Aalto-yliopisto
Aalto-universitetet
Aalto University

Maisterin kemian-, bio- ja materiaalitekniikan koulutusohjelma

Cr(VI) spesiaatiomenetelmien kehittäminen lannoitevalmisteista

Jessica Vähävaara

Diplomityö
2024

©2024 Jessica Vähävaara

Tekijä Jessica Vähävaara

Työn nimi Cr(VI) spesiaatiomenetelmien kehittäminen lannoitevalmisteista.

Koulutusohjelma Kemian-, bio- ja materiaalitekniikka

Pääaine Kemia

Vastuuopettaja/valvoja Prof. Antti Karttunen

Työn ohjaaja FM Aija Pelkonen

Yhteistyötaho Ruokavirasto

Päivämäärä 12.06.2024 **Sivumäärä** 61 **Kieli** Suomi

Tiivistelmä

Kromi on siirtymämetalli, jonka yleisimmät hapetusasteet ovat +III ja +VI. Kuudenarvoinen kromi, Cr(VI), muodostaa myrkyllisiä kromaatteja kuten Cr_2O_4 ja $Cr_2O_7^{2-}$. Lannoitteet voivat sisältää kromia, joten niiden turvallisen käytön edellytys on riittävä haitallisen Cr(VI):n osuuden analysointi.

Tässä työssä tutkittiin Cr(VI):n määritystä lannoitemateriaaleista. Materiaaleina olivat epäorgaaniset lannoitteet, tuhkat ja kalkit. Työhön kuului myös uuden ionikromatografialaitteiston käyttöönotto sekä kromin määrittämiseen sopivien menetelmien kehittäminen.

Epäorgaanisten lannoitteiden sekä tuhkien osalta saatiin tehtyä standardisuora, joka oli lineaarinen. Lisäksi tuhkien osalta päästiin aloittamaan validointiprosessi. Kalkkinäytteissä kromipiikkiä ei saatu näkyviin, sillä näytteet olivat menetelmälle vääränlaisia. Näin ollen näistä näytteistä ei saatu edes sopivaa pitoisuusväliä standardisuoralle toteutettua.

Avainsanat Kromi(VI), ionikromatografia, lannoitteet

Author Jessica Vähävaara

Title of thesis Development of Cr(VI) speciation methods from fertilizers

Programme Chemical, biochemical and materials engineering

Major Chemistry

Thesis supervisor Prof. Antti Karttunen

Thesis advisor M.Sc. Aija Pelkonen

Collaborative partner Finnish Food Authority

Date 12.06.2024 **Number of pages** 61 **Language** Finnish

Abstract

Chromium is a transition metal whose most common oxidation states are +III and +VI. Hexavalent chromium, Cr(VI) forms toxic chromates such as Cr_2O_4 ja $Cr_2O_7^{2-}$. Fertilizers may contain chromium, so a sufficient analysis of harmful Cr(VI) is a prerequisite for their safe use.

In this thesis, the determination of Cr(VI) in fertilizers was investigated. The materials under investigation were inorganic fertilizers, ashes and lime. Thesis also included the introduction of new ion chromatography equipment and the development of suitable methods for the determination of chromium.

In the case of inorganic fertilizers and ashes, it was possible to create a linear standard line. In addition, the validation process of ashes was started. In the lime samples, chromium spike could not be detected properly because the samples were wrong type for this method. Consequently, not even a suitable concentration interval or standard line could not be carried out from these samples.

Keywords Chromium(VI), ion chromatography, fertilizers

Sisällys

Esipuhe 6
Symbolit ja lyhenteet 7
Symbolit 7
Lyhenteet 7
1 Johdanto 8
2 Kirjallisuuskatsaus 10
2.1 Kromi 10
2.2 Ionikromatografia 15
2.3 Aiempi tutkimus 21
2.4 Validointi 23
3 Tutkimusaineisto ja -metodit 26
3.1 IC-laitteisto 26
3.2 Menetelmät 30
3.2.1 Metrohmin menetelmät 30
3.2.2 Ruokaviraston menetelmät 31
3.3 Tulosten käsittely 33
3.4 Näytteet 34
3.4.1 Epäorgaaniset näytteet 34
3.4.2 Tuhkanäytteet 35
3.4.3 Tuhkanäytteet + vertailunäyte HKEM 2021/3682 35
3.4.4 Kalkkinäytteet 36
4 Tulokset 37
4.1 Standardiliuokset 37
4.2 Epäorgaaniset näytteet 43
4.3 Tuhkanäytteet 45
4.4 Kalkkinäytteet 49
4.5 Laitteen huolto 54
5 Yhteenveto ja johtopäätökset 57
6 Lähteet 59

Esipuhe

Tämä työ suoritettiin vuosien 2022–2024 välisenä aikana yhteistyössä Ruokaviraston kanssa. Tahtoisin kiittää professori Antti Karttusta valvojana toimimisesta sekä tuesta työn aikana. Lisäksi haluan kiittää Ruokavirastoa tästä aiheesta sekä ohjaajaani Aija Pelkosta avusta ja neuvoista. Kiitokset myös Anne Tiilikaiselle ja Heli Haveriselle, jotka auttoivat Ruokavirastolla laboratoriotyöskentelyssä. Lisäksi haluan kiittää rakasta puolisoani Manu Paloniemeä sekä perhettäni tuesta ja tsempeistä tämän työn ja koko opintojeni aikana.

Espoo, 12.6.2024
Jessica Vähävaara

Symbolit ja lyhenteet

Symbolit

c	konsentraatio
M	moolimassa

Lyhenteet

AAS	atomiabsorptiospektroskopia
Cr(III)	kolmenarvoinen kromi
Cr(VI)	kuudenarvoinen kromi
dl	havaitsemisraja (detection limit)
DPD	dimetyyli-p-fenyleenidiamiini
DTPA	dietyleenitriamiinipentaetikkahappo
EDDS	etyleenidiamiinidisukkihappo
EDTA	etyleenidiamiinitetraetikkahappo
HCl	suolahappo
HPLC	korkean erotuskyvyn nestekromatografia
HPIC	ioninvaihtokromatografia
HPICE	ioniekskluusiokromatografia
IC	ionikromatografia
ICP-MS	induktiivisesti kytketty plasma-massaspektrometria
MCS	Metrohm CO_2 supressori
MSM	Metrohm supressori moduuli
MPIC	ioniparikromatografia
ppm	miljoonasosa (parts per million)
rpm	kierrokset minuutissa (rounds per minute)
USEPA	Yhdysvaltojen ympäristönsuojeluvirasto
UV	ultravioletti
UV/VIS	ultravioletti/näkyvä valo
XRF	röntgenfluoresenssi

1 Johdanto

Kromi voi esiintyä eri hapetusasteilla, joista yleisimmät ovat +III ja + VI. Kuudenarvoinen kromi, Cr(VI), muodostaa kromaatteja, kuten $Cr_2O_4^-$ sekä $Cr_2O_7^{2-}$. Ne ovat myrkyllisiä ja syöpää aiheuttavia aiheuttaen vakavan riskin terveydelle ja ympäristölle. Lisäksi ne ovat voimakkaita hapettimia. Lannoitteet sisältävät usein kromia ja on tärkeää pystyä analysoimaan haitallisen Cr(VI):n osuus, jotta lannoitteita voidaan käyttää turvallisesti. [1],[2],[3]

Ruokavirasto valvoo lannoitevalmisteiden turvallisuutta ja vaatimusten mukaisuutta. Euroopan parlamentin ja neuvoston asetuksessa 2009/1009 on vaatimuksena haitallisen ja karsinogeenisen Cr(VI):n määrittäminen lannoitevalmisteista. EU-lannoitevalmisteasetus 2019/1009 tuli voimaan 14.7.2019, jonka soveltaminen alkoi vuonna 2022. Lakia sovelletaan lannoitevalmisteiden ja niissä käytettävien ainesosien osalta valmistuksessa, markkinoille saattamisessa, käytössä, varastoinnissa, kuljettamisessa sekä viennissä ja tuonnissa. [4]

16.7.2022 voimaan tuleen uuden lannoitevalmistelain (Lannoitelaki 711/2022) tavoitteena on ”korkealaatuisen kasvintuotannon, elintarvikkeiden laadun sekä ympäristön ja vesien tilan turvaamiseksi edistää hyvälaatuisten, turvallisten ja kasvintuotantoon sopivien lannoitevalmisteiden tarjontaa, lannoitevalmisteiden ja lannan asianmukaista käyttöä sekä tarvittavien tietojen antamista lannoitevalmisteiden ostajille ja käyttäjille”. Ruokavirasto vastaa näiden täytäntöönpanosta sekä valvonnasta.[5]

Tämän työn tavoitteena on uuden ionikromatografin käyttöönotto sekä mittaus- ja uuttomenetelmien kehitys kuudenarvoiselle kromille sekä menetelmien validointi akkreditoidun (ISO/IEC 17025) testauslaboratorion vaatimusten mukaan. Tarkoituksena on saada menetelmä toimimaan vähintään lannoitevalmistelain määrittämään rajaan 2 mg/kg.

Uusien menetelmien pohjana käytetään Ruokaviraston aiemmin käytettyjä menetelmiä kromin mittaamiselle. Tutkittavat matriisit ovat epäorgaanisia lannoitteita, tuhkia ja kalkkeja. Tutkittavat näytteet eivät sisällä itsessään lainkaan kromia (pl. vertailunäyte), vaan kromi lisätään itse näytteisiin.

Työn tarkoituksena on selvittää, päästäänkö uudella laitteella riittävän alhaisiin pitoisuuksiin kuudenarvoisen kromin suhteen, jotta voimaan tulleen lannoitelain vaatimiin raja-arvoihin päästäisiin. Mitä alhaisempiin raja-arvoihin päästään, sen parempi. Lisäksi tulee testata, sopiiko Ruokaviraston aiemmin käyttämät lannoitteiden menetelmät sellaisenaan, vai onko niihin tehtävä muutoksia.

Tässä työssä käsitellään kromia yleisesti sekä Cr(VI):n ominaisuuksia ja haittapuolia. Lisäksi tutkimuksen kohteena on ionikromatografia menetelmänä ja erityisesti käytössä ollut Metrohmin ionikromatografialaitteisto. Akkreditoidun laboratorion menetelmien validoinnin vaatimuksia ja yleisimpiä käsitteitä käydään läpi sekä esitellään laskukaavat validointituloksille. Lisäksi esitellään työssä käytetyt menetelmät.

Työn tulokset käydään läpi matriisi kerrallaan. Matriiseja on yhteensä kolme, epäorgaaniset lannoitteet sekä tuhkat ja kalkit. Työn alussa laite otettiin käyttöön harjoittelemalla laitteen toimintaa. Ennen varsinaisten näytteiden ajoa, harjoiteltiin laitteen toimintoja ja tietokoneohjelman käyttöä sekä menetelmän luomista yhdessä Metrohmin asiantuntijan kanssa.

2 Kirjallisuuskatsaus

2.1 Kromi

Kromi on kiiltävä ja kova metalli. Se kestää erittäin hyvin tavallisia syövyttäviä aineita, mikä selittää sen laajan käytön galvanoituna suojapinnoitteena. Sen atominumero on 24 ja massaluku 52. Kromin moolimassa (M) on 51,996 g/mol. Jaksollisessa järjestelmässä se sijaitsee 6. ryhmässä ja 4. jaksossa eli kromi kuuluu siirtymämetalleihin. Kromi on siirtymämetalli, jolla on useita hapetusasteita. Yleisimmät luonnossa (maaperässä ja vesiympäristössä) esiintyvät hapetusasteet ovat +III ja +VI. Se voi esiintyä eri hapetusluvuilla 0-+VI. Pysyvimmät hapetusasteet ovat 0, +III ja +VI. [1],[2],[3]

Kromia käytetään muiden reaktiivisempien metallien suojaamiseen. Kromi reagoi helpommin happojen kanssa kuin esimerkiksi molybdeeni tai volframi. Sen reaktiivisuus riippuu sen puhtaudesta ja se voidaan helposti muuttaa passiiviseksi. Siten se liukenee helposti laimeaan HCl:on, mutta jos se on erittäin puhdasta, se kestää usein laimeaa H_2SO_4:on. [2]

Kromia voidaan tuottaa kahdessa eri muodossa: ferrokromia pelkistämällä $FeCr_2O_4$ koksilla tai ferropiitä. Tätä raudan ja kromin seosta voidaan käyttää suoraan lisäaineena ruostumattoman ja kovan kromiteräksen valmistukseen. [6]

Toinen vaihtoehto on tuottaa kromimetallia pelkistämällä kromi(III)oksidia, Cr_2O_3. Kromiittia hapettamalla sulassa alkalissa saadaan natriumkromaattia, Na_2CrO_4, joka voidaan uuttaa vedessä ja saostuksen jälkeen pelkistetään hiilellä Cr_2O_3:ksi. Muodostunut Cr_2O_3 voidaan pelkistää alumiinilla tai piillä:

$$Cr_2O_3 + 2Al \rightarrow 2Cr + Al_2O_3$$

$$2Cr_2O_3 + 3\,Si \rightarrow 4Cr + 3\,SiO_2$$

Näin valmistettua kromimetallia käytetään raudattomissa seoksissa, sillä puhtaan kromin käyttöä on rajoitettu. Cr_2O_3 voidaan myös liuottaa rikkihappoon, josta syntyvällä elektrolyytillä saadaan tuotettua kromipinnoite. Syntynyttä Na_2CrO_4:a voidaan käyttää kromikemikaalien valmistuksessa. [6]

Kuudenarvoinen kromi, Cr(VI), on vesiliukoinen ja erittäin voimakas hapetin ja ihmisille sekä eläimille haitallinen ja karsinogeeninen muoto. Sen sijaan matalina pitoisuuksina Cr(III) on välttämätöntä eläinten ja ihmisten terveydelle. [1]

Cr(VI):n esiintyminen jätevedessä on myös mahdollinen vaara vesieläimille ja ihmisille. [1] Kromi on raskasmetalli, joka joutuu maaperään lannoitteita levitettäessä. Kromin myrkyllisyys riippuu sen hapetusasteesta. [7]. Kromin saastuttama maaperä ja vesi viime kädessä sadon ja aiheuttavat vakavia terveyshaittoja ihmiselle ravintoketjun kautta. [8]

Kromia on pääasiassa maaperässä kahdessa hapetustilassa; Cr(III) ja Cr(VI), joilla kummallakin on erilainen kemiallinen käyttäytyminen. [2]. Ne eroavat toisistaan biologisten, kemiallisten sekä toksikologisten ominaisuuksiensa suhteen. Siinä missä Cr(III)-yhdisteet ovat välttämättömiä ihmisille, Cr(VI) on myrkyllistä ja syöpää aiheuttavaa [9]. Cr(III) muodostaa valtavan määrän kationisia amiinikomplekseja, Cr(VI) -yhdisteet ovat puolestaan voimakkaita hapettavia aineita. Cr(VI) pelkistyy herkästi kolmenarvoiseksi kromiksi Cr(III). [3]

Cr(VI):n mielenkiintoisimmat anioniset muodot ovat kromaatti-ioni CrO_4^{2-}, jota esiintyy liuoksissa, joiden pH on yli 6, ja dikromaatti-ioni $Cr_2O_7^{2-}$, jos pH-arvo on alle 6. Siksi maaperässä, jossa pH > 6, Cr(III) saostuu hydroksidina ja hapettunut muoto on kromaatti-ioni. [7]

Vesiliuoksessa kromi pysyy pääsääntöisesti +III tai +VI hapetusasteina. Kun pH on yli 6, Cr(VI) muodostaa vesiliuoksessa tetraedrisen keltaisen kromaatti-ionin, CrO_4^{2-}. pH:n ollessa 2 ja 6 välillä, $HCrO_4$- ioni ja

oranssinpunainen kromaatti-ioni $Cr_2O_7^{2-}$ ovat tasapainossa. Kun pH on alle 1, esiintyy pääosin H_2CrO_4. Dikromaatin happamat liuokset ovat voimakkaita hapettimia. [3]

