu\text{g}$

Liuos B: $0,436 * 60 \mu\text{g} = 26,16 \mu\text{g}$

Yllä olevat uutettujen orgaanisten yhdisteiden kokonaismassat ovat saatu nikkelisulfaattiliuosnäytteistä, joiden tilavuus oli 50 ml. Täten uutettujen orgaanisten yhdisteiden pitoisuudet litraa kohden saadaan seuraavasti:

$$\text{Liuos A: } 50,04 \mu\text{g} / 50 \text{ ml} = 1,0008 \mu\text{g/ml} = 1000,8 \mu\text{g/l} = 1,0008 \text{ mg/l} \approx 1,0 \text{ mg/l}$$

$$\text{Liuos B: } 26,16 \mu\text{g} / 50 \text{ ml} = 0,5232 \mu\text{g/ml} = 523,2 \mu\text{g/l} = 0,5232 \text{ mg/l} \approx 0,5 \text{ mg/l}$$

Verrattaessa yllä olevia tuloksia toimeksiantajan ilmoittamiin TOC-määritysten pitkän aikavälin keskiarvoihin voidaan määrittää orgaanisten yhdisteiden uuttamisen onnistuneisuutta nikkelisulfaattiliuoksista:

$$\text{Liuos A: } 1,0008 \text{ mg/l} / 13,5 \text{ mg/l} = 0,0741\dots \approx 7,4 \%$$

$$\text{Liuos B: } 0,5232 \text{ mg/l} / 9,8 \text{ mg/l} = 0,0533\dots \approx 5,3 \%$$

Yllä olevista lukemista voidaan havaita, että liuoksesta A onnistuttiin uuttamaan n. 7 % ja liuoksesta B n. 5 % niiden sisältämistä orgaanisista yhdisteistä.

Nikkelisulfaattiliuoksista saatiin uutettua vain alle 10 % niiden sisältämistä orgaanisista yhdisteistä, mikä johtuu mahdollisesti käytetystä uuttotekniikasta. Tämä vastaa kirjallisuudessa⁷ saatua tulosta, jonka mukaan neste-nesteuutolla on saatu aiemmin uutettua vesinäytteistä keskimäärin vain 10 % sen sisältämistä orgaanisista yhdisteistä.

11 Yhteenveto

Tutkimuksessa pyrittiin kehittämään analyttisen kemian menetelmä, jolla nikkelisulfaattiliuoksista voidaan tunnistaa niiden sisältämät orgaaniset yhdisteet sekä määrittää niiden pitoisuudet. Lasipulloissa säilytettyjen liuosten A ja B lisäksi kehitetyllä menetelmällä pyrittiin määrittämään orgaanisia yhdisteitä kiinteästä nikkelisulfaatista valmistetusta vesiliuoksesta sekä muovikanisterissa säilytetystä liuoksesta A. Tiivistelmä menetelmän käytännön työskentelyvaiheiden suorittamisesta on esitetty liitteissä (Liite 12).

Nikkelisulfaattiliuoksista tehtäviä näytteenottoja tehtiin näytepullojen keskiosien ohella pullojen pinta- ja pohjaosista, jolloin voitiin tarkastella näytteenottokohdan vaikutusta näytteen sisältämien orgaanisten yhdisteiden tyypeihin ja pitoisuuksiin. Mittausten perusteella pullojen pinta- ja pohjaosista otetut näytteet sisälsivät suurempia orgaanisten yhdisteiden pitoisuuksia pullojen keskiosista otettuihin näytteisiin nähden.

Nikkelisulfaattiliuosten sisältämiä orgaanisia yhdisteitä pyrittiin uuttamaan vesiliuoksesta orgaaniseen liuottimeen neste-nesteuuton avulla. Neste-nesteuuttojen yhteydessä kokeiltiin neljää eri uuttoliuotinta, jotka olivat metyyli-tertäärributyylieetteri, dietyylieetteri, heksaani sekä kloroformi. Edellä mainituista uuttoliuottimista päädyttiin käyttämään dietyylieetteriä sen tutkimuksen aikana havaitun korkean haihtuvuuden johdosta, jolloin se pystyttiin haihduttamaan nopeasti työskentelyn eri vaiheissa. Neste-nesteuuton saantoa testattiin uuttamalla sama nikkelisulfaattiliuosnäyte kerran tai kolme kertaa.

Nikkelisulfaattiliuosten sisältämien orgaanisten yhdisteiden säilyvyyttä ja säilyvyyden parantamista tarkasteltiin myös tutkimuksen aikana. Yhdisteiden säilyvyyttä pyrittiin parantamaan stabiloinnin avulla. Säilyvyyttä tarkasteltiin tekemällä mittauksia stabiloiduista ja stabiloimattomista liuoksista mahdollisimman pian liuosten vastaanottamisen jälkeen sekä kahden viikon jälkeen liuosten vastaanottamisesta. Myös stabiloimattomaan liuostyyppiin B ajan myötä muodostuneen vaaleankellertävän saostuman sisältämiä orgaanisia yhdisteitä pyrittiin määrittämään.

11.1 Johtopäätökset

Tutkimuksen tarkoituksena oli toimeksiantajan tehtävänannon mukaan kehittää menetelmä nikkelisulfaattiliuosten vesiliukoisten orgaanisten yhdisteiden määrittämiseen. Tässä tutkimuksessa nikkelisulfaattiliuoksista havaituista orgaanisista yhdisteistä suurin osa on tosin rasvaliukoisia (pitkän hiilivetyketjun omaavat alkaanit, pitkän hiilivetyketjun omaavat yhden- ja kahdenarvoiset karboksyylihapot sekä ftalaatit). Tunnistetuista yhdisteistä vesiliukoisimpia ovat lyhyimpien hiilivetyketjujen omaavat karboksyylihapot sekä pienimmän hiilivetyrungon omaavat ftalaatit.

Tutkielmassa kehitetyllä analyttisen kemian menetelmällä on mahdollista tarkastella nikkelisulfaattiliuosten sisältämien orgaanisten yhdisteiden tyyppisiä ja pitoisuuksia. Menetelmän käytössä havaittiin kuitenkin haasteena yhdisteiden pitoisuuksien huomattava vaihtelu samanlaisten näytteen välillä, jota voidaan tarkastella esimerkiksi liuosten A ja B rinnakkaismäärittämisestä (Liitteet 8 ja 9). Tällöin yksittäisellä näytetyypin rinnakkaismäärittämisellä ei saada vielä kattavaa kuvaa näytetyypin sisältämien orgaanisten yhdisteiden pitoisuuksista, vaan kattavampi kuva pitoisuuksista saadaan keskiarvoistuksilla useampaa rinnakkaismäärittäystä käytettäessä. Pitoisuuksien vaihtelua rinnakkaismäärittäysten välillä voidaan selittää näyttemateriaalin heterogeenisyydellä orgaanisten yhdisteiden suhteen. Tällöin mittauksissa havaittaviin yhdisteisiin vaikuttavan näytteenottoa nikkelisulfaattiliuoksesta (pinta-, pohja- vai keskiosa) sekä liuoksen sekoituksen onnistuneisuus näytteenoton aikana.

Havaittujen yhdisteiden retentioaikojen vaihtelu oli hyvin vähäistä rinnakkaismäärittäysten välillä, jolloin käytetyillä kaasukromatografisilla laiteasetuksilla saatuja yhdisteiden retentioaikoja voidaan pitää kuuluviksi tietyille yhdisteille rinnakkaismäärittämisestä toiseen.

Orgaanisten yhdisteiden uuttamisessa kolmella uuttokerralla ei saatu parempaa saantoa yksittäiseen uuttokertaan nähden, jolloin yksittäistä uuttokertaa käytettäessä säästyy työaikaa sekä uuttoliuotinta.

Kiinteästä nikkelisulfaatista valmistetusta liuoksesta havaitut orgaaniset yhdisteet (Liite 3) vaihtelivat eri uuttoliuottimia käytettäessä aivan kuten nikkelisulfaattiliuoksista tehtyjen uuttojen kohdalla, jolloin eri uuttoliuottimien käytöllä eri rinnakkaismäärittämisissä saadaan mahdollisesti

kattavampi kuva nikkelisulfaattiliuosten sisältämistä orgaanisista yhdisteistä yksittäisen uuttoluottimen käyttöön nähden.

Muovikanisterissa säilytetystä nikkelisulfaattiliuoksesta A tehdyistä mittauksista (Liite 4) ei saatu havaittua ollenkaan orgaanisia yhdisteitä, joten kehitetty menetelmä ei vaikuttaisi soveltuvan sellaisenaan muovisen säilytysastian omaavan nikkelisulfaattiliuoksen orgaanisten yhdisteiden määrittämiseen. Syytä tähän ei saatu selville tutkimuksen aikana.

Nikkelisulfaattiliuosten säilyvyyden tarkastelun perusteella voidaan todeta, että havaittujen orgaanisten yhdisteiden pitoisuudet eivät laskeneet kahden viikon tarkasteluajalla eikä stabilointi vaikuttanut mittauksissa havaittuihin orgaanisiin yhdisteisiin (Liite 5). Dietyylieetterillä uutetusta nikkelisulfaattiliuokseen B muodostuneesta saostumanäytteestä (Liite 6.2) havaittiin lukuisia yhdisteiden kromatogrammi- ja piikkejä. Jatkotutkimusten avulla voitaisiin tarkastella mitä orgaanisia yhdisteitä saostumaan päätyy.

11.2 Jatkotoimenpiteet

Keskeisimpänä jatkotoimenpiteenä menetelmän kehityksen kannalta vaikuttaisi olevan menetelmän toistotarkkuuden parantaminen. Toistotarkkuutta voitaisiin parantaa jatkossa mahdollisesti näytteenoton ja esikäsittelyn parantamisella. Tällöin nikkelisulfaattiliuoksista saataisiin siirrettyä suurempi osuus niiden sisältämistä orgaanisista yhdisteistä kromatografisiin mittauksiin.

Käytettyä nikkelisulfaattiliuosnäytteen tilavuutta voitaisiin kasvattaa näytteen edustavuuden parantamiseksi, jolloin yhdisteiden aikaansaamat piikit olisivat pinta-alaltaan suurempia ja sitä myöten paremmin erottuvia kromatogrammin pohjaviivasta. Myös näytteenottoa (pinta-, pohja-, keskiosa) näytepullosta voidaan vaihdella eri orgaanisten yhdisteiden tyyppien havaitsemiseksi.

Näytteen esikäsittelyssä on mahdollista kokeilla erilaista uutotekniikkaa. Nikkellisulfaattiliuosten sisältämistä orgaanisista yhdisteistä saatiin neste-nesteuutolla uutettua vain pieni osa verrattaessa uutettujen yhdisteiden kokonaispitoisuutta nikkelisulfaattiliuoksista toimeksiantajan tekemiin

TOC-määrittelyyn. Uuttamisen parantamisella saataisiin suurempi määrä orgaanisia yhdisteitä siirrettyä mukaan mittauksiin, jolla saataisiin samoja hyötyjä kuin nikkelisulfaattiliuosnäytteen tilavuuden kasvattamisella. Vaihtoehtoisia käytettäviä uuttomenetelmiä voisivat olla liuosnäytteen uuttamisessa dispersiivinen neste-nestemikrouutto (DLLME) ja kiinteän aineksen uuttamisessa käytettävä Soxhlet-laitteistolla tehtävä jatkuva uutto.

DLLME-menetelmällä voitaisiin saada uutettua suurempi osa nikkelisulfaattiliuosten sisältämistä orgaanisista yhdisteistä LLE-menetelmän käyttöön verrattuna, sillä DLLME-menetelmällä uutettavat orgaaniset yhdisteet saadaan konsentroitua pieneen tilavuuteen. Tällöin uuttoluotinta ei tarvitsisi haihduttaa kuten LLE-menetelmän käytön jälkeen, sillä haihduttamisessa saatetaan menettää haihtuvimpia ja pienimmän molekyylipainon omaavia määritettäviä yhdisteitä.

Soxhlet-laitteistolla tehtävää jatkuvaa uuttoa voidaan kokeilla vaihtoehtoisena uuttomenetelmänä kiinteän nikkelisulfaatin sisältämien orgaanisten yhdisteiden uuttamisessa sen sijaan, että kiinteästä nikkelisulfaatista valmistetusta vesiliuoksesta tehtäisiin neste-nesteuuttoa. Jatkuvalla uutolla saadaan mahdollisesti suurempi osa kiinteän nikkelisulfaatin sisältämistä orgaanisista yhdisteistä uutettua kuin käytettäessä neste-nesteuuttoa.

Menetelmän toistotarkkuuden parantamisella nikkelisulfaattiliuosten orgaanisten yhdisteiden pitoisuuksien vaihteluja voitaisiin seurata suuremmalla varmuudella, jolloin mahdollisesti orgaanisista yhdisteistä aiheutuvat ongelmat nikkelisulfaattiliuoksen tuotantoprosessissa olisivat paremmin todennettavissa.

12 Kirjallisuusuusluettelo

1. Power G.; Loh J., Organic compounds in the processing of lateritic bauxites to alumina
Part 1: Origins and chemistry of organics in the Bayer process, *Hydrometallurgy*, **2010**, *105*, 1-29
2. Power G.; Loh J. S. C.; Wajon J. E.; Busetti F.; Joll C., A review of the determination of organic compounds in Bayer process liquors, *Anal. Chim. Acta.*, **2011**, *689*, 8-21
3. Power G. P., 5th AusIMM Extractive Metallurgy Conference, Australian Institute of Mining and Metallurgy, Perth, Australia, 1991, s. 337
4. Hudson L. K., Alumina production, in: A.R. Burkin (Ed.), *Critical Reports on Applied Chemistry*, The Society for Chemical Industry, Salisbury, Iso-Britannia, 1987, s. 11
5. Smeulders D. E.; Wilson M. A.; Armstrong L., Insoluble Organic Compounds in the Bayer Process, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2001**, *40*, 2243-2251
6. Graham G.; Capil R.; Davies R., Odour destruction for digestion vent gases, 6th International Alumina Quality Workshop, AQW Inc, Brisbane, Australia, 2002, s. 316
7. Leenheer J. A., Comprehensive approach to preparative isolation and fractionation of dissolved organic carbon from natural waters and wastewaters, *Environ. Sci. Technol.*, **1981**, *15*, 578-587
8. Aiken G. R.; McKnight D. M.; Thorn K. A.; Thurman E. M., Isolation of hydrophilic organic acids from water using nonionic macroporous resins, *Org. Geochem.*, **1992**, *18*, 567-573
9. Malcolm R. L., MacCarthy P., Quantitative evaluation of XAD-8 and XAD-4 resins used in tandem for removing organic solutes from water, *Environ. Int.*, **1992** *18*, 597-607
10. Chatwal G. R. ja Arora M., *Analytical Chemistry*, Himalaya Publishing House, New Delhi, Intia, 2008. a) s. 1 b) ss. 3-6

11. Burgess C., *Valid Analytical Methods and Procedures*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, Iso-Britannia, 2000, s. 24
12. Riekkola M.-L. ja Hyötyläinen T., *Kolonnikromatografia ja kapillaarielektromigraatiotekniikat*, Yliopistopaino, Helsinki, 2000. a) ss. 312-315 b) 313 c) 7 d) 32-34 e) 70-71 f) 71-74 g) 91-92 h) 71, 87 i) 74-75 j) 111-118 k) 37-54 l) 112-113 m) 136-137 n) 136-142 o) 140-141 p) 144-145 q) 154-158 r) 158
13. Bruce P.; Minkkinen P.; Riekkola M.-L., Practical method validation: Validation sufficient for an analysis method, *Microchim. Acta*, **1998**, *128*, 93-106
14. Harris D. C., *Quantitative Chemical Analysis*, 8. painos, W. H. Freeman and Company, New York, USA, 2010. s. 538
15. Picard F.; Audet D.; Boily H.; Larocque J., Identification of hydrate active organics (HAO) present in spent Bayer liquors by state-of-the-art analytical methods, 6th International Alumina Quality Workshop, AQW Inc., Brisbane, Australia, 2002, s. 46
16. Robards K.; Haddad P. R.; Jackson P. E., *Principles and Practice of Modern Chromatographic Methods*, Academic Press, Somerset, Iso-Britannia, 1994. a) ss. 415-418 b) 149-152 c) 16-19 d) 25-28 e) 77 f) 78 g) 82-83 h) 131 i) 105, 117 j) 134 k) 458
17. Mohammad R.; Yaghoub A.; Mohammad-Reza M. H.; Elham A.; Fardin A.; Sana B., Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction, *J. Chromatogr.*, **2006**, *1116*, 1-9.
18. Zgoła-Grześkowiak A. ja Grześkowiak T., Dispersive liquid-liquid microextraction, *Trends Anal. Chem.*, **2011**, *30*, 1382-1399
19. Morrison G. H. ja Freiser H., *Solvent Extraction in Analytical Chemistry*, 4. painos, John Wiley & Sons, Inc., New York, USA, 1966, ss. 98-99

20. Kislik V. S., *Solvent Extraction: Classical and Novel Approaches*, Elsevier, Oxford, Iso-Britannia, 2012, s. 243
21. Dean J. R., *Extraction Techniques in Analytical Sciences*, John Wiley & Sons, Cornwall, Iso-Britannia, 2009, s. 29
22. Xiao J. B., Identification of Organic Acids and Quantification of Dicarboxylic Acids in Bayer Process Liquors by GC–MS, *Chromatographia*, **2007**, 65, 185-190
23. Petrucci R. H.; Harwood W. S.; Herring F. G.; Madura J. D., *General Chemistry: Principles and Modern Applications*, 9. painos, Pearson Prentice Hall, New Jersey, USA, 2007, s. 476
24. ILO-ICSC (International Labour Organization, International Chemical Safety Cards), <http://www.ilo.org/dyn/icsc/showcard.home>, (30.07.2018)
25. Vogel A. I.; Furniss B. S.; Hannaford A. J.; Smith P. W. G.; Tatchell A. R., *Textbook of Practical Organic Chemistry*, 5. Painos, Longman, Harlow, Iso-Britannia, 1989, ss. 185-186
26. Guthrie J. D.; The P. J.; Imbrogno W. D., *Essential Readings in Light Metals: Characterization of organics in Bayer liquors*, Springer, Cham, 1984, s. 127
27. Ellis A. V.; Wilson M. A.; Kannangara K., Bayer Poisons: Degradation of Angiosperm and Gymnosperm Water-Soluble Extracts in Sodium Hydroxide at 145 °C, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2002**, 41, 2842
28. Lever G., *Essential Readings in Light Metals: Identification of organics in Bayer liquor*, Springer, Cham, 1978, s. 71
29. Salomon P., *Contribution to the Analysis of Organic Substances Contained in Bauxites and Aluminate Liquors of the "Bayer" Cycle*, National Polytechnical Institute of Grenoble, 1982, s. 124

30. Brindel F.; Lectard A., Travaux du comite internationale pour l'etude des bauxites, de l'alumine et d'aluminium 13, 1983, 353-359
31. The K.; Roussel R., *Essential Readings in Light Metals*, Springer, Cham, 1984, s. 1115
32. Jackson P. E., Analysis of oxalate in Bayer liquors: a comparison of ion chromatography and capillary electrophoresis, *J. Chromatogr. A*, **1995**, 693, 155-161
33. Grocott S. C.; Jefferies L. P.; Bowser T.; Carnevale J.; Jackson P. E., Applications of ion chromatography and capillary ion electrophoresis in the alumina and aluminium industry, *J. Chromatogr. A.*, **1992**, 602, 257-264
34. Haddad P. R.; Harakuwe A. H.; Buchberger W., Separation of inorganic and organic anionic components of Bayer liquor by capillary zone electrophoresis I. Optimisation of resolution with electrolyte-containing surfactant mixtures, *J. Chromatogr. A*, **1995**, 706, 571-578
35. Harakuwe A. H.; Haddad P. R.; Buchberger W., Optimisation of separation selectivity in capillary zone electrophoresis of inorganic anions using binary cationic surfactant mixtures, *J. Chromatogr. A*, **1994**, 685, 161-165
36. Vitha M. F., *Chromatography: Principles and Instrumentation*, John Wiley & Sons, New Jersey, USA, 2016, s. 2
37. Gross J. H., *Mass Spectrometry*, 2. painos, Springer, Berliini, Saksa, 2011. a) s. 666 b) 8
38. Downard K., *Mass Spectrometry: A Foundation Course*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, Iso-Britannia, 2004, s. 22
39. Ho. W. F.; Stuart B.; Prichard. E., *High Performance Liquid Chromatography*, Royal Society of Chemistry, Gateshead, Iso-Britannia, 2003, a) ss. 9-10 b) 5-6 c) 17-20

13 Liitteet

1. Uttokertojen vaikutus mittaustuloksiin
2. Uttoliuottimista tehdyt mittaukset
3. Kiinteästä nikkelisulfaatista valmistetusta liuoksesta saadut mittaustulokset
4. Muovikanisterista säilytetystä liuoksesta A saadut mittaustulokset
5. Liuosten A ja B säilyvyyden tarkastelu kahden viikon ajalla
6. Liuokseen B muodostuneista saostumista saadut mittaustulokset
7. Nikkelisulfaattiliuoksista tunnistettujen ftalaattien rakennekaavat
8. Rinnakkaismääritykset nikkelisulfaattiliuoksesta A
9. Rinnakkaismääritykset nikkelisulfaattiliuoksesta B
10. Pyridiiniin liuotetun heneikosaanihappostandardin mittaus
11. Liuosten A ja B pinta- ja pohjaosista tehdyt mittaukset
12. Tiivistelmä käytännön työskentelymenetelmistä nikkelisulfaattiliuosten orgaanisten yhdisteiden määrittämiseksi (neljä sivua)

Liitesivuilla on esitetty lyhenteiden avulla ne tiedot, millaisesta näytteestä liitteessä oleva kromatogrammi on saatu. Lyhenteiden selitykset on esitetty kappaleessa 13.1. (Liitteissä käytetyt lyhenteet). Liitteissä esitetyt kromatogrammit ovat saatu GC-FID-tekniikalla.

