

**Esikäsittely ja erotusmenetelmät arseenin
spesiatioanalytiikassa**

Ilkka Vesavaara

Pro gradu -tutkielma

2018

Kemian tutkinto-ohjelma

Oulun Yliopisto

LYHENNELUETTELO

AAS	atomiabsorptiospektrometria
AFS	atomifluoresenssispektrometria
APDC	ammoniumpyrrolidiiniditiokarbamaatti
AsB	arsenobetaiini
AsC	arsenokoliini
[C ₆ MIM][PF ₆]	1-heksyyli-3-metyyli-imidazoliumheksafluorofosfaatti
CPE	samepisteutto
CT	nestetyypiloukku
CTAB	setrimoniumbromidi
DDC	dietyliditiokarbamaatti
DES	syväeutektinen liuotin
DES-UALPME	ultraääniavusteinen nestefaasimikrouutto syväeutektisellä liuottimella
DIPK	di-isobutyylimketoni
DLLME	dispersiivinen neste-nestemikrouutto
DMSA	sukkimeeri
DMA	dimetyyliarsonihappo
DVB	divinyylibentseeni
EDTA	etyleenidiamiinitetraetikkahappo
EPA	United States Environmental Protection Agency
EVB	etyylivinyylibentseeni
FI	virtausinjektio
GFAAS	grafiittiuuniatomiabsorptiospektrometria
HF-LPME	onttokuitunestefaasimikrouutto
HG	hydridinmuodostus

HGAAS	hydridinmuodostusatomiabsorptiospektrometria
HMDC	heksametyyliditiokarbamaatti
HPLC	korkean erotuskyvyn nestekromatografia
ICP-OES	induktiivisesti kytketty plasma optinen emissiospektrometria
ICP-MS	induktiivisesti kytketty plasma massaspektrometria
LIS	lab-in-syringe
LLE	neste-nesteuutto
LOD	toteamisraja
LOQ	määritysraja
MAS-LIS-DLLME	magneettisekoitusavuisteinen lab-in-syringe dispersiivinen neste-nestemikrouutto
MEA	monoetyyliarsonihappo
MMA	monometyyliarsonihappo
MIBK	metyyli-isobutyylimketoni
MTBE	metyyli-tert-butyylieetteri
PDC	pyrrolidiiniditiokarbamaatti
PTFE	polytetrafluoroetyleni
PSDVB	polystyreeni-divinyylibentseeni
QFAAS	kvartsiuuniatomi-absorptiospektrometria
RETE	riippuva elohopeatippaelektrodi
SDS	natriumlauryylisulfaatti
SFDME	kelluvan pisaran mikrouutto
SPE	kiinteäfaasiuutto
SUPRAS-ME	mikrouutto supramolekulaarisella liuottimella
THB	tetrahydroboraatti
THF	tetrahydrofuraani
TLC	ohutlevykromatografia
TMA	tetrametyyliarsonium-ioni

TMAO	trimetyyliarsiinioksidi
TRIS	tris(hydroksimetyyli)aminometaani
Triton X-114	polyetyleeniglykoli-tert-oktyylifenyylietteri
USAE	ultraääniavusteinen mikrouutto
USASS-ME	ultraääniavusteinen mikrouutto supramolekulaarisella liuottimella
WHO	World Health Organization
XRF	röntgenfluoresenssi

SISÄLLYSLUETTELO

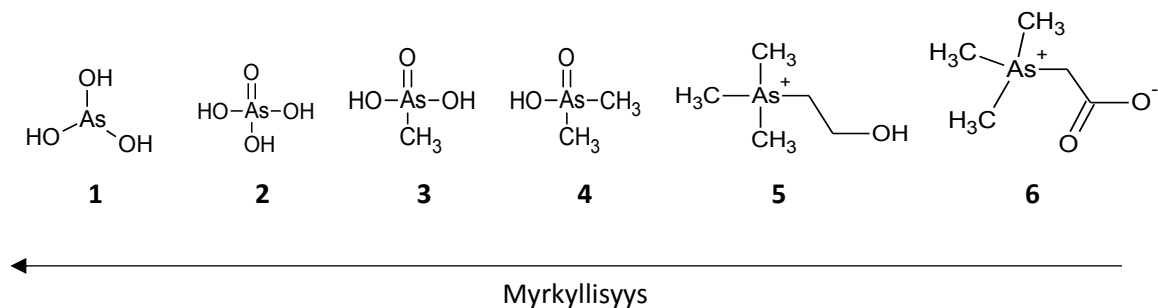
LYHENNELUETTELO	2
1. JOHDANTO	6
2. NÄYTTEIDEN ESİKÄSITTELY	11
2.1. Kiinteiden näytteiden esikäsittely.....	11
2.2. Liuosnäytteiden esikäsittely.....	14
2.3. Arseenispesiesten stabiilisuus.....	14
2.4. Esikonsentroidi ja häiriöiden poisto.....	16
3. ARSEENISPESTEN EROTUS- JA MÄÄRITYSMENETELMÄT	19
3.1. Off-line-erotusmenetelmät	20
3.1.1. Neste-nesteuutto ja -mikrouutto.....	20
3.1.2. Samepisteuutto.....	26
3.1.3. Kiinteäfaasiuutto.....	31
3.2. On-line-erotusmenetelmät	36
3.2.1. Nestekromatografia.....	36
3.2.2. Hydridinmuodostus.....	42
3.3. Arseenin yleisimmät määrittelytekniikat	48
3.4. Sähkökemialliset menetelmät	49
4. YHTEENVETO	53
5. VIITTEET	56

1. JOHDANTO

Arseenia ja sen yhdisteitä on käytetty muun muassa lääkkeissä, metalliseosten kovettimena, lasin valmistuksessa, tuholaistorjunta-aineissa, elintarvikkeiden lisäaineena, puolijohteissa, puunsäilytysaineissa sekä kanan- ja porsaanrehussa, mutta myrkyllisyydestään johtuen sen käyttöä on viime aikoina vähennetty merkittävästi ja sen pitoisuustasot erityisesti pohjavesissä ovat jatkuvan valvonnan alaisena.¹⁻³ Nykyinen WHO:n (World Health Organization) ja EPA:n (United States Environmental Protection Agency) asettama suositus arseenin enimmäispitoisuudelle vesissä on 10 µg/l.^{4,5} Arseenia vapautuu ympäristöön luonnollisesti maaperän mineraaleista eroosion sekä vulkaanisen ja biologisen toiminnan seurauksena, mutta myös ihmistoiminnan, esimerkiksi torjunta-aineiden käytön ja kaivoistoiminnan seurauksena.^{6,7} Louhimisen seurauksena mineraalien sisältämä arseeni voi hiljalleen ilman hapen vaikutuksesta hapettua oksideiksi, jotka voivat liueta luonnonvesiin. Lisäksi arseenimineraalien kuumennus voi vapauttaa myrkyllisiä arseenihöyryjä. Ihminen voi altistua arseenille esimerkiksi juomaveden tai ravinnon välityksellä. Saastuneista luonnonvesistä arseeni voi kerääntyä kasveihin ja niistä suoraan tai ravintoketjun kautta ihmisiin. Vesistöjen arseeni päätyy helposti myös kaloihin ja sitä kautta ihmisiin.⁸ Pitkäaikainen altistuminen arseenille voi muun muassa kohottaa verenpainetta ja nostaa syöpien, kuten keuhko-, iho-, maksa- ja munuaissyövän, sekä sydän- ja verenkiertosairauksien ja diabeteksen riskiä.⁹