Reaktioyhtälöt ovat seuraavanlaiset:

$$HCrO_4^- \leftrightarrow CrO_4^{2-} + H^+$$

$$H_2CrO_4 \leftrightarrow HCrO_4^- + H^+$$

$$Cr_2O_7^{2-} + H_2O \leftrightarrow 2HCrO_4^-$$

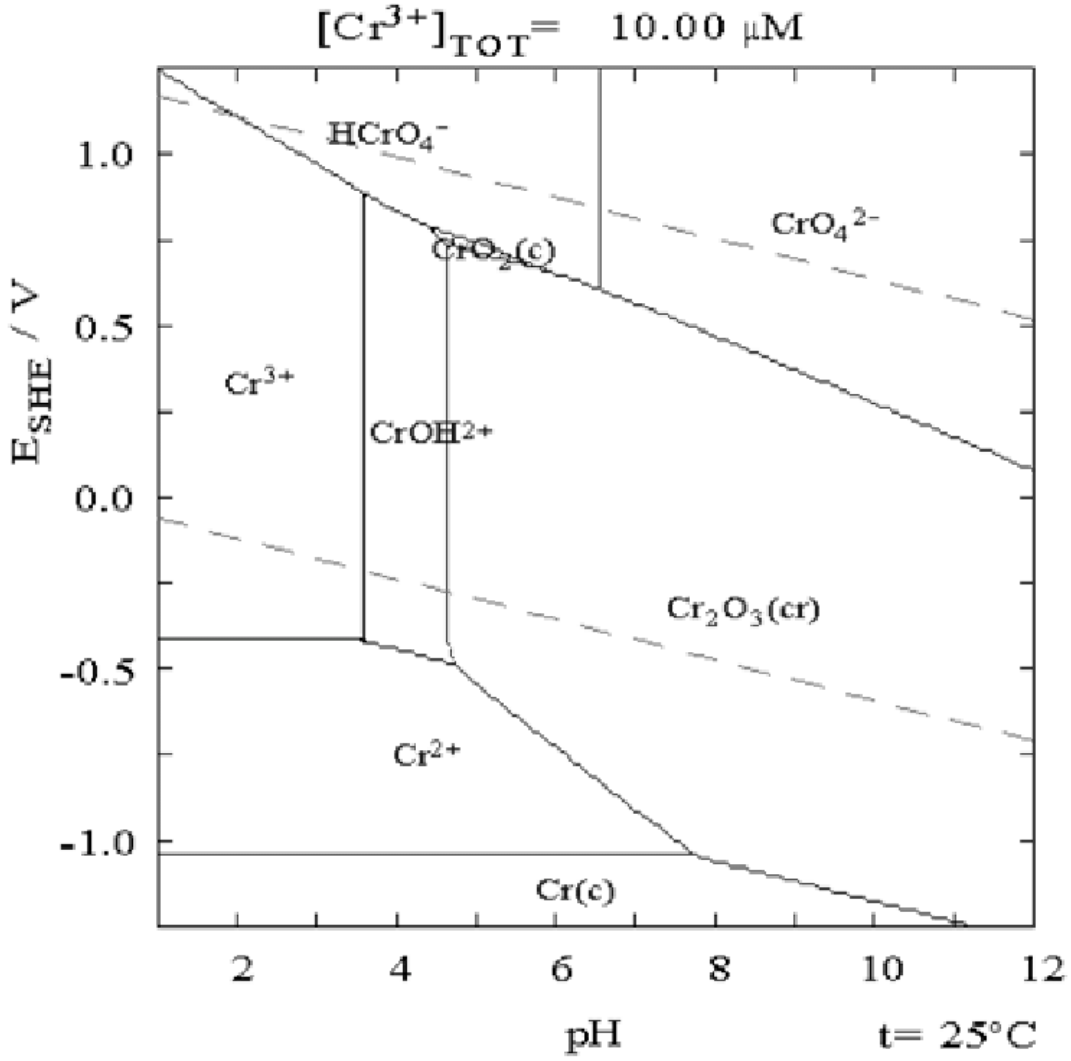
Lisäksi emäshydrolyysitasapainojen reaktioyhtälöt ovat seuraavanlaiset:

$$Cr_2O_7^{2-} + OH^- \leftrightarrow HCrO_4^- + CrO_4^{2-}$$

$$HCrO_4^- + OH^- \leftrightarrow CrO_4^{2-} + H_2O$$

pH on yksi tärkeimmistä fysikaaliskemiallisista tekijöistä. Alhaisten pH arvojen (2-3) on todettu olevan suotuisat Cr(VI):n bisorptiolle. pH alueella 1-4, $HCrO_4^-$ ja CrO_4^{2-} ovat pääsääntöiset muodot liuoksessa ja niiden stabiilisuus riippuu pH:sta ja kuudenarvoisen kromin pitoisuudesta.

Kuvassa 1 on esitetty sekä kromin muodot Pourbaix diagrammina. Kuvassa nähdään kromin muodot, kun pH ja potentiaali vaihtelee.



Kuva 1. Pourbaix diagrammi kromille. [10]

Nykyiset kemialliset käsittelymenetelmät Cr(VI)-pitoisuuksien alentamiseksi sisältävät yleensä Cr(VI)–Cr(III):n vesipitoisen pelkistyksen käyttämällä erilaisia kemiallisia reagensseja, minkä jälkeen liuoksen pH säädetään lähes neutraaleihin olosuhteisiin muodostuneiden Cr(III)-ionien saostamiseksi. Muodostunut sakka voidaan erottaa vedestä sedimentoimalla tai suodattamalla. Käsitelty vesi dekantoidaan ja poistetaan asianmukaisesti tai käytetään uudelleen. Pelkistys ja sen jälkeen saostaminen on tehokas ja ylivoimaisesti yleisimmin käytetty prosessi teollisuudessa, koska se on suhteellisen yksinkertainen ja edullinen käyttää. [1]

Kromia esiintyy luonnossa kivissä, maaperässä, kasveissa, eläimissä sekä vulkaanisessa pölyssä ja kaasuissa. Kromin aiheuttamasta ympäristön saastumisesta on tullut merkittävä ongelma. Etenkin teollisuus ja erilaiset maataloustoimet voivat aiheuttaa kromin korkean pitoisuuden maaperässä ja vedessä. Ravintoketjun kautta kromin saastuttama maaperä ja vesi voivat aiheuttaa vakavia terveyshaittoja ihmisille. [8]

Kromi on läsnä kaikkialla geogeenisen alkuperänsä vuoksi, mutta myös sen laajan käytön vuoksi erilaisissa teollisissa prosesseissa. Erityisesti jälkimmäisen jätevedet sekä onnettomuudet ovat kuudenarvoisen kromin lähde ympäristössä ja aiheuttavat vaaran. Lisäksi kromi lajit voivat muuttua toisikseen mukaan lukien pelkistys- ja hapetusreaktiot sekä liukenemattomien muuntuminen liukoisiksi ja toisin päin. [11]

Cr(VI) on läsnä kaikkialla ilmassa, vedessä ja maaperässä. Yhdysvaltojen ympäristönsuojeluvirasto EPA (Environmental protecion agency) on listannut sen vaaralliseksi ympäristön saasteeksi. Keskimääräisiksi luonnonlähteiden Cr-päästöiksi maailmanlaajuiseksi on arvioitu 43 000 tonnia per vuosi. [8]

Cr(VI) on erittäin mutageeninen, koska toisin kuin muut metallit, se reagoi DNA:n kanssa. [8] Kuolettavan kromaattiannoksen nieleminen voi johtaa sydän- ja verisuonijärjestelmän romahtamiseen. Oraalinen altistuminen Cr(VI)-yhdisteille voi aiheuttaa hematologista toksisuutta. [1]

Jo pieninä määrinä juomavedessä Cr(VI) voi aiheuttaa oireita, kuten oksentelu, vatsakipua sekä maksa- ja munuaisvaurioita. Cr(VI) yhdisteet aiheuttavat DNA-vaurioita, geenimutaatioita ja kromosomipoikkeavuutta useissa kohteissa, mukaan lukien eläinsolut (in vivo) ja ihmissolut (in vitro). Cr(VI):lle altistuminen lisää myös keuhkosyövän riskiä. [1], [12]

Myrkytystä esiintyy ihmisillä maaperän tai veden saastumisen kautta tai työperäisen altistumisen vuoksi. Jotkut näistä metalleista ovat hyödyllisiä pieninä pitoisuuksina mutta erittäin myrkyllisiä korkeammilla pitoisuuksilla

aiheuttaen vakavaa sairastumista tai kuolleisuutta. Näistä raskasmetalleista kromin aiheuttama saastuminen on huomattava huolenaihe. [1]

Kromille on suoritettu uuttoja eri matriiseilla (standardin DIN EN 15192 2006 mukaisesti) lisätyillä Cr(III) ja Cr(VI) -yhdisteillä. Menetelmä perustuu siihen, että Cr(VI) on yleensä läsnä anionisena muotona, jotka liukenevat emäksiseen väliaineeseen. Muut Cr-lajit, kuten kationiset Cr(III)-yhdisteet, eivät liukene näissä olosuhteissa, vaan ne saostuvat uuton aikana ja poistetaan suodattamalla jälkeenpäin. Koska uuttamisen jälkeen ei tapahdu erottelua eri kromin hapetusasteiden välillä, on tärkeää, että vain Cr(VI) uutetaan eikä muita Cr-lajeja. Mikäli mukana on orgaanista ainetta, voi siitä seurata Cr(VI):n määrän väheneminen. [11]

Ionikromatografia on tehokkaampi ja osoittaa vähemmän interferenssiä kuin spektrometriset menetelmät. Analyysin kohteena on yleensä Cr(VI) sen haitallisuuden vuoksi. Veden ja jäteveden Cr(VI)-analyysimenetelmät perustuvat pääosin erotukseen anioninvaihtokolonneilla. [9]

2.2 Ionikromatografia

Kromatografia on erotusmenetelmä, jossa tehtävänä on erottaa näytteessä olevat komponentit sekä näiden komponenttien pitoisuuksien määrittäminen. Riippuen liikkuvasta faasista, kromatografia voidaan jakaa kaasu- ja nestekromatografiaan. [13]

Ionikromatografia (IC) on osa nestekromatografiaa, ja sitä käytetään ionisten liuenneiden aineiden mittauksessa. Näitä aineita on esimerkiksi epäorgaanisen anionit, kationit, siirtymämetallit sekä orgaaniset hapot ja emäkset. [14], [15]

Ionikromatografia käytetään erottaessa ja analysoidessa anioneja ja kationeja monimutkaisista seoksista. Useimmiten tutkittava aine on nestemäisessä olomuodossa, mutta myös kaasuja ja kiinteitä partikkeleita voidaan analysoida esikäsittelyn jälkeen. [16]

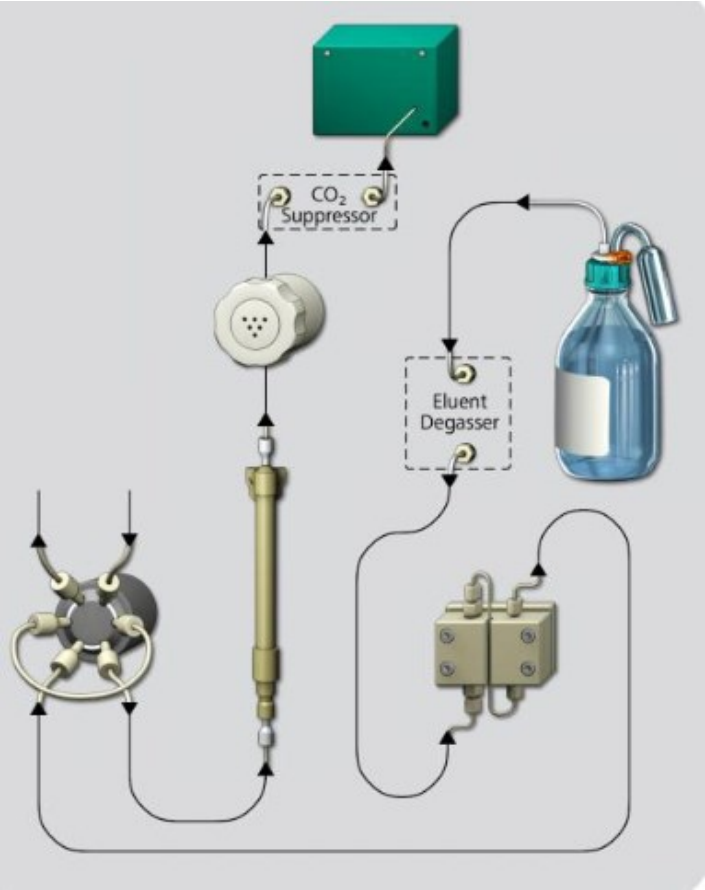
Ioninvaihto on ensisijainen erotusmenetelmä ja johtokykyä käytetään ensisijaisena menetelmänä havaitsemisessa ionikromatografiassa. [14] Johtokykydetektori on edelleen suosituin detektori havaitsemiseen, mutta myös muita vaihtoehtoja voidaan käyttää erilaisille analyyteille (esim. UV-VIS). [16]

Kromatografiassa liikkuva faasi (eluentti) kuljettaa näytteen analyyttisen kolonnin läpi, joka on täytetty stationäärifaasilla (kiinteä faasi), johon näytteen molekyylit tarttuvat. Tällöin molekyylien kulku hidastuu ja tapahtuu ionien erottelu. Ionikromatografian kolme peruserotusmenetelmää ovat ionivaihtokromatografia (HPIC), ioniekskluusiokromatografia (HPICE) ja ioniparikromatografia (MPIC). [13],[18]

Eluentti (sen tyyppi, pitoisuus, pH ja virtausnopeus) on tärkeä tekijä, joka vaikuttaa erotuksen tehokkuuteen ja selektiivisyyteen. Se riippuu myös paikallaan olevasta stationäärifaasista. Anioninvaihtokromatografiassa tyypillisesti käytetyt eluentit ovat Na_2CO_3, $NaHCo_3$, $NaHCO_3$ + Na_2CO_3 NaOH/KOH ja $Na_2B_4O_7$. [17]

Ionikromatografiassa ionit erotellaan niiden varausten perusteella: stationäärifaasissa on sähköisesti varattuja kohtia, joihin analyytit, joilla on vastakkainen varaus, tarttuvat. Eli heikosti varautuneet ionit kulkevat kolonnin läpi nopeammin kuin suurivarauksiset ionit.[13]

Erottelun jälkeen eluentti kuljettaa näytteen supressoriin, jossa eluentin johtokykyä vähennetään ja analyytin kasvatetaan. Supressorilta eluentti kulkeutuu detektorille, joka tunnistaa ja mittaa analyytit. Kuvassa 2 on esitetty IC:n osat ja toimintaa.



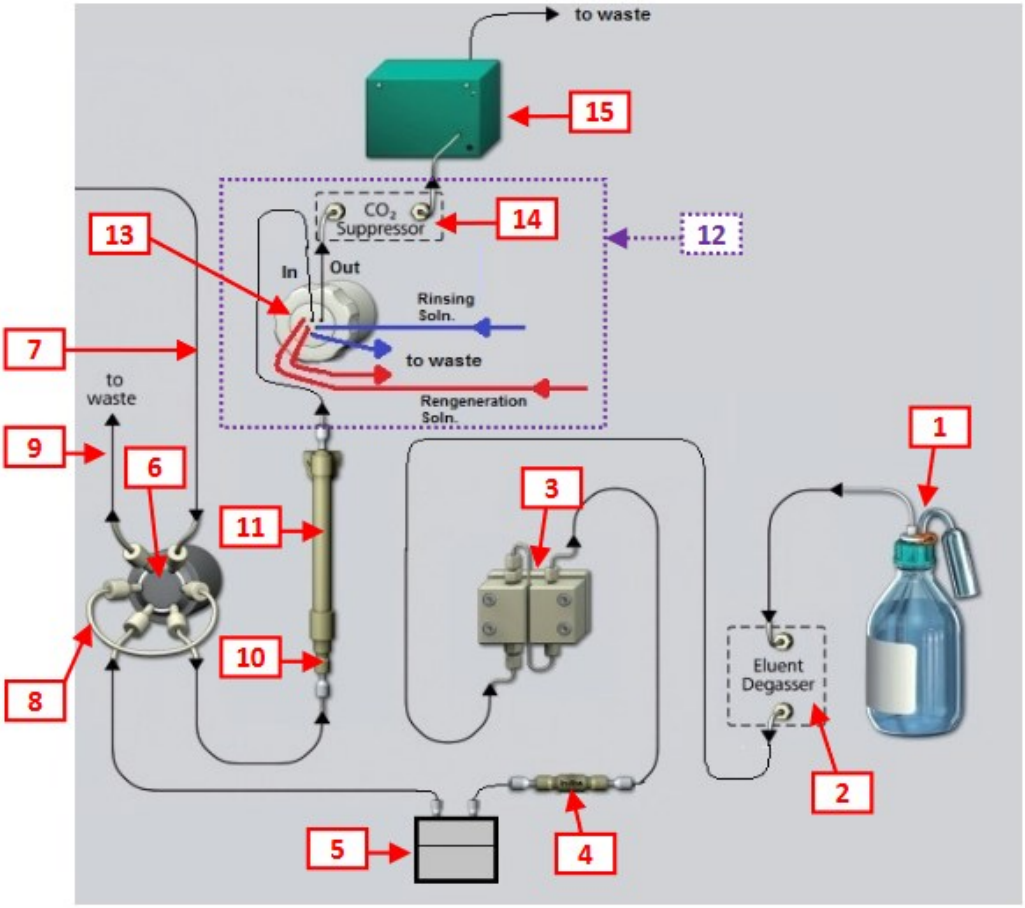
Kuva 2. Skemaattinen luonnos ionikromatografin toiminnasta. (Metrohm)

Kuvassa 3 on esitetty IC:n osia tarkemmin. Kuvassa on numeroitu komponentit luvuilla 1–15. IC:n laitteistoon kuuluu eluenttipullo, jossa on nestefaasi, joka kuljettaa näytteen laitteiston läpi ja osallistuu ionien erotteluun. Eluentin kaasunpoistaja (degasser), poistaa kuplia eluentista ja auttaa ehkäisemään pumpun lukkiintumista. Pumpun tehtävänä on työntää eluentin laitteen läpi korkealla paineella. Suodattimena toimii in-line filtteri, joka suodattaa partikkeleita eluentista.