13.1 Liitteissä käytetyt lyhenteet

A	Nikkelisulfaattiliuoksen tyyppi A
B	Nikkelisulfaattiliuoksen tyyppi B
K	Kiinteästä nikkelisulfaatista valmistettu liuos
MVK A	Muovikanisterissa säilytetty nikkelisulfaattiliuoksen tyyppi A
S	Nikkelisulfaattiliuoksen tyyppiin B muodostunut saostuma
PINT	Näyte on otettu pipetoimalla pullon pintaosasta
POHJ	Näyte on otettu pipetoimalla pullon pohjaosasta
KESK	Näyte on otettu pipetoimalla pullon keskiosasta
On STAB	Näyte on stabiloitu
Ei STAB	Näytettä ei ole stabiloitu
$V(\text{NiSO}_4) = 150 \text{ ml}$	Käytetty nikkelisulfaattiliuosnäytteen tilavuus on 150 ml
$V(\text{NiSO}_4) = 50 \text{ ml}$	Käytetty nikkelisulfaattiliuosnäytteen tilavuus on 50 ml
$V(\text{NiSO}_4) = 0 \text{ ml}$	Nikkelisulfaattiliuosta ei otettu näytteeseen
MTBE	Uuttoliuottimena on käytetty metyyli-tertääributyylieetteriä
DETH	Uuttoliuottimena on käytetty dietyylieetteriä
HEKS	Uuttoliuottimena on käytetty heksaania
KLOR	Uuttoliuottimena on käytetty kloroformia
$V(\text{Uutto}) = 30 \text{ ml}$	Käytetyn uuttoliuottimen tilavuus on 30 ml uuttokertaa kohden
$V(\text{Uutto}) = 50 \text{ ml}$	Käytetyn uuttoliuottimen tilavuus on 50 ml uuttokertaa kohden
Uutto 3	Näytettä on uutettu kolme kertaa
Uutto 1	Näytettä on uutettu yhden kerran
$V(\text{GC-näyte}) = 0,9 \text{ ml}$	Näytepulloon (vialliin) siirretyn näytteen tilavuus on 0,9 ml
$V(\text{GC-näyte}) = 0,5 \text{ ml}$	Näytepulloon (vialliin) siirretyn näytteen tilavuus 0,5 ml

On ISTD	Näytteeseen on lisätty sisäisenä standardina heneikosaanihappoa
Ei ISTD	Näytteeseen ei ole lisätty sisäisenä standardina heneikosaanihappoa
Alku	Nikkelisulfaattiliuoksesta on tehty mittaus mahdollisimman pian vastaanottamisen jälkeen
Loppu	Nikkelisulfaattiliuoksesta on tehty mittaus kaksi viikkoa vastaanottamisen jälkeen

13.2 Liiteluettelo

1. Uuttokertojen vaikutus mittaustuloksiin

1.1 A Uutto 1

1.2 A Uutto 3

1.3 B Uutto 1

1.4 B Uutto 3

2. Uuttoliuottimista tehdyt mittaukset

2.1 Uutto DETH

2.2 Uutto HEKS

3. Kiinteästä nikkelisulfaatista valmistetusta liuoksesta saadut mittaustulokset

3.1 K. MTBE

3.2 K. DETH

3.3 K. HEKS

3.4 K. KLOR

4. Muovikanisterista säilytetystä liuoksesta A saadut mittaustulokset

4.1 MVK MTBE

4.2 MVK DETH

4.3 MVK HEKS

4.4 MVK KLOR

5. Liuosten A ja B säilyvyyden tarkastelu kahden viikon ajalla

5.1 A Ei STAB (Alku)

5.2 A On STAB (Alku)

5.3 B Ei STAB (Alku)

5.4 B On STAB (Alku)

5.5 A Ei STAB (Loppu)

5.6 A On STAB (Loppu)

5.7 B Ei STAB (Loppu)

5.8 B On STAB (Loppu)

6. Liuokseen B muodostuneista saostumista saadut mittaustulokset

6.1 S. MTBE

6.2 S. DETH

7. Nikkelisulfaattiliuoksista tunnistettujen ftalaattien rakennekaavat

8. Rinnakkaismääritykset nikkelisulfaattiliuoksesta A

8.1 A KESK 1

8.2 A KESK 2

8.3 A KESK 3

8.4 A KESK 4

8.5 A KESK 5

8.6 A KESK 6

9. Rinnakkaismääritykset nikkelisulfaattiliuoksesta B

9.1 B KESK 1

9.2 B KESK 2

9.3 B KESK 3

9.4 B KESK 4

9.5 B KESK 5

9.6 B KESK 6

10. Pyridiiniin liuotetun heneikosaanihappostandardin mittaus

11. Liuosten A ja B pinta- ja pohjaosista tehdyt mittaukset

11.1 A PINT 1

11.2 A PINT 2

11.3 A POHJ 1

11.4 A POHJ 2

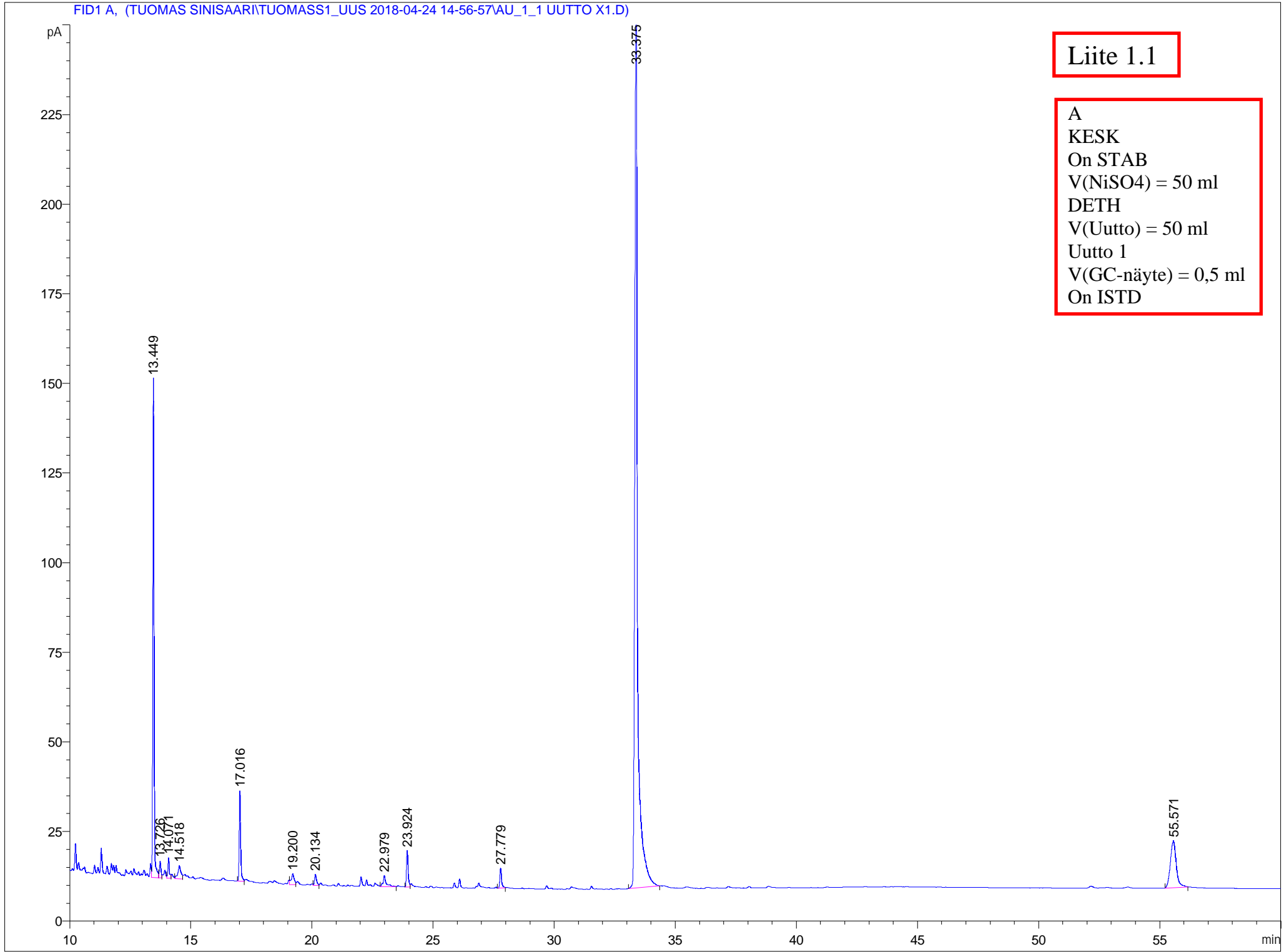
11.5 B PINT 1

11.6 B PINT 2

11.7 B POHJ 1

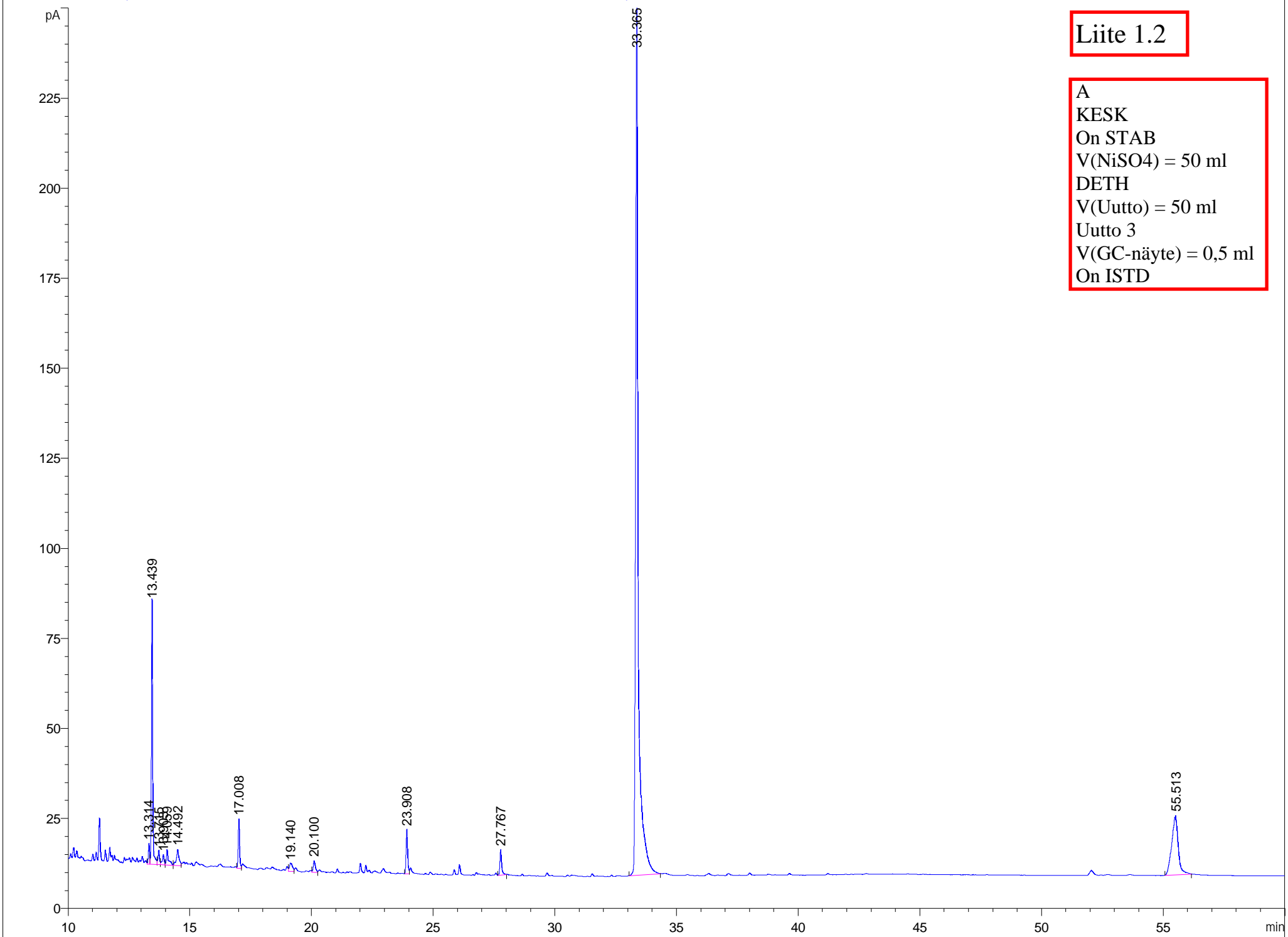
11.8 B POHJ 2

12. Tiivistelmä käytännön työskentelymenetelmistä nikkelisulfaattiliuosten orgaanisten yhdisteiden määrittämiseksi (neljä sivua)



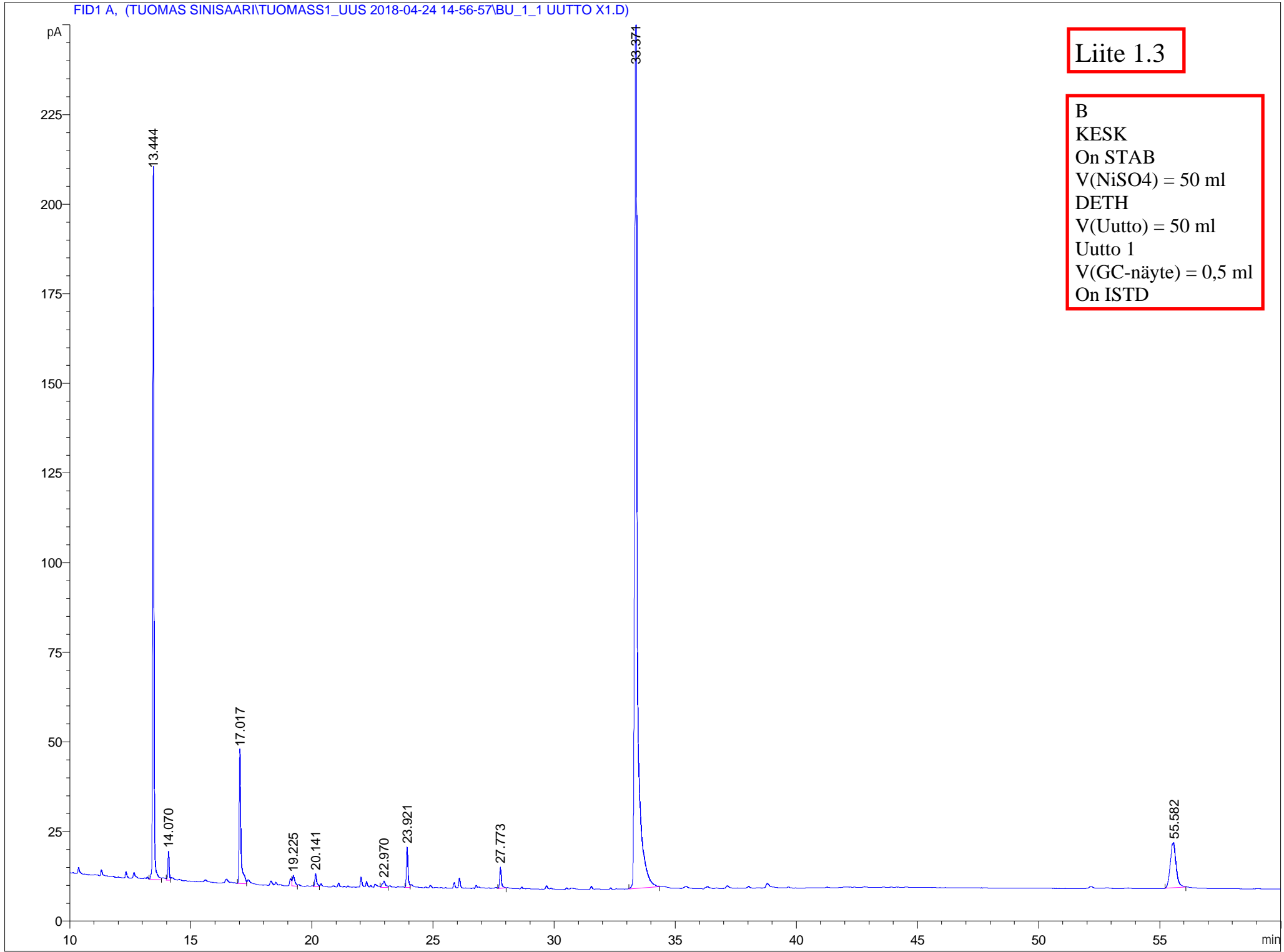
Liite 1.1

A
KESK
On STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
On ISTD



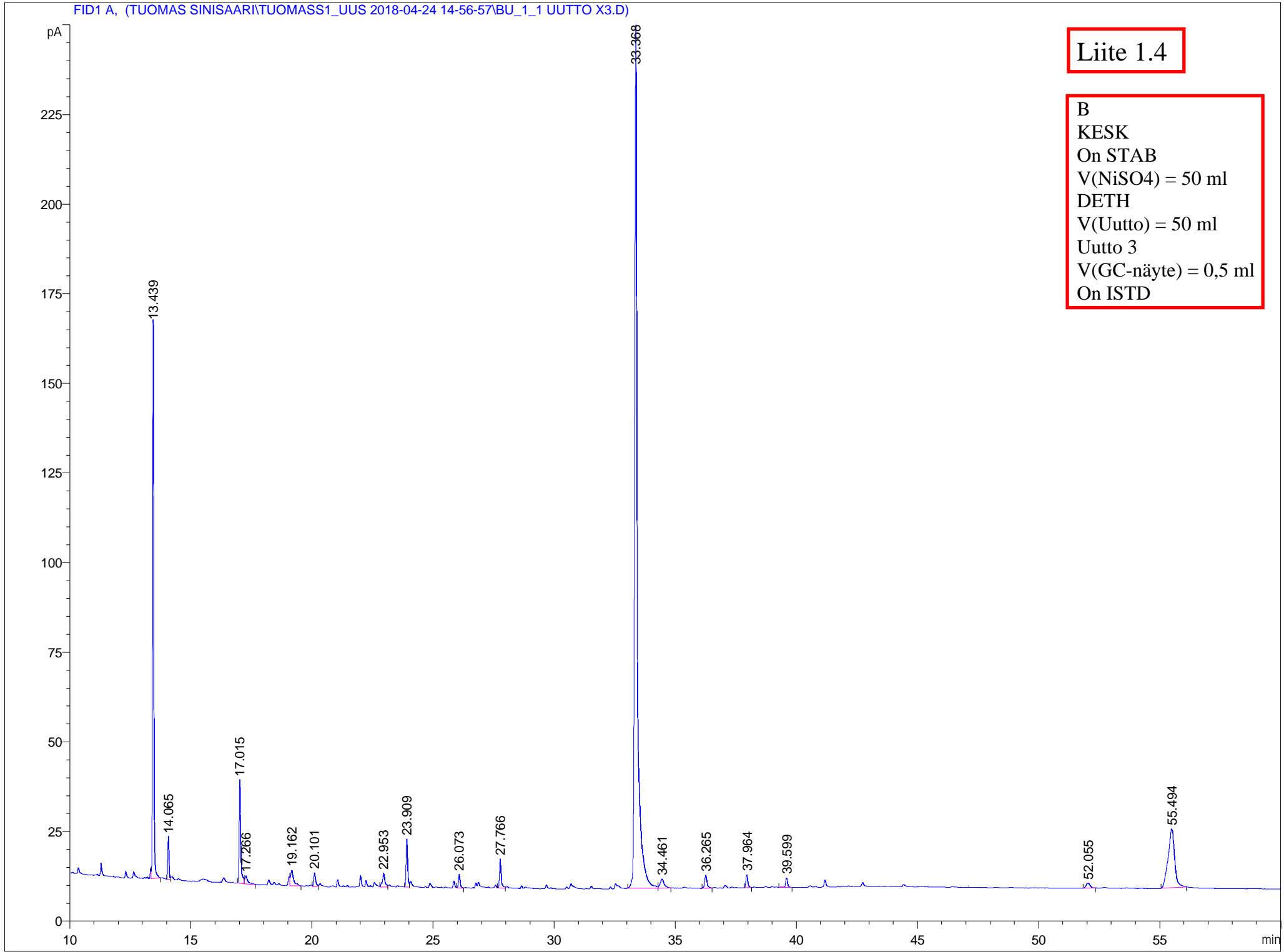
Liite 1.2

A
KESK
On STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 3
V(GC-näyte) = 0,5 ml
On ISTD