Arseenia esiintyy ympäristöstä ja olosuhteista riippuen monina vaihtelevissa määrin haitallisina ja myrkyllisinä yhdisteinä. Tästä syystä tieto arseenin spesiaatiosta, eli siitä minä yhdisteinä arseeni esiintyy, on ympäristö- ja terveyshaittojen arvioinnin näkökulmasta paljon hyödyllisempi kuin tieto kokonaisarseenipitoisuudesta. Suunniteltaessa arseenin poistamista saastuneista vesistä spesiaatiotuntemus voi olla tarpeellinen esimerkiksi adsorbenttimateriaalia valittaessa. Yleisesti ottaen As(III) on myrkyllisempi kuin As(V) ja orgaaniset arseeniyhdisteet ovat huomattavasti vähemmän myrkyllisiä kuin epäorgaaninen arseeni.^{10,11} As(III):n myrkyllisyyteen on osasyynä sen kyky reagoida soluissa proteiinien tioliryhmien kanssa.¹² Ihmisten ja eläinten elimistö sekä jotkin kasvilajit kykenevät metylaation tai kompleksoinnin välityksellä muuntamaan epäorgaanista arseenia

vähemmän haitallisiksi orgaanisiksi arseeniyhdisteiksi joskin kemiallinen prosessi vaihtelee lajien välillä.^{10, 13} Arseenin myrkyllisyyttä voidaan tutkia kvantitatiivisesti määrittämällä niin sanottu letaaliannos esimerkiksi rottapopulaatiossa.¹² On arvioitu, että As(III) on noin 50 kertaa myrkyllisempi kuin As(V), kun taas suuret organoarseenimolekyylit ja kvaternäärisesti substituoidut arseeniyhdisteet, kuten arsenobetaini (**6**) ja arsenokoliini (**5**) ovat käytännössä myrkyttömiä.¹⁴ Kuvassa 1 on esitetty yleisimpiä arseeniyhdisteitä laskevan myrkyllisyyden mukaisessa järjestyksessä. Lisäksi arseenia esiintyy kaasumaisena arsiinina (AsH₃), joka on arseeniyhdisteistä myrkyllisin.



Kuva 1. Yleisimpiä arseenispesieksiä niiden myrkyllisyyden mukaisessa järjestyksessä myrkyllisimmästä alkaen. 1 = arseenihapoke (As(III)), 2 = arseenihappo (As(V)), 3 = monometyyliarsonihappo (MMA), 4 = dimetyyliarsonihappo (DMA), 5 = arsenokoliini ja 6 = arsenobetaini.

Makeissa luonnonvesissä arseeni esiintyy pääasiassa epäorgaanisessa muodossa arsenaattina tai arseniittinä. Arseenaatteja ovat AsO₄³⁻-ionin sisältävät yhdisteet, joissa arseenin hapetusaste on +V. Arseniittejä ovat arseeniyhdisteet, jotka sisältävät AsO₃³⁻-ionin tai jonkin muun As(III):n oksoionin. Olosuhteet, kuten pH-arvo ja happipitoisuus, sekä orgaanisten yhdisteiden ja hapettavien aineiden, kuten Fe(III):n ja Mn(IV):n, läsnäolo vaikuttavat arseenin spesiaatioon luonnonvesissä.¹⁵ Arseniittejä esiintyy erityisesti pelkistävässä olosuhteissa ja arsenaatteja hapettavissa olosuhteissa.¹¹ Merivedessä esiintyy epäorgaanisten yhdisteiden lisäksi muita luonnonvesiä enemmän metyloituneina

arseeniyhdisteitä (3, 4).¹⁶ Arseeni akkumuloituu ruokaketjussa ja arseenipitoisuudet merenelävissä ovat huomattavasti suurempia kuin merivedessä.⁸ Orgaanisissa näytteissä arseenia esiintyy metyloitujen arseenihappojen lisäksi myös lukuisina muina eri yhdisteinä, kuten arsenokoliinina (5), arsenobetainina (6), sokereina ja orgaanisina happoina.^{17,18} Viidenarvoiset (As(V)) metyloidut arseenihapot, monometyyliarsonihappo (MMA) ja dimetyyliarsonihappo (DMA), ovat yleisimpiä luonnonvesissä esiintyviä orgaanisia arseenispesieksiä, mutta ne voivat esiintyä lyhytaikaisesti pelkistymisen seurauksena tai bioprosessien välituotteena myös myrkyllisempinä kolmenarvoisina muotoina. Vuonna 1994 Hasegawa et. al. määrittivät ensimmäisen kerran luonnonvesistä kolmenarvoiset metyloidut arseenihapot, mutta tyypillisesti nämä muodot jätetään organoarseeniyhdisteiden spesiaatioanalytiikassa huomioimatta.¹⁹