Pulsaatiovaimennin suojelee kolonnia paineaalloilta, kun hanaa käännetään. Näyte tulee laitteelle näytteen täyttöaukon kautta, jossa näyte kuljetetaan ruiskutusventtiiliin. Ruiskutusventtiilillä on kaksi asentoa: täyttöasento, jolloin näyte laitetaan ja ruiskutusasento, jolloin näyte lähetetään kolonniin.

Näyte ajetaan näytesilmukkaan, jossa mitattu tilavuus on standardi (20 µl) ja jonka kautta tapahtuu myös näytteen jätteenpoisto.

Suojakolonnin tehtävä on suojata varsinaista kolonnia partikkeleita ja kontaminanteilta, kun taas erotuskolonnissa kiinteä faasi erottelee näyteionit erillisiksi vyöhykkeiksi. Lisäksi laitteessa on kaksi supressoria MSM supressori, joka vähentää tausta johtavuutta ja lisää herkkyyttä korvaamalla natrium ionit eluentissa vetyioneilla (H^+) sekä MCS CO_2 -supressori, joka edelleen laskee taustajohtavuutta ja lisää herkkyyttä poistamalla karbonaattia hiilidioksidina. Lopuksi näyte kulkeutuu johtokykydetektorille, joka mittaa eroavaisuuksia taustajohtavuuksissa eluentin ja analyytin ionien välillä, kun ne kulkeutuvat detektorin läpi.



Kuva 3. IC:n osat. 1. eluenttipullo. 2. eluentin kaasunpoistaja. 3. pumppu 4. In-line filtteri. 5. Pulsaatiovaimennin. 6. ruiskutusventtiili 7. Näytteen sisääntulo (sample inlet) 8. näytesilmukka, 9. Näytteen jätteenpoisto. 10. Suojakolonni. 11. erotuskolonni. 12. supressorijärjestelmä. 13. MSM supressori. 14. MCS CO_2 supressori. 15. johtokykydetektori. (Metrohm)

Modernin ionikromatografian alkuperän kehittivät Hamish Small et al. Dow Chemicalissa vuonna 1975, kun he kuvasivat ensimmäisen kerran uuden ioninvaihtokromatografisen menetelmän ioniyhdisteiden erottamiseen ja konduktiometriseen havaitsemiseen. [14]

He käyttivät analyytti-ionien erottamiseen stationäärifaasia yhdessä toisen ioninvaihtokolonnin kanssa. Lisäksi käytössä oli johtokykydetektori. Näin voitiin seurata jatkuvasti eluoituneita ioneita. Toista kolonnia kutsuttiin "stripper" kolonniksi, (nykyisin supressori). Sen tarkoituksena on vähentää eluentin johtavuutta ja parantaa eluoituneiden ionien havaittavuutta. Analysoidessa anioneja tämä saavutettiin vaihtamalla hydronium-ionit kationinvaihto supressorista eluentissa oleviin kokaatioihin.

Termi IC otettiin käyttöön myöhemmin, kun tämä teknologia lisensoitiin Dionex Corporationille kaupallista kehitystä varten.

IC:n käyttöönotto tarjosi uudenlaista kiinnostusta ionisten liuenneiden aineiden määrittämiseen. Syntyi paljon tutkimusta vaihtoehtoisista erotus- ja havaitsemismenetelmistä nestekromatografiaa käyttäessä epäorgaanisilla yhdisteillä etenkin luonnosta peräisin olevilla näytteillä (juoma- ja jätevedet). [19]

Ioniyhdisteiden määrittämiseen on käytetty monia erilaisia erotus- ja havaitsemismenetelmiä, mikä on laajentanut IC:n käyttösovelluksia. IC:n käyttö laajeni nopeasti, sillä se tarjoaa luotettavan ja tarkan menetelmän useiden epäorgaanisten ionien samanaikaiseen määritykseen. Anionianalyyseihin ei ollut vaihtoehtoisia menetelmiä, mutta kationeille oli monia instrumentaalisia tekniikoita saatavilla. Näin ollen juomaveden ja jäteveden yhteisten epäorgaanisten anionien samanaikainen analyysi on ollut IC:n tärkein rutiinisovellus. [14]

Ympäristönäytteiden kationien analysoinnissa tilanne oli erilainen, sillä monet nopeat ja herkät spektroskooppiset menetelmät, kuten AAS, ICP-AES ja ICP-MS ovat käytettävissä kationianalyyseihin. IC tarjoaa kuitenkin etua spektroskooppisiin tekniikoihin myös kationianalyyseissa, kun kyse on

metalleista. Koska IC on erotukseen perustuva menetelmä, se pystyy erottamaan erilaisia metallien hapetusasteita, esimerkiksi Cr(III) ja Cr(VI) sekä Fe(II) ja Fe(III). [20],[21]

2.3 Aiempi tutkimus

Cr(VI):n määrittämiseen on kehitetty monenlaisia analyyttisia menetelmiä. Esimerkiksi Margui ja Torrent (2023) kehittivät vesinäytteille yksinkertaisen menetelmän Cr(VI):n määrittämiseen käyttäen neste-neste uuttoa ja XRF spektrometriä. Tutkittavat näytteet olivat peräisin erilaisista vesistä kuten hana-, kaivo-, joki- sekä merivesi. He saivat kromin havaitsemisen rajaksi 0,9 µg/l, mikä on riittävän alhainen nykyinen lainsäädäntö huomioiden. [22]

Li et al. (2021) määrittivät Cr(VI):a spektrofotometrisesti vesinäytteistä käyttäen indikaattorina DPD:a. He saivat metodilla havaitsemisrajaksi 0,26 µM ja määritysrajaksi 0,86 µM . Lisäksi menetelmä osoitti hyvää tarkkuutta erilaisilla luonnonvesitaustoilla. Kunhan havaitsemiskäytäntöjä ja erilaisia häiriöitä on tutkittu paremmin, voidaan DPD-menetelmää pitää lupaavana metodina Cr(VI):n määrittämiseen.[23]

Krüger et al. (2017) käyttivät Cr(VI):n määrittämiseen lannoitteista ICP-MS:a. He käyttivät märkäkemiallista uuttoa testatakseen, että vain Cr(VI) uutetaan, eikä muita Cr-lajeja. Cr(VI):n määrä oli lähes kaikissa näytteissä alle 2 mg/kg, jätevesilietetuhkaa lukuun ottamatta. Lisätyn Cr(VI):n tapauksessa hyviä tuloksia saatiin epäorgaanisille matriiseille, mutta jätevesilietteen tuhkanäyte oli tässäkin ongelmana sen sisältämien Fe(II)-yhdisteiden takia. Myöskään organiset näytteet eivät antaneet hyviä tuloksia.[11]

Ribeiro Frois et al. (2012) suorittivat Cr(VI) erotuksen vesinäytteistä käyttäen ICP-OES:a, kun Cr(VI) oli ensin erotettu Cr(III):sta. Cr(VI) pysyi liuoksessa, vaikka Cr(III) ei täysin poistunutkaan kaikissa näytteissä. He saivat

havaitsemisrajaksi 0,20 µg/l ja määritysrajaksi 0,70 µg/l. Korrelaatiokertoimet olivat myös hyvät, 0,9999. [24]

Fabregat-Gabello et al. (2012) käyttivät kiinteiden näytteiden kromin havaitsemiseen ICP-MS:a ja Cr(VI):n ja Cr(III):n erottamiseen HPLC:a ja IC:a. He halusivat luoda nopean menetelmän kiinteille Cr(VI)-näytteille käyttäen uuttoaineena EDTA:a. EDTA:a käyttämällä saatiin paremman erotuksen, kapeammat piikit sekä lyhyemmän erotusajan kuin esimerkiksi DTPA:a tai EDDS:a käyttämällä. [25]

IC:a ja ICP-MS:a kromin määrittämiseen käyttivät myös Hagendorfer ja Goessler (2008). Heidän tavoitteenaan oli luoda menetelmä, jossa Cr-lajit säilyvät ilman EDTA:a tai muita vastavia yhdisteitä. Lisäksi haluttiin taata molempien kromilajien, Cr(III):n ja Cr(VI):n, stabiilisuus ja liukoisuus. Menetelmää onnistuttiin käyttämään sementtinäytteissä sekä homeopaattisissa lääkkeissä. Määritysrajaksi saatiin noin 0,5 µg/l. He kuitenkin totesivat, että kromatografinen erottelukyky ei ollut riittävä kaikkien kromilajien tunnistamiseen, mutta liikkuvan faasin muuttaminen voisi parantaa tuntemattomien yhdisteiden erottamista. [26]

Small et al. (1975) kehittivät ensimmäisiä kromatografisia ioninvaihtomenetelmiä anioneille ja kationeille käyttäen johtokykydetektoria. He saivat eroteltua halutut ionit taustasta ainutlaatuisen hartsiyhdistelmän avulla. [27] Heidän tutkimuksessaan ei käsitelty kromia, mutta he loivat pohjan, jota myös kromin määrityksessä pystyttäisiin käyttämään.

2.4 Validointi

Tieteellisessä tutkimuksessa on tärkeää, että analyyttiset tiedot ovat luotettavia ja laadukkaita. Tätä varten uudet menetelmät edellyttävät huolellista kehittämistä ja tästä seuraa menetelmän validointi. Tärkeitä parametrejä validoinnin kannalta ovat selektiivisyys, lineaarisuus, stabiilisuus, tarkkuus, toistettavuus, määritysalaraja ja havaitsemisraja. [28],[29]

Validointi on menettely, jolla voidaan osoittaa analyyttisen menetelmän soveltuvuus aiottuun käyttötarkoitukseen ja tekniikkaan lainsäädäntö huomioiden. Sen tavoitteena on osoittaa, että menetelmän tulokset ovat luotettavia ja niiden epävarmuus tunnetaan. [28]

Mittausalueella tarkoitetaan mittaussuureen arvojen joukkoa, jossa virheen tulisi pysyä annettujen rajojen sisällä. Mittausalueeksi valitaan useimmiten lineaarinen alue, joka on määritelty standardiliuosten avulla. [30] Kromatografisilla tekniikoilla hyväksyttävää rajaa lineaarisuudelle pidetään rajaa, jossa kulmakerroin on 5 % rajan sisällä. [31]

Alueen alkupäässä voidaan käyttää rajoina määritysrajaa LOQ (limit of quantitation) ja havaitsemisrajaa LOD (limit of detection). [30] Lineaarisen alueen pienimpänä pitoisuutena on menetelmän määritysraja LOQ. Se on alin pitoisuus standardikäyrällä, joka voidaan mitata hyväksyttävällä tarkkuudella. Se tulisi määrittää käyttäen vähintään viittä näytettä. Havaitsemisraja LOD puolestaan tarkoittaa analyytin pienintä pitoisuutta, jonka voi luotettavasti erottaa taustasta. [32]

Lineaarisuus mittaa analyyttisen vasteen ja analyytin konsentraation välisestä suhteesta muodostettua kalibrointikuvaajaa, jonka tulisi seurata mahdollisimman hyvin suoraa linjaa. [30] Lineaarisuus tulee arvioida koko analyysimenetelmän alueella. Se voidaan osoittaa suoraan aineesta laimentamalla standardia varastoliuosta tai erillisillä komponenttien punnituksilla käyttäen ehdotettua menetelmää. Mikäli kyseessä on lineaarinen suhde,

tuloksia voidaan arvioida sopivilla tilastollisilla menetelmillä, esimerkiksi laskemalla regressioviiva pienimmän neliösumman menetelmällä. [32]

Lineaarinen alue on alue, jolla menetelmän on osoitettu olevan lineaarinen ja menetelmän herkkyyttä voidaan pitää vakiona. [28],[33]. Lineaarinen alue määritetään tekemällä useita mittauksia standardiyhdisteille tai lisäysnäytteille, joissa yhdisteen pitoisuus vaihtelee (montako eri pitoisuutta, montako toistoa). Määrityksistä tehdyn regressiosuoran graafisen esityksen avulla voidaan arvioida lineaarisuutta. Regressiosuoran regressiokerroin kuvaa suoran sovituksen sopivuutta.

Lineaarisella regressiosuoralla on yhtälö muotoa y=a+bx, jossa y on riippuva muuttuja kuten piikin korkeus tai pinta-ala ja x on selittävä tekijä esimerkiksi pitoisuus. Suoran kulmakerroin on b ja a on leikkauspiste (y:n arvo, kun x=0). [28] Lineaarisella alueella on residuaaliarvojen jakauduttava tasaisesti ja satunnaisesti nollatason molemmille puolille koko suoran matkalta.

Korrelaatiokerrointa, R, käytetään tapana testata lineaarisuutta. Se on kahden muuttujan välisen suoran tai lineaarisen suhteen voimakkuuden mitta ja se voi teoreettisesti saada minkä tahansa arvon -1 ja +1 välillä. Korrelaatiokerroin +1 tarkoittaa täydellistä positiivista lineaarisuutta eli toisen arvon kasvaessa, toinenkin arvo kasvaa samassa lineaarisessa suhteessa. -1 puolestaan tarkoittaa toisen arvon pienenemistä, kun toinen arvo kasvaa. Korrelaatiokerroin 0 tarkoittaa, ettei muuttujien välillä ole lineaarista suhdetta. Yleisiä hyväksyttyjä raja-arvoja ovat $R^2 \geq 0{,}995$ tai $R^2 \geq 0{,}999$. [30], [34],[35].

Tässä työssä menetelmän LOD voidaan validoida matriisille lisäämällä uuttoon mukaan mahdollisimman pieniä pitoisuuksia kromaatti-standardiliuosta, mittausmenetelmän alarajasta lähtien, niin että osuvat mitattavalle alueelle. Valitut mittauspisteet tehdään kahtena rinnakkaismittauksena.

Validoinnin pohjamatriisina käytetään kahta eri tuhkanäytettä. Menetelmän oikeellisuus määritetään mittaamalla Näytettä HKEM 2021/3682, joka on VDLUFAn vertailunäyte. Cr(VI) pitoisuus vertailunäytteessä on 4,454 mg/kg

kuiva-ainetta, josta kuiva-aineen osuus 99,215 %. Vertailunäytteestä tulee tehdä 2 rinnakkaisuuttoa (pelkästä näytteestä) ja tehdä niin monta rinnakkaista kuin mahdollista (maksimissaan 6–7).

3 Tutkimusaineisto ja -metodit

Tämä työ perustuu EU:n asetukseen 2019/1009 sekä standardiin FprCEN/TS 1778:2021 Organic and organo-mineral fertilizers – Determination of the chromium(VI) content. Asetuksella vahvistetaan säännöt EU:n lannoitetuotteiden markkinoille saattamisesta sekä erityiset turvallisuus- ja laatuvaatimukset määritellyille tuotekategorioille.

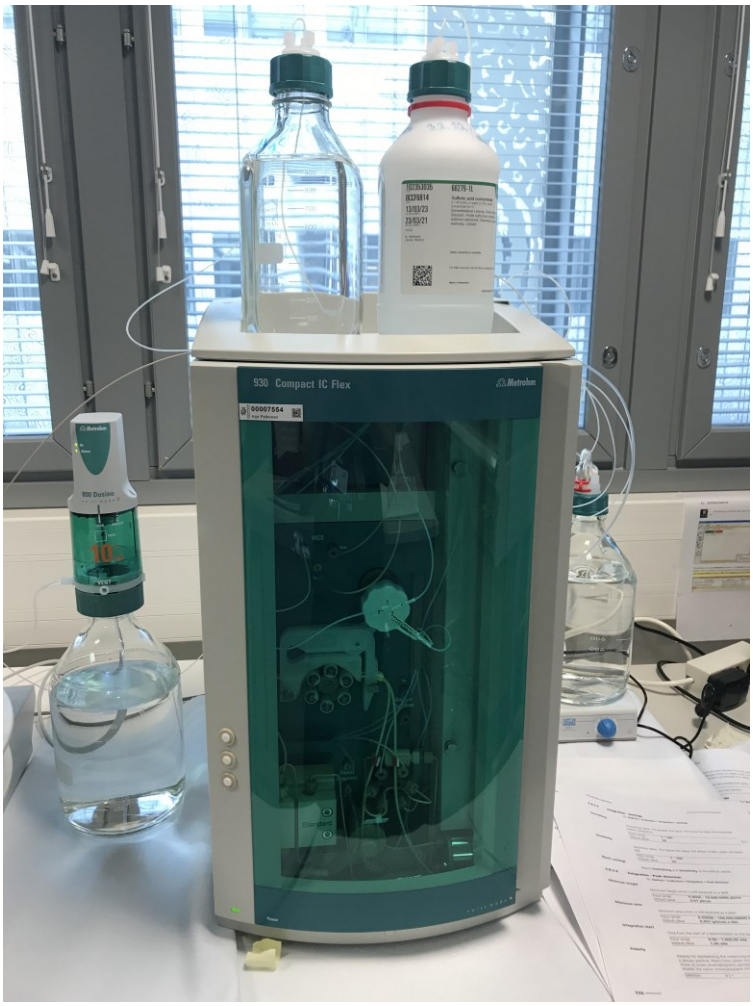
Asetuksen 2019/1009 mukaan epäorgaaniset ja orgaaniset lannoitteet, kalkitusaineet sekä maanparannusaineet eivät saa ylittää raja-arvoa, joka on kuudenarvoisen kromin osalta 2 mg/kg kuiva-ainetta (2 ppm). Tuhkamatriisille ei ole uudessa lainsäädännössä määritetty raja-arvoa Cr(VI):n osalta, sillä lannoitteena saa käyttää ainoastaan puun tai puumaisen materiaalin tuhkaa.[4]

Menetelmä olisi kuitenkin hyvä validoida suppeasti mahdollisia väärinkäyttöjä varten, sillä tuhka on yleinen lannoite Suomessa. Tuhka toimii hyvänä matriisina Cr(VI):n määrittämiseen sen emäksisyyden vuoksi. Tuhka ei myöskään sisällä häiritsevää määrää fosfaattia, ja sitä voidaan uuttaa suurella uuttosuhteella 10 g/ 100 ml vettä.