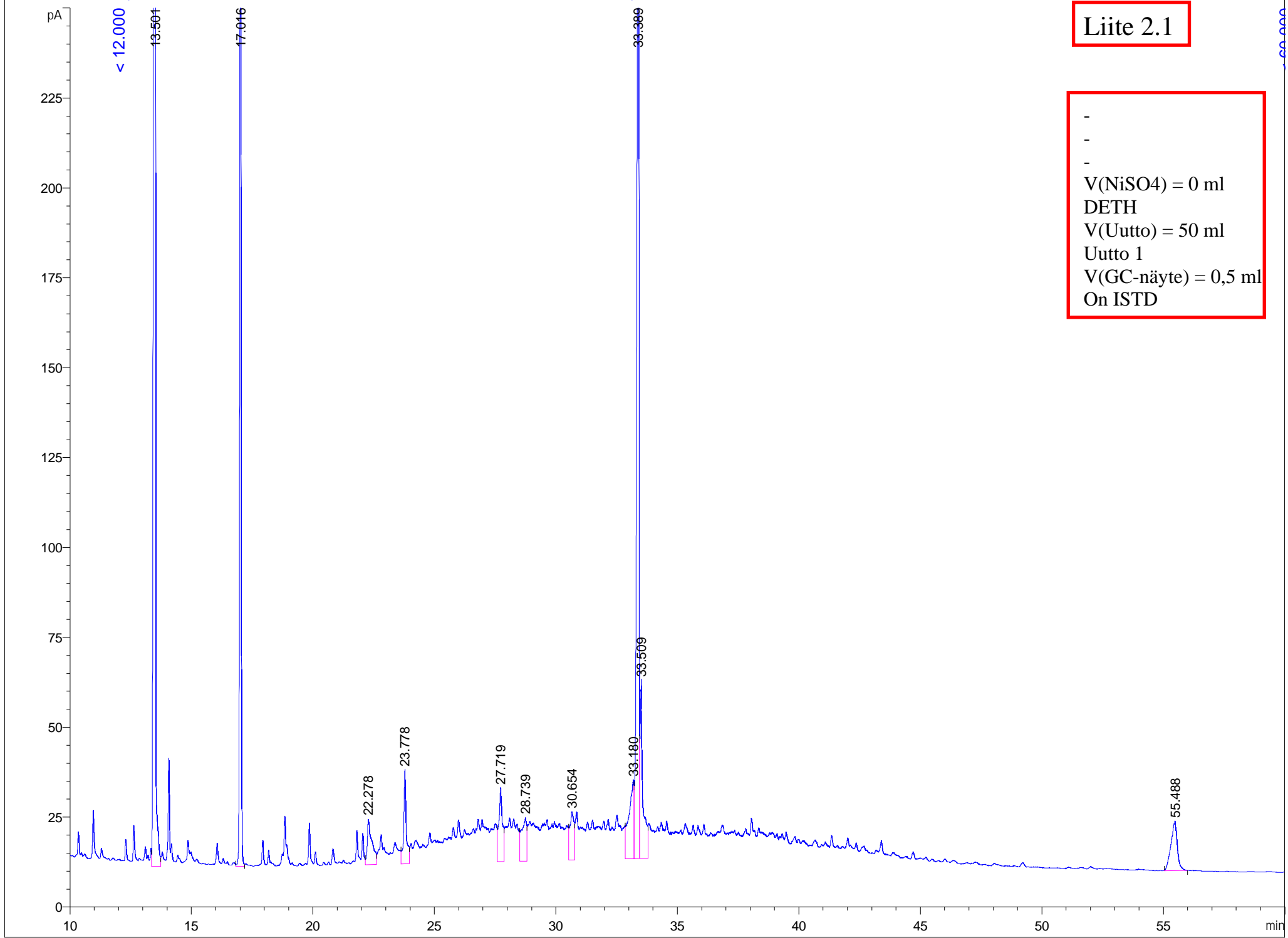
Liite 1.3

B
KESK
On STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
On ISTD



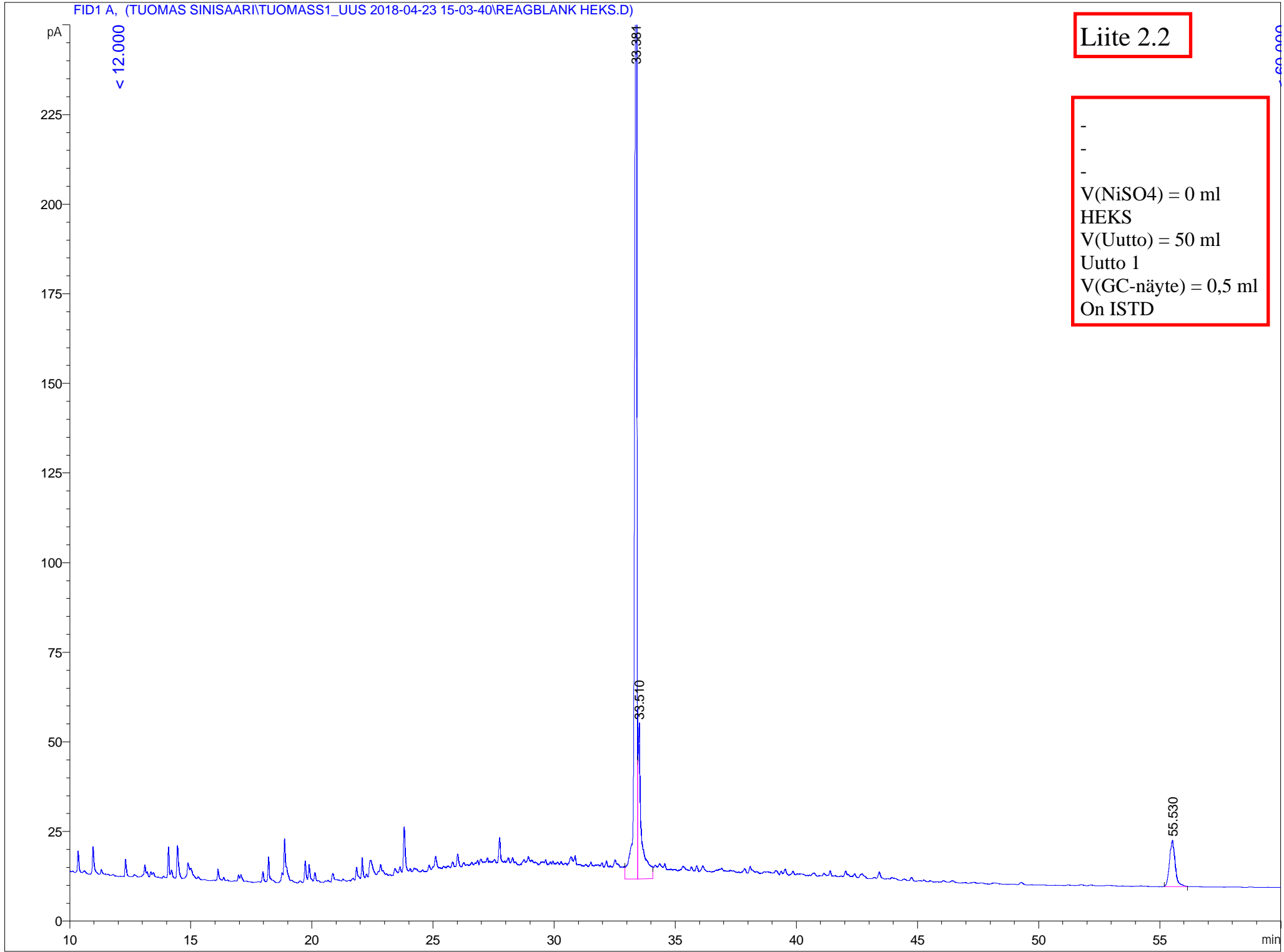
Liite 1.4

B
KESK
On STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 3
V(GC-näyte) = 0,5 ml
On ISTD



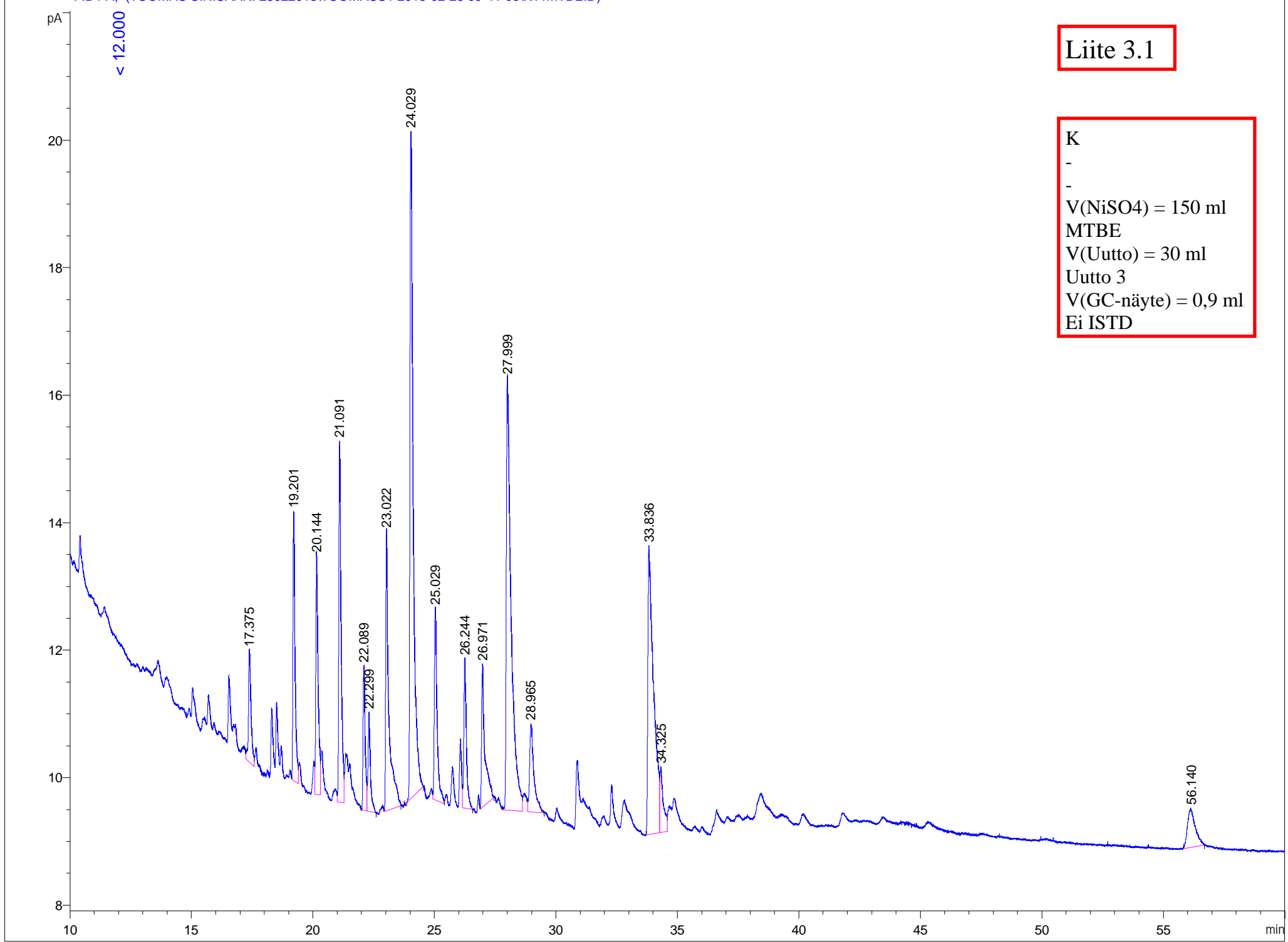
Liite 2.1

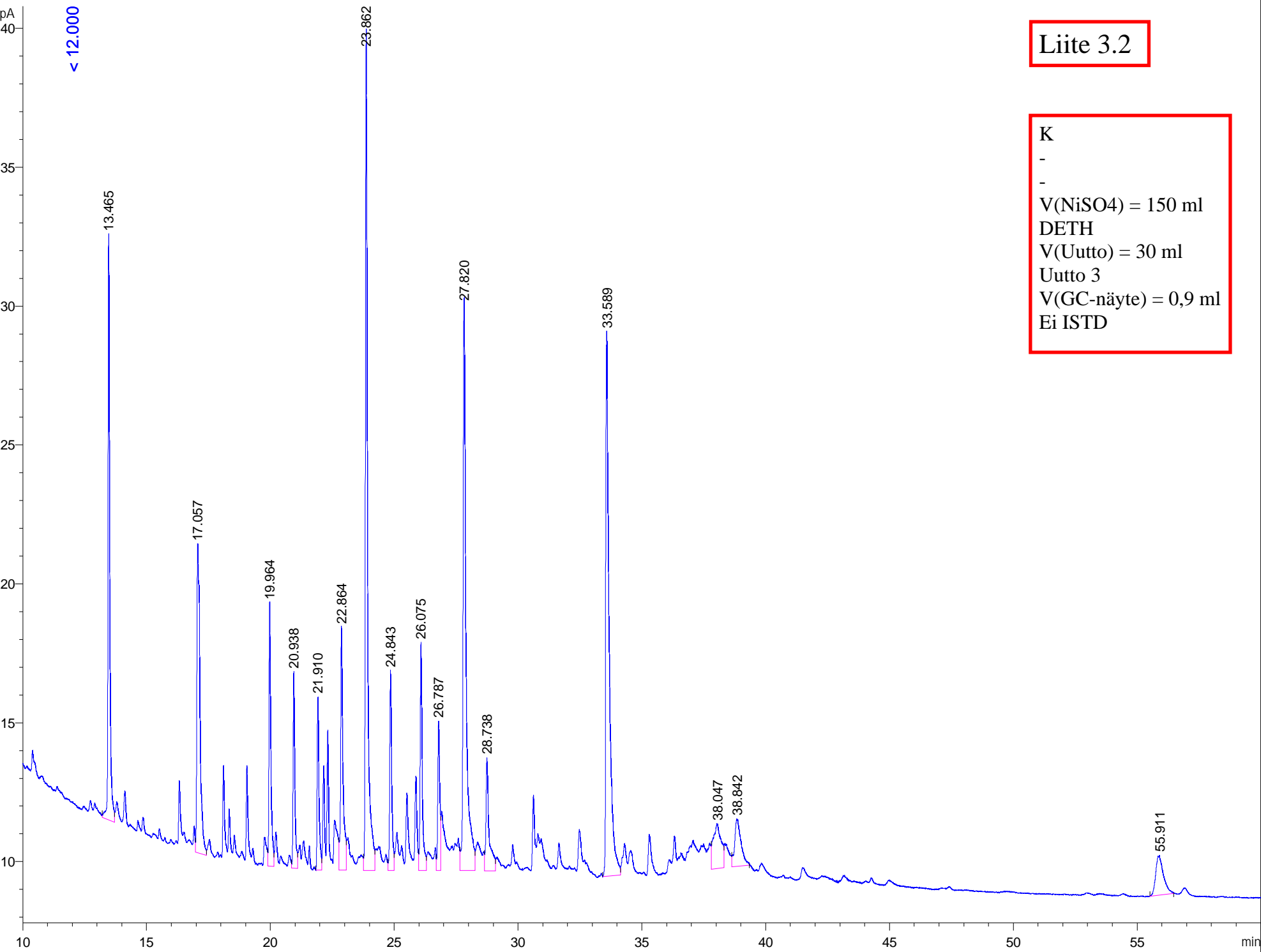
-
-
-
V(NiSO4) = 0 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
On ISTD



Liite 3.1

K
-
-
V(NiSO4) = 150 ml
MTBE
V(Uutto) = 30 ml
Uutto 3
V(GC-näyte) = 0,9 ml
Ei ISTD



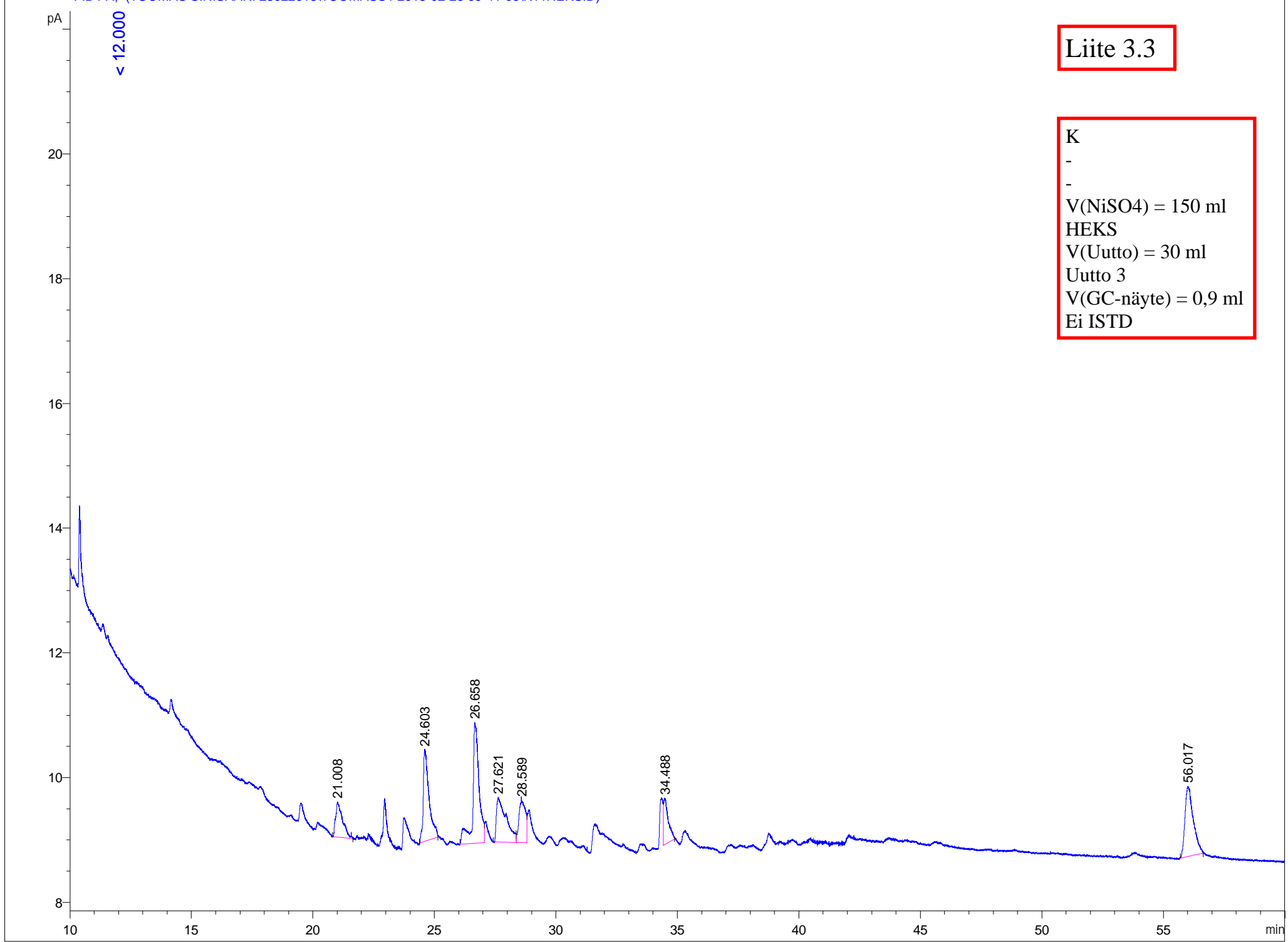


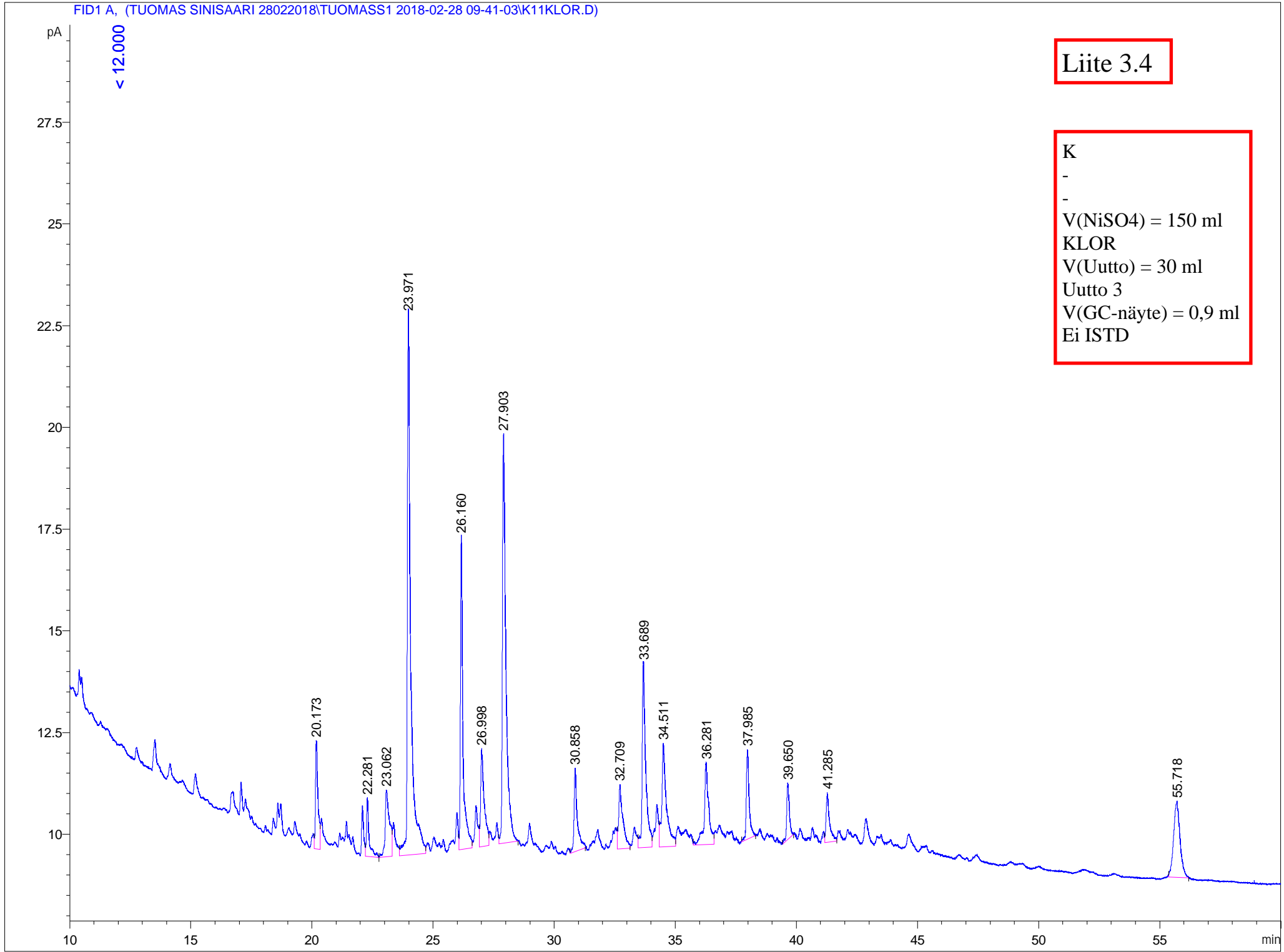
Liite 3.2

K
-
-
V(NiSO4) = 150 ml
DETH
V(Uutto) = 30 ml
Uutto 3
V(GC-näyte) = 0,9 ml
Ei ISTD

Liite 3.3

K
-
-
V(NiSO4) = 150 ml
HEKS
V(Uutto) = 30 ml
Uutto 3
V(GC-näyte) = 0,9 ml
Ei ISTD







Liite 4.1

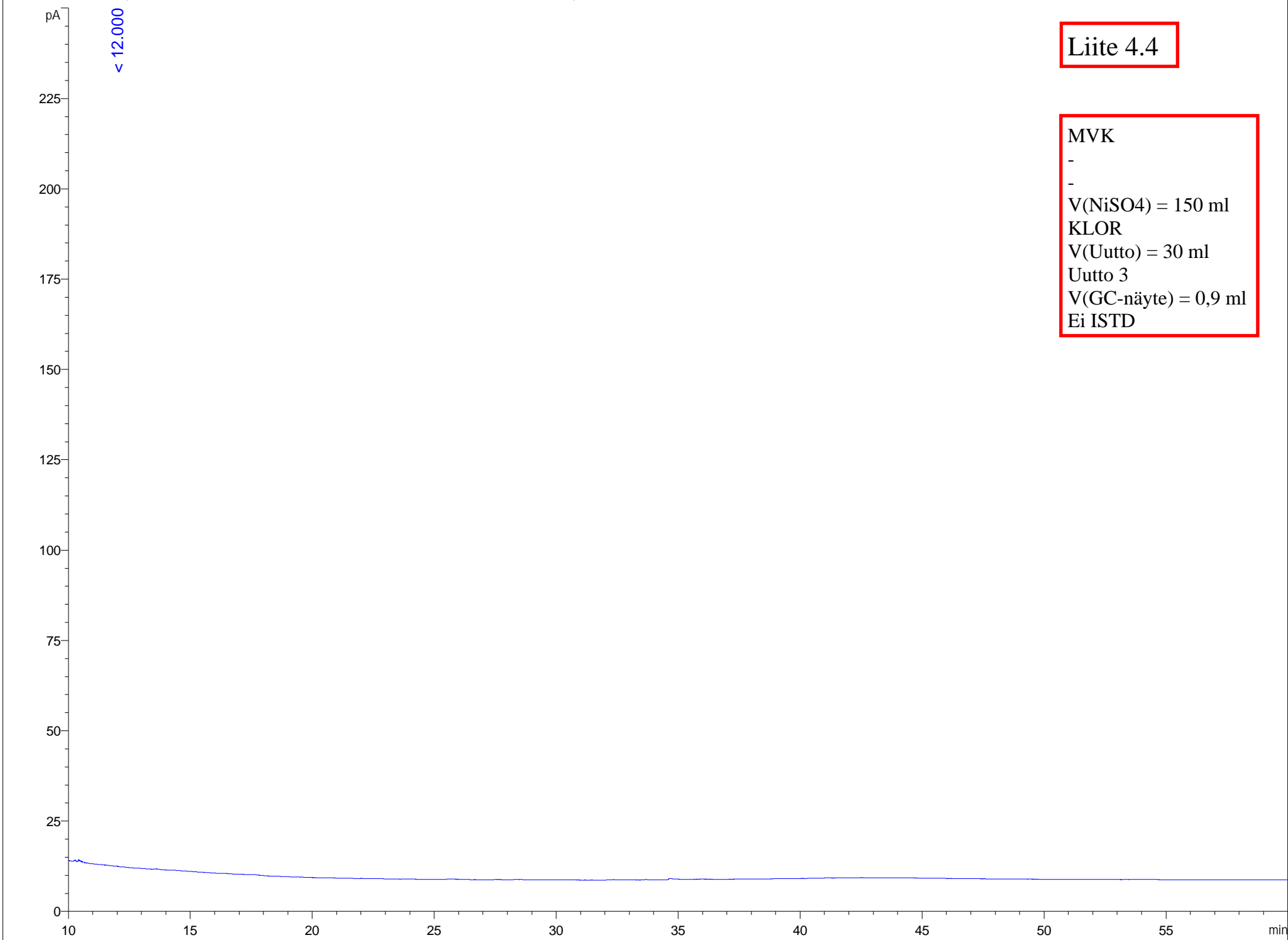
MVK
-
-
V(NiSO4) = 150 ml
MTBE
V(Uutto) = 30 ml
Uutto 3
V(GC-näyte) = 0,9 ml
Ei ISTD