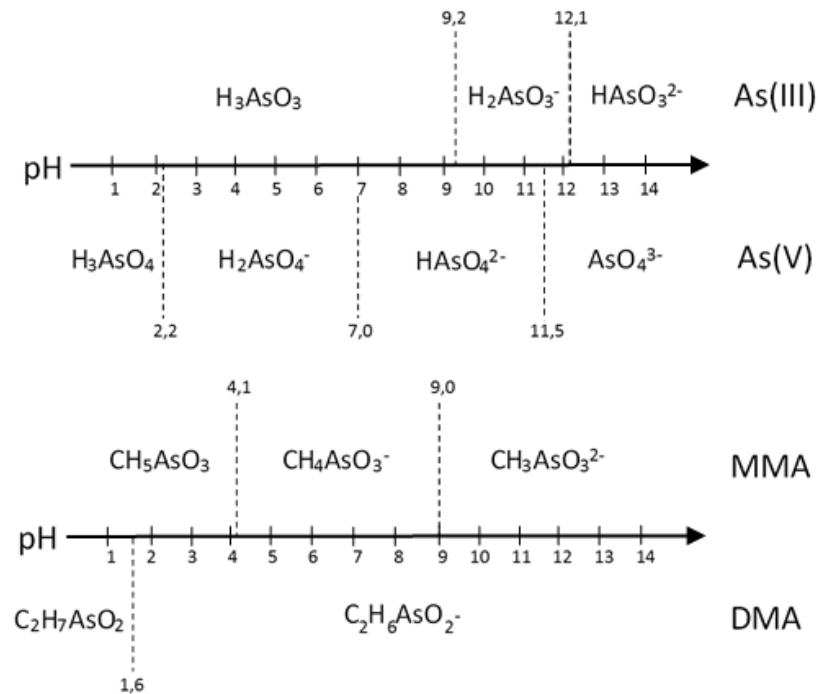
Maaperässä arseeni sitoutuu usein orgaaniseen materiaaliin, savimineraaleihin sekä raudan ja alumiinin oksideihin.²⁰ Sitä esiintyy myös muissa mineraaleissa, kuten arsenopyriitissä (FeAsS), joka on arseenin merkittävin kaupallinen lähde. Vahvasta sitoutumisestaan johtuen arseeni on arsenopyriitissä ja useimmissa muissa mineraaleissa hyvin niukkaliuokoinen eikä siten aiheuta merkittävää uhkaa ympäristölle.²¹ Toisaalta esimerkiksi natriumin ja kalsiumin arsenaatit liukenevat herkästi veteen hapettavissa olosuhteissa.⁷ Kokonaisarseenipitoisuudet maanäytteissä ovat tyypillisesti 1-40 mg/kg tasolla. Saastuneilla viljelysmailla arseenia on havaittu maaperässä yli 2000 mg/kg ja kaivosalueilla yli 20 000 mg/kg pitoisuuksia.²¹ Suomen ympäristökeskuksen teettämässä laajassa selvityksessä²⁰, jossa tutkittiin metallien pitoisuuksia ja liukoisuuksia pilaantuneissa maissa Suomessa, kokonaisarseenipitoisuuksien keskiarvoksi saatiin 64 mg/kg ja mediaaniksi 8 mg/kg. Korkeimmillaan maanäytteestä mitattiin jopa 140 000 mg/kg kokonaisarseenipitoisuus. Arseenin liukoisuuteen vaikuttavat pH-arvon lisäksi myös muut olosuhteisiin ja maan koostumukseen liittyvät tekijät, kuten lämpötila, redox-potentiaali, orgaanisen aineen määrä sekä maan vesipitoisuus ja huokoisuus. Suomessa maaperän vesi on tyypillisesti hapanta ja humuksessa veden pH-arvo voi olla jopa alle 4.^{20,22} Humuskerroksen hapanta vesi voi uuttaa maa-aineksesta arseenia ja muita metalleja, jotka saostuvat uudelleen maaperään pH:n kasvaessa niin sanotussa rikastumiskerroksessa. Lämpötilaltaan Suomen maaperän pintakerros on keskimäärin 6 °C, mutta

vuodenaikavaihtelusta johtuen lämpötila ylittää kesällä 10°C:n ja voi talvella laskea vähälumisilla alueilla alle 0°C:n.²⁰

Protonoitumisesta ja deprotonoitumisesta johtuen arseenihappo (**2**) ja arseenihapoke (**1**) voivat esiintyä pH-arvosta riippuen joko varauksettomina molekyyleinä tai varauksellisina ioneina eli arsenaatteina ja arseniitteinä. Periaatteessa kaikkia hapon esiintymismuotoja esiintyy samanaikaisesti pH-arvosta riippumatta, mutta esiintymismuotojen suhteelliset määrät muuttuvat voimakkaasti pH-arvon muuttuessa. Arseenihapokkeen, arseenihapon, monometyyliarsonihapon ja dimetyyliarsonihapon pK_a -arvot²³⁻²⁷ on esitetty taulukossa 1. Kuvassa 2 on esitetty epäorgaanisten arseenihappojen sekä monometyyliarsonihapon (MMA) ja dimetyyliarsonihapon (DMA) pääasialliset esiintymismuodot eri pH-arvoissa. Kuvassa asteikkojen ylä- ja alapuolella esitetyt molekyylikaavat ovat yhdisteitä, joihin valtaosa (yli 50 %) haposta esiintyy katkoviivojen ja asteikon ääriarvojen rajaamilla pH-alueilla. Katkoviivat kuvaavat happojen pK_a -arvojen määrittämiä pH-arvoja, joissa katkoviivan vasemmalla ja oikealla puolella olevaa arseenispesiestä (hapo ja vastinemäs) on yhtä paljon. Arseenin spesiaatioanalytiikassa on valittava pH-alue ja esimerkiksi menetelmässä käytettävä ioninvaihtokolonni-ratkaisu, kiinteäfaasiuuttopatruuna tai kompleksinmuodostajareagenssi siten, että määritettävät spesiekit erottuvat toisistaan mahdollisimman hyvin. Koska arseeni esiintyy luonnonnäytteissä usein hyvin pieninä pitoisuuksina, joidenkin näytematriisien, kuten meriveden, korkeat suolapitoisuudet voivat aiheuttaa merkittäviä häiriöitä arseenin määrittämisessä. Spesiaatioanalyysimenetelmän kehittämiseen liittyy häiriöiden poiston lisäksi myös monia muita haasteita, kuten riittävän tehokkaan kiinteiden näytteiden liuotuskäsittelyn kehittäminen, spesiaation säilyvyyden takaaminen näytteiden esikäsittelyssä ja säilytyksessä sekä spesiesten selektiivinen sitominen erotusvaiheessa. Tässä kirjallisuustutkielmassa on pohdittu kiinteiden ja liuosmaisten ympäristönäytteiden esikäsittelyä arseenin spesiaatioanalytiikan näkökulmasta sekä kerätty esimerkkejä arseenispesiesten erottamiseen ja analysointiin käytetyistä menetelmistä.

Taulukko 1. Arseenihappojen pK_a-arvot

Happo	pK _a -arvo
Arseenihappo (As(III))	9,2; 12,1
Arseenihapoke (As(V))	2,2; 7,0; 11,5
Monometyyliarsonihappo	4,1; 9,0
Dimetyyliarsonihappo	1,6



Kuva 2. Arseenihapokkeen (As(III)), arseenihapon (As(V)), monometyyliarsonihapon (MMA) ja dimetyyliarsonihapon (DMA) pääasialliset esiintymismuodot pH-arvon funktiona. Katkoviivojen yhteydessä esitetyt lukuarvot ovat happojen pK_a-arvoja²³⁻²⁷.

2. NÄYTTEIDEN ESIKÄSITTELY

Ympäristönäytteet vaativat useimmiten esikäsitteilyä ennen erotusprosessin ja analyysien suoritusta. Kiinteiden näytteiden ja kiintoainesta sisältävien vesinäytteiden spesiaatioanalytiikassa keskeisin esikäsitteilytoimenpide on näytteen arseeniyhdisteiden saattaminen liuosmaiseen muotoon. Tämä vaihe on tärkeä, koska liukenematon kiintoaineeseen sitoutunut arseeni voi johtaa liian pieniin analyysituloksiin. Toisaalta näytteisiin tiukasti sitoutunut arseeni, joka ei aiheuta uhkaa ympäristölle, ei useimmiten ole oleellinen ympäristöanalytiikan kannalta. Hajottava tai liuottava käsittely ei luonnollisesti saa myöskään vaikuttaa arseenin spesiaatioon näytteissä. Muita tarvittavia toimenpiteitä voivat olla näytteiden esikonsentroidi sekä mahdollisten erotusta ja mittausta häiritsevien matriisikomponenttien poisto.