3.1 IC-laitteisto

Tässä työssä käytettiin Metrohm 930 Compact IC Flex -ionikromatografia johtokykydetektorilla, jolla määritettiin aineiden pitoisuuksia. Laite on esitetty kuvassa 4. Laite tilattiin Ruokavirastolle Cr(VI):n määritystä varten. Aiemmin kromia on mitattu UV- VIS spektroskopialla.

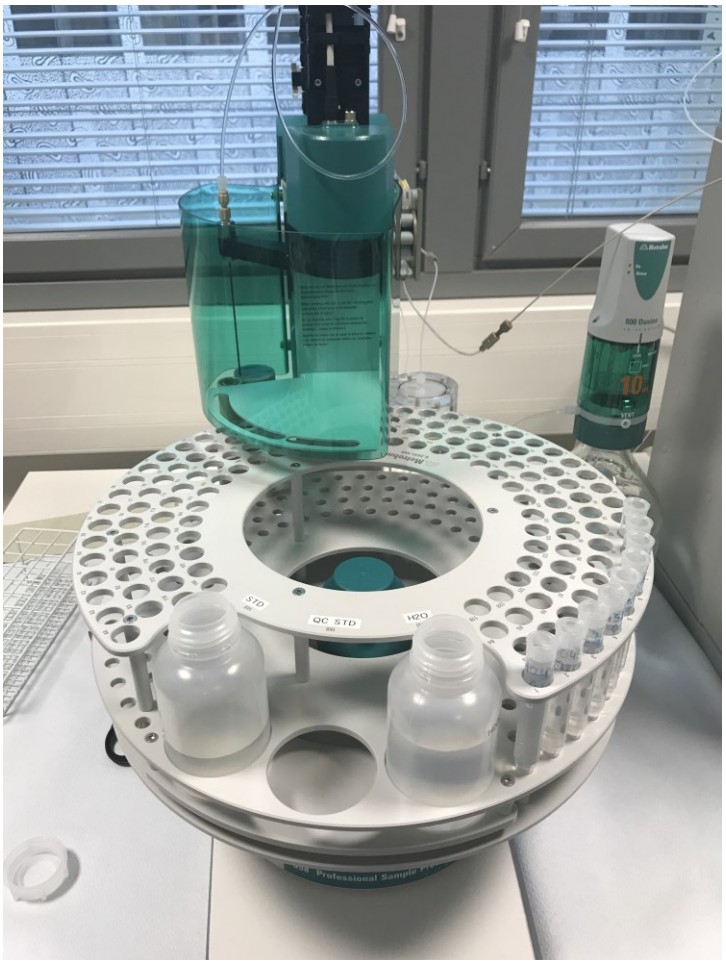
Laitteen päällä oli pullot eluentille, vedelle sekä supressorille tarkoitetulle 0,1M rikkihapolle. Eluenttia säilytettiin laitteen vieressä magneettisekoittajan kanssa, ja sekoittajaa pidettiin päällä aina kun ajo oli käynnissä.



Kuva 4. Ionikromatografilaitteisto. Laitteen päällä on vesi- ja rikkihappopullo ja oikealla eluenttipullo.

Lisäksi laitteessa oli käytössä Metrohm Inline Sample Preparation (MISP), joka laimensi ja valmisteli näytteet automaattisesti ajoa varten. Tätä varten laitteeseen oli yhdistetty myös vedellä täytetty annostelija Metrohm 800 Dosino (kuvassa 4 laitteen vasemmalla puolella).

MISP:n telineessä oli vedelle ja standardiliuokselle oli omat, ennalta määrätyt paikkansa. Näyteputkille oli 148 paikkaa, jotka olivat itse valittavissa ohjelmalla. MISP-laitteisto on esitetty kuvassa 5.



Kuva 5. MISP-laitteisto. Standardiliuos ja vesi omilla paikoillaan ja näytteitä paikoilla 1-9. Oikealla Dosino.

Kuvassa 6 on esitelty laitteen osia lähempää. Korkeapainepumppu pumppaa eluentin ionikromatografialaitteistoon, kuljettaen samalla näytettä mukana. Ne kulkevat esikolonnin läpi varsinaiseen analyyttiseen anionikolonniin, jossa ionit erotellaan toisistaan johtokyvyn perusteella. Seuraavaksi eluentti kuljettaa näytteen supressorille, joka lisää analyytin johtokykyä. Johtokyky-detektori tunnistaa analyytit mittaamalla johtokykyä. Tietokoneohjelma, jolla ajoa ohjattiin, oli Magic IC net, ja sillä pystyi myös käsittelemään ja muokkaamaan tulokset oikeaan muotoon. Kuvassa 6 on esitetty tarkemmin, miltä laitteiston sisältä näytti.

Kuva 6. IC:n pumppu, supressori, ruiskutusventtiili ja näytesilmukka sekä filtterit.

Kationeissa käytettävä eluentti olisi typpihapon ja dipikoliinihapon konsentraatti. Esimerkiksi Cr(III) mittauksia varten voisi käyttää tätä eluenttia. Tässä työssä keskityttiin kuitenkin vain anioneihin, joten tälle eluentille ei ollut käyttöä.

Anioni eluentti valmistettiin itse sekoittamalla natriumkarbonaattia ja natrium bikarbonaattia, johon lisättiin 10 % asetonia. Tätä seosta käytettiin 20-kertaisena laimennoksena. 2000 ml mittapulloon lisättiin 100 ml

natriumbikarbonaatti-natriumkarbonaattiliuosta ja 200 ml asetonia. Lopuksi täytettiin vedellä merkkiin.

3.2 Menetelmät

Tässä luvussa esitellään työssä käytetyt menetelmät. Laitteen valmistaja, Metrohm, antoi laitteen mukana omia esimerkkimenetelmiä, joiden pohjalta pystyi opettelemaan laitteen toimintoja ja testaamaan ajoa ylipäätään myös muilla, helpommilla liuoksilla kuten sulfaatti- ja nitraattinäytteillä.

Ruokaviraston menetelmä perustui aiemmin kromin mittaamiseen käytettyyn menetelmään, joka oli lopulta melko samanlainen kuin Metrohmin menetelmä Cr(VI):lle.

3.2.1 Metrohmin menetelmät

Laitteen valmistajalla oli omat esimerkkimenetelmänsä eri ioneille, joita käytettiin apuna työn aloitukseen. Alkuun harjoiteltiin laitteen käyttöä mittaamalla standardisuoraa nitraatille, sulfaatille ja fosfaatille. Näitä on usein paljon lannoitteissa. Laite pystyi mittaamaan kaikkia kolmea samaan aikaan. Näissä mittauksissa piti ottaa huomioon kuitenkin se, etteivät liuokset ole liian vahvoja jonkin anionin osalta, sillä laite ei kyennyt mittaamaan liian suuria pitoisuuksia.

Standardisuoran menetelmässä käytettiin kromin standardiliuoksena 1 ppm vahvuista liuosta ja standardisuorana 1-10 ppm. Tuloksena saatiin noin 40 min retentioaika kuudenarvoiselle kromille.

Toisessa esimerkkimenetelmässä tutkittiin Cr(VI):n pitoisuutta sementtinäytteessä. Eluenttina käytettiin 3,2 mmol/l Na_2Co_3 ja 1 mmol/l $NaHCO_3$ liuosten seosta. 1000 ppm kromin standardiliuos valmistettiin kaliumkromaatista, josta valmistettiin pienempipitoisia kromiliuoksia (1 g ja 25 ml vettä mitattiin mittapulloon ja suodatettiin). Näytteitä valmistettiin yhteensä neljä

kpl, 0,05 ppm, 0,1 ppm, 0,5 ppm ja 1 ppm. Näistä Cr(VI) havaittiin noin 27. minuutin kohdalla.

Laitteella olisi mahdollista myös mitata samanaikaisesti kationeja ja anioneja. Yhdessä valmistajan esimerkissä oli mitattu Cr(III) ja Cr(VI) samanaikaisesti käyttämällä dual channel 940 professional IC vario:a, jossa kaksi kanavaa on yhdistetty injektorien kautta.

3.2.2 Ruokaviraston menetelmät

Menetelmänä käytettiin Ruokaviraston aiemmin käytettyä lisäysmenetelmää, jossa kromi lisätään ennen uuttoa. Aiemman menetelmän mukaan 10 g lannoitetta mitataan fuugipulloon ja lisätään 40 ml MilliQ-vettä. Ravistelu 230 rpm 15 min ja fuugaus 7000 rpm 10 min. Suodatus 0,45 µm suodattimella ja ruiskulla. Pipetoidaan haluttu määrä uuttoliuosta ja lisätään 50 µl 6M HCl jokaista 10 ml kohden.

Epäorgaanista ainetta määritettäessä tutkittavasta näytteestä valmistettiin varastoliuos kaliumdikromaatista $K_2Cr_2O_7$. $K_2Cr_2O_7$ kuivattiin 100°C:ssa 2 h ja jäähdytettiin eksikaattorissa, josta valmistettiin tämän jälkeen 1000 ppm varastoliuos. Tätä liuosta säilytettiin valolta suojattuna ja folioon käärittynä jääkaapissa. Liuos valmistettiin uudelleen kuukausittain. Tästä liuoksesta valmistettiin myös laimeampi 100 ppm liuos, joka säilytettiin samalla tavalla, mutta liuos valmistettiin uudelleen viikoittain.

IC:a varten luotiin tietokoneohjelmaan erilaisia menetelmiä. Kromimenetelmää varten valmistettiin standardivarastoliuos, johon punnittiin 2,829 g $K_2Cr_2O_7$/1000 ml. Tällöin pitoisuus Cr(VI):n suhteen:

$$\frac{103{,}992\ g/mol}{294{,}181\ g/mol} \cdot 2{,}829\ g = 0{,}35349 \cdot 2{,}829\ g/l = 1{,}00\ g/l = 1000\ mg/l$$

Ajoa varten tehtiin laimennus: 1 ml/1000 ml →1000 µl/l

Pitoisuus kromaatin suhteen:

$$\frac{M(\mathrm{Cr_2O_7})}{M(\mathrm{K_2Cr_2O_7})} = \frac{215{,}985\ \frac{g}{mol}}{294{,}181\ \frac{g}{mol}} = 0{,}734$$

$$0{,}734 \cdot 2{,}826\ g/l = 2{,}0765\ g/l = 2076{,}5\ mg/l$$

1000 mg/l varastoliuoksen kromipitoisuus:

$$\frac{1000\ mg}{0{,}734} = 1362\ mg$$

Määritysalaraja Cr(VI)n suhteen 2 mg/kg = 2 µg/g, jolloin 2 g näytteessä (standardin mukaan, 2 g/100 ml) maksimipitoisuus 4 µg/100 ml eli 40 µg/l.

Pitoisuus kromaattina:

$$\frac{M(\mathrm{Cr_2O_7})}{M(\mathrm{Cr_2})} = \frac{215{,}985\ \frac{g}{mol}}{103{,}992\ \frac{g}{mol}} = 2{,}077$$

$$40\ \mu g/l \cdot 2{,}077 = 83{,}08\ \mu g/l$$

Standardisuora kromaatin suhteen:

µg/l	50	100	200	500	1000
laimennus-kerroin	20	10	5	2	1

Menetelmä kromaatille Cr_2O_7:

$$c_1V_1 = c_2V_2$$

$$c_1 = \frac{c_2V_2}{V_1} = \frac{100\ \frac{mg}{l} \cdot 10\ ml}{1000\ ml} = 1\ mg/l$$

500 ml mittapulloon mitataan siis 5 ml 100 ppm liuosta.

100 ppm liuosta käytettiin 2 ppm standardiliuoksen valmistamiseen. 4 ml 100 ppm liuosta mitattiin 200 ml mittapulloon ja täytettiin vedellä merkkiin.

Tämän jälkeen liuosta laimennettiin ja lisättiin lannoitenäytteeseen, joka oli ravisteltu ja käytetty sentrifugissa. Lopuksi näyte suodatettiin ruiskusuodattimen avulla IC putkiin.

Ennen varsinaista ajoa, näytteistä luotiin tietokoneella ajolista, jonka mukaan laite osasi automaattisesti laimentaa standardisuoran pitoisuusvälille 0,1 ppm-2 ppm sekä valita oikean näytteen. Laitteen käynnistyksen jälkeen ajettiin ensin pelkkää eluenttia laitteiston läpi noin 30 minuutin ajan, jotta saatiin varmistus pohjaviivan tasaisuudesta.

IC:n määrityksessä standardiliuos laitettiin omalle paikalleen ja näytteen valituille paikoille. Niistä laite osasi itse laimentaa annetussa suhteessa sopivat näytteet. Näyte imettiin neulalla suoraan IC-putkesta, josta se kulki eluentin kanssa läpi laitteiston päätyen lopulta detektorin kautta jäteastiaan. Yhden näytteen ajaminen kesti noin 30 minuuttia.

3.3 Tulosten käsittely

Tuloksia käsiteltiin Magic IC net ohjelmalla, joka asennettiin tietokoneelle laitekoulutuksen yhteydessä. Tulokset tulevat tietokoneelle näyte kerrallaan. Tämä mahdollistaa sen, että jos kesken ajon huomaa tulevien näytteiden kohdalla jonkin virheen, on se vielä mahdollista korjata tai esimerkiksi lisätä jokin näyte.

Kun näytteet oli ajettu, tarkastettiin, näkyikö eluentti- ja kromipiikkiä sekä oliko pohjaviiva kunnossa. Mikäli kaikki ei ollut kunnossa, oli tuloksia mahdollista uudelleenkäsitellä.

Uudelleenkäsittely (reprocessing) tehdään, jos menetelmästä on unohtunut jokin tieto. Tällainen voisi olla esimerkiksi väärä retentioaika yhdelle komponentille, mistä johtuu se, ettei piikkiä/huippua havaita. Uudelleenkäsittely

vaihe on tarpeellinen myös silloin, jos näytteet on mitattu ennen järjestelmän kalibrointia tai jos standardien taulukossa on virhe.

Uudelleenkäsittelyä varten tarvitaan mitattujen anionien retentioajat, luettelo mitattujen ionien pitoisuuksista sekä kaikkien standardien määritykset. Myös näytteiden määritykset voivat olla tarpeellisia.

3.4 Näytteet

Tässä työssä näytteiksi valikoitui epäorgaaniset lannoitteet, tuhkat sekä kalkit. Nämä näytteet eivät sisältäneet kromia, vaan kromi lisättiin sinne itse. Näitä materiaaleja käytetään usein Suomessa lannoitteina, ja ne ovat tärkeimpiä uuden lainsäädännön kannalta.

3.4.1 Epäorgaaniset näytteet

Työ aloitettiin valmistamalla 1000 ppm kromin varastoliuos, josta laimennettiin 100 ppm liuos standardiliuosta varten.

Kontrollinäytteenä toimi 11-5-18, joka sisälsi nitraattia (4,42 ppm), nitraattityppeä, fosfaattia (0,03 ppm), PO_4^-ioneja sekä sulfaattia (0,35 ppm).

Epäorgaanisista näytteistä tutkimuksen kohteena olivat HKEM-3956, HKEM-3975 ja HKEM-4073, joista yksikään ei alkujaan sisältänyt kromia.