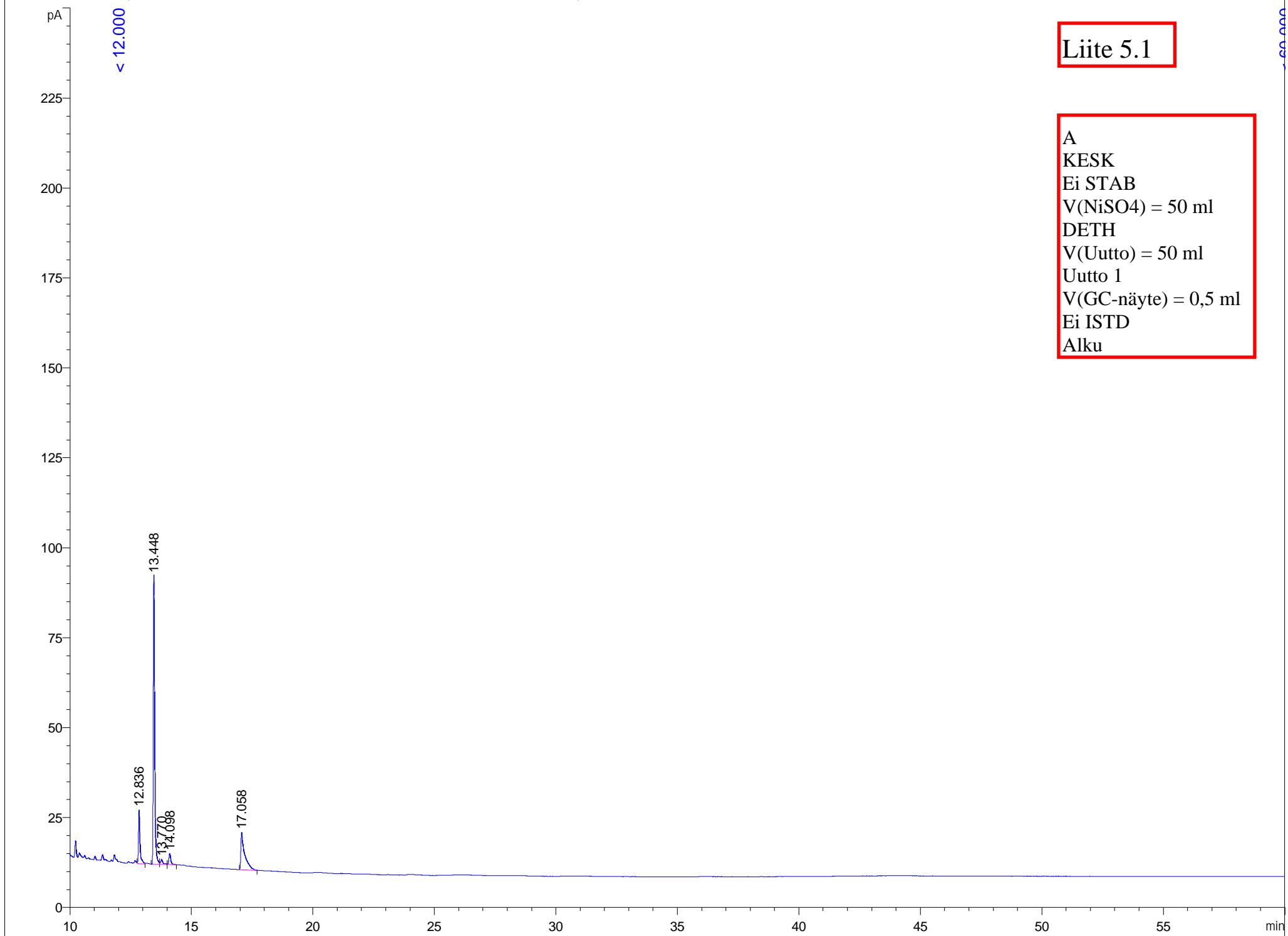




Liite 4.3

MVK
-
-
V(NiSO4) = 150 ml
HEKS
V(Uutto) = 30 ml
Uutto 3
V(GC-näyte) = 0,9 ml
Ei ISTD





Liite 5.1

A
KESK
Ei STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
Ei ISTD
Alku



Liite 5.2

A
KESK
On STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
Ei ISTD
Alku



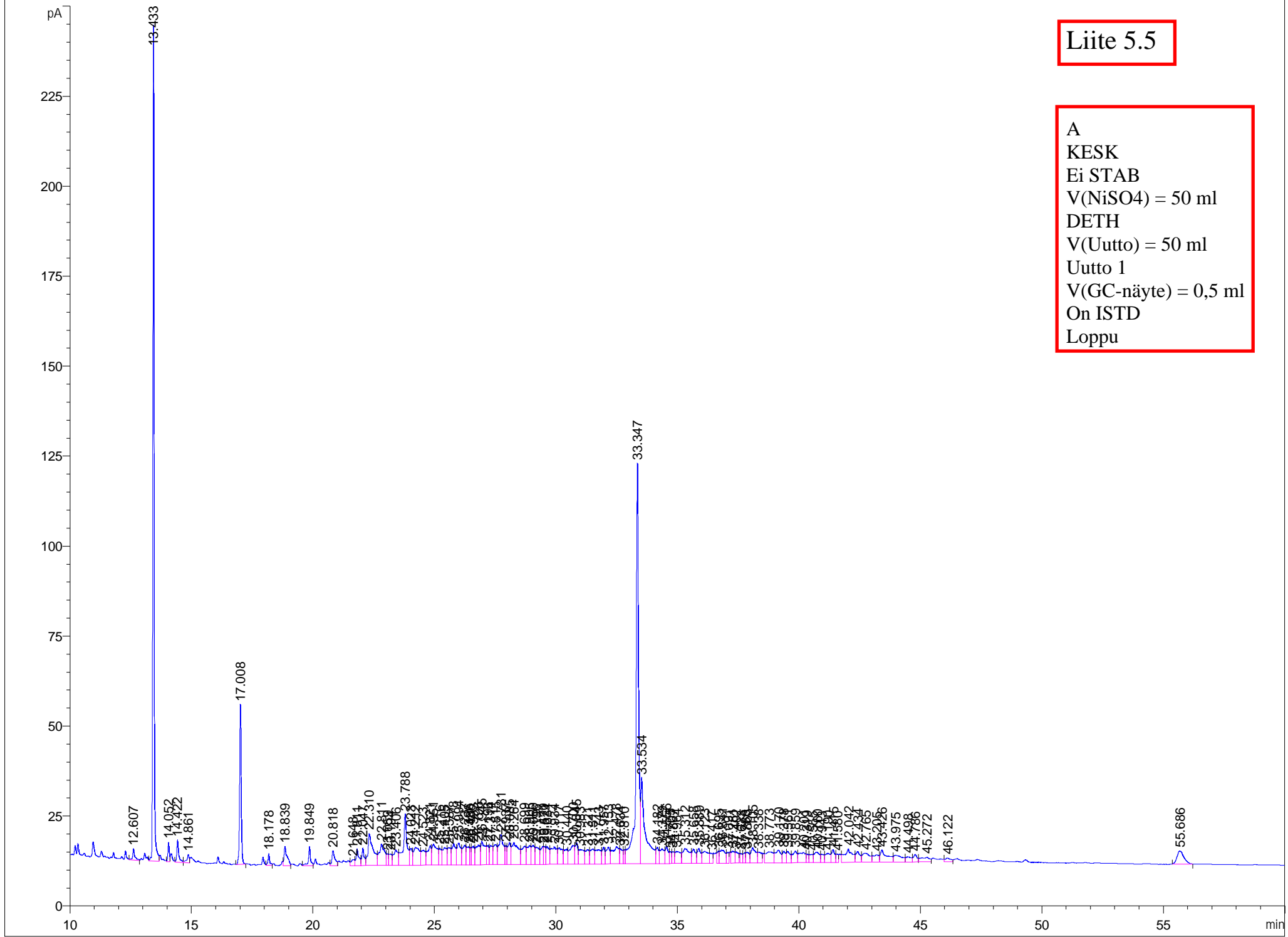
Liite 5.3

B
KESK
Ei STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
Ei ISTD
Alku



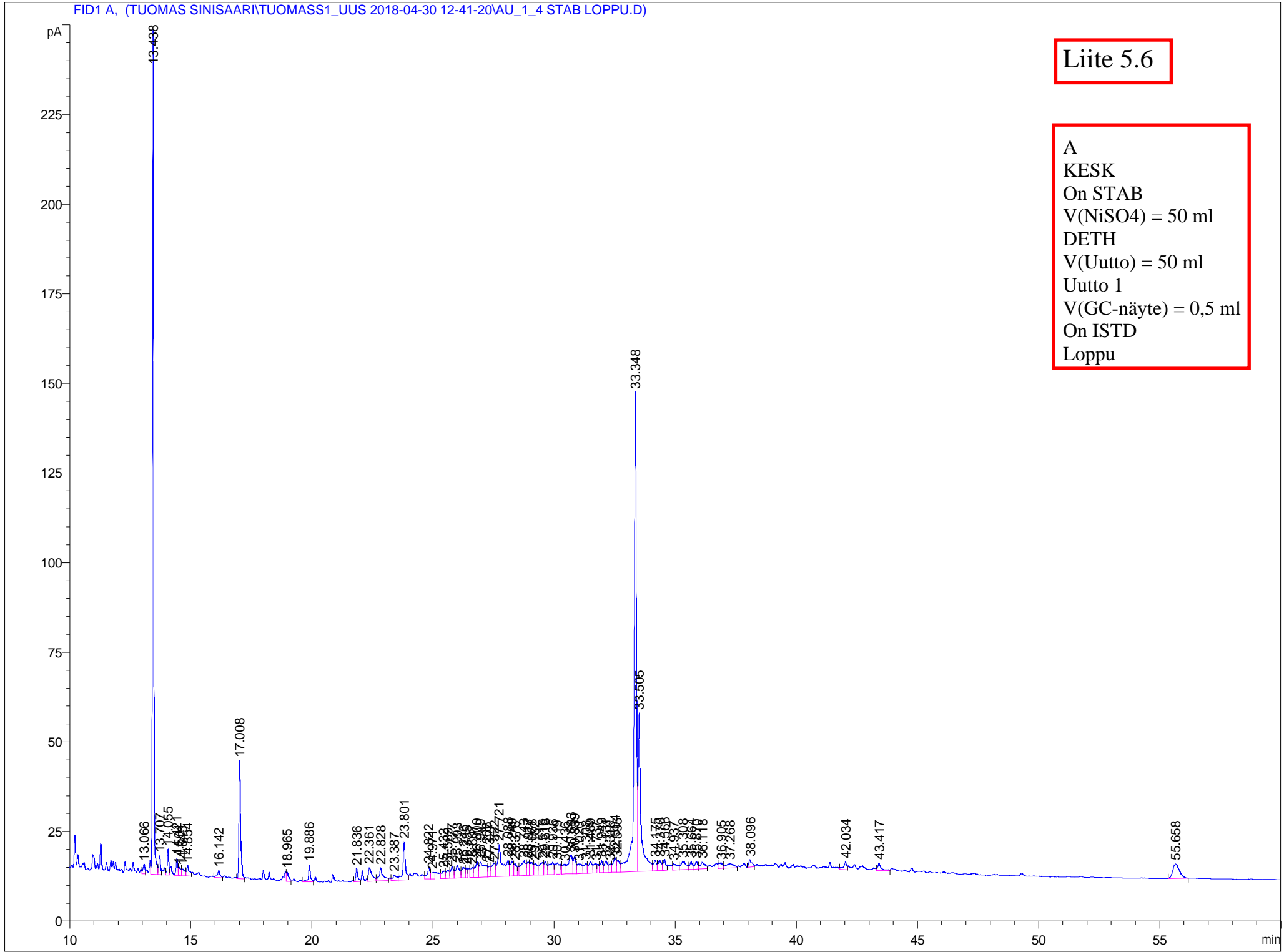
Liite 5.4

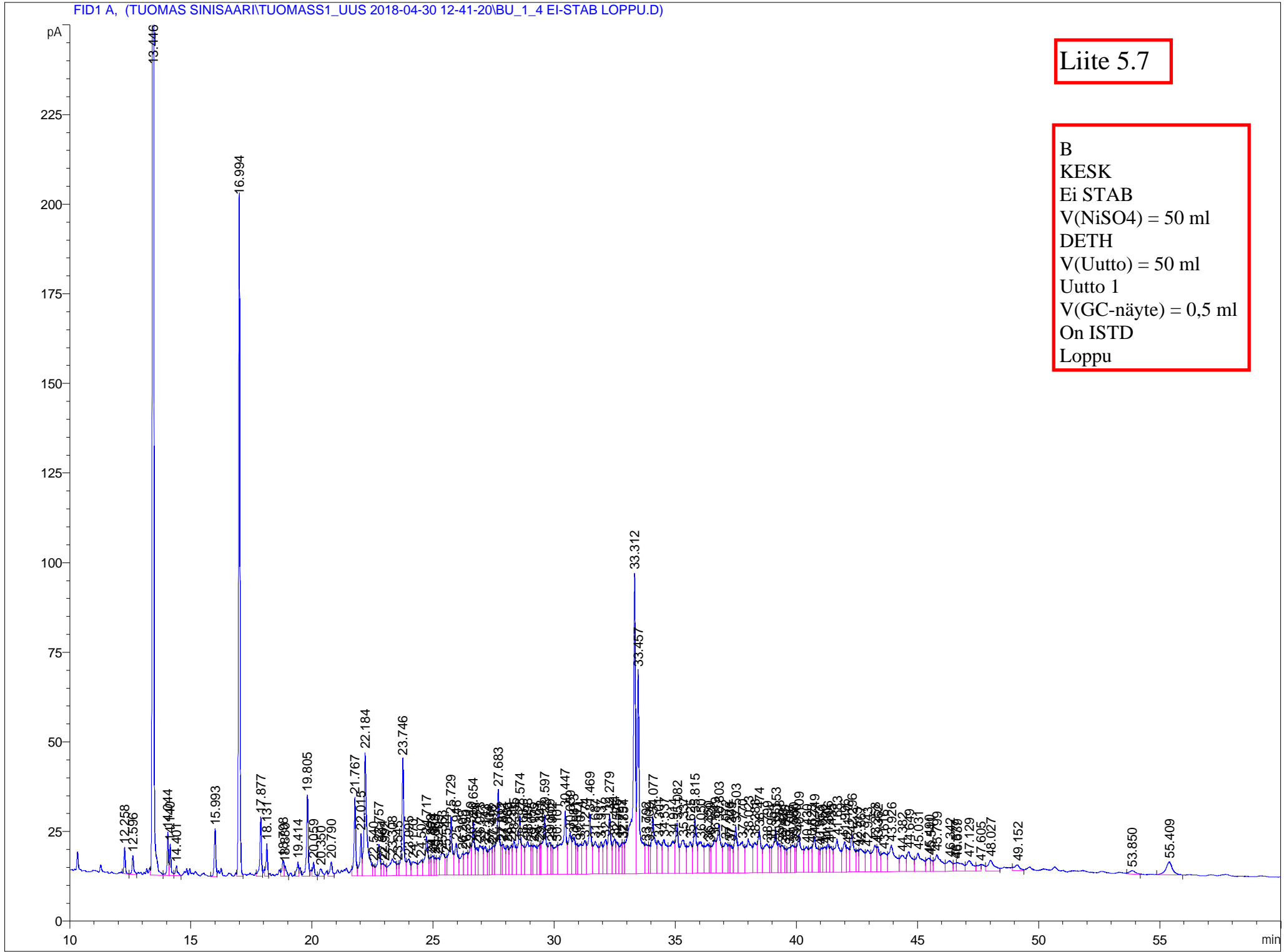
B
KESK
On STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
Ei ISTD
Alku



Liite 5.5

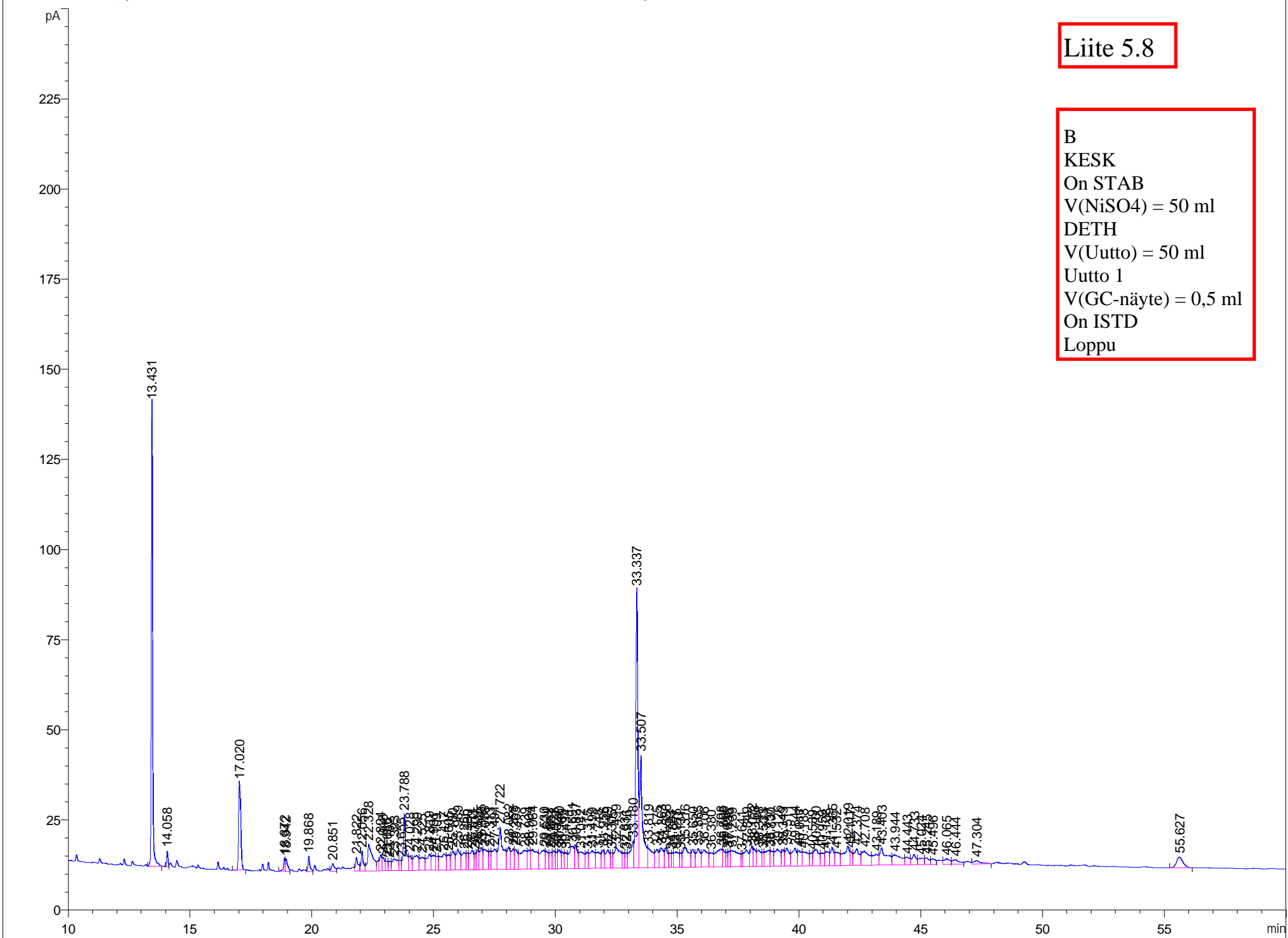
A
KESK
Ei STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
On ISTD
Loppu