2.1. Kiinteiden näytteiden esikäsitteily

Ensimmäinen vaihe kiinteiden näytteiden, kuten maaperä- ja kiviäytteiden, analyysissä on näytteen homogenisointi, jotta analysoitavat osanäytteet ovat edustavat mahdollisimmat hyvin alkuperäistä näytettä, eli niin sanottua primäärinäytettä. Homogenisointi tapahtuu käytännössä jauhamalla näyte mekaanisesti pieneen hiukkaskokoon ja sekoittamalla huolellisesti. Seuraavaksi kiinteän homogenisoidun näytteen arseenispesieokset saatetaan liukoiseen muotoon. Ennen analyysivaihetta esikäsitellystä näytteestä suodatetaan tai sentrifugoidaan pois liukenematon materiaali.

Kokonaisarseenipitoisuuden määrittämisessä useimmat näytematriisit saadaan hajoamaan tehokkaasti voimakkaalla happokäsittelyllä, mutta spesiaatioanalytiikassa täytyy kiinteiden näytteiden esikäsitteilyssä huomioida, että käsittely ei saa vaikuttaa arseenin spesiaatioon näytteessä. Määritettäessä epäorgaanisen arseenin hapetusmuotoja As(III) ja As(V) arseenin liuotuksessa ei

voida käyttää pelkistäviä tai hapettavia reagensseja, mutta esimerkiksi hajotusta kuumalla suolahapolla on käytetty²⁸. Mikäli halutaan määrittää myös orgaanisten arseenispesiesteren pitoisuuksia, voimakasta käsittelyä esimerkiksi suolahapolla ei voida käyttää, koska orgaaniset arseeniyhdisteet voivat tällöin hajota. Orgaanisten näytteiden esikäsittelyssä voidaan käyttää lievien happo- ja emäshajotusten lisäksi muun muassa uuttoa liuottimeen, kuten metanoliin, kloroformiin, veteen tai näiden seokseen^{29,30}, tai orgaanisen matriisin entsyymaattista hajotusta³¹.

Myös näytematriisista vapautuvat yhdisteet voivat muuttaa arseenin spesiaatiota. Ortofosforihappo on tehokas uuttoareagenssi arseenispesiesteren irrottamiseksi, mutta Vergara Gallardo et al. havaitsivat, että suuremmilla ortofosforihappokonsentraatioilla (1 – 3 M) osa As(III):sta hapettui As(V):ksi.²¹ Ortofosforihapolla ei havaittu olevan As(III)-standardiliuokseen suoraa hapettavaa vaikutusta, mutta se saattaa vapauttaa näytematriisista hapettavia tai hapettumista katalysoivia yhdisteitä, kuten raudan ja mangaanin oksideja ja hydroksideja. Hapettavien yhdisteiden muodostumista voidaan ehkäistä suorittamalla uuttoa ilmasta suojatuissa olosuhteissa. Lyhytaikaisessa säilytyksessä (korkeintaan 5 tuntia) As(III):n hapettuminen As(V):ksi ortofosforihapolla käsitellyissä näytteissä saatiin estettyä neutraloimalla liuoksen pH tai laimentamalla liuosta.²¹

Vassileva et al. tutkivat ammoniumasetatin, ammoniumoksalatin, Milli-Q-veden, natriumvetykarbonaatin ja natriumkarbonaatin soveltuvuutta arseenispesiesteren uuttamiseen maanäytteistä.¹⁵ Natriumkarbonaatin (pH 11) todettiin olevan tehokkain edellä mainituista reagensseista As(V):n, As(III):n, monometyyliarsonihapon (MMA) ja dimetyyliarsonihapon (DMA) liuottamisessa näytteistä. Yuan et al. tutkivat eri menetelmien tehokkuutta vesiliukoisen ja fosfaattiliuokseen liukenevan arseenin uuttamisessa malmi- ja maanäytteistä.³² He havaitsivat, että 500 mM fosfaattiliuos irrotti arseenia näytteistä jopa 24 – 152 kertaa enemmän kuin vesi. Tutkituista uuttomenetelmistä tehokkain oli mikroaltoaavusteinen uuttoa, joka liuotti fosfaattiliuokseen noin kolminkertaisen määrän arseenia verrattuna ravistelussa ja ultraääniavusteisessa uutossa liuenneeseen arseeniin.

Ympäristöanalytiikassa käytetään arseenin uuttamisessa maanäytteistä usein luonnonolosuhteita vastaavia lieviä käsittelyjä, koska maa-ainekseen vahvasti

sitoutunut arseeni ei mobilisoidu luonnonolosuhteissa, eikä siten ole merkittävä esimerkiksi ympäristö- ja terveysuhkien arvioinnissa. Esimerkiksi maa-aineksen ja betonin maanrakennuskelpoisuuden sekä jätteen kaatopaikkakelpoisuuden valvonnassa käytetään standardoituja ravistelu- ja läpivirtaustestejä, jotka jäljittelevät haitta-aineiden todellista liukoisuutta luonnonympäristössä. Usein suurin osa maa- ja kiviaineyhteiden arseenista on liukenematon neutraaleihin tai lievästi happamiin tai emäksisiin vesiliuoksiin. Metallien liukoisuuteen maaperässä vaikuttavat muun muassa lämpötila, pH-arvo ja redox-potentiaali sekä maan vesipitoisuus, orgaanisen aineksen määrä, raekoko, mineraalikoostumus ja huokoisuus.²⁰

Aiemmin mainitussa tutkimuksessa (Vassileva et al.)¹⁵ vain 0,1 - 0,2 % maanäytteiden kokonaisarseenista mobilisoitui uuttokäsittelyssä käytettäessä uuttoreagenssina natriumkarbonaattiliuosta. Tutkitussa maa-aineksessa ei siten välttämättä esiinny luonnonvesiin liukenemisestä ja kasveihin siirtymisestä aiheutuvaa terveysriskiä, vaikka maanäytteen kokonaisarseenipitoisuus olisikin korkea. Liukoisen arseenin osuus voi vaihdella suuresti maalajista ja arseenin fysikaaliskemiallisesta muodosta riippuen. Esimerkiksi Bissen ja Frimmel havaitsivat, että samalla uuttokäsittelyllä liuenneen arseenin määrä vaihteli maanäytteestä riippuen 0,04 prosentista 20 prosenttiin³³, kun taas Yuan et al. saavuttivat mikroaltoaavusteisella fosfaattiliuosuutolla eri maanäytteille 70,8-77,4 % ja malminäytteelle 8,5 % uuttotehokkuudet³². Vergara Gallardo et al. saavuttivat mikroaltoaavusteisella ortofosforihappouutolla lähes täydellisen 90-100 % saannon kokonaisarseenille sedimentti- ja jätevesilietenäytteistä, mutta vain 62 % tutkitun maanäytteen arseenista mobilisoitui samalla käsittelyllä.²¹ Garcia-Salgado ja Quajino saivat 9-39 % kasvinäytteiden arseenista liukenemaan veteen mikroaltoaavusteisesti, kun taas 0,5 M etikkahappoa käytettäessä vastaava osuus oli 33-87 %. Havaittiin, että etikkahappoliuosta käytettäessä erityisesti mitatut As(V)-pitoisuudet kasvoivat, minkä arveltiin aiheutuvan orgaanisten arseeniyhdisteiden hajoamisesta. Arseenin liukeneminen on luonnonolosuhteissa Suomen maaperässä vähäistä, korkeintaan prosentin kymmenesosien luokkaa kokonaispitoisuudesta.²⁰ Suomen ympäristökeskuksen teettämässä selvityksessä²⁰ koskien haitta-aineiden liukoisuuksia pilaantuneen maan kunnostuskohteissa arseenipitoisuus ylitti jätteen