1000 ppm varastoliuoksesta valmistettiin 100 ppm kromiliuos. Näytteitä punnittiin noin 4 g sentrifugiin sopivaan muovipulloihin, ja lisättiin 200 ml vettä. Pullot ravisteltiin ravistelijassa 100 rpm tunnin ajan. Tämän jälkeen pullot laitettiin sentrifugiin 10 minuutiksi 7000 rpm nopeudella.

Syntynyttä liuosta mitattiin 10 ml 100 ml mittapulloon ja lisättiin aiemmin valmistettua 100 ppm kromiliuosta 1,25 ml, 2,5 ml, ja 5 ml, jolloin pitoisuudet 1,25 ppm, 2,5 ppm ja 5 ppm.

$$\frac{1{,}25\ ml \cdot 100\ ppm}{100\ ml} = 1{,}25\ ppm$$

Mittapullot täytettiin vedellä merkkiin ja suodatettiin näytettä 10–15 ml ruiskusuodattimilla IC-putkiin.

Standardisuora näille liuoksille oli 0,5 ppm-10 ppm. Standardiliuos valmistettiin mittaamalla 20 ml 100 ppm kromiliuosta 200 ml mittapulloon, jolloin pitoisuus oli 10 ppm. Laite laimensi näistä suoralle pisteet 0,5 ppm, 1,25 ppm, 2,5 ppm, 5 ppm ja 10 ppm.

3.4.2 Tuhkanäytteet

Tuhkanäytteistä valittiin näytteiksi HKEM-1484 ja HKEM-1610.

Näytteitä punnittiin noin 10 g ja pulloon lisättiin 100 ml vettä pipetoimalla. Ennen uuttoa näytteisiin lisättiin 1 ml 100 ppm kromiliuosta. Näytteet laitettiin ravistelijaan 100 rpm tunniksi, jonka jälkeen ne menivät sentrifugiin 7000 rpm 10 minuutiksi. Näytteet suodatettiin ruiskusuodattimilla IC-putkiin. Ensimmäisen suodatuskerran jälkeen liuos oli vielä niin sakeaa, joten tuhkanäytteet suodatettiin vielä toisen kerran. IC-putkiin laitettiin muoviset korkit kromin säilyvyyden takia.

Standardisuora tuhkanäytteille oli 0,1 ppm-2 ppm. Standardiliuos valmistettiin mittaamalla 4 ml 100 ppm kromiliuosta 200 ml mittapulloon ja täytettiin vedellä merkkiin saakka. Laite laimensi tästä liuoksesta standardisuoralle pisteet 0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,33 ppm, 0,5 ppm, 0,67 ppm, 1 ppm ja 2 ppm.

3.4.3 Tuhkanäytteet + vertailunäyte HKEM 2021/3682

Tuhkanäytteistä tehtiin myös toinen sarja validointia varten. Tässä sarjassa olivat mukana näytteet HKEM-1484 ja HKEM-1610 sekä vertailunäyte HKEM 2021/3682.

Vertailunäytteen kromipitoisuus kromaattina voitiin laskea seuraavasti, kun Cr(VI) pitoisuus oli 4,454 mg/kg, ka 99,215 %, jolloin 10 g näytteessä 44,54 µg/ 100 ml → 445,4 µg/l:

$$\frac{M(\mathrm{Cr_2O_7})}{M(\mathrm{Cr_2})} = \frac{215{,}985\ \frac{g}{mol}}{103{,}992\ \frac{g}{mol}} = 2{,}077$$

$$445{,}4\ \frac{\mu g}{l} * 2{,}077 = 925{,}0958\ \frac{\mu g}{l}$$

$$925{,}0958\ \mu g/l = 0{,}925\ \mathrm{ppm}$$

Punnittiin 10 g näytettä ja lisättiin 100 ml vettä. Lisättiin 100 ppm kromiliuosta 200 µl ja 400 µl kahteen näytteeseen, jolloin pitoisuudet olivat 0,2 ppm ja 0,4 ppm. Vertailunäytteen laskettu kromipitoisuus oli 0,925 ppm ilman lisäystä.

3.4.4 Kalkkinäytteet

Kalkkinäytteitä valittiin kolme kappaletta HKEM-4045, HKEM-4528 sekä HKEM-4929 sekä kalkkikontrolli. Näytteitä punnittiin 10 g fuugipulloon ja lisätään 100 ml vettä. Näytteisin lisättiin 10 ml 2 ppm kromiliuosta, jolloin kromipitoisuus oli 0,2 ppm. Lisäksi valmistettiin kaksi 2 ppm standardiliuosta lisäämällä 4 ml 100 ppm varastoliuosta ja lisättiin vesi mittapulloon. Kalkkikontrollia punnittiin 10 g ja lisättiin 100 ml vettä. Kalkkikontrolleihin lisättiin 0,8 ml ja 2 ml 100 ppm kromiliuosta, jolloin pitoisuudet olivat 0,4 ppm ja 1 ppm. Kaikki näytteet laitettiin ravistelijaan 1 h 100 rpm ja sentrifugiin 7000 rpm 10 min, minkä jälkeen ne suodatettiin ruiskusuodattimilla IC putkiin.

Standardisuora kalkkinäytteille oli 0,1–2 ppm. Standardiliuoksena käytettiin aiemmin valmistettua 2 ppm kromiliuosta.

4 Tulokset

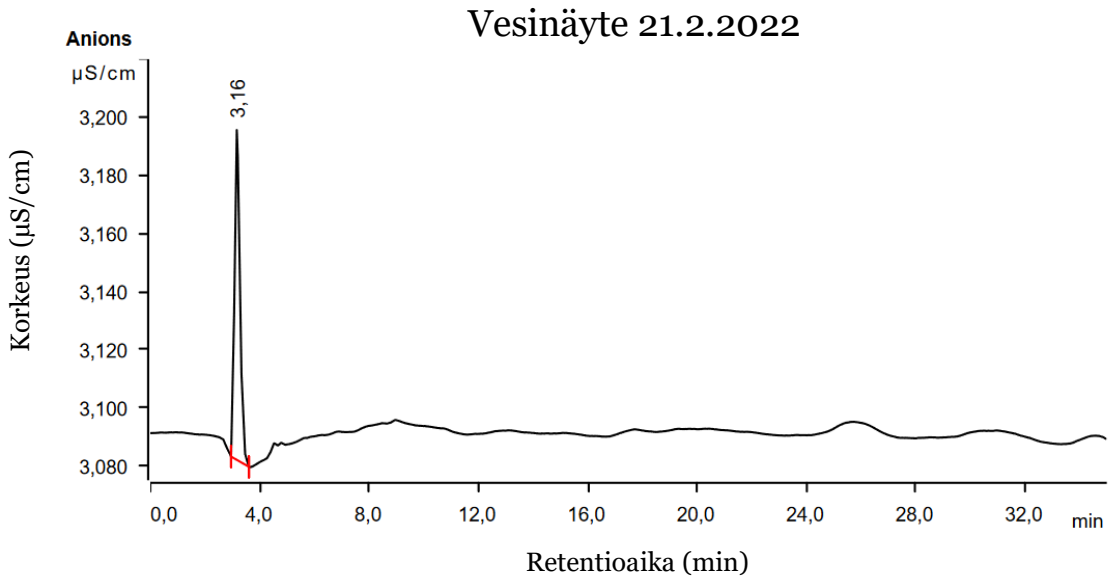
Tässä luvussa esitetään työn tulokset. Alaluvuissa esitellään erikseen standardiliuosten, epäorgaanisten näytteiden, tuhkien sekä kalkkien tulokset.

4.1 Standardiliuokset

Standardiliuosten mittauksessa aloitettiin vahvemmilla liuoksilla, jotta nähdään, onko menetelmä sopiva, ja ettei kromi ole hävinnyt minnekään.

Ajo 21.-22.2: Standardit 1–4 (pitoisuudet 50–500 ppm) eivät ajautuneet ensimmäisellä kerralla, jolloin lisättiin näytteen jälkeen kaikki standardit uudelleen ajettavaksi. Tämä ei auttanut, sillä standardeille oli laitettu laimennuskertoimet itse, jolloin laite ei aja niitä. Automaattiset kertoimet olivat jo valmiina (1, 2, 4, 8 ja 20) eli standardeja ei voi laimentaa lisää. Viimeinen näyte kuitenkin näytti onnistuneen, ja lisäksi joka näytteen välissä ajettu vesinäyte oli onnistunut, eikä näkynyt merkkejä muista yhdisteistä. Vesinäytteessä pohjaviiva oli tasainen ja eluenttipiikki havaittiin kuten pitäisikin (kuva 7).

Ajo uusittiin seuraavana päivänä niin, että pitoisuudet olivat 50 µg/l, 125 µg/l, 250 µg/l, 500 µg/l ja 1000 µg/l. Tämä ajo onnistui eli ongelmana oli standardeille itse asetetut laimennuskertoimet, vaikka ne olivat jo valmiina ajo-ohjelmassa.



Kuva 7. Vesinäytteen kromatogrammi, jossa tasainen pohjaviiva. 3,16 piikki johtuu eluentista.

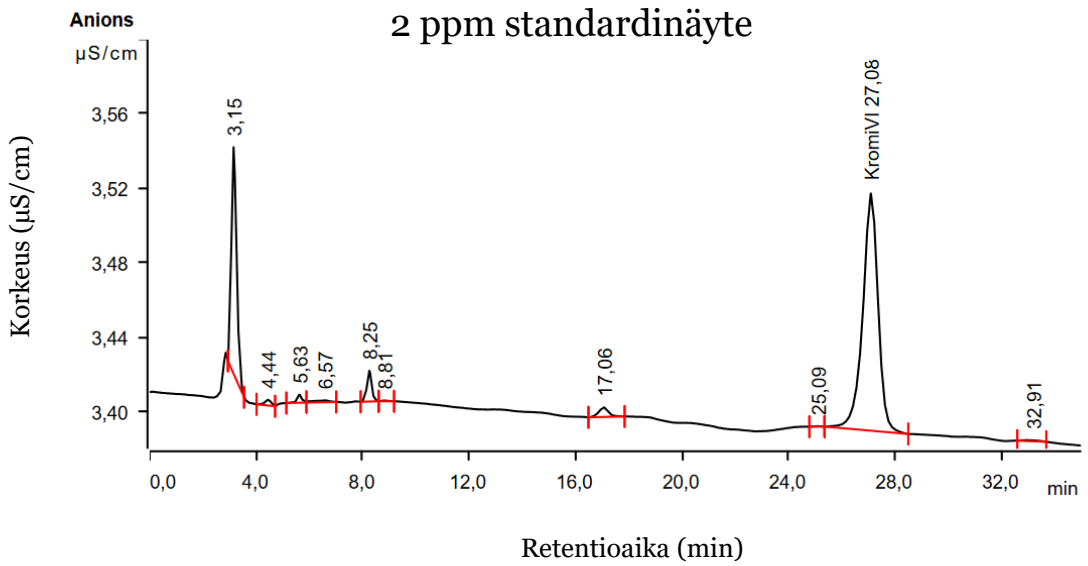
23.2. Ajo Cr_2O_7 -menetelmällä. 15.2 valmistettua 100 ppm liuosta ja vettä mitattiin 50:50 suhteessa mittapulloon. Pitoisuus kromaattina 100 ppm. Standardien pitoisuudet olivat 5 ppm, 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm ja 100 ppm. Uudelleenkäsittely onnistui, ja kaikki piikit saatiin integroitua.

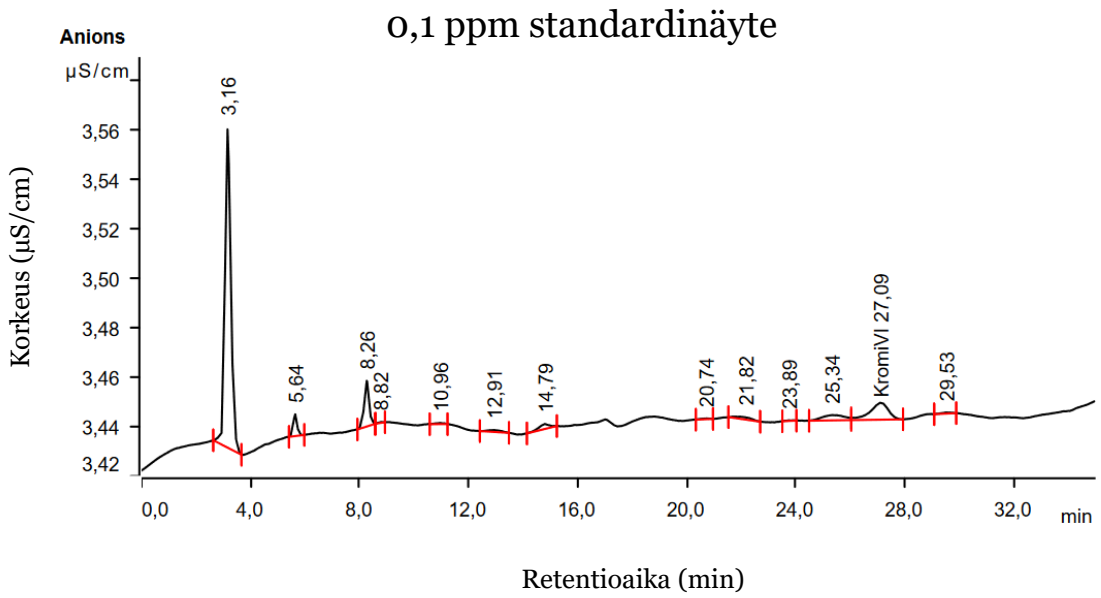
Taulukossa 1 on esitetty ensimmäisten ajojen standardiliuosmittauksia. Näiden mittausten tarkoituksena oli kyetä määrittämään rajat kromin havaitsemiselle, jonka tulisi olla mahdollisimman alhainen.

Taulukko 1. Kromin havaitsemiseksi tehtyjen standardiliuosten tulokset.

Std pitoisuus (ppm)	Retentioaika (min)	Korkeus (µS/cm)	Pinta-ala (µS/cm·min)
2.3.2022			
0,1	26,38	0,008	0,007
0,25	26,36	0,016	0,01
0,5	26,39	0,034	0,021
1,0	26,37	0,072	0,046
2,0	26,37	0,156	0,102
7.3.2022			
0,1	26,65	0,005	0,003
0,25	26,64	0,01	0,01
0,5	26,57	0,034	0,022
1,0	26,63	0,075	0,048
2,0	26,61	0,16	0,109
9.3.2022			
0,1	26,6	0,007	0,004
0,25	26,6	0,018	0,011
0,5	26,57	0,038	0,026
1,0	26,58	0,074	0,047
2,0	26,56	0,164	0,107
16.3.2022			
0,1	27,01	0,004	0,002
0,25	26,98	0,013	0,009
0,5	26,99	0,027	0,018
1,0	27,0	0,062	0,044
2,0	26,96	0,11	0,084
23.3.2022			
0,1	27,09	0,007	0,005
0,25	27,10	0,016	0,012
0,5	27,05	0,031	0,02
1,0	27,04	0,065	0,043
2,0	27,08	0,127	0,085

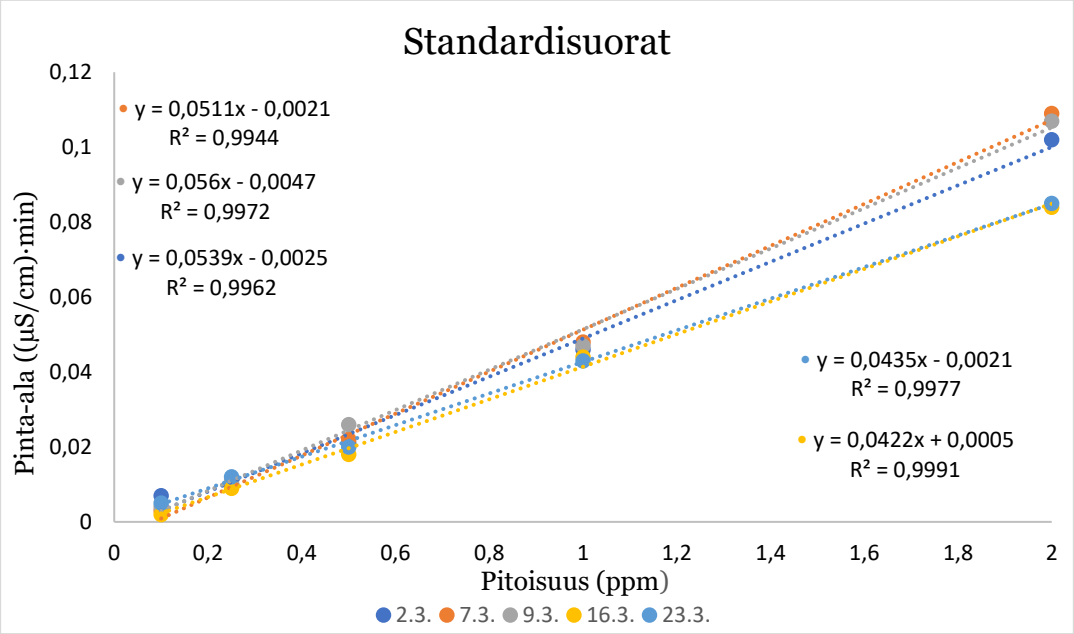
Taulukosta nähdään, että kromi on havaittu jokaisessa näytteessä. Kuvissa 8 ja 9 on esimerkkinä tuloksia 23.3 tehdyn ajon kromatogrammit laimeimmasta ja vahvimmasta näytteestä. Kromipiikki on niissä havaittavissa 27. minuutin kohdalla.