Liite 5.7

B
KESK
Ei STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
On ISTD
Loppu



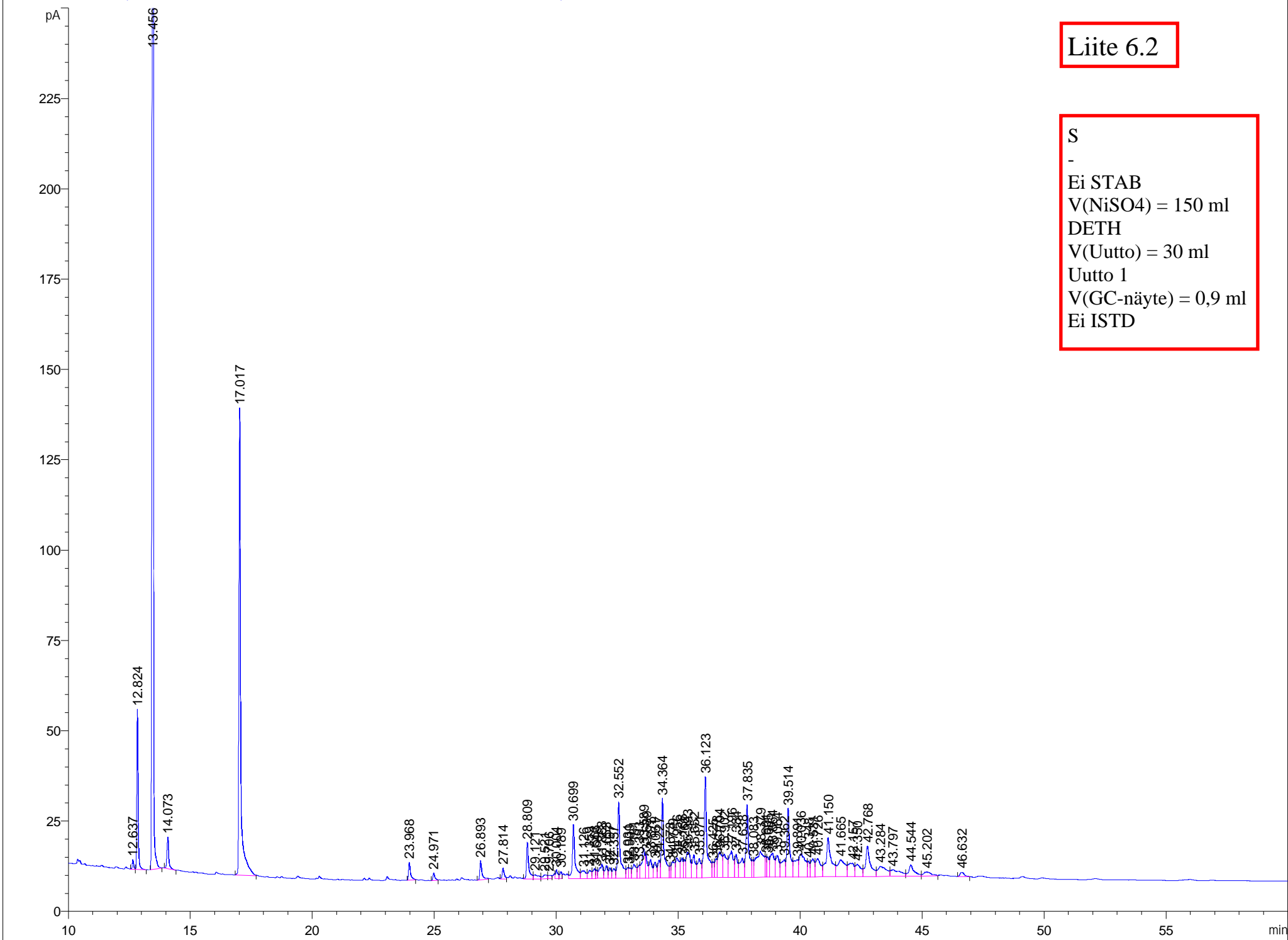
Liite 5.8

B
KESK
On STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
On ISTD
Loppu



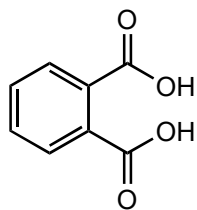
Liite 6.1

S
-
Ei STAB
V(NiSO4) = 150 ml
MTBE
V(Uutto) = 30 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,9 ml
Ei ISTD

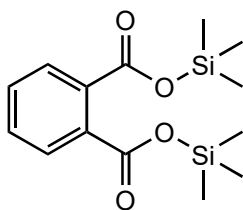


Liite 6.2

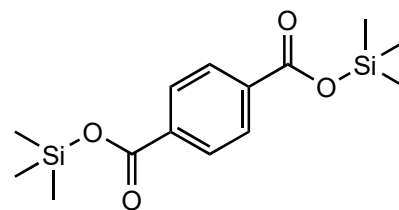
S
-
Ei STAB
V(NiSO4) = 150 ml
DETH
V(Uutto) = 30 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,9 ml
Ei ISTD



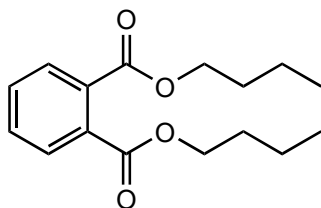
1,2-bentseenidikarboksylihappo



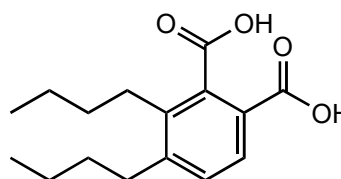
1,2-bentseenidikarboksylihappo,
bis(trimetyylisilyyli)esteri



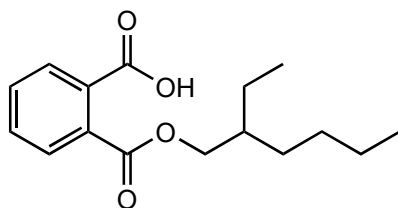
1,4-bentseenidikarboksylihappo,
bis(trimetyylisilyyli)esteri



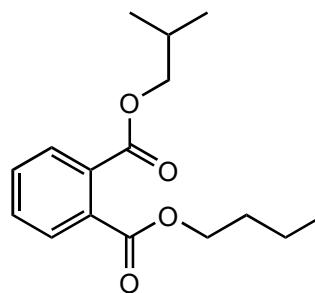
1,2-bentseenidikarboksylihappo,
dibutyliesteri



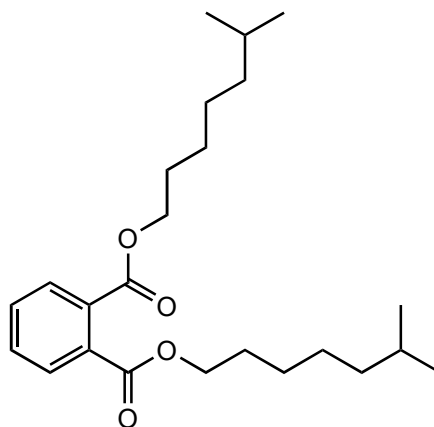
1,2-bentseenidikarboksylihappo,
5,6-dibutyli



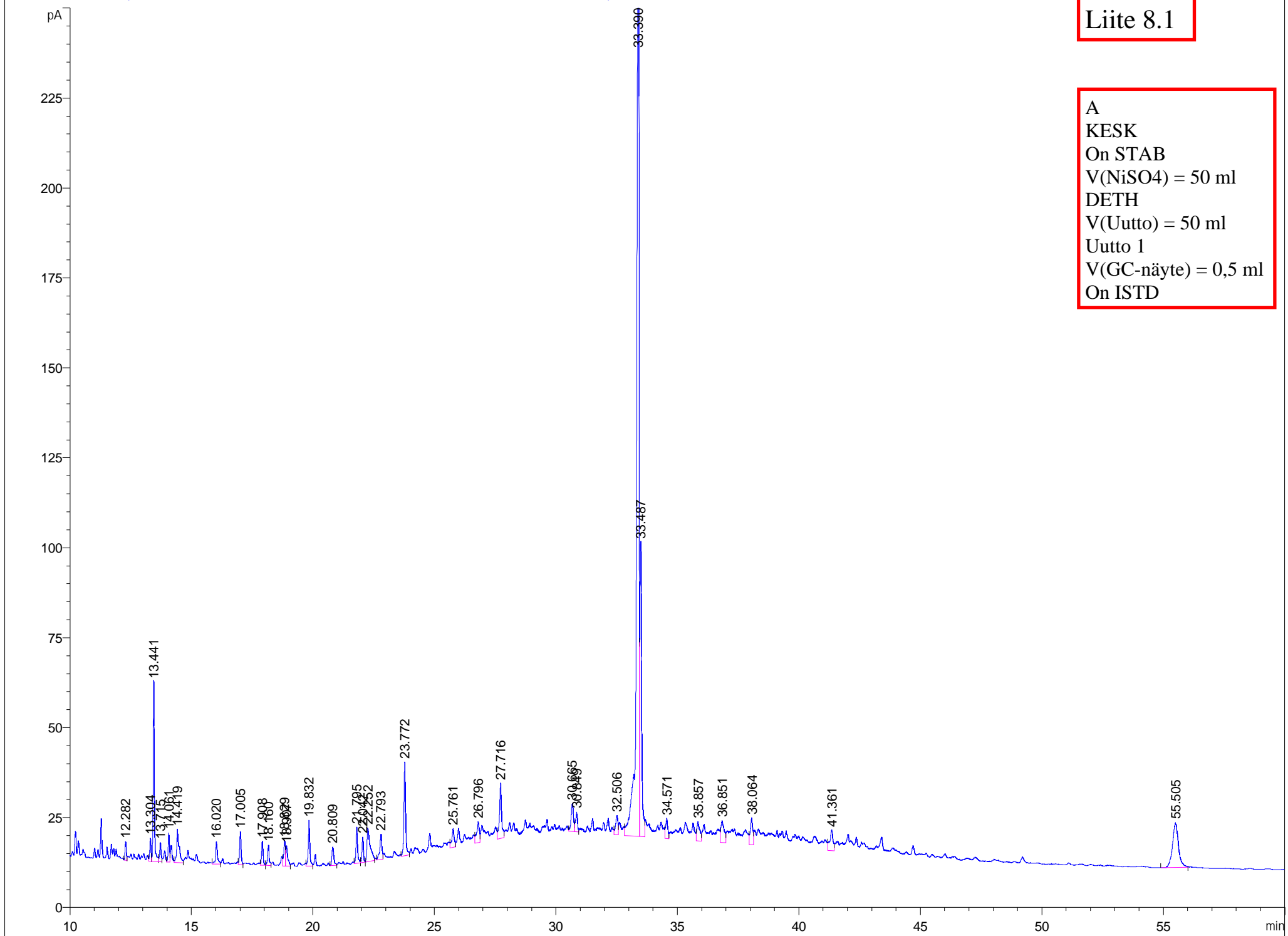
1,2-bentseenidikarboksylihappo,
mono (2-etyyliheksyyli)esteri



1,2-bentseenidikarboksylihappo,
butyyli 2-metyylipropyliesteri

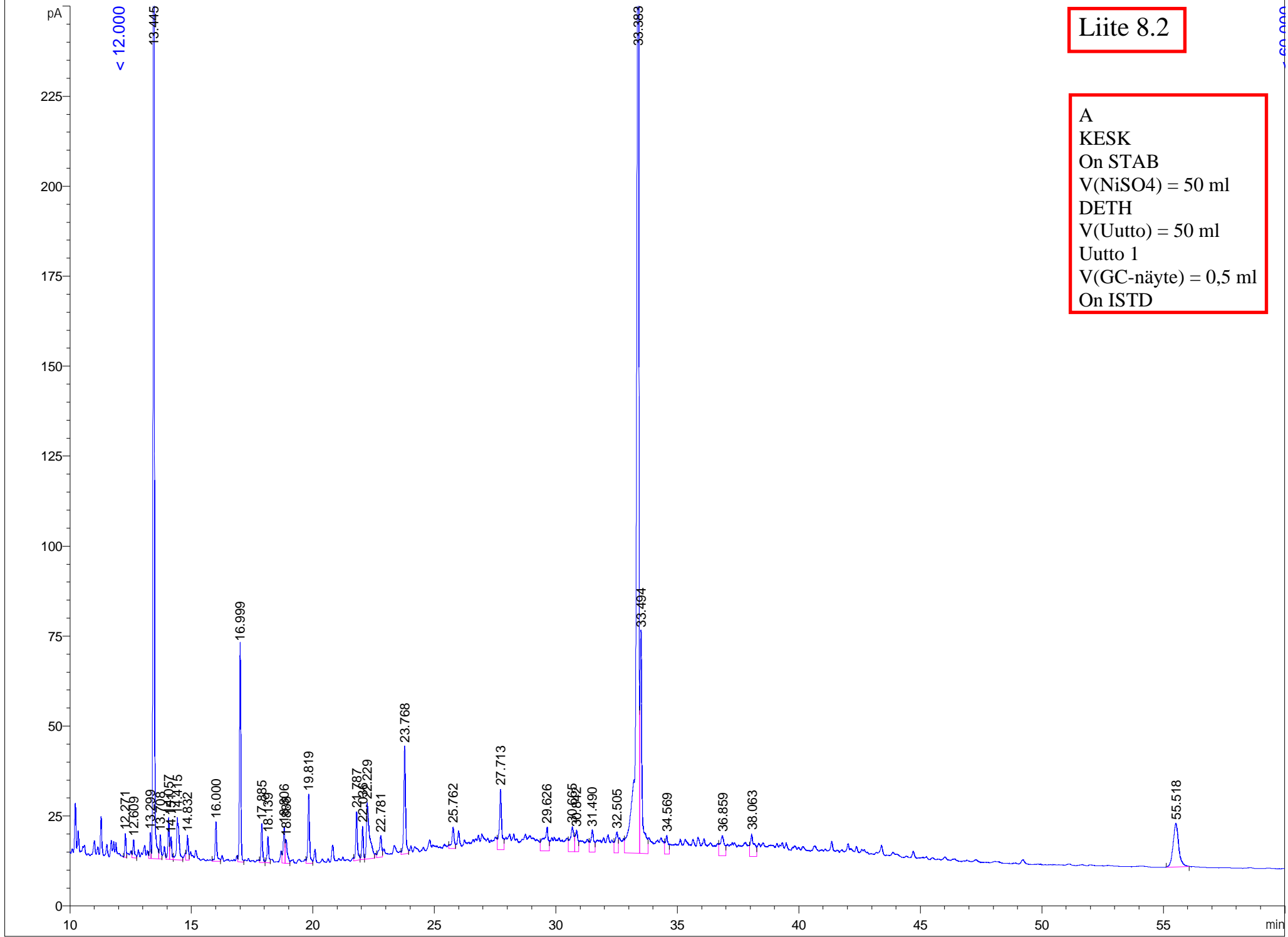


1,2-bentseenidikarboksylihappo,
di-iso-oktyliesteri



Liite 8.1

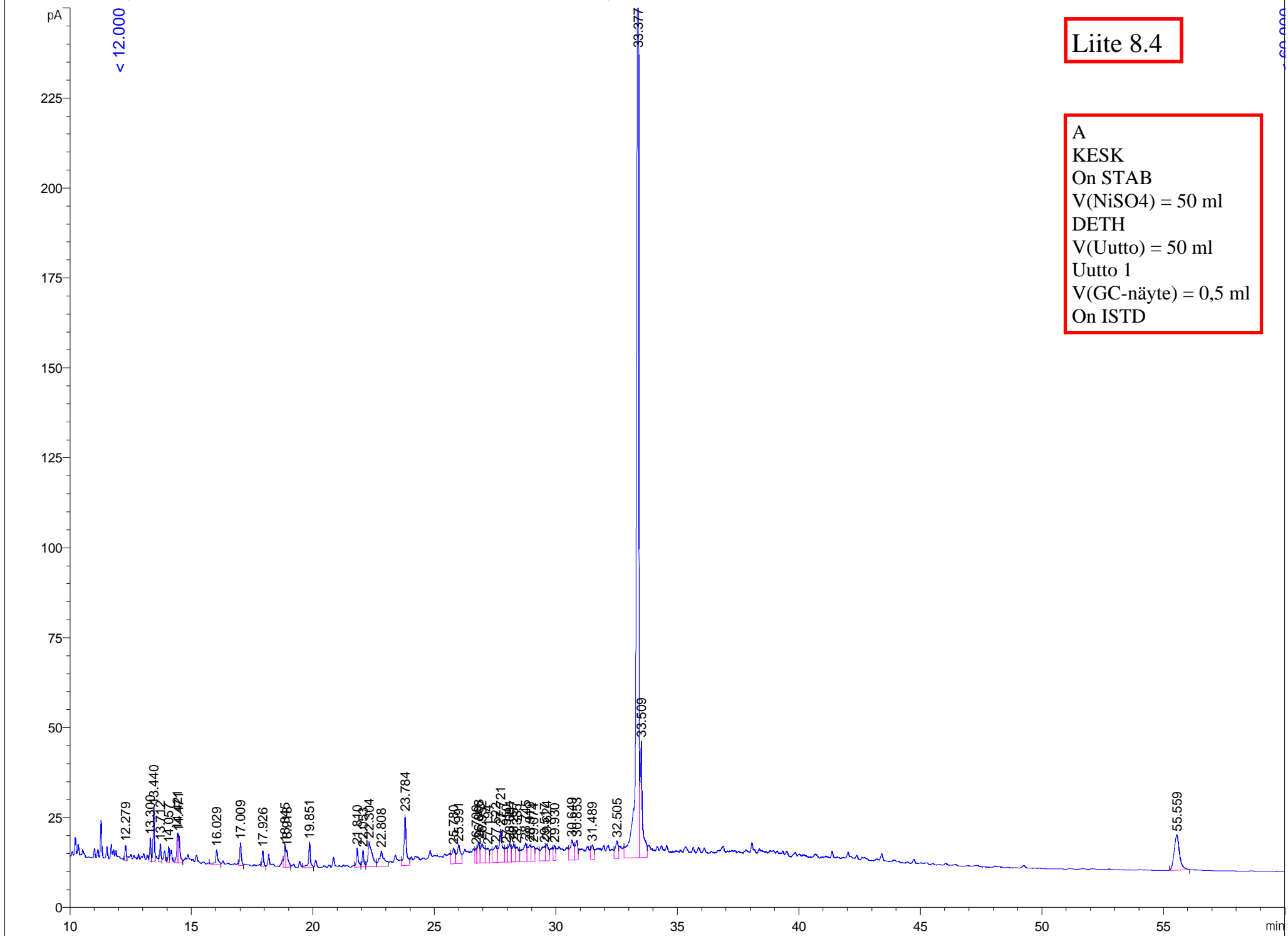
A
KESK
On STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
On ISTD



Liite 8.2

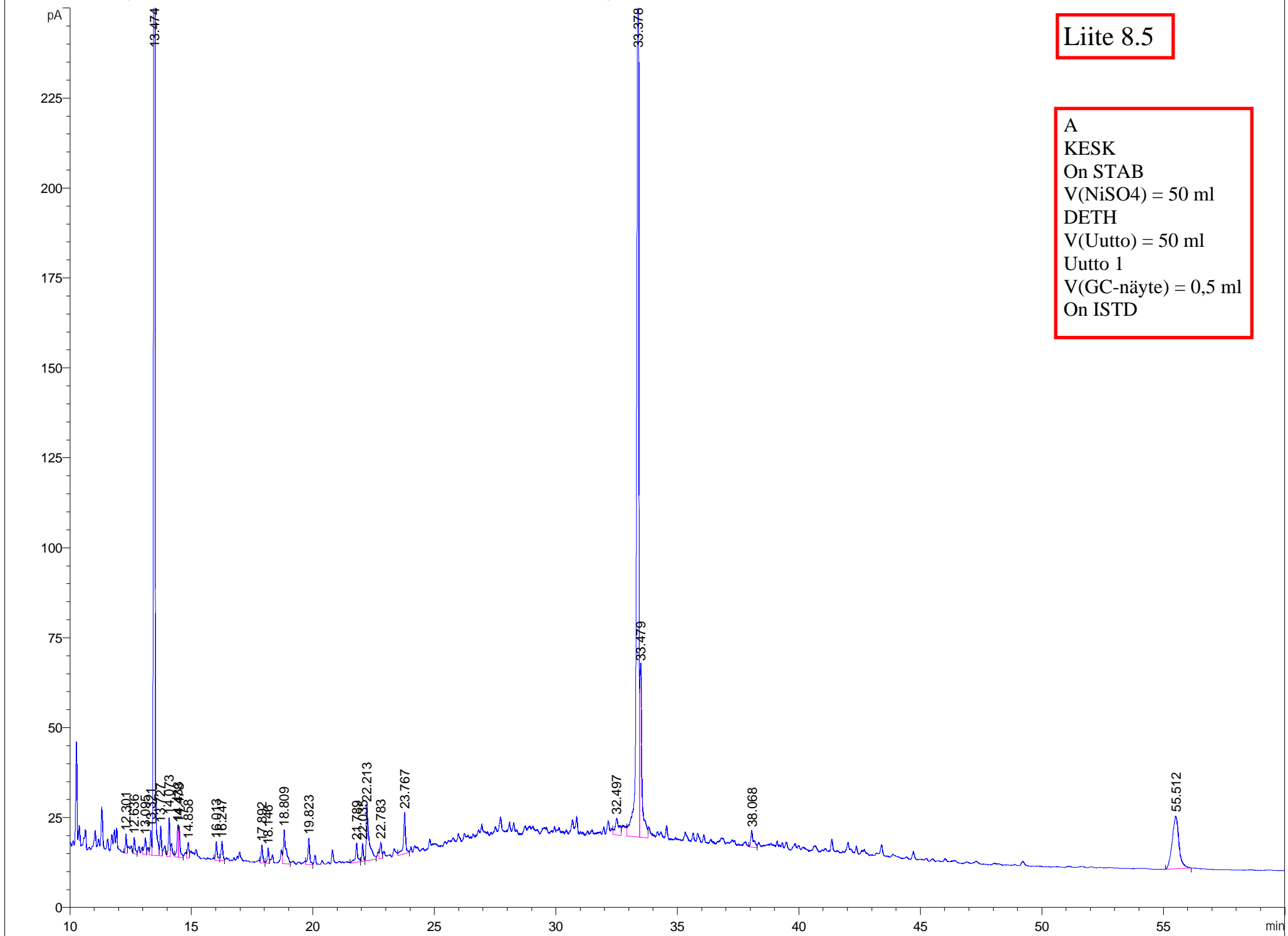
A
KESK
On STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
On ISTD