kaatopaikkakelpoisuuden raja-arvon vain kahdessa näytteessä 142:sta näytteen aineistossa.

2.2. Liuosnäytteiden esikäsittely

Liuosnäytteiden, kuten luonnonvesinäytteiden, käsittely on usein suoraviivaisempaa kuin kiinteiden näytteiden käsittely ja yksinkertaisimmillaan näyte on analysoitavissa sellaisenaan³⁴⁻³⁶ tai suodatuksen jälkeen³⁷⁻⁴⁴. Suodatuksen sijaan mahdollisen hienojakoisen kiintoaineksen poistoon voidaan käyttää myös sentrifugointia.¹⁵ Näytteen suodattamisella tai sentrifugoimisella saadaan tietoa vesiliukoisesta arseenista, ei välttämättä spesiesten kokonaispitoisuuksista. Jos liuosnäyte sisältää kiintoainesta, voi osa arseenista olla sitoutunut kiintoaineeseen ja sen uuttaminen liuokseen voi vaatia kemiallista käsittelyä. Muun muassa näytteen kuumennusta vesihauteessa hydroksyyliammoniumkloridiliuoksessa on käytetty tähän tarkoitukseen¹⁵. Jos arseenin liuotukseen on ennen suodatusta käytetty happokäsittelyä, analyysiliuoksesta määritettävää arseenipitoisuutta voidaan kutsua happoliukoiseksi arseeniksi.

2.3. Arseenispeciesten stabiilisuus

Arseenipitoisuuksien ja -spesiation säilyvyyden varmistaminen näytteiden säilytyksen ja analyysiketjun aikana on ensiarvoisen tärkeää luotettavien analyysitulosten saamiseksi. On suositeltavaa, että arseenin spesiaatiomääritykset, tai ainakin spesiesten erotukset, suoritetaan mahdollisimman pian näytteenoton jälkeen, jotta vältetään säilytyksen aikana tapahtuva spesiaatiomuutokset. Useimpien lähteiden mukaan epäorgaaniset arseenispeciokset säilyvät stabiilina oikein säilytettynä vähintään kaksi vuorokautta, joskin tutkimustulosten välillä esiintyy eroja. Yleispätevän säilytysmenetelmän laatiminen on haastavaa, koska

spesiesten stabiilisuuteen vaikuttavat pH-arvon ja lämpötilan lisäksi monet näytekohtaiset tekijät, kuten näytematriisi, bakteeritoiminta ja arseenin pitoisuustaso. Arseenin absorboituminen astiamateriaalin pintaan ja fotokemialliset reaktiot voivat aiheuttaa arseenihäviötä näytteessä, joten astiamateriaalin valintaan kannattaa kiinnittää huomiota, minkä lisäksi näytteitä on suositeltavaa säilyttää pimeässä.¹¹

Happokestävöinti parantaa yleensä arseenipitoisuuksien säilyvyyttä ehkäisemällä saostumien muodostumista ja mikrobitoimintaa¹¹, mutta kestävänti voi myös itsessään vaikuttaa arseenispesiaatioon. Hall, Pelchat ja Gauthier havaitsivat, että 0,1 % typpihappo- ja suolahappokestäväinneillä oli luonnonvesinäytteissä välitön epäorgaanisen arseenin, erityisesti As(III):n, pitoisuutta kasvattava vaikutus, jonka jälkeen spesiaatio pysyi huoneenlämmössä stabiilina ainakin 15 päivän ajan.⁴⁵ Molemmat hapot aiheuttivat lisäksi As(III):n välitöntä hapettumista As(V):ksi vesinäytteissä, johon oli tehty As(V)- ja As(III)-lisäykset. Typpihapon hapettava vaikutus oli odotetusti suurempi verrattuna suolahapon vaikutukseen. Arseenipitoisten luonnonnäytteiden arseenispesiaatio voi säilyä ilman kestäväntiä stabiilina jopa kuukauden ajan, jos näyte säilötään välittömästi täyteen pulloon ja säilytetään 5 °C lämpötilassa.⁴⁵ Huoneenlämmössä spesiesten hapettumista tapahtui viiden päivän säilytysajan jälkeen. Huoneenlämmössä säilytetyissä kestäväimättömissä luonnonvesinäytteissä 5 µg/l As(III)- ja As(V)-lisäyksillä (1:1) havaittiin kahden päivän säilytyksen jälkeen As(III):n asteittaista hapettumista, kunnes saavutettiin tasapaino, jossa As(V):a ja As(III):a esiintyvät suhteessa 2:1.⁴⁵ Andersonin, Thompsonin ja Culbardin tutkimissa jokivesinäytteissä spesiaatio säilyi stabiilina suurimmassa osassa näytteitä 3-4 vuorokauden ajan säilytettäessä näytteitä kestäväimättöminä 4 °C lämpötilassa.⁴⁶ Tuhkanäytteiden uuttoliuoksia tutkinut Turner ei havainnut 33 päivän tarkkailuajalla muutoksia arseenin spesiaatiossa säilytettäessä näytteitä pakastettuina tai 4 °C lämpötilassa.⁴⁷