Kuvat 8 ja 9. 23.3 standardinäytteet, ylempänä 2 ppm ja alempana 0,1 ppm.

Kuvassa 10 on esitetty edellä mainittujen päivien standardisuorat. Niistä huomataan korrelaatiokertoimen olevan yli 0,99, mikä tarkoittaa suorien olevan riittävän lineaarisia. Hieman eroavaisuuksia päivien välillä kuitenkin on, mutta tulokset vaikuttavat siltä, että menetelmä toimii hyvin kromille.



Kuva 10. Ensimmäisten ajojen standardisuorat.

Tulosten perusteella voidaan sanoa, että kuudenarvoinen kromi havaittiin jopa laimeimmassa standardiliuoksessa. Näistä mittauksista määritettiin sopivaksi standardisuoraksi 0,1-2 ppm. Haluttiin kuitenkin vielä tarkempia tuloksia, joten päätettiin lisätä pisteiden lukumäärää standardisuoralla, joten lisättiin kappalemäärää kahdeksaan. Standardiliuosten pitoisuudet olivat nyt 0,1 ppm, 0,154 ppm, 0,2 ppm, 0,25 ppm, 0,33 ppm, 0,4 ppm, 0,67 ppm, 1 ppm ja 2 ppm eli laite laimensi nämä suhdeluvuilla 1, 2, 3, 5, 6, 8, 10, 13 ja 20. Nämäkin kertoimet sai itse valita laitteen ohjelmalla.

Taulukko 2. Uusien standardisuorien 0,1–2 ppm mittaustuloksia.

Std pitoisuus (ppm)	Retentioaika (min)	Korkeus (µS/cm)	Pinta-ala (µS/cm·min)	Pitoisuus (ppm)
30.3.2022				
0,1	26,75	0,005	0,003	0,086
0,154	26,77	0,01	0,007	0,162
0,2	26,77	0,012	0,007	0,184
0,25	26,77	0,014	0,009	0,225
0,33	26,76	0,018	0,012	0,302
0,4	26,78	0,023	0,015	0,377
1,0	26,75	0,065	0,044	1,031
6.4.2022				
0,1	27,17	0,004	0,003	0,1
0,154	27,14	0,008	0,006	0,154
0,2	27,16	0,009	0,005	0,148
0,25	27,16	0,011	0,007	0,274
0,33	27,16	0,017	0,012	0,334
0,4	27,17	0,019	0,012	0,38
0,67	27,15	0,037	0,024	0,671
1,0	27,16	0,053	0,036	0,998
2,0	27,16	0,112	0,075	1,99
11.4.2022				
0,1	26,54	0,004	0,003	0,1
0,154	26,56	0,007	0,004	0,154
0,2	26,58	0,009	0,006	0,2
0,25	26,58	0,012	0,009	0,249
0,33	26,56	0,016	0,01	0,321
0,4	26,57	0,02	0,013	0,409
0,67	26,55	0,034	0,022	0,672
1,0	26,56	0,057	0,037	1,005
2,0	26,57	0,116	0,075	1,995
19.4.2022				
0,1	26,81	0,007	0,005	0,1
0,154	26,81	0,009	0,006	0,154
0,2	26,8	0,013	0,008	0,2
0,25	26,78	0,015	0,009	0,248
0,33	26,79	0,021	0,014	0,331
0,4	26,82	0,025	0,016	0,39
0,67	26,8	0,04	0,026	0,668
1,0	26,81	0,065	0,042	1,006
2,0	26,81	0,128	0,084	1,997

2.5.2022				
0,1	27,05	0,004	0,002	
0,154	27,01	0,011	0,008	
0,2	27,05	0,012	0,008	
0,25	27,02	0,015	0,011	
0,33	27,06	0,019	0,013	
0,4	27,07	0,023	0,016	
0,67	27,07	0,039	0,025	
1,0	27,06	0,061	0,04	
2,0	27,06	0,13	0,086	

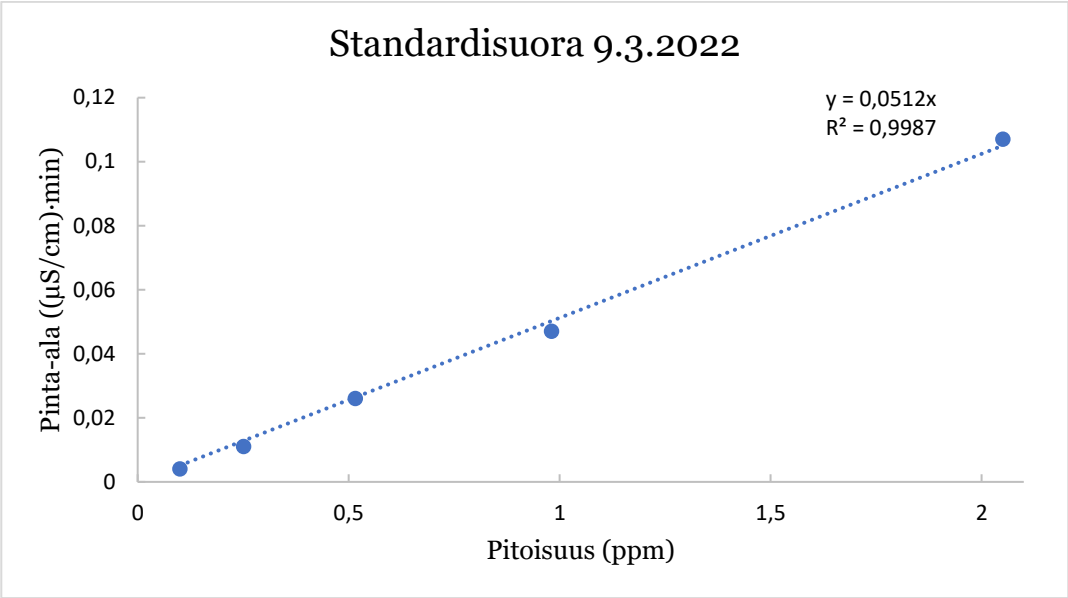
4.2 Epäorgaaniset näytteet

Taulukossa 3 on esitetty 9.3.2022 tulokset. Standardimittauksista on muodostettu standardisuora pitoisuuden ja pinta-alan suhteen.

Taulukko 3. Epäorgaanisten näytteiden tulokset 9.3.2022.

9.3.2022	Retentioaika (min)	Korkeus (µS/cm)	Pinta-ala (µS/cm·min)	Pitoisuus (ppm)
Std 0,1 ppm	26,6	0,007	0,004	0,1
Std 0,25 ppm	26,6	0,018	0,011	0,251
Std 0,5 ppm	26,57	0,038	0,026	0,516
Std 1,0 ppm	26,58	0,074	0,047	0,981
Std 2,0 ppm	26,56	0,164	0,107	2,051
3956 0,25 ppm	26,62	0,029	0,018	0,336
3956 0,5 ppm	26,61	0,047	0,030	0,575
3956 1,0 ppm	26,62	0,080	0,052	1,002
3975 0,25 ppm	26,62	0,034	0,023	0,437
3975 0,5 ppm	26,62	0,049	0,032	0,612
3975 1,0 ppm	26,60	0,084	0,054	1,042
4073 0,25 ppm	26,67	0,036	0,023	0,441
4073 0,5 ppm	26,69	0,053	0,034	0,649
4073 1,0 ppm	26,67	0,091	0,058	1,119
11-5-18 0,25 ppm	26,66	0,036	0,022	0,425
11-5-18 0,5 ppm	26,68	0,055	0,036	0,693
11-5-18 1,0 ppm	26,66	0,089	0,057	1,095

Kuvassa 11 on esitetty päivän standardisuora korrelaatiokertoimineen.



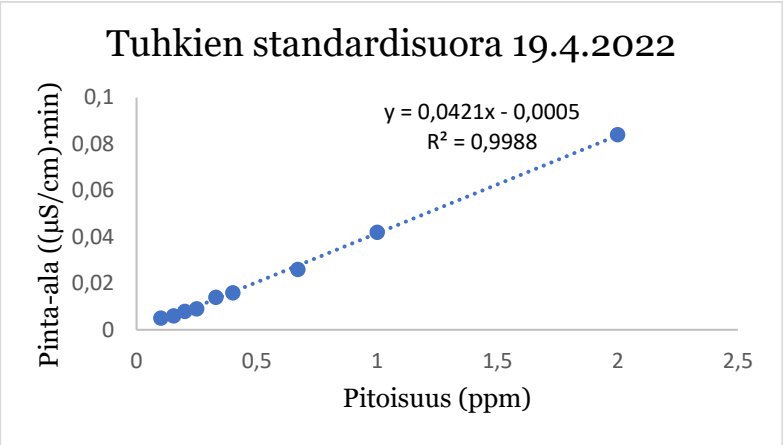
Kuva 11. Epäorgaanisten näytteiden standardisuora 9.3.2022.

4.3 Tuhkanäytteet

Taulukossa 4 on esitetty standardiliuoksen sekä tuhkanäytteiden tulokset. Näyte 3682 on kontrolli, jonka pitoisuus on 1 ppm. Kuvassa 12 on esitetty tuhkien tuloksista muodostettu standardisuora.

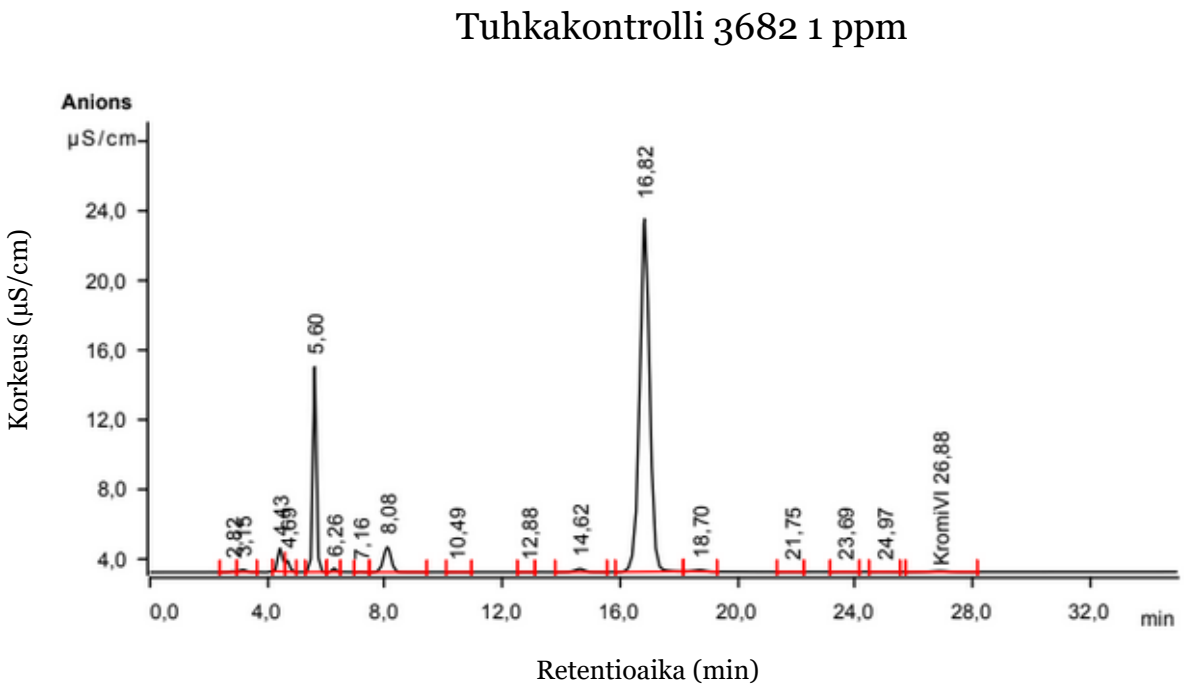
Taulukko 4. Tuhkanäytteiden ja standardien tulokset.

19.4.2022	Retentioaika (min)	Korkeus (µS/cm)	Pinta-ala (µS/cm·min)	Pitoisuus (ppm)
Std 0,1 ppm	26,81	0,007	0,005	0,1
Std 0,154 ppm	26,81	0,009	0,006	0,154
Std 0,2 ppm	26,8	0,013	0,008	0,2
Std 0,25 ppm	26,78	0,015	0,009	0,248
Std 0,33 ppm	26,79	0,021	0,014	0,331
Std 0,4 ppm	26,82	0,025	0,016	0,39
Std 0,67 ppm	26,8	0,04	0,026	0,668
Std 1,0 ppm	26,81	0,065	0,042	1,006
Std 2,0 ppm	26,81	0,128	0,084	1,997
1484 0,2 ppm	26,81	0,02	0,013	0,331
1484 0,2 ppm	26,86	0,02	0,013	0,315
1484 0,4 ppm	26,89	0,027	0,018	0,437
1484 0,4 ppm	26,89	0,029	0,02	0,487
1610 0,2 ppm	26,84	0,013	0,007	0,189
1610 0,2 ppm	26,85	0,013	0,007	0,172
1610 0,4 ppm	26,68	0,024	0,014	0,337
1610 0,4 ppm	26,85	0,024	0,013	0,335
3682 1,0 ppm	26,88	0,056	0,038	0,916
3682 1,0 ppm	26,88	0,054	0,036	0,873

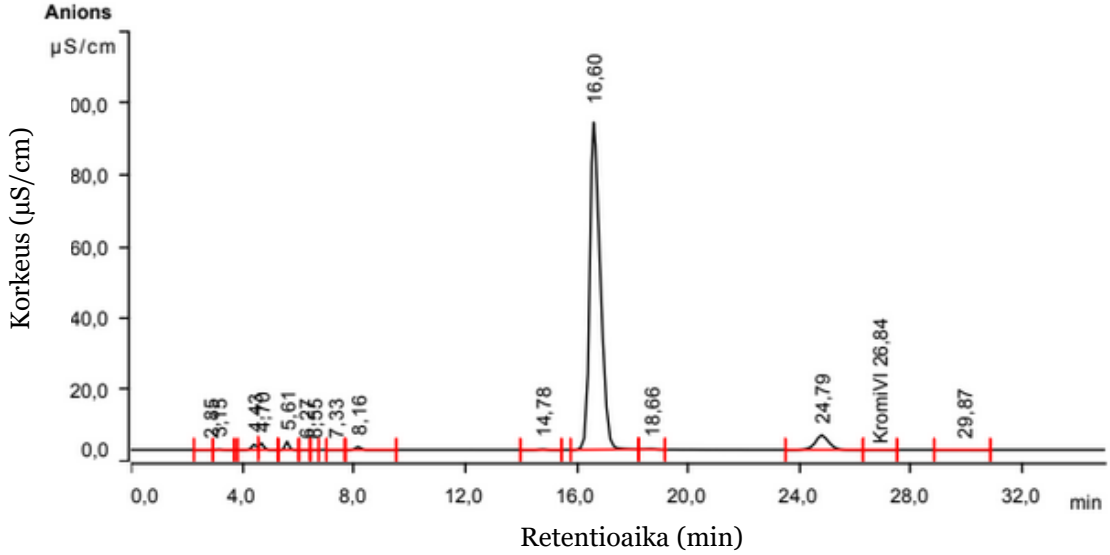


Kuva 12. Tuhkanäytteiden standardisuora 19.4.2022.

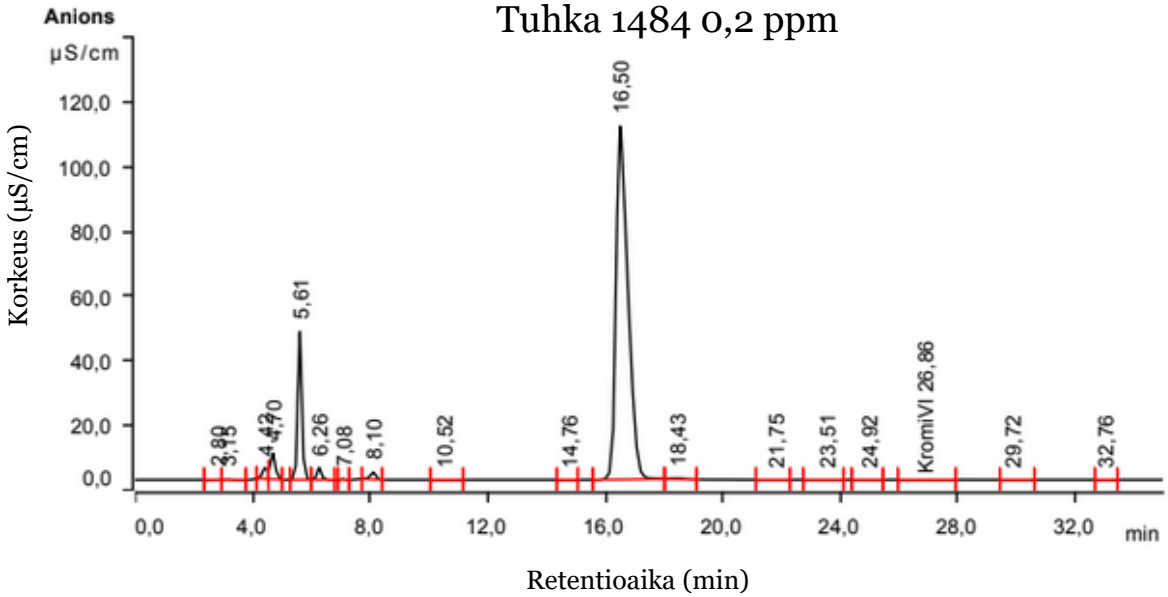
Kuvissa 13, 14 ja 15 on esitetty esimerkkejä tuhkien kromatogrammeista. Niistä huomataan, että näytteet sisälsivät muita yhdisteitä, mutta ne eivät vaikuttaneet kromin havaitsemiseen.