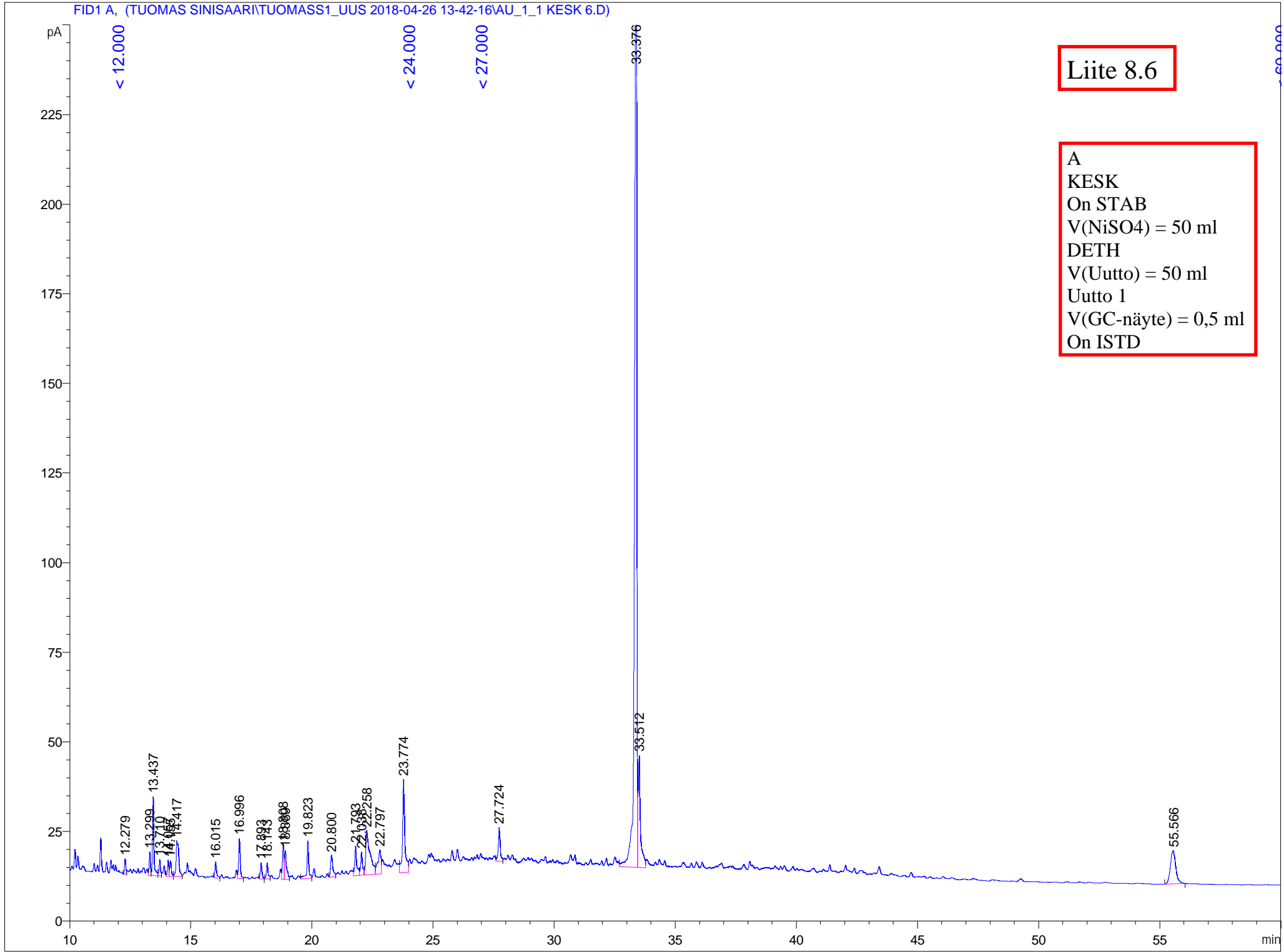
Liite 8.4

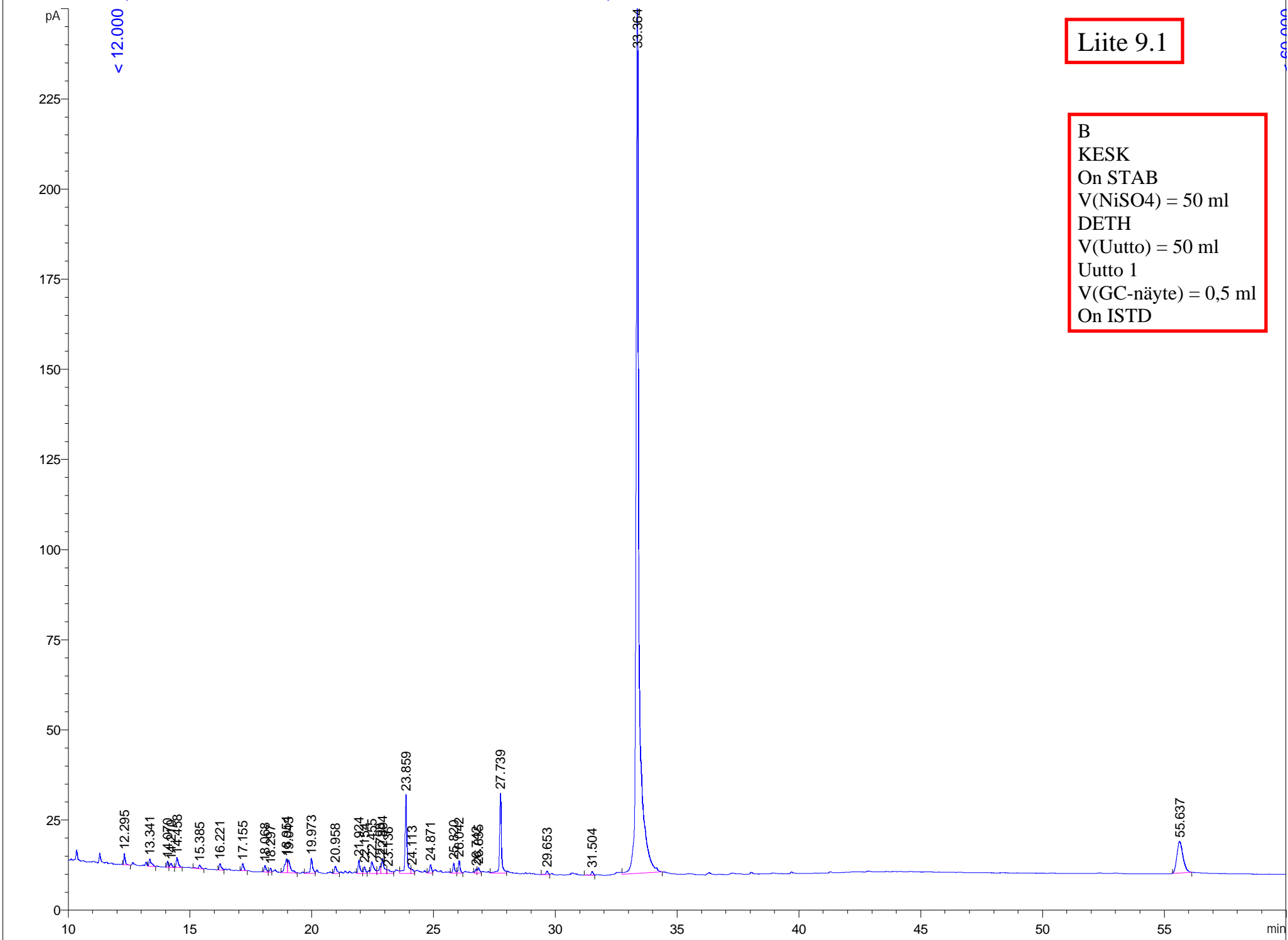
A
KESK
On STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
On ISTD