Näytteiden sisältämät hapettavat ja pelkistävät aineet sekä bakteeritoiminta voivat vaikuttaa arseenispesiaatioon. Usein luonnonvesinäytteissä olosuhteet suosivat arseenin hapetusmuotoa As(V). Cherry et al. eivät havainneet merkittäviä eroa As(III)- ja As(V)- pitoisuuksissa 20 päivän aikana 50 µg/l molempia

spesieksiä sisältävissä vesiliuoksissa pH-alueella 2-10.⁴⁸ H₂S:a tai Fe³⁺:a sisältävissä liuoksissa tapahtui kuitenkin hapettumista tai pelkistymistä happamissa olosuhteissa muutamassa tunnissa ja neutraalissa pH:ssa muutamassa päivässä. 50 µg/l Fe(III)-konsentraation on havaittu hapettavan As(III):a merkittävästi jo yhden säilytyspäivän aikana.⁴⁹ Borho ja Wilderer ehdottivat Fe(II)-lisäyksen käyttämistä hapettumisen ehkäisemiseksi.⁴⁹ Korkea Fe(II)-pitoisuus näytteessä ehkäisee Fe(III):n pelkistymistä, minkä lisäksi Fe(II) toimii As(III):a voimakkaammin elektronien luovuttajana. Fe(II)-lisäyksiä käyttämällä As(III) säilyi näytteissä stabiilina Borhon ja Wildererin mukaan noin viikoin ajan. Feldmanin tutkimuksessa As(III) hapettui kestäväimättömässä 1 mg/l As(III)-standardiliuoksessa täysin As(V):ksi 18 päivässä. 1 µg/l ja 10 µg/l liuoksissa vastaavat ajat olivat neljä ja seitsemän päivää. Stummeyer et al. havaitsivat, että luonnonvesinäytteiden säilytys ilman kestäväintä johti As(V):n pelkistymiseen As(III):ksi muutaman päivän sisällä.⁵⁰ Henzen, Wagnerin ja Sanderin mukaan hanavesinäytteisiin lisätty As(III) hapettui täysin As(V):ksi vuorokauden sisällä.⁵¹

Arseenia saattaa myös säilytyksen aikana adsorboitua kiintoaineeseen ja keraaostua mangaanin tai raudan oksidien kanssa.^{37,45,52} Raudan kanssa keraaostumista on onnistuttu ehkäisemään näytteiden kestäväimisellä⁴⁵ sekä EDTA- ja etikkahappolisäyksillä⁵². Vesiliukoista arseenia tutkittaessa on suositeltavaa suorittaa näytteiden suodatukset mahdollisimman pian näytteenoton jälkeen, koska näytteiden säilyttämisen suodattamattomana on havaittu vaikuttavan liukaisen arseenin pitoisuuteen jo muutaman tunnin säilytyksen aikana.⁴⁶

2.4. Esikonsentointi ja häiriöiden poisto

Arseenispesiaatiota määritettäessä tutkitaan usein hyvin pieniä pitoisuuksia, minkä takia näytteiden esikonsentointi voi olla tarpeellista ennen erotusprosessia ja analyysiä. Esikonsentointiin soveltuvat usein samankaltaiset menetelmät kuin arseenispesiesteren erotukseen, esimerkiksi kiinteäfaasiuutto ja neste-nesteuutto.

Analyyttien konsentroituminen voi tapahtua samanaikaisesti spesiesten erotuksen kanssa, esimerkiksi adsorboimalla haluttu arseenispesies kiinteäfaasiuutolla 20 ml näytteestä ja eluoimalla eristetty arseenispesies 5 ml:lla liuotinta, jolloin saavutetaan arseenille nelinkertainen konsentraatio. Myös erotusprosessia edeltävää kiinteäfaasiuuttoa, esimerkiksi alumiinioksidilla⁵³ tai ioninvaihtajalla³⁸, tai evaporoitua ja uudelleenliuotusta⁵³ voidaan käyttää arseenin esikonsentroiintiin.

Mikäli näyte sisältää mittauksia häiritseviä aineita, jotka eivät erotu määritettävistä spesieksistä erotusprosessin aikana, voidaan ne poistaa näytteistä esikäsittelyvaiheessa. Yleinen tapa häiritsevien matriisikomponenttien poistoon on adsorptio kiinteään materiaaliin. Esimerkkejä käytettävistä adsorbenttimateriaaleista ovat orgaanisten yhdisteiden poistamisessa käytettävät aktiivihili³² sekä heksaanilla³² ja C₁₈-hiiliketjuilla modifioitu silika^{32,53}, metalli-ionien poistossa käytettävät ioninvaihtajat⁵⁵ ja kelatoivat materiaalit³⁷ sekä halogeeni-ionien poistossa käytettävä hopeakolonne³⁸. Arseenia määritettäessä esimerkiksi aktiivihili ja heksaani eivät sovellu hyvin käytettäväksi puhdistuksessa, koska ne adsorboivat myös arseeniyhdisteitä, mistä syystä tähän tarkoitukseen käytetään usein C₁₈-kolonnia^{32,53}. Toisaalta myös C₁₈-kolonnin on havaittu adsorboivan pieniä määriä (10-11 %) dimetyyliarsonihappoa^{29,32}. Orgaanisia yhdisteitä voidaan poistaa näytteistä myös uuttamalla ne neste-nesteuutolla johonkin orgaaniseen liuottimeen. Tapauskohtaisia esimerkkejä mahdollisista häiritsevistä aineista ja häiriöiden poistosta arseenin spesiaatioanalytiikassa käsitellään lisää kappaleessa 3.

Taulukkoon 2 on koottu esimerkkejä arseenin esikonsentroiintiin käytetyistä menetelmistä ja vertailtu niillä saavutettuja rikastuskertoimia. Rikastuskerroin (enrichment factor) kuvaa yhtälön $EF = \frac{c_e}{c_0}$ mukaisesti analyytin esikonsentroidun jälkeisen konsentraation (c_e) ja analyytin alkuperäisen konsentraation (c_0) välistä suhdetta. Esimerkiksi, jos rikastuskerroin on 10, esikonsentroidun analyytin konsentraatio on kymmenkertainen verrattuna konsentraatioon alkuperäisessä näytteessä.

Taulukko 2. Rikastuskertoimien vertailu valituissa arseenin esikonsentroituihin käytetyissä menetelmissä

Esikonsentroitimen menetelmä	Konsentroitavat arseeni-espiekset	Reagenssit ja materiaalit	Rikastuskerroin	Viite
SPE	As(III), As(V), MMA, DMA	Adsorbenttina fosfiiniryhmä, eluenttina $\text{NH}_4\text{NO}_3/\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	28-30	38
SPE	As(V)	Adsorbenttina CTAB-ryhmä, eluenttina 1 M HNO_3	200	39
DLLME	As(III)	Uuttoliuottimena CCl_4 , APDC-kompleksointi	115	34
CPE	As(V)	Molybdaatti-kompleksointi, tensidinä Triton X-114	52,5	35
LLE	As(III)	Uuttoliuottimena DIBK, HMDC-kompleksointi	33,3	55
SPE	As(III)	Adsorbenttina DMSA-ryhmä	10 (on-line), 50 (off-line)	56
SPE	As(III)	Kerasaostus $\text{La}(\text{NO}_3)_3$:n kanssa ja adsorptio etyyliivinyliasettaattiin	28-45*	6
Kerasaostus	As(III)	Kerasaostus Cu-PDC:llä ja liuotus $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ -liuokseen	20	57
CPE	As(III)	Pyroniini-b-kompleksointi, tensidinä Triton X-114	60	58
CPE	As(III)	APDC-kompleksointi, tensidinä Triton X-114	36	27
SPE	As(III) + As(V)	Adsorbenttina TiO_2	20	59
Kerasaostus	As(III)	Kerasaostus Pb-PDC ja liuotus HNO_3 -liuokseen	20	
DES-UALPME	As(III)	Uuttoliuottimena koliinikloridi-fenoliseos, NaDDC-kompleksointi	25	60
CPE	As(V)	Molybdaatti-kompleksointi, tensidinä Triton X-114	5	61