Tuhka 1610 0,2 ppm



Tuhka 1484 0,2 ppm



Kuvat 13, 14 ja 15. Tuhkanäytteiden kromatogrammit 19.4.2022.

Kuvassa 16 on esitetty tuhkamenetelmän validointia varten tehtyjen näytteiden residuaaliarvojen jakautuminen kyseisen päivän mittauksessa. Tuhkanäytteiden pitoisuudet olivat tällöin 0,1 ppm, 0,154 ppm, 0,2 ppm, 0,25 ppm, 0,25 ppm, 0,33 ppm, 0,4 ppm, 0,67 ppm, 1 ppm ja 2 ppm.

Residuaaliarvot saadaan laskettua lineaarisesta regressiosuorasta yhtälöllä:

$$Y = a + bX$$

Tällöin 19.4. olevien standardien perusteella saadaan laskettua:

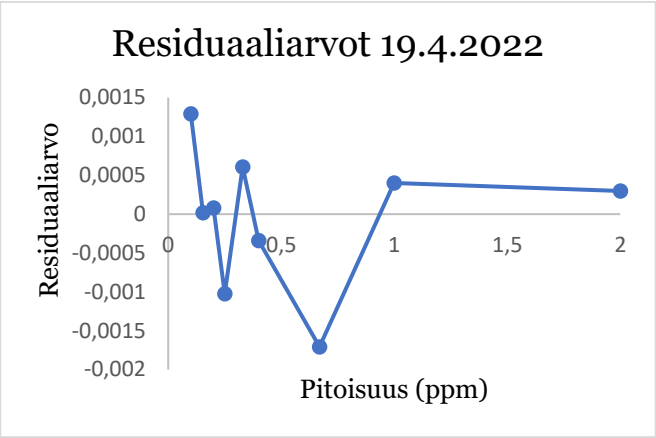
$$y = -0{,}0005 + 0{,}0421 \cdot 0{,}1 = 0{,}00371$$

Tuhkanäytteiden residuaaliarvot on esitetty taulukossa 5.

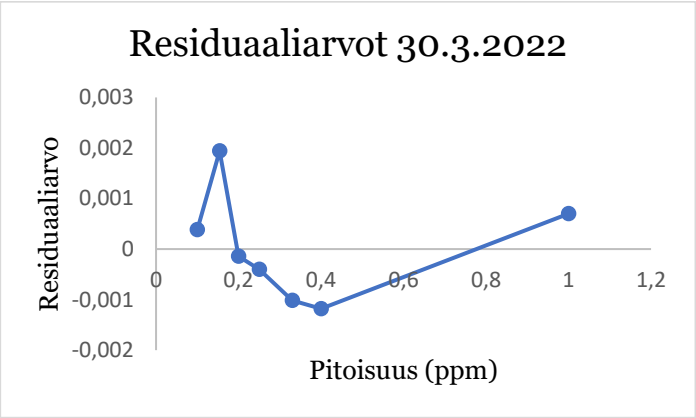
Taulukko 5. Tuhkanäytteen tuloksista lasketut residuaaliarvot.

Pitoisuus (ppm)	Y	Pinta-ala ((µS/cm)·min)	Residuaaliarvo
0,1	0,00371	0,005	0,00129
0,154	0,00598	0,006	0,000017
0,2	0,00792	0,008	0,00008
0,25	0,01003	0,009	-0,00103
0,33	0,01339	0,014	0,00061
0,4	0,01634	0,016	-0,00034
0,67	0,02771	0,026	-0,00171
1,0	0,0416	0,042	0,0004
2,0	0,0837	0,084	0,0003

Residuaaliarvot eivät aivan mene vuorotellen nollan molemmilta puolelta, mutta tulos on parempi verrattuna aiempaan. Kuvassa 17 on muutamaa viikkoa aiemmin tehty mittaus, jossa residuaaliarvot eivät noudattaneet tätä kaavaa keskimmäisissä näytteissä ollenkaan, vaan olivat liikaa nollan alapuolella. Parannusta edellisiin oli siis tapahtunut uusimmissa näytteissä.



Kuva 16. Residuaaliarvojen jakautuminen paremmin nollan molemmille puolille tuhkanäytteessä 19.4.2022.



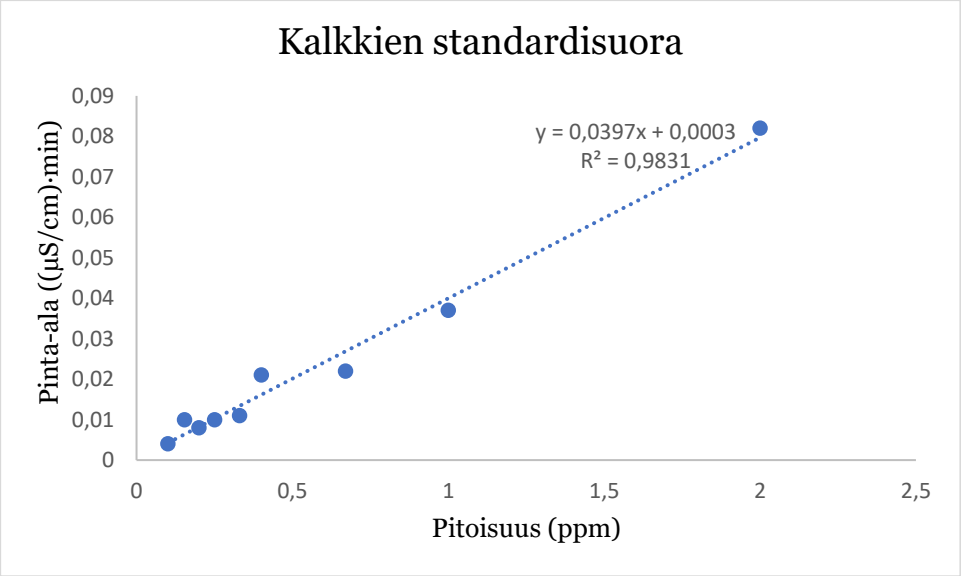
Kuva 17. Residuaaliarvot tuhkanäytteissä 30.3.2022. Tässä mittauksessa ne eivät jakautuneet tasaisesti nollan molemmille puolille.

4.4 Kalkkinäytteet

Kalkkinäytteitä lähdettiin ajamaan samalla tavalla kuin epäorgaanisia näytteitä ja tuhkanäytteitä. Tuloksia ei kuitenkaan saatu odotetulla tavalla, sillä kromipiikkejä ei havaittu ja pohjaviiva ei pysynyt tasaisena 30 minuutin lämmittelyajon aikana. Näiden käytettyjen kalkkien osalta voitiinkin todeta, että näytteet olivat vääränlaisia tälle menetelmälle.

Kuvassa 18 on esitetty kalkkinäytteiden standardisuora. Jo standardisuorasta on nähtävillä, että tulokset eivät ole yhtä hyviä. Esimerkiksi korrelaatiokerroin ei ole niin hyvä kuin muissa matriiseissa. Taulukossa 6 tulokset

kalkkiajosta, jotka poikkeavat myös verrattaessa muihin matriiseihin. Kaikista näytteistä ei saatu laskettua pitoisuutta uudelleenkäsittelyn jälkeen, sillä arvot olivat niin poikkeavia.

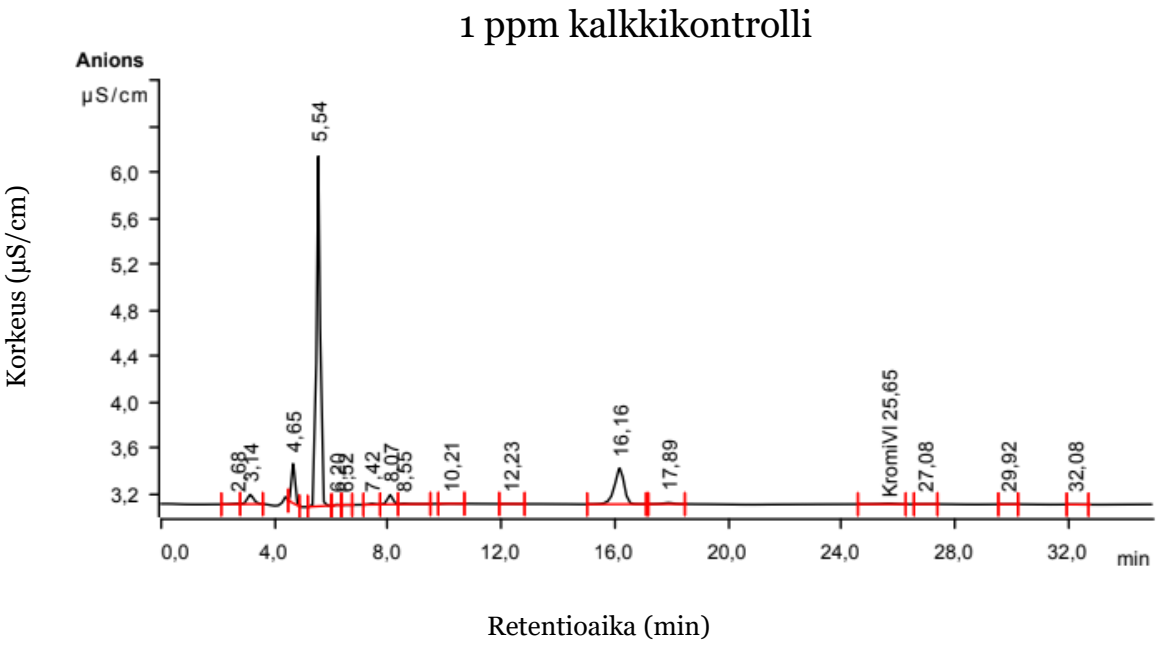


Kuva 18. Kalkkinäytteiden standardisuora.

Taulukko 6. Kalkkinäytteiden, kontrollien ja standardien tulokset.

3.5.2022	Retentioaika (min)	Korkeus (µS/cm)	Pinta-ala (µS/cm·min)	Pitoisuus (ppm)
Std 0,1 ppm	26,82	0,006	0,004	0,1
Std 0,154 ppm	26,85	0,011	0,01	0,154
Std 0,2 ppm	26,82	0,012	0,008	0,135
Std 0,25 ppm	26,84	0,014	0,010	-
Std 0,33 ppm	26,83	0,017	0,011	-
Std 0,4 ppm	26,82	0,021	0,021	-
Std 0,67 ppm	26,84	0,036	0,022	0,676
Std 1,0 ppm	26,83	0,057	0,037	1,001
Std 2,0 ppm	26,79	0,123	0,082	1,996
4045 0,1 ppm	26,75	0,014	0,0092	0,471
4045 0,1 ppm	26,82	0,008	0,0036	0,08
4045 0,2 ppm	26,79	0,024	0,018	0,51
4045 0,2 ppm	26,80	0,022	0,016	0,449
4528 0,1 ppm	26,90	0,005	0,0031	0,06
4528 0,1 ppm	26,90	0,007	0,0048	0,178
4528 0,2 ppm	26,9	0,009	0,0053	0,105
4528 0,2 ppm	26,89	0,009	0,0050	0,096
4929 0,1 ppm	26,89	0,006	0,0025	0,018
4929 0,1 ppm	26,89	0,006	0,0046	0,160
4929 0,2 ppm	26,92	0,010	0,0058	0,119
4929 0,2 ppm	26,91	0,012	0,0090	0,228
Kontrolli 0,4 ppm	-	-	-	-
Kontrolli 0,4 ppm	25,670	0,0004	0,001	-
Kontrolli 0,4 ppm	25,198	0,0056	0,004	-
Kontrolli 1,0 ppm	25,582	0,0035	0,004	-
Kontrolli 1,0 ppm	25,677	0,0011	0,002	-
Kontrolli 1,0 ppm	25,653	0,0036	0,006	-

Myöskään kalkkikontrollit, joihin kromia oli lisätty, eivät ajautuneet toivotusti. Samalla tavalla valmistetut kontrollit poikkesivat toisistaan, eikä kromia havaittu kaikissa näytteissä. Laite ei saanut pitoisuutta myöskään laskettua kontrolleille. Kuvassa 19 on esitetty 1 ppm kontrollin kromatogrammi, jossa kromipiikki näkyy, mutta on pieni.



Kuva 19. 1 ppm kalkkikontrolli. Kromi havaittiin, mutta näytteessä oli paljon muitakin yhdisteitä.

Kalkkinäytteiden jälkeen edes standardiliuosten ajaminen ei onnistunut, sillä laite ei havainnut kromia aikaisempien tulosten tavalla, vaikka niihin oli kromia lisätty. Edes kaikista vahvimmista kromiliuoksista ei saatu tuloksia kuten ennen. Lisäksi eluenttipiikki puuttui ja pohjaviiva oli epätasainen.

Lähdettiin kokeilemaan, johtuiko vika kalkkinäytteistä vai oliko vika myös standardiliuoksessa tai laitteessa.

10.-11.5.2022 Ajettiin vettä ja 2 ppm standardiliuosta. Vaihdettiin näytteenottajaan vedellä kasteltu filtteri uuteen sekä pumpun letkujen paikkaa. Pohjaviiva oli tasaisempi, lisäksi havaittiin jonkinlainen eluenttipiikki. Negatiivinen käyrä oli hävinnyt. Mutta edelleen näkyi kloridi- ja sulfaattipiikit. Kromipiikki oli hyvin pieni.

Viimeisen vesinäytteen kohdalla ajo keskeytyi, sillä paikka oli virheellinen (ajolistaan laitettu paikka numero 152, ei 151). Ajo ei kuitenkaan keskeytynyt vaan laite ajoi eluenttia koko yön. Ohjelma ei herjannut virhettä näytteiden luettelo -testissä, joka tehtiin aina ennen ajoa. Laite ei myöskään jättänyt

vettä vain välistä ja siirtynyt seuraavaan ajolistalla, joka olisi ollut lopetusohjelma. Ajo pysähtyi vasta aamulla, kun virheilmoitus oli kuitattu. Tämä ei siis tuloksiin oikeastaan vaikuttanut, mutta riskinä oli, että eluentti olisi loppunut, jolloin laite olisi ajanut pelkkää ilmaa.

12.5.2022 Valmistettiin vielä uusia kalkkinäytteitä. Punnittiin 10 g kalkkikontrollia ja lisättiin 100 ml vettä. Lisättiin toiseen 0,8 ml ja toiseen 2 ml 100 ppm kromiliuosta, jolloin pitoisuudet 0,4 ppm ja 1 ppm Cr(VI):n suhteen. Valmistettiin 2 ppm standardiliuos $Cr_2O_7^{2-}$ suhteen. Kaikkia liuoksia ravisteltiin ravistelijassa 1 h 100 rpm ja laitettiin sentrifugiin 7000 rpm 10 min. Lopuksi ne vielä suodatettiin ruiskusuodattimilla IC putkiin.

16.5.2022 Vaihdettiin inline filtteri uuteen, sillä se oli värjäytynyt ruskeaksi. Ajettiin 2 ppm standardiliuoksella 0,1–2 ppm standardisuora. Mitattiin 4 ml 100 ppm varastoliuosta, joka oli laimennettu 9.5.2022 valmistetusta 1000 ppm liuoksesta. Tehtiin vanhemmasta (19.4.2022) 1000 ppm varastoliuoksesta valmistetusta 100 ppm liuoksesta 6 kpl 2 ppm näytteitä. Nämä valmistettiin 100 ml mittapulloihin, joista mitattiin liuosta IC putkiin.