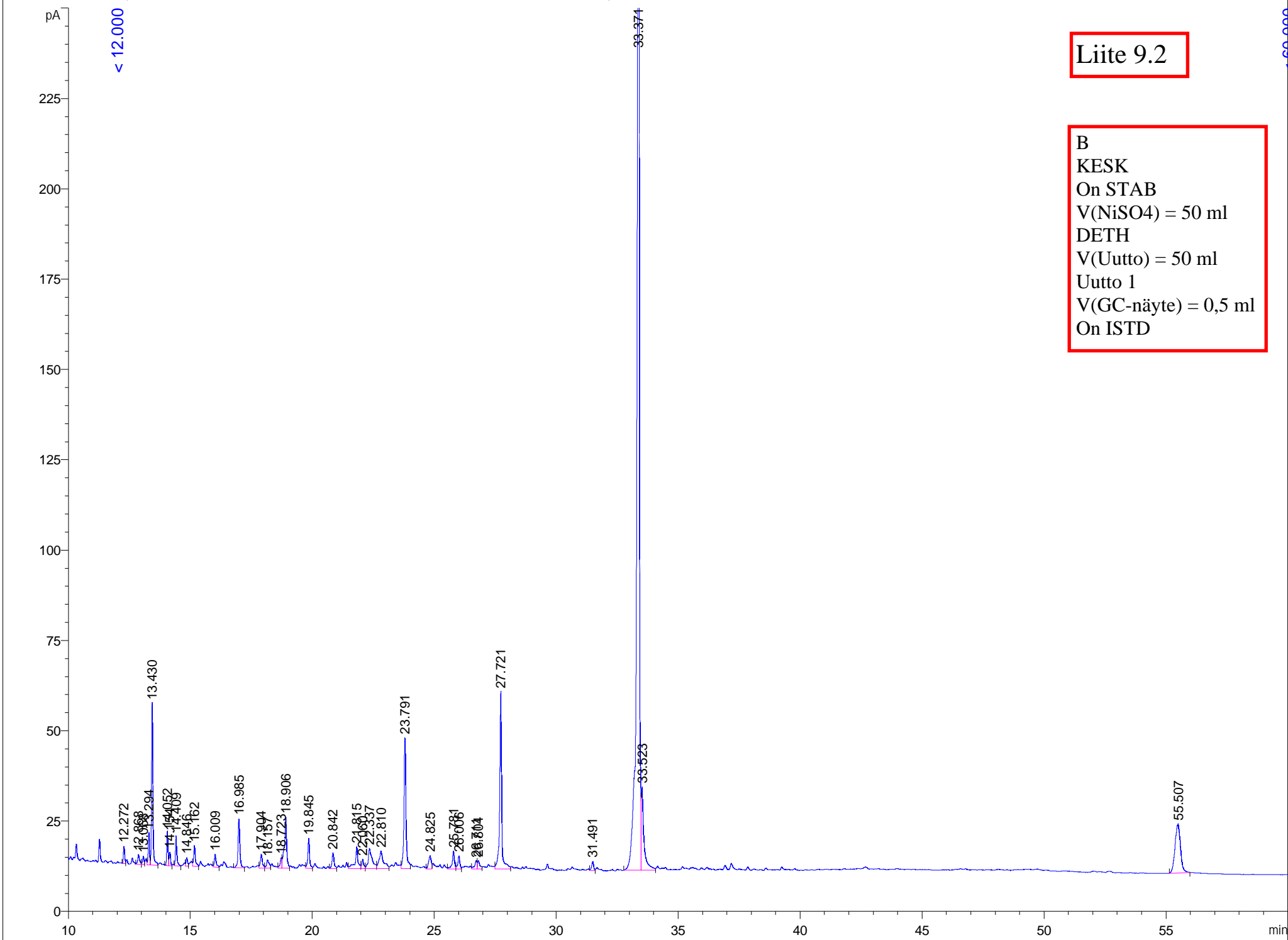


Liite 8.5

A
KESK
On STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
On ISTD

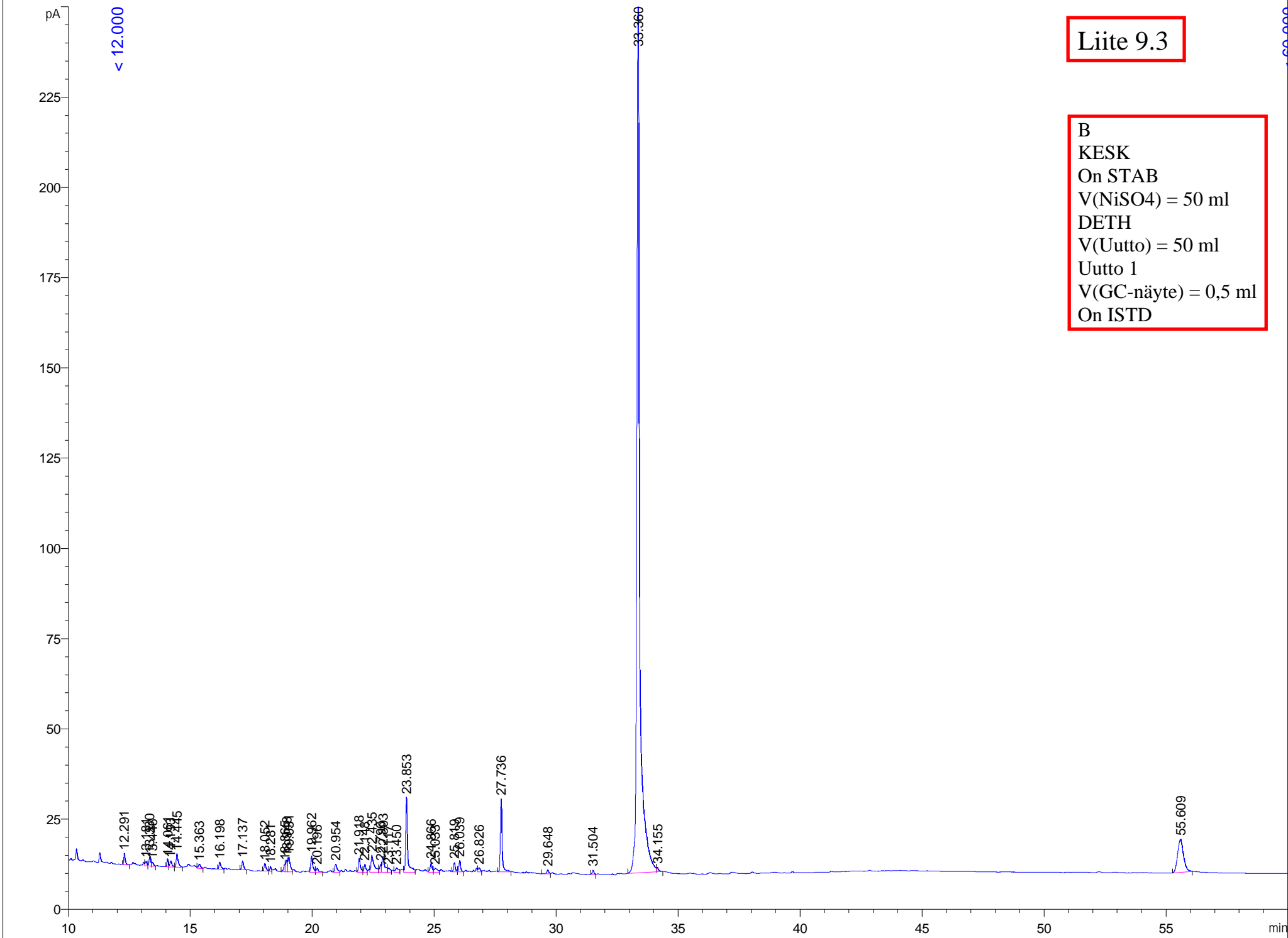






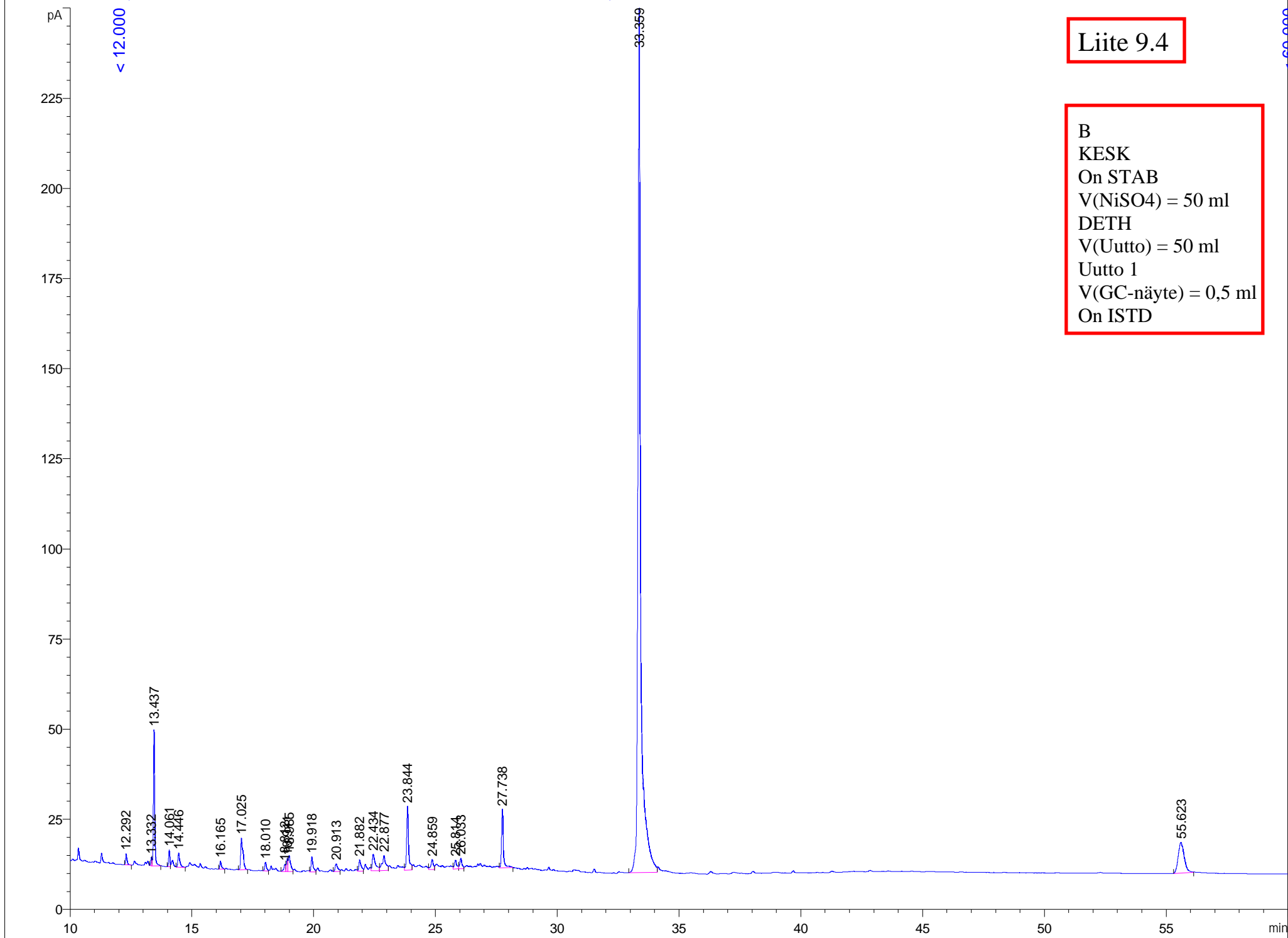
Liite 9.2

B
KESK
On STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
On ISTD



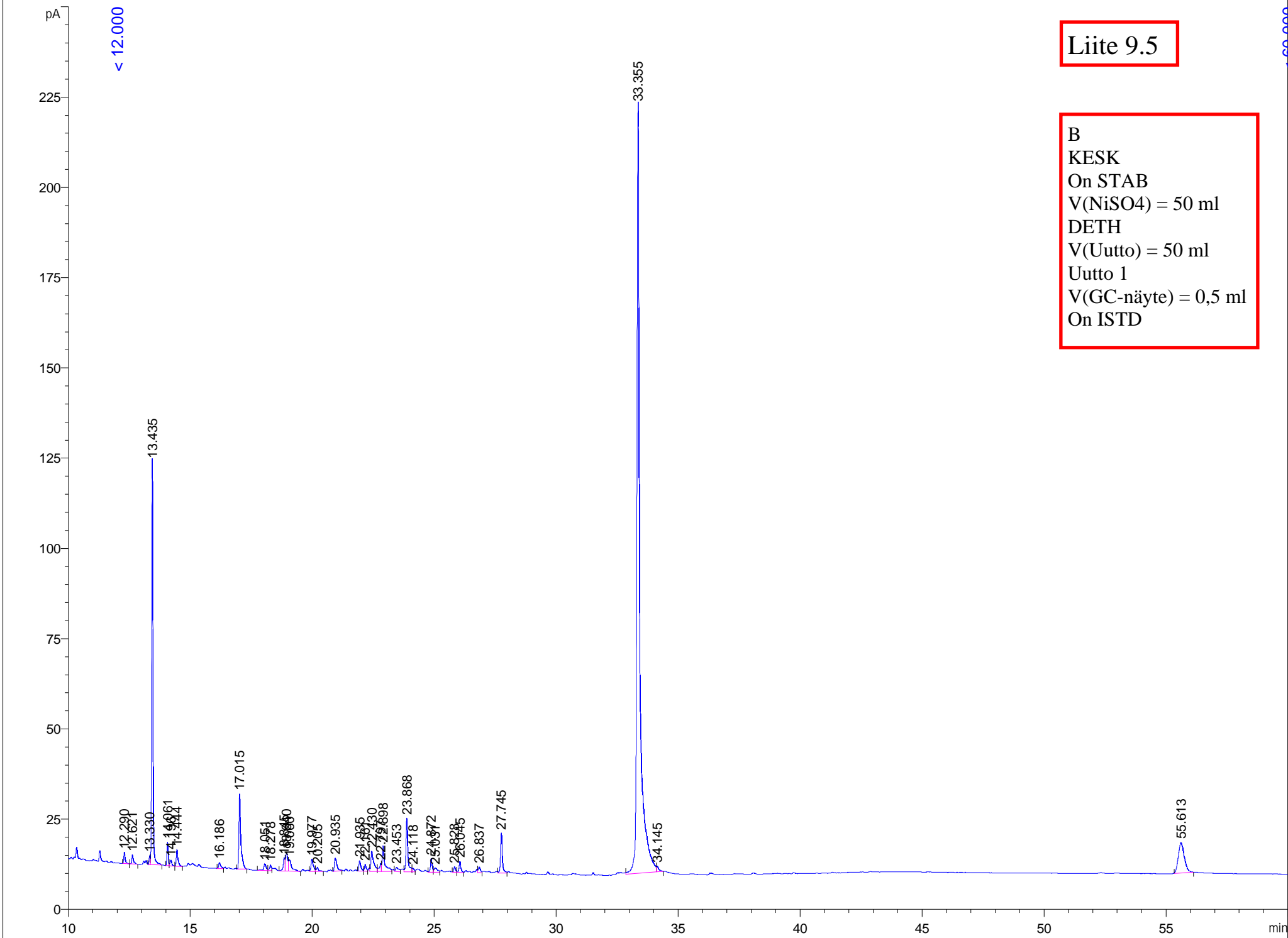
Liite 9.3

B
KESK
On STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
On ISTD



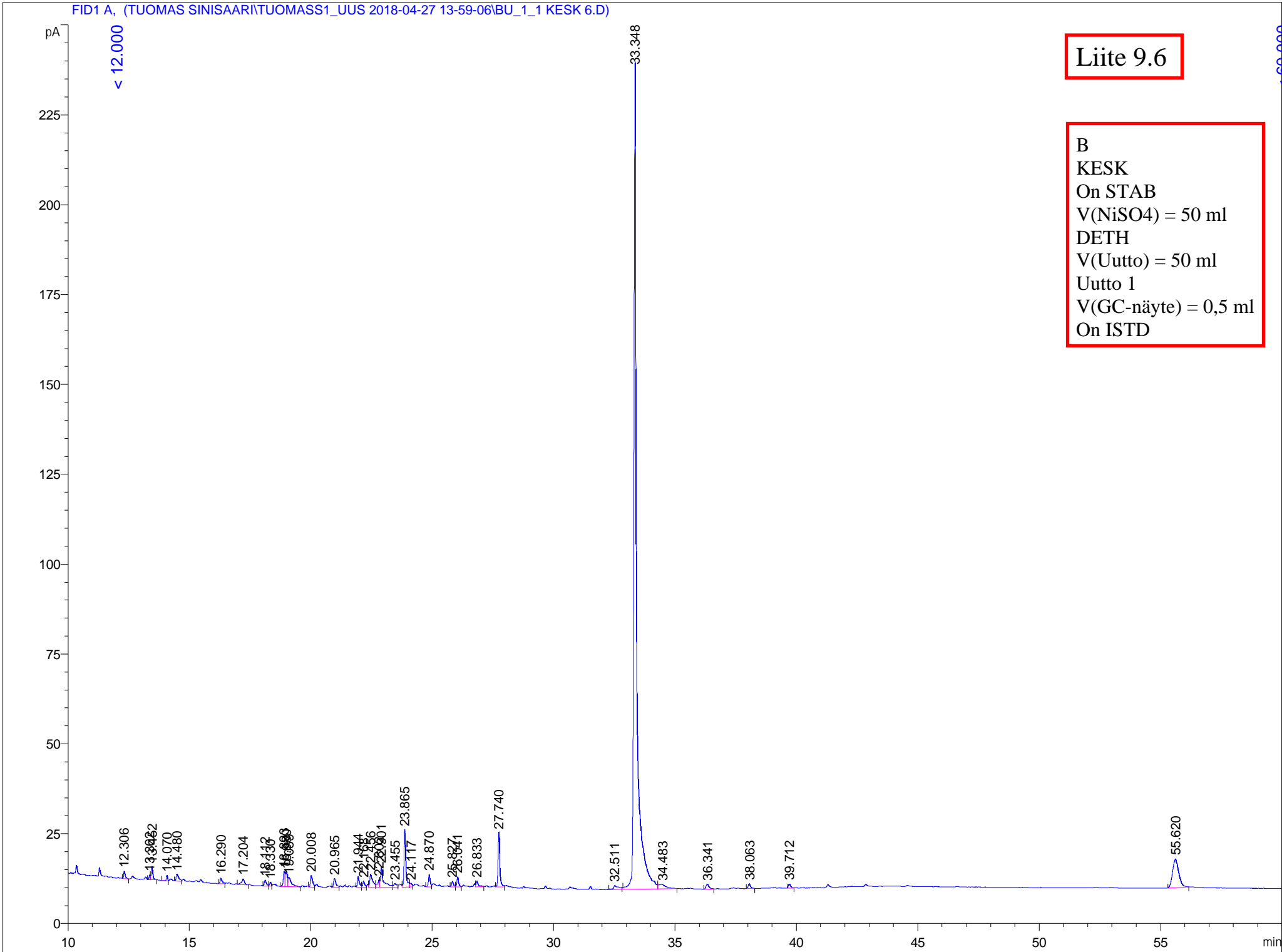
Liite 9.4

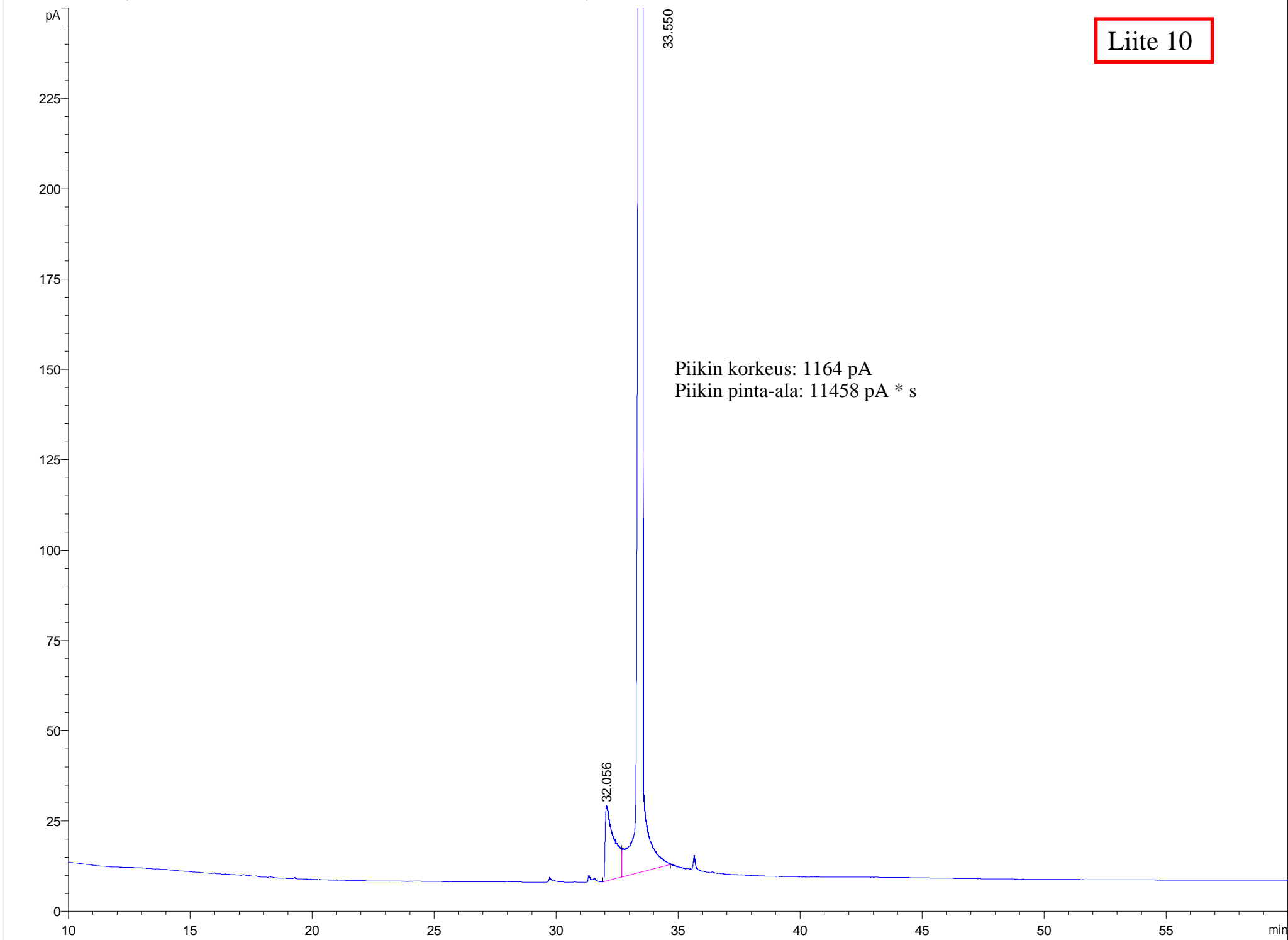
B
KESK
On STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
On ISTD



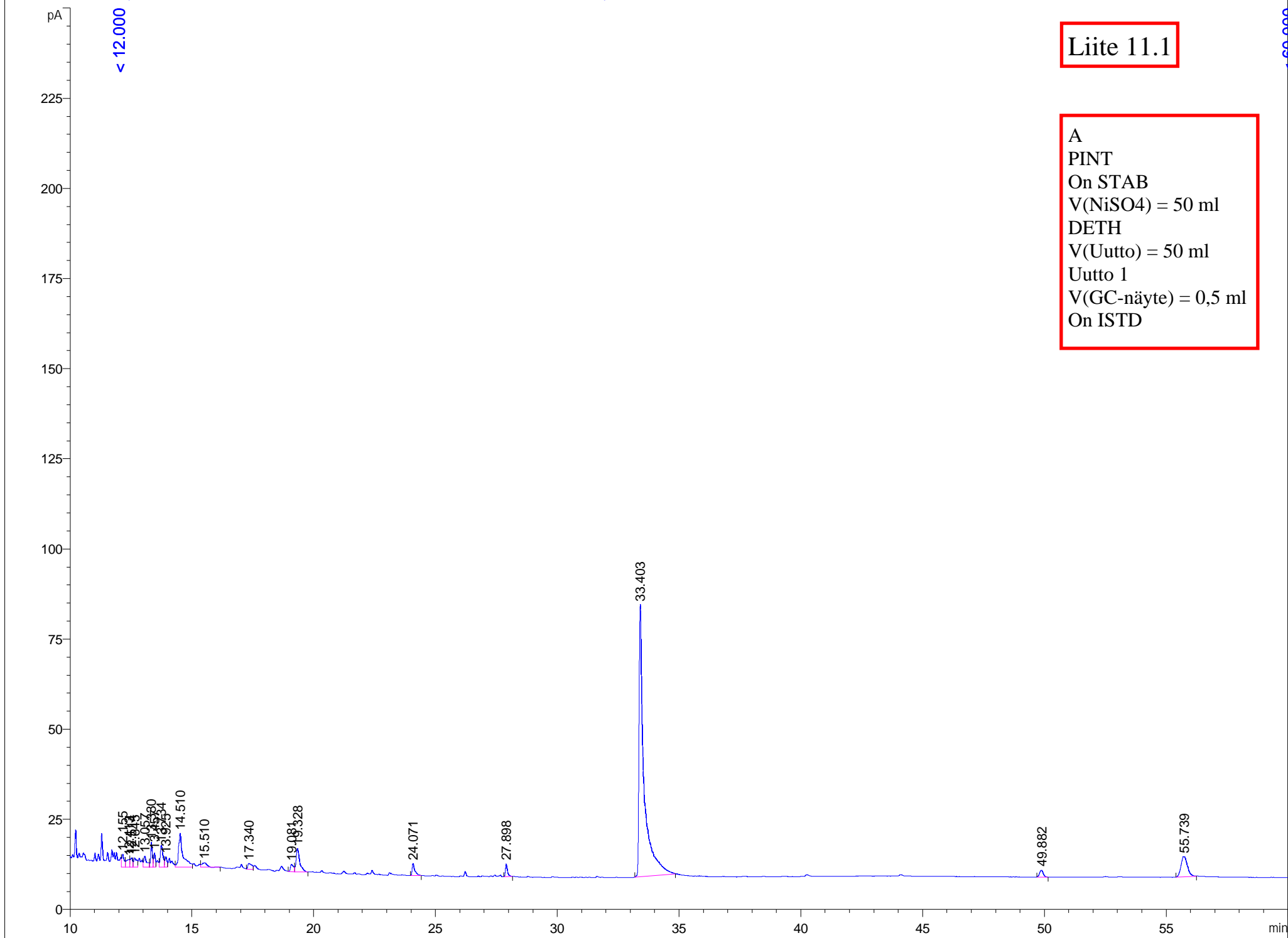
Liite 9.5

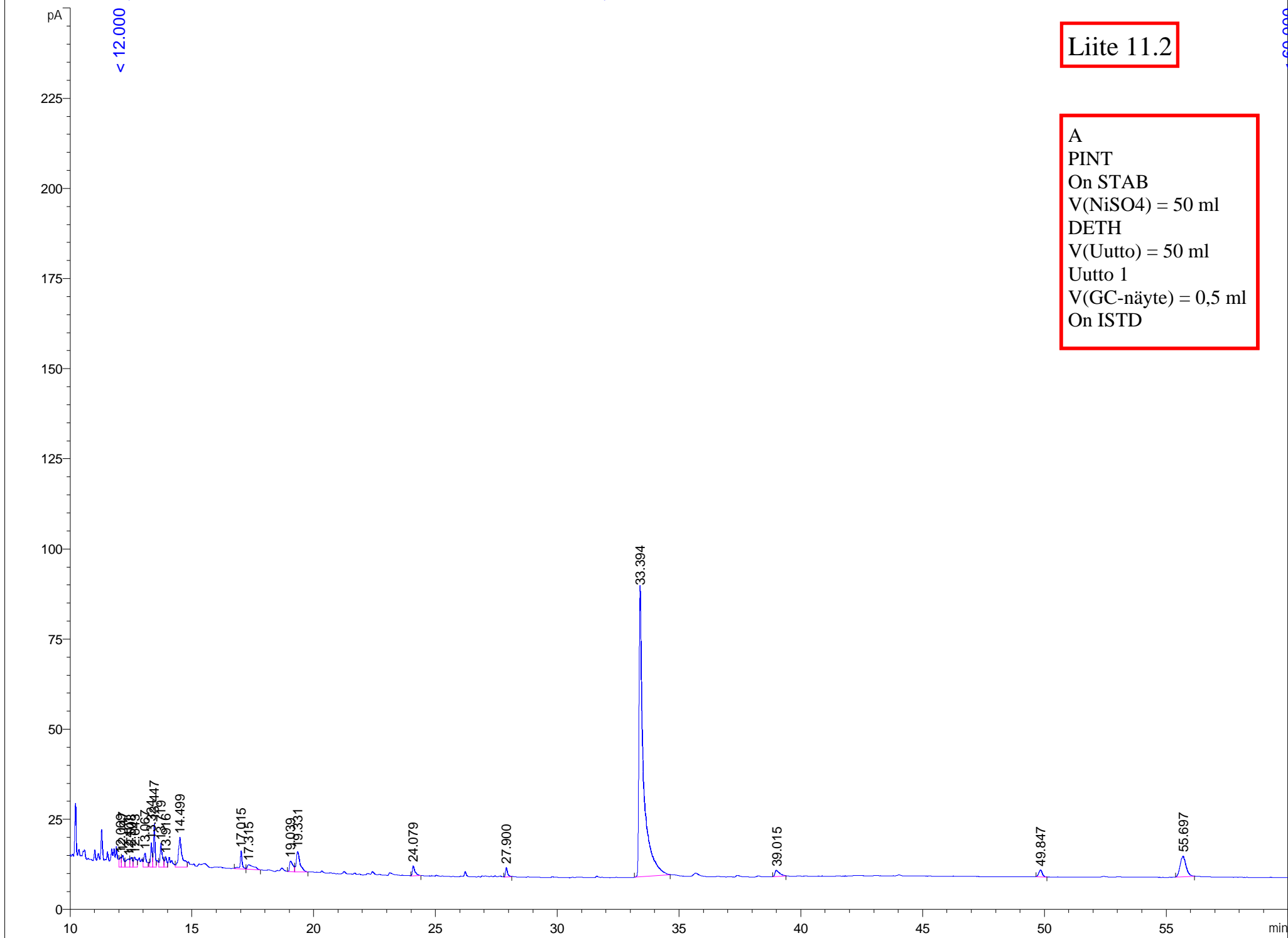
B
KESK
On STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
On ISTD