* Riippuu esikonsentroitimijästä, SPE = kiinteäfaasiuutto, DLLME = dispersiivinen neste-nestemikrouutto, CPE = samepisteuutto, LLE = neste-nesteuutto, DES-UALPME = ultraääniavusteinen nestefaasimikrouutto syväeutektisellä liuottimella, MMA = monometyyliarsonihappo, DMA = dimetyyliarsonihappo, CTAB = setrimoniumbromidi, APDC = ammoniumpyrrolidiiniditiokarbamaatti, Triton X-114 = polyetyleeniglykoli-tertoctyyli-fenyylieetteri, DIBK = di-isobutyyliketoni, HMDC = heksametyleeniditiokarbamaatti, DMSA = suktimeeri, PDC = pyrrolidiiniditiokarbamaatti, NaDDC = natriumdietyliditiokarbamaatti

3. ARSEENISPESIESTEN EROTUS- JA MÄÄRITYSMENETELMÄT

Useimmissa määrittystekniikoissa arseenin spesiaation määrittäminen vaatii, että näytteen arseenispesieokset erotetaan toisistaan eri fraktioihin ennen mittauksia. Erotusmenetelmät voidaan jakaa erillään suoritettaviin off-line-menetelmiin, kuten neste-nesteuutto ja kiinteäfaasiuutto, ja spektrometriin liitettyinä yhdistelmätekniikoina käytettäviin on-line-menetelmiin, joista merkittävin on nestekromatografia. Edellä mainitusta tyypillisestä jaottelusta huolimatta myös esimerkiksi kiinteäfaasiuutosta ja neste-nesteuutosta on kehitetty on-line-tyyppisiä ratkaisuja^{38,56,68} ja kromatografisia erotuksia voi suorittaa myös erillään määrittystekniikasta off-line-tyyppisesti. Spektrometrinen mittauksen sijasta arseenin spesiaatio voidaan määrittää myös sähkökemiallisesti, jolloin esimerkiksi voltammetriaa hyödyntämällä on mahdollista määrittää selektiivisesti yksi arseenin hapetusasteista ilman mittauksia edeltävää erotusprosessia.

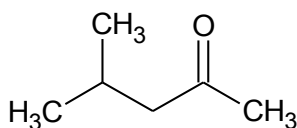
Yleinen toimintaperiaate epäorgaanisten arseenispesiesten analyysissä, erityisesti off-line-tyyppisesti neste-nesteuutolla, samepisteuutolla, keraaostuksella tai kiinteäfaasiuutolla, on erottaa ja määrittää näytteestä toinen arseenin hapetusmuodoista, jonka lisäksi määritetään As(III):n ja As(V):n yhteiskonsentraatio, joka saadaan hapettamalla tai pelkistämällä kaikki näytteen arseeni samalle hapetusasteelle ennen erotusprosessia. Toisen hapetusmuodon pitoisuus saadaan tällöin laskettua yhteiskonsentraation ja erotetun spesieksen konsentraation erotuksena. Esimerkkejä kokonaisarseenipitoisuuden määrittämisessä käytetyistä pelkistimistä ovat natriumtiosulfaatti^{34,41,55,58}, natriumsulfiitti^{36,55}, L-kysteiini⁵⁷ ja tiourea⁴³. Kaliumpermanganaatti^{35,39} on puolestaan yksi yleisimmistä hapettimista. Kromatografisilla menetelmillä voidaan erottaa useita yhdisteitä samanaikaisesti, jolloin hapettimien ja pelkistimien käyttö ei ole lähtökohtaisesti tarpeellista.

3.1. Off-line-erotusmenetelmät

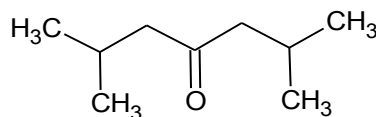
3.1.1. Neste-neste-utto ja -mikrouutto

Neste-nesteutto on yksinkertainen ja helppokäyttöinen erotusmenetelmä, jossa käytetään kahta toisiinsa sekoittumatonta faasia, joista toinen on pooliton ja toinen poolinen. Poolisena faasina toimii käytännössä lähes poikkeuksetta vesi ja poolittomana faasina jokin orgaaninen liuotin. Neste-nesteutossa näyteliuokseen (vesiliuos) lisätään orgaanista liuotinta, jonka jälkeen liuoksesta sekoitetaan ravistamalla tai magneettisekoittajalla, jolloin poolittomia vuorovaikutuksia suosivat yhdisteet siirtyvät vesiliuoksesta orgaaniseen liuottimeen. Faasit voidaan erottaa pipetoimalla, erotussuppilon avulla tai jäädyttämällä vesifaasi, jolloin orgaaninen faasi voidaan kaataa pois.

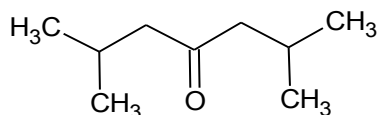
Yleisesti käytettyihin orgaanisiin uuttoliuottimiin lukeutuvat heksaani, ketonit, kuten metyyli-isobutyryliketoni (MIBK) (**7**) ja di-isobutyryliketoni (DIBK) (**8**), etyyliasetaatti (**9**), kloorisubstituoidut hiilivedyt, kuten hiilitetrakloridi, dikloorimetaani ja kloroformi, sekä metyyli-tert-butyyleetteri (MTBE) (**10**).



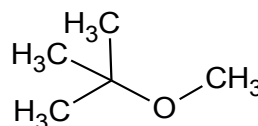
7



8

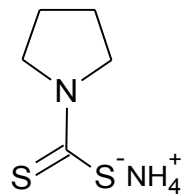


8

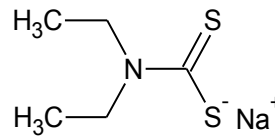


9

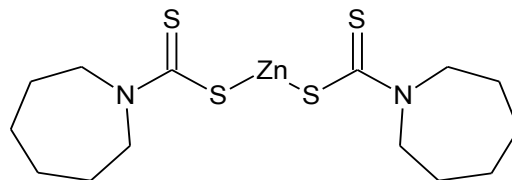
Yleensä lisätty orgaanisen liottimen määrä on pienempi kuin vesiliuosnäytteen määrä, jolloin orgaaniseen faasiin siirtyneet aineet konsentroituvat. Arseenin pääasiallisten hapetusmuotojen, +III ja +V, erottamisessa toinen hapetusmuodoista sidotaan yleensä orgaaniseen kompleksiin, jotta spesiesten erottuminen eri faaseihin on mahdollista. Esimerkiksi ditiokarbamaatit, kuten ammoniumpyrrolidiiniditiokarbamaatti (APDC)^{28,34} (**11**), natriumdietyyliditiokarbamaatti (NaDDC)⁶⁰ (**12**) ja sinkkiheksametyleeniditiokarbamaatti ((Zn(HMDC)₂)⁵⁵ (**13**), ovat yleisiä kompleksinmuodostajia neste-nesteuutossa.



11



12



13

Kun As(III):n ja As(V):n pitoisuuksia määritetään kompleksinmuodostuksen ja neste-nesteuuton avulla, on tavallista määrittää myös näytteen kokonaisarseenipitoisuus laboratorionäytteestä, jossa kaikki arseeni on hapetettu tai pelkistetty samaan hapetusmuotoon ennen uuttoprosessia.^{34,55} Tällöin vesifaasiin jääneen arseenin kompleksoitumattoman hapetusmuodon pitoisuus saadaan näytteestä määritetyn kokonaisarseenin ja arseenin kompleksoituneen hapetusmuodon erotuksena.

Mikäli orgaaniseen faasiin erotetut analyytit halutaan siirtää ennen analyysiä vesiliuokseen, voidaan suorittaa joko evaporointi ja uudelleenliuotus tai takaisinuuhto. Tavallisesti takaisinuuhtossa säädetään liuosten pH-arvot voimakkaan happamiksi, mutta orgaanisessa faasissa olevat kompleksoituneet metalli-ionit voidaan vapauttaa myös lisäämällä uutoseokseen korkea pitoisuus koordinaatioasemasta kilpailevia metalli-ioneja, jotka syrjäyttävät analyyttimetallin kompleksiyhdisteistä. Esimerkiksi Cu(II)-liuosta on käytetty takaisinuuhtossa As(III):n irrottamisessa HMDC-kompleksista.⁵⁵ Uutolla orgaaniseen liuottimeen ja takaisinuuhtolla veteen voidaan esikonsentroida analysoitavaa arseenispesiästä ja poistaa tehokkaasti määritystä häiritseviä matriisikomponentteja. Takaisinuuhto voi olla hyödyllinen käytettäessä arseenin määritykseen ICP-tekniikoita, koska orgaaniset molekyylit voivat sammuttaa plasman tai heikentää sen stabiilisuutta. Lisäksi orgaanisista aineista peräisin oleva hiili voi kertyä ICP-soihdun suulle heikentäen plasman toimintakykyä. GFAAS on robustisuuden ja alhaisten määritysrajojen ansiosta yksi yleisimmistä neste-nesteuuton yhteydessä käytetyistä arseenin määritystekniikoista. Lisäksi GFAAS soveltuu erittäin pienen näytekulutuksensa ansiosta orgaanisten uuttofaasien määritykseen laimentamattomana neste-nestemikrouuton jälkeen.

Perinteisen neste-nesteuuton haittapuolia ovat automatisoinnin vaikeus, rajoitettu selektiivisyys, hitaus sekä suuret näyte- ja liuotintilavuudet. Rajoitetusta selektiivisyydestä johtuen orgaaniseen faasiin voi siirtyä analysoitavan arseenispesiäksen lisäksi myös muita näytematriisin yhdisteitä. Lisäksi näytteen muut metalli-ionit voivat kilpailla kompleksimuodostuksesta, mikä voi ilmetä arseenispesiästen puutteellisena erottumisena. Yksi näytematriisista aiheutuva ongelma voi olla emulsion muodostuminen kahden faasin väliin. Emulsion muodostuminen aiheutuu näytteen amfifiilisistä aineista, kuten rasvoista, ja se on esimerkiksi biologisissa näytteissä esiintyvä ongelma.⁶²

Neste-nestemikrouutto, miniatyrisoitu versio neste-nesteuutosta, ratkaisee monia perinteisen neste-nesteuuton haittapuolia pienentämällä näytteen ja liuottimien kulutusta ja nopeuttamalla uuttoprosessia. Useita

neste-nesteuuttoon perustuvia menetelmiä on kehitetty, mukaan lukien dispersiivinen neste-nestemikrouutto (DLLME)³⁴ ”kelluvan pisaran jähmettymiseen” perustuva mikrouutto (SFDME)⁶³, ultraääniavusteinen uutto (USAE)²⁸, ”yhden pisaran” mikrouutto (SDME)⁶⁴, supramolekulaarista liuotinta hyödyntävä mikrouutto (SUPRAS-ME)²⁸ ja onttokuitunestefaasimikrouutto (HF-LPME)⁶⁴.

Yksi edullinen ja ympäristöystävällinen vaihtoehto perinteisille orgaanisille liuottimille ovat supramolekulaariset liuottimet, jotka muodostuvat jatkuvaksi faasiksi dispersoituneista tensidikasaumista. SUPRAS-ME-menetelmässä käytetään pitkäketjuisten karboksyylihappojen muodostamia käänteismisellejä orgaanisten yhdisteiden, kuten orgaanisten arseenikompleksien, sitomiseen ja sentrifugoinnin jälkeiseen erottamiseen.²⁸ Toinen vihreä vaihtoehto perinteisille liuottimille ovat syväeutektiset liuottimet (DES), jotka ovat vetysidosdonorina toimivan orgaanisen yhdisteen, kuten karboksyylihapon, fenolin tai glyserolin, ja suolan, kuten koliinikloridin, eutektinen seos. DES:n etuja ovat uudelleenkäytettävyys, hyvä stabiilisuus korkeissa lämpötiloissa sekä hyvin matala höyrynpaine, minkä ansiosta liuotin ei ole helposti höyrystyvä, kuten monet perinteiset orgaaniset liuottimet. Ultraääniaaltojen käytöllä voidaan nopeuttaa uuttoprosessia muun muassa edistämällä mekaanisilla vaikutuksilla (ilmakuplien syntyminen) ja lämpövaikutuksilla faasien dispersiota ja aineiden siirtymistä faasien välillä. Ultraäänikäsittelyä on sovellettu myös edellä kuvatuissa syväeutektista liuotinta⁶⁰ ja supramolekulaarista liuotinta²⁸ hyödyntävissä neste-nestemikrouutoissa (DES-UALPME ja USASS-ME).

DLLME hyödyntää pientä määrää jotain korkeatiheyksistä orgaanista liuotinta, kuten kloroformia tai nitrobenseeniä, ja molempiin faaseihin liukenevaa dispersoivaa liuotinta, kuten etanolia tai asetonia. Kun liuotinseos lisätään nopeasti näytteeseen, se dispersoituu vesifaasiin pieninä kuplina muodostaen samean liuksen. Tämä mahdollistaa suuren faasien välisen pinta-alan ja sitä kautta hyvin nopean aineiden siirtymisen faasien välillä, jolloin tasapainoasema saavutetaan nopeasti ja uuttoaika on lyhyt. Faasit voidaan uuton lopuksi erottaa toisistaan sentrifugoimalla. Arseenin

spesiaatioanalytiikassa DLLME:tä on hyödynnetty esimerkiksi APDC-kompleksoidun As(III):n erottamisessa käyttäen uuttoliuottimena hiilitetrakloridia ja dispersoivana liuottimena metanolia.³⁴