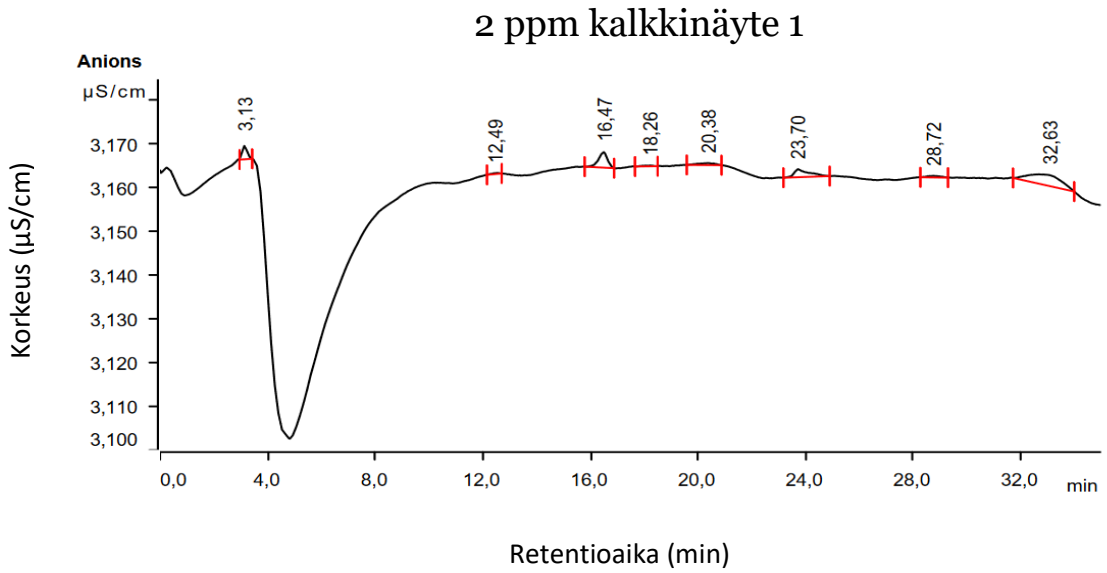
17.5.2022 Vaihdettiin kaksi muuta suodatinta uusiin. Ajettiin standardisuora edellispäivän liuoksella.

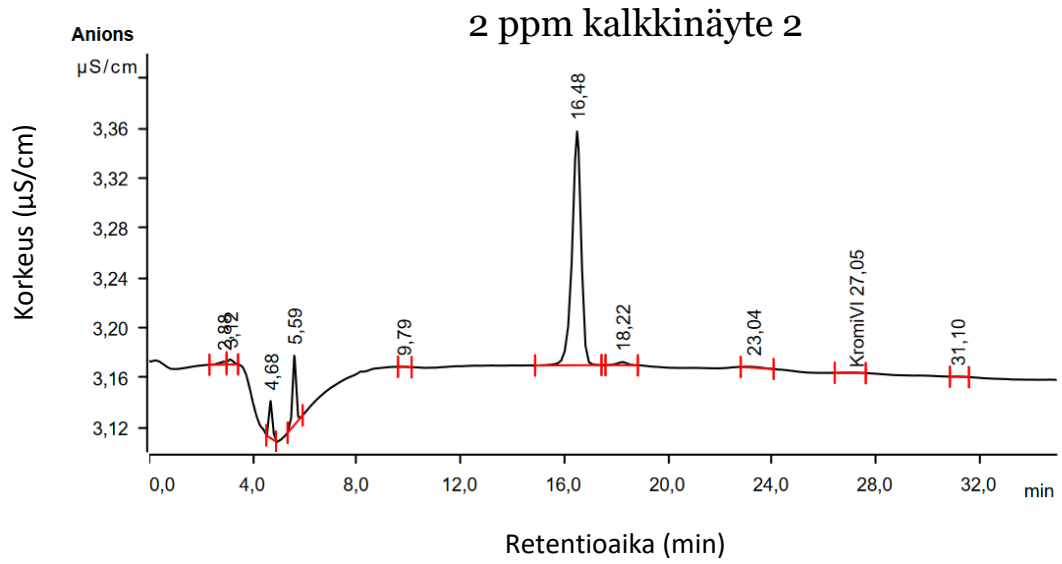
Jokaisen toimenpiteen jälkeen ajettiin standardiliuosta, mutta tulokset eivät parantuneet.

4.5 Laitteen huolto

Kalkkinäytteiden jälkeisen laitteen toimimattomuuden takia aloitettiin huoltotoimenpiteet. Mahdollisista ongelmatilanteista oli saatu laitekoulutustilaisuudessa ohjeita, joten tiedossa oli joitakin toimenpiteitä, joita voi itse suorittaa.

Kuvissa 20 ja 21 on esitetty esimerkkinä 9.5.2022 ajon 2 ppm näytteiden tulokset. Toinen havaitsi kromin, toinen ei, vaikka molempiin oli lisätty kromia saman verran ja muutkin olosuhteet pysyivät samoina. Kromipiikki oli kuitenkin paljon pienempi verrattuna aiempiin tuloksiin. Molemmissa kuvissa näkyy negatiivinen piikki hieman 4. minuutin jälkeen, joka olisi voinut olla merkki siitä, että eluentissa on ongelmia. Lisäksi kuvassa 21 näkyy korkea piikki 16. minuutin kohdalla. Sama piikki on ensimmäisessä kuvassa huomattavasti pienempi.





Kuvat 20 ja 21. 2 ppm kalkkinäytteiden tulokset. Jälkimmäisessä kromi näkyy 27. minuutin kohdalla, ensimmäisessä ei.

Näiden tulosten perusteella aloitettiin korjaustoimenpiteet eluentista. Aluksi tyhjennettiin eluenttipullo, huuhdeltiin se asetonilla ja valmistettiin kokonaan uusi eluenttiliuos. Laitevalmistajan mukaan negatiivinen piikki kromatogrammissa voisi viitata kontaminaatioon eluentissa. Samoin piikkien ja retentioaikojen siirtyminen myöhemmäksi voisi viitata ongelmaan eluentissa.

Jos eluentissa on ilmakuplia, pohjataso voi olla epätasainen, mutta eluentilla on kaasunpoistaja (degasser), jonka pitäisi pitää huolta, ettei näin tapahdu.

Tämän jälkeen vaihdettiin IC:n suodattimia (inline filter). Ne olivat hieman kellastuneet, mutta uudet suodattimetkaan eivät ratkaisseet ongelmaa. Filttereiden tarkoitus on suojata MSM (supressoria) partikkeleilta. CO_2 supressorissa (MCS) oleva virtaus voi aiheuttaa liian suuren vastapaineen, jonka takia MSM alkaa vuotaa. MSM toimii turvaventtiilinä MCS:lle, mutta väri ei ollut poikkeava, joten luultavasti pohjatason epävakaus ei johtunut tästä. Letkut ovat kuluva osa laitteessa, mutta letkujen kääntäminenkään ei auttanut.

Myös ongelmat detektorissa voivat aiheuttaa epävakaan pohjatason (baseline). Esimerkiksi tukkeuman kohdalla sisäänmenoletkua voisi lyhentää 1–2 mm, mutta koska varmuutta tukkeumasta ei ollut, ei tätä kokeiltu. Detektoria ei saanut avata kuin Metrohmin valtuuttama huolto.

Nämä olivat sellaisia huoltotoimenpiteitä, joita on laitevalmistajan mukaan sallittua tehdä itse. Normaalistikin näitä kuuluisi tehdä vähintään vuosittain eli turhia nämä toimenpiteet eivät olleet. Tässä tapauksessa ne eivät ratkaisseet ongelmaa pohjaviivan epätasaisuudessa ja näytteiden eroavaisuudessa, vaan piti ottaa yhteys laitevalmistajaan uusien neuvojen toivossa. Alkuperäiseen suunnitelmaan kuuluivat kuitenkin vain epäorgaaniset lannoitteet, joten jo testit tuhkilla ja kalkeilla toivat lisätietoa tulevaisuutta varten.

5 Yhteenveto ja johtopäätökset

Tässä työssä on otettu uusi ionikromatografia Ruokaviraston käyttöön, joka hankittiin kuudenarvoisen kromin mittaamista varten. Lisäksi on tutkittu siihen soveltuvia menetelmiä eri lannoite- ja kalkitusaineille. Menetelmät perustuvat aiemmin käytössä olleen spektrofotometrin menetelmään sekä 16.7.2022 voimaan tulleen lannoitelain (711/2022) antamaan raja-arvoon kuudenarvoisen kromin suhteen. Uudistuksen tavoitteena on ollut yhdenmukaistaa lainsäädäntöä.

Uuden lannoitelainsäädännön mukainen raja-arvo kuudenarvoiselle kromille on 2 mg/kg. Tämä raja-arvo koskee lannoitteita ja kalkitusaineita, mutta työssä tutkittiin myös menetelmää tuhkille, joka on Suomessa yleisesti käytetty lannoitteena.

Kaikille kolmelle materiaalille saatiin sovellettua samankaltaista uutto/lisäysmenetelmää kuin aiemminkin oli Ruokavirastolla käytössä. Lähes kaikilla materiaaleilla saatiin Cr(VI) näkyviin IC:lla, eikä se pelkistynyt uuton aikana Cr(III):ksi. Standardisuorat saatiin lineaarisiksi epäorgaanisilla lannoitteilla ja tuhkilla, mikä oli edellytys menetelmän validoinnille.

Tutkittavista materiaaleista tuhkille aloitettiin kehittämään validoitua menetelmää. Niiden osalta päästiin hyvin alkuun validointia varten, ja vaikka tuhkille ei olekaan laissa määritetty raja-arvoa, on suppea validointimenetelmä kuitenkin hyvä olla tuhkan käytön vuoksi. Vaatisi kuitenkin enemmän toistoja ennen kuin menetelmän voisi virallisesti validoida.

Kalkkinäytteiden sopimattomuus aiheutti laitteen kanssa ongelmia, minkä takia laitteelle piti tehdä erilaisia huoltotoimia. Nämä eivät kuitenkaan auttaneet pohjaviivan tasaistumiseen tai kromin näkymiseen kromatogrammissa.

Työssä olisi voinut myös validoida menetelmät epäorgaanisille lannoitteille ja kalkitusaineille. Validointi on kuitenkin mahdollista ja tarpeellista

myöhemmin, joten tulevaisuuden kannalta näitä saatuja tuloksia voi ainakin verrata uusiin. Olisi ollut myös mielenkiintoista saada otettua käyttöön kationeille tarkoitettu kolonni, esimerkiksi kolmenarvoista kromia varten.

6 Lähteet

[1] Mukherjee K., Saha R., Ghosh, A. & Saha, B. (2012). *Chromium removal technologies*. Research on chemical intermediates, vol. 39, s. 2267-2286.

[2] N. N. Greenwood & A. Earnshaw (1997). *Chemistry of elements*. 2. painos. Butterworth-Heinemann, Oxford. S. 1002-1037.

[3] F.A. Cotton, G. Wilkinson (1980). *Advanced Inorganic Chemistry*. 5. painos. Wiley, New York. S. 830-841, 923.

[4] Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus (EU) 2019/1009

[5] Lannoitelaki 711/2022

[6] Kirk, R. E. & Othmer, D. F. (2004). *Encyclopedia of Chemical Technology,* 5. painos. Interscience vol. 6. S. 228-63.

[7] Soler-Rovira, J., Soler-Rovira, P., Soler-Soler, J., & Polo, A. (1997). *Chromium in fertilizers*. 11th World Fertilizer Congress, Gent, vol. 3. S.95.

[8] Singh, H., Mahajan, P., Kaur, S., Batish, D.R. & Kohli, R.K. (2013) *Chromium toxicity and tolerance in plants*. Environmental chemistry letters, vol. 11, s. 229-254.

[9] Michalski R. (2005). *Trace level determination of Cr(III)/Cr(VI) in water samples using ion chromatography with UV detection*. Journal of liquid chromatography & related technologies, vol. 28. S. 2849-2862.

[10] Mahiya, S, Lofrano, G. & Sharma S. K. (2014). *Heay metals in water, their adverse health effects and biosorptive removal: A review*. International journal of chemistry, vol. 3, s. 132-149.

[11] Krüger, O., Fiedler, F., Adam, C., Vogel, C. & Senz, R. (2017). *Determination of chromium (VI) in primary and secondary fertilizer and their respective precursors*. Chemosphere, vol. 182. S. 48-53.

[12] Salnikow, K. & Zhitkovich, A. (2007). *Genetic and epigenetic mechanisms in metal carcinogenesis and cocarcinogenesis: nickel, arsenic and chromium*. Chemical research in toxicology, vol. 21. S. 28-44.

[13] Jaarinen, S. & Niiranen J. (2005). Laboratorion analyysitekniikka. Edita, 5. painos.

[14] Jackson, P.E. (2000). *Ion Chromatography in environmental analysis*. Encyclopedia of analytical chemistry. John Wiley & sons Ltd, Chichester. S. 2779-2801.

[15] Small, H. (1989). *Ion chromatography*. Modern Analytical chemistry. Springer, Boston. S. 11-113, 149-188.

[16] Ullah, S. M., Takeuchi, M. & Dasgupta, P. K. (2005). *Versatile gas/particle ion chromatograph*. Environmental science & technology, vol. 40. S. 962-968.

[17] Michalski, R. (2018). *Ion Chromatography Applications in Wastewater Analysis*. Separations, vol. 5, s. 16.
[18] Weiss, J. (2015). Handbook of ion chromatography. 4. painos, vol.1. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, Weinheim. S. 15-28.
[19] J.D. Mulik, E. Sawicki (1979). *Ion Chromatographic Analysis of Environmental Pollutants*. Ann Arbor Science Publications, Michigan. Vol. 2.
[20] Heberling, S. S., Campbell, D. & Carson, S. (1990). *Analysis of chromium plating solutions and wastewater by ion chromatography*. Plating and surface finishing, vol. 77. s. 58-62.
[21] Schnell, S., Ratering, S. & Jansen, K. (1998). *Simultaneous determination of iron(III), iron(II) and manganese(II) in environmental samples by ion chromatography*. Environ. science technology, vol. 32, s. 1530-1537.
[22] Margui, E. & Torrent L. (2023). *Simple method for Cr(VI) determination by liquid-liquid microextraction combined with total reflection X-ray fluorescence spectrometry: Application to water samples and industrial extracts*. Spectrochimica acta, vol. 204. S. 106682
[23] Li, T., Dai, L., Huang, Y., Pan, S., Pang, Z. & Zou, J. (2021). *Spectrophotometric determination of Cr(VI) in water using N,N-diethyl-p-phenylenediamine (DPD) as the indicator*. Journal of environmental chemical engineering, vol. 9. S. 105517
[24] Ribeiro Frois S., Tadeu Grassi M., Soares de Campos M. & Abate G. (2012). Determination of Cr(VI) in water samples by ICP-OES after separation of Cr(III) by montmorillonite. Analytical methods, vol 4. S. 4389-4394.
[25] Fabregat-Gabello N., Rodriguez-Gonzalez P., Castillo A., Malherbe J., Roig-Navarro A., Long S. E. & Garcia Alonso J. I. (2012). *Fast and accurate procedure for the determination of Cr(VI) in solid samples by isotope dilution mass spectrometry*. American chemical society, vol. 46. S. 12542-12549.
[26] Hagendorfer, H. & Goessler, W. (2008). *Separation of chromium(III) and chromium(VI) by ion chromatography and an inductively coupled plasma mass spectrometer as element-selective detector*. Talanta, vol. 76. S.656-661.
[27] Small, H., Stevens, T.S. & Bauman W.S. (1975). *Novel ion exchange chromatographic method using conductimetric detection*. Analytical chemistry, vol. 11. S. 1801-1809.
[28] Bruce, P., Minkkinen, P. & Riekkola M-L. (1998). *Practical method validation: Validation sufficient for an analysis method*. Microchimica acta, vol. 128. s. 93-106.
[29] Peters, F. T., Drummer, O. H. & Musshoff,F. (2007). *Validation of new methods*. Forenic science interntional, vol. 165. S. 216-224.

[30] Harris, D. C. (2003). *Quantitative chemical analysis*. W.H. Freeman and company. 6. painos. S. 723-729.
[31] Dorchel, C. A., Ekmanis, J. L., Oberholzer, J. E., Warren, F. V. & Bidlingmeyer, B. A. (1989). *LC: detectors: evaluation and practical implications of linearity*. Anal. Chem., vol. 61, 951A.
[32] Shah, V. P., Midha, K. K., Dighe, S., McGilveray, I. J., Skelly, J. P., Yacobi, A., Layloff, T., Viswanathan, C. T., Cook, C. E., McDowall, R. D., Pittman K. A. & Spector, S. (1992). *Analytical methods validation: Bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies*. Journal of pharmaceutical science, vol. 81. no. 3. S. 309-312.
[33] ICH harmonised tripartite guideline (1994). *Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1)*. Somatek inc, San Diego. 4. vers. S. 1-11.
[34] Asuero, A. G., Sayago, A. & Gonzalez, A. G. (2006). *The correlation coefficient: An overview*. Critical reviews in analytical chemistry, vol. 36. S. 41-59.
[35] Ratner, B.(2009). *The correlation coefficient: Its value range between +1/-1, or do they?* Journal of targeting, measurement and analysis for marketing, vol. 17. S. 139-142.