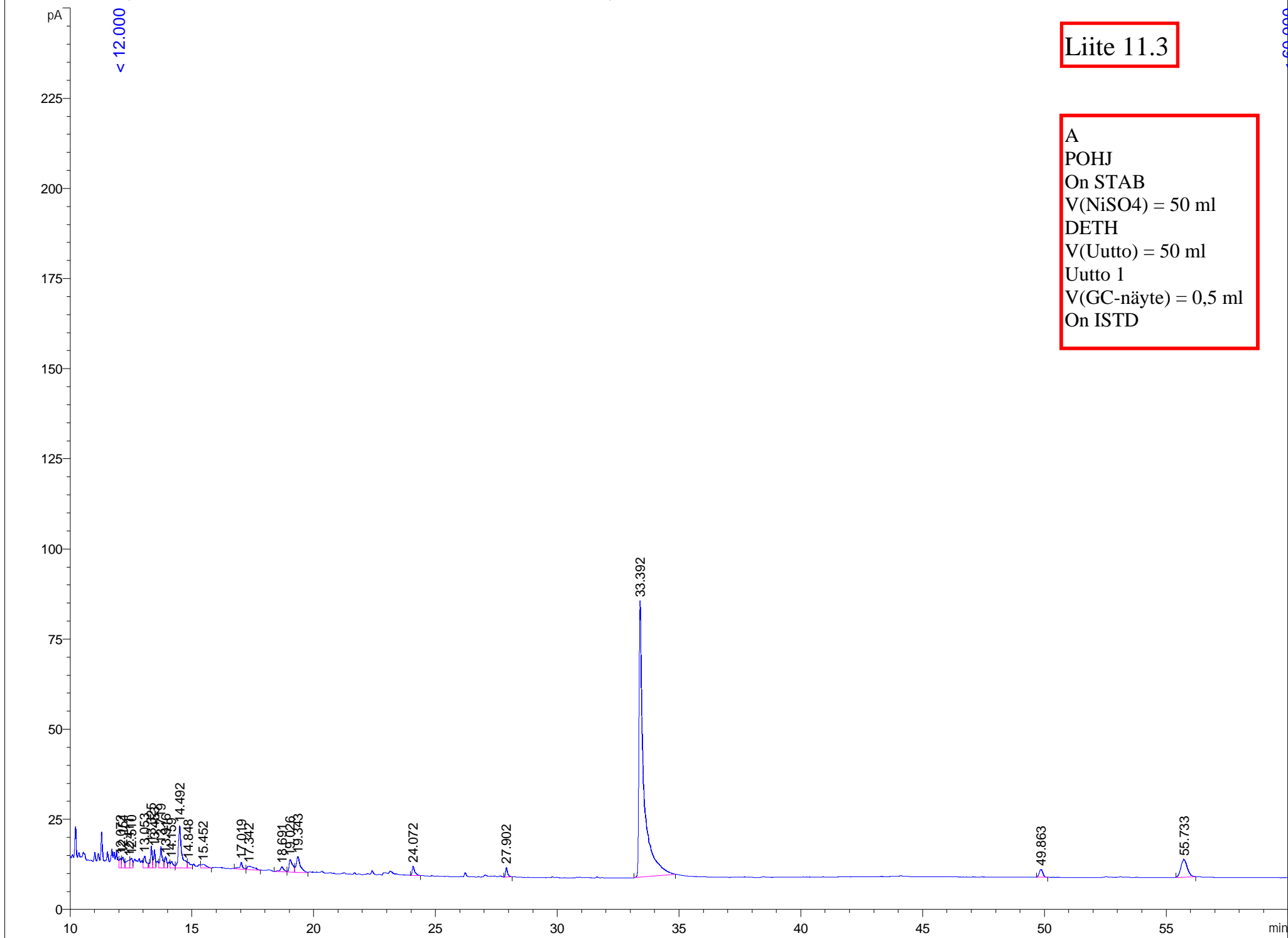
Liite 10





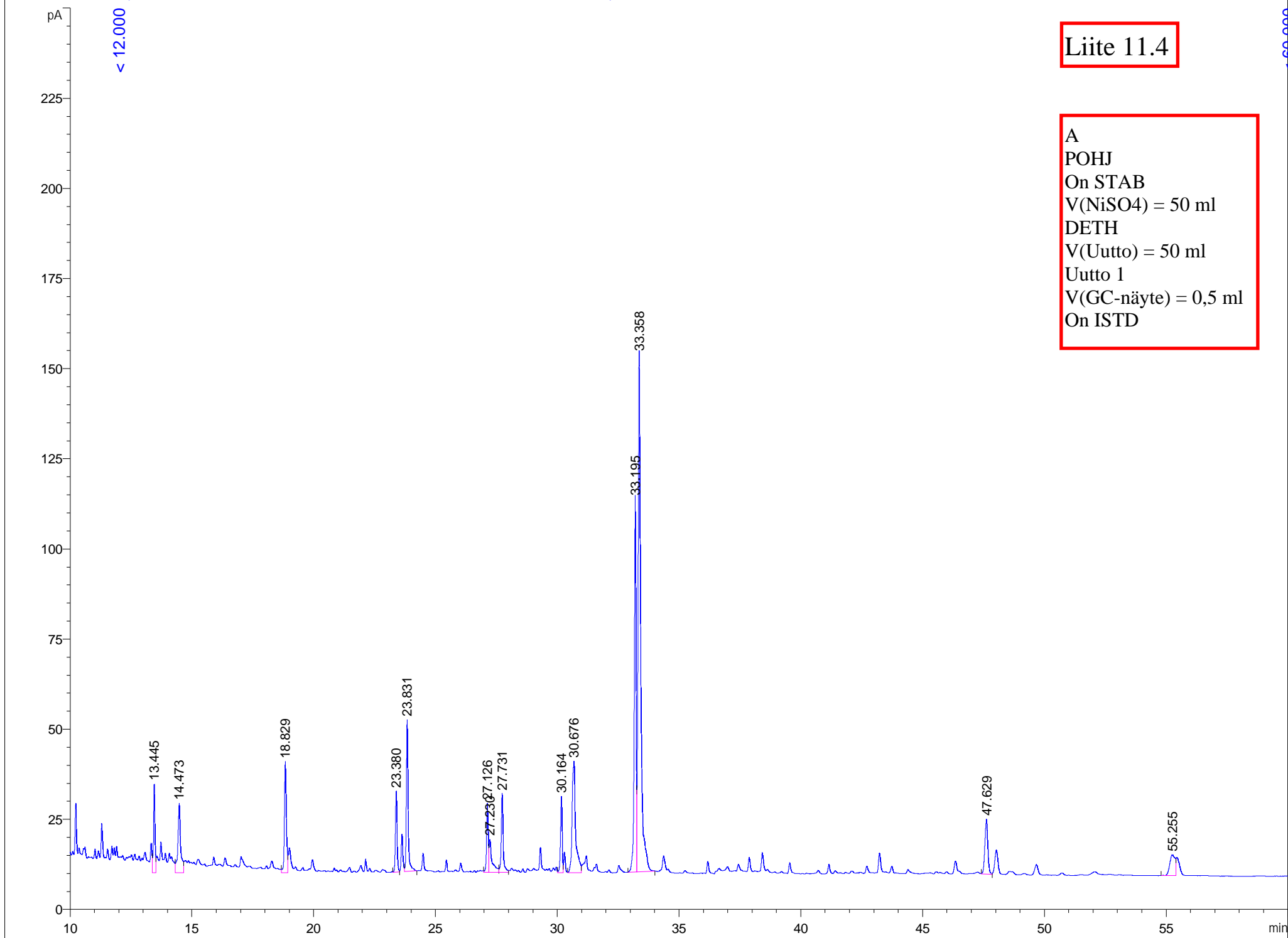
Liite 11.2

A
PINT
On STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
On ISTD



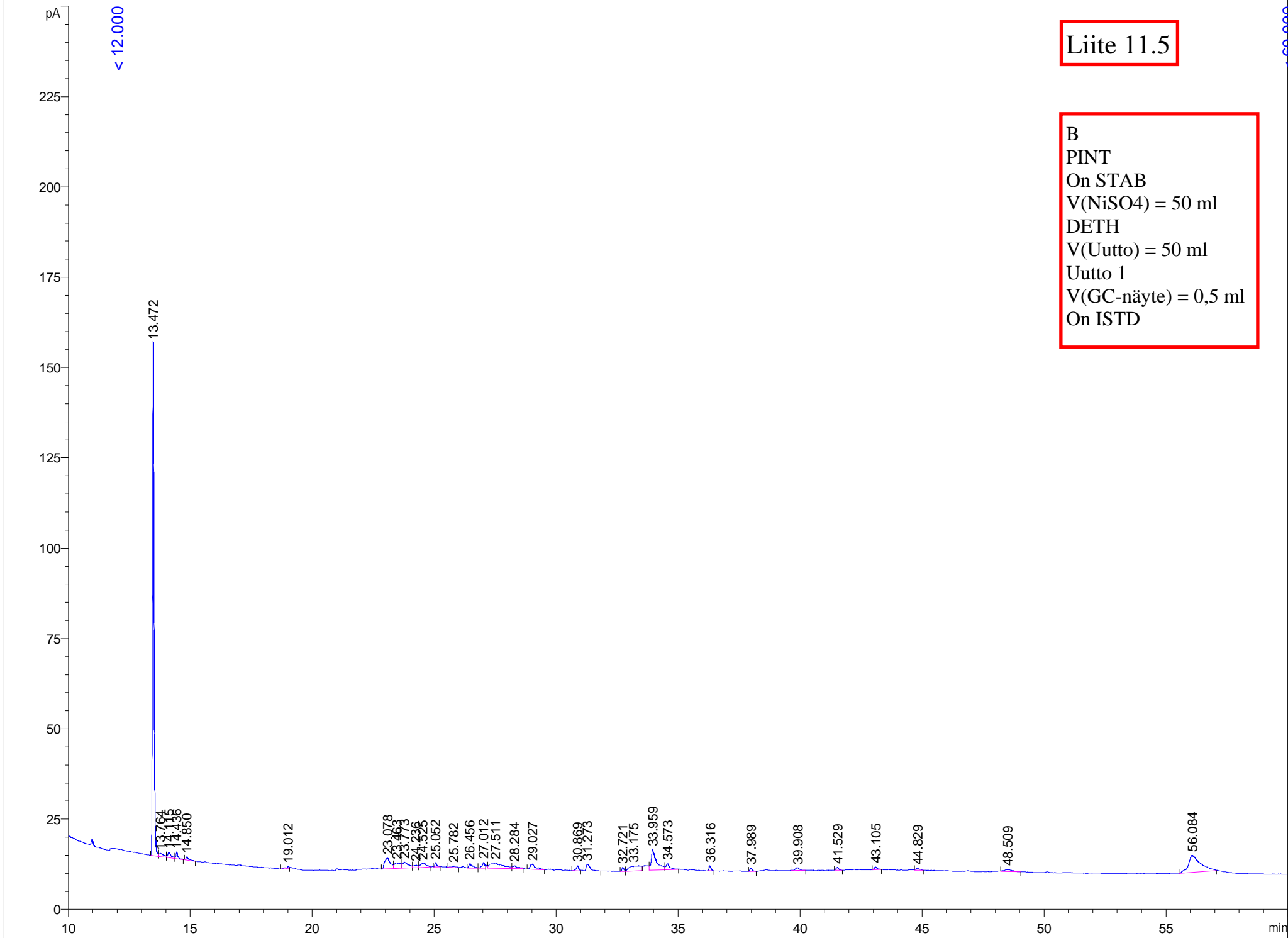
Liite 11.3

A
POHJ
On STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
On ISTD



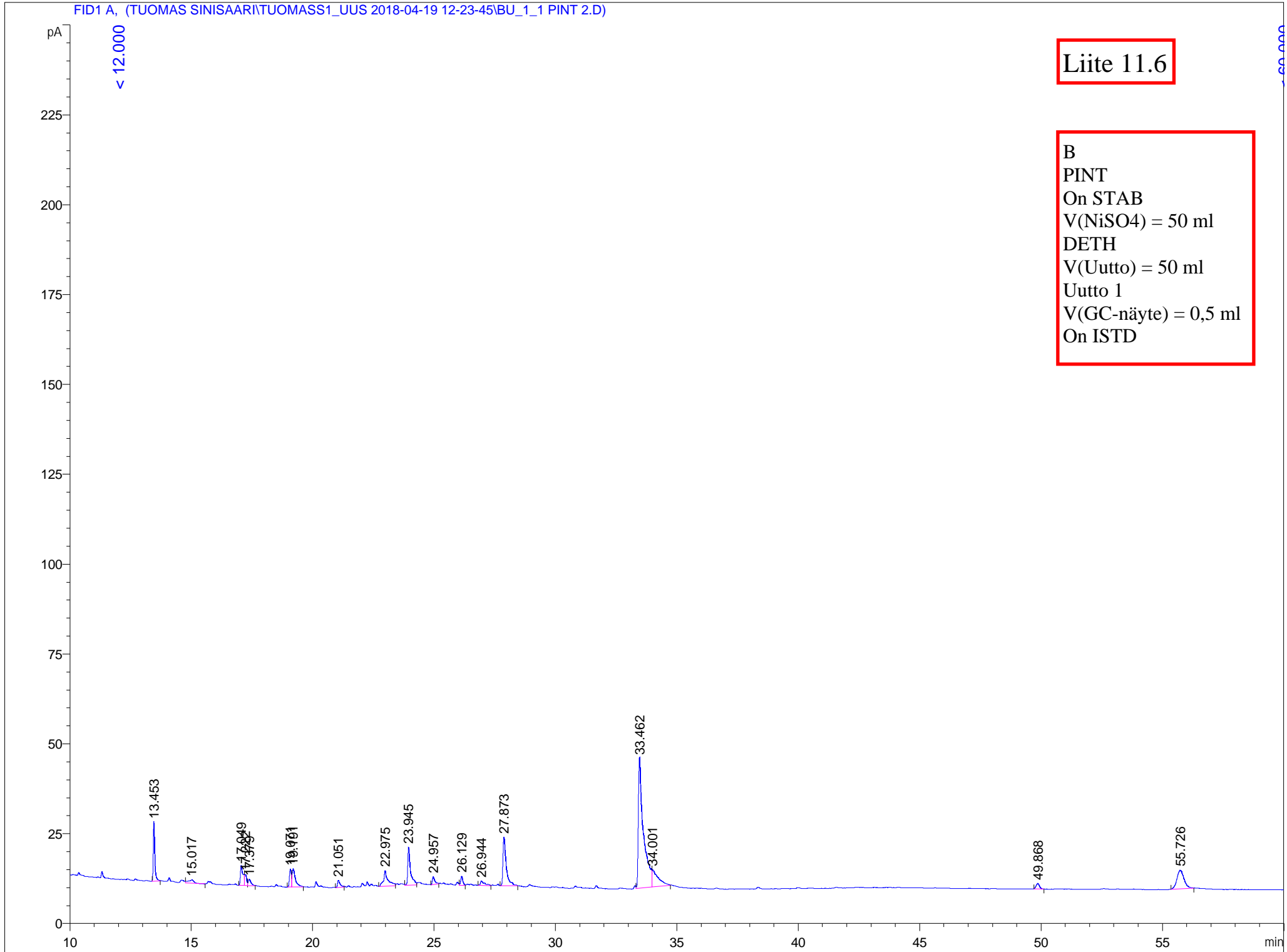
Liite 11.4

A
POHJ
On STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
On ISTD



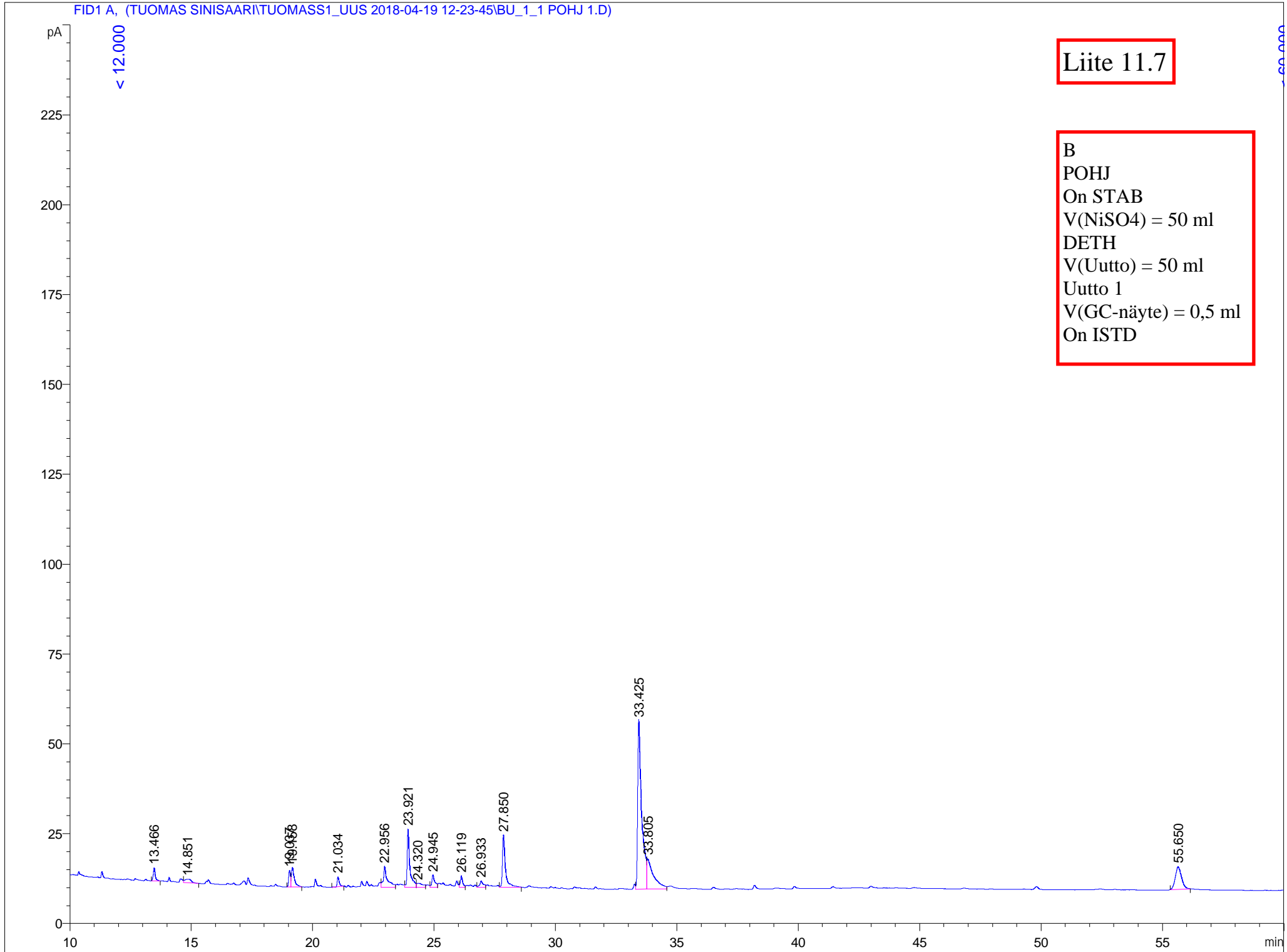
Liite 11.5

B
PINT
On STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
On ISTD



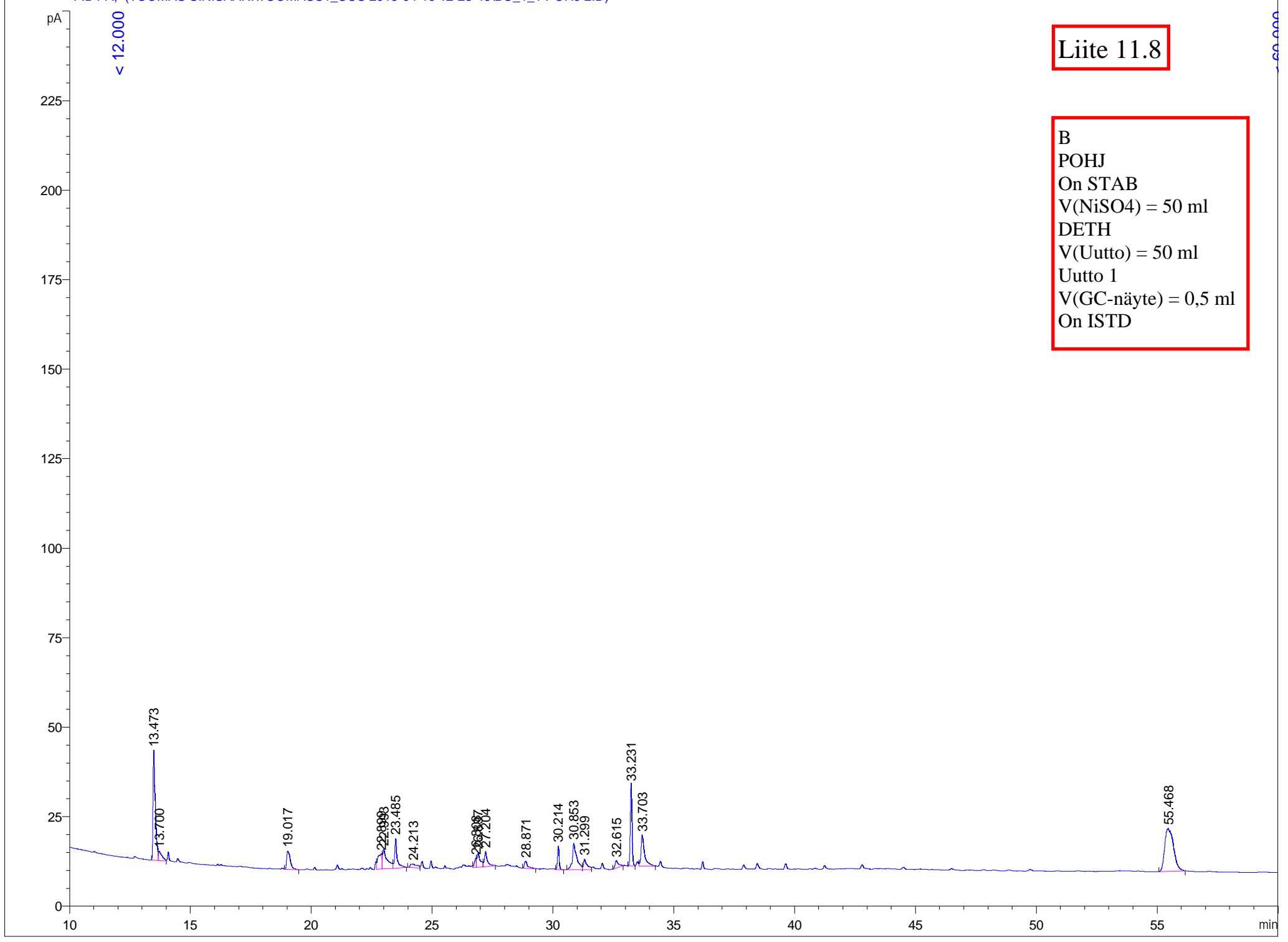
Liite 11.6

B
PINT
On STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
On ISTD



Liite 11.8

B
POHJ
On STAB
V(NiSO4) = 50 ml
DETH
V(Uutto) = 50 ml
Uutto 1
V(GC-näyte) = 0,5 ml
On ISTD



Tiivistelmä käytännön työskentelymenetelmistä nikkelisulfaattiliuosten orgaanisten yhdisteiden määrittämiseksi

1. Otetaan lasisella täyspipetillä 50 ml nikkelisulfaattiliuosta säilytyspullon keskiosasta, jossa on näytteenoton aikana kevyt magneettisekoitus.
2. Pipetoitu nikkelisulfaattiliuosnäyte siirretään 250 ml pyöröpohjakolviin, johon lisätään myös 50 ml uuttoliuotinta (esim. dietyylieetteriä) esim. mittalasista kaatamalla.
3. 250 ml pyöröpohjakolvissa olevaa nikkelisulfaattiliuosnäytteen ja uuttoliuottimen seosta ravistellaan käsin n. 30 sekunnin ajan, minkä tarkoituksena on ravistelussa muodostuvan paineen poistaminen. Korkkia on tärkeää pitää kiinni esim. sormella tukien käsin ravistelun ajan ja korkki tulee avata varovaisesti ravistelun jälkeen.
4. 250 ml pyöröpohjakolvi asetetaan korkilla suljettuna ravistelulaitteeseen n. 30 min ajaksi ravistelunopeudella n. 400 osc./min. Tällä tavalla pyritään varmistamaan uuttamisen täydellisyys.
5. Ravistelujen jälkeen 250 ml pyöröpohjakolvin nikkelisulfaattiliuosnäytteen ja uuttoliuottimen seos kaadetaan erotussuppiloon. Faasien erottumisen jälkeen kerran uutettu nikkelisulfaattiliuosnäyte voidaan halutessa kerätä talteen samaan 250 ml pyöröpohjakolviin uusia uuttokertoja varten. Uuttoliuotinfraasi lasketaan puolestaan 100 ml pyöröpohjakolviin haihduttamista varten.
6. Uuttoliuottimen sisältämään 100 ml pyöröpohjakolviin lisätään halutessa täyspipetillä 5 ml sisäisen standardin (ISTD) (sis. standardina voi käyttää esim. heneikosaanihappoa) sisältämää liuosta (ISTD).

ISTD-liuos voidaan valmistaa liuottamalla 1 mg kiinteää heneikosaanihappoa 100 ml tilavuuteen asetonia. Tällöin lisäämällä 5 ml valmistettua ISTD-liuosta näytteeseen ISTD:n massa mittauksessa on n. 0,1 µg kun näyte ja mittaus tehdään jäljempänä kuvattujen ohjeiden mukaisesti. Valmistettua ISTD-liuosta on syytä säilyttää jääkaapissa liuoksen säilyvyyden parantamiseksi.
7. Uuttoliuottimen sisältämä pyöröpohjakolvi asetetaan rotavaporihaihdutukseen. Haihdutuksen aikana pyöröpohjakolvin alla olevaa lämpöhaudetta voidaan pitää asetettuna lämpötilaan n. 30 °C

muodostuvan alipaineen aiheuttaman kolvin viilenemisen kompensoimiseksi. Alipaineen suuruus saadaan Wulffin pullon hanan sulkemisella arvoon n. 500 mbar, ja vakuumpumpun käynnistämisen jälkeen päästään painelukemaan n. 100 mbar. Alipaineen muodostaminen on syytä tehdä hitaasti vaiheittain, sillä liian nopea alipaineen muodostuminen saa haihdutettavan nesteen kiehumaan voimakkaasti, jolloin neste on vaarassa kiehua kolvista yli. Haihduttaminen on kestänyt useinmiten tällä tavalla toimiessa 5-10 min.

8. Rotavaporihaihdutuksen jälkeen pyöröpohjakolviin lisätään pieni määrä (n. 5 ml) uuttoliuotinta (tai vaihtoehtoisesti kolvista voidaan jättää pieni määrä uuttoliuotinta haihduttamatta), jonka avulla pyöröpohjakolviin jäljelle jääneet orgaaniset yhdisteet huuhdotaan nestefaasiin, joka siirretään pasteur-pipetin avulla Kimax-putkeen.

9. Kimax-putkessa oleva näyte asetetaan typpivirtaushaihdutukseen, jossa näytteen annetaan haihtua kuiviin. Tässä vaiheessa haihdutus on kestänyt arviolta 30 min ajan.

10. Kimax-putkessa olevaan kuivaan näytteeseen lisätään automaattipipetillä 0,3 ml pyridiiniä ja 0,2 ml silylointireagenssia (BSTFA + 1 % TMCS) (Tutkimuksessa käytetty silylointireagenssi oli liuosmuodossa). Tämän jälkeen Kimax-putki suljetaan kierrekorkilla ja putki siirretään 70 °C-asteiseen uuniin yhden tunnin ajaksi derivatisoitumisen tapahtumiseksi.

11. Uunissa olon jälkeen Kimax-putken sisältö siirretään pasteur-pipetin avulla kaasukromatografisessa mittauksessa käytettävään n. 1 ml tilavuuden omaavaan näytepulloon (vialliin), ja näytepullo suljetaan kumitiivisteiden sisältävällä korkilla.

12. Näyte on valmis kaasukromatografisia mittauksia varten. Kaasukromatografisissa ajoissa on käytetty tämän liitteen taulukoissa 1-3 esitettyjä laitteistoja ja laiteasetuksia:

Taulukko 1: Käytetyt kaasukromatografialaitteistot detektoreineen

Valmistaja ja nimi	Laitteen tyyppi
Agilent 6850 Series	GC-FID (Kaasukromatografi liekki-ionisaatiodektoilla)
Agilent 6890 Series	GC-MS (Kaasukromatografi massaselektiivisellä detektorilla 5973N)

Taulukko 2: Kaasukromatografialaitteistoissa käytettyjen kolonnien ominaisuudet

Kolonnin ominaisuus	Kromatografialaitteiston tyyppi	
	GC-FID	GC-MS
Tyyppinimi	Agilent HP-5 (19091J-413E)	Phenomenex ZB-5MSi (7HG-6018-11)
Pituus (m)	30	30
Sisähalkaisija (mm)	0,32	0,25
Stationäärifaasikalvon paksuus (µm)	0,25	0,25
Lämpötilaminimi (°C)	*	-60
Lämpötilamaksimi (°C)	325/350	360/370

*Kolonnilla käytettävän lämpötilaminimin tietoa ei ollut saatavilla

Taulukko 3: Kaasukromatografisissa ajoissa käytettyjen ajo-ohjelmien tiedot

Käytetty uunin lämpötilaohjelma			
Metodin tyyppi	Metodin ajoaika (min)	Aloitustempötila (°C)	Lämpötilaohjelma
Pesuajo* (GC-MS)	12,00	290	-
Näyteajo (GC-MS)	57,33	100 (1,5 min)	=> 6 °C/min => 180 °C => 4 °C/min => 290 °C (15 min)
Pesuajo* (GC-FID)	15,00	290	-
Näyteajo (GC-FID)	62,33	100 (1,5 min)	=> 6 °C/min => 180 °C => 4 °C/min => 290 °C (20 min)

*Kolonnin pesuajossa kolonniin injektettiin pyridiiniä

Yllä olevassa taulukossa esitetyn lämpötilaohjelman tulkitseminen tapahtuu seuraavasti: Uunia pidetään aloituslämpötilassa 100 °C 1,5 minuutin ajan, minkä jälkeen uunia lämmitetään lämmitysnopeudella 6 °C/min lämpötilaan 180 °C. Tästä lämpötilasta lämmitystä jatketaan lämmitysnopeudella 4 °C/min lämpötilaan 290 °C, jossa uunia pidetään 15 min ajan.

Injektio-tilavuutena molemmilla laitteistoilla käytettiin 1 µl tilavuutta. Näytteensyötössä käytettiin automaattisia näytteensyöttäjälaitteistoja Agilent Technologies 7683 Injector (GC-MS) ja Agilent Technologies 6850 Auto Sampler (GC-FID). Laitteistolla 6850 tehdyissä ajoissa käytettiin laitteiston osissa seuraavia lämpötiloja: injektorin 290 °C ja detektorin 300 °C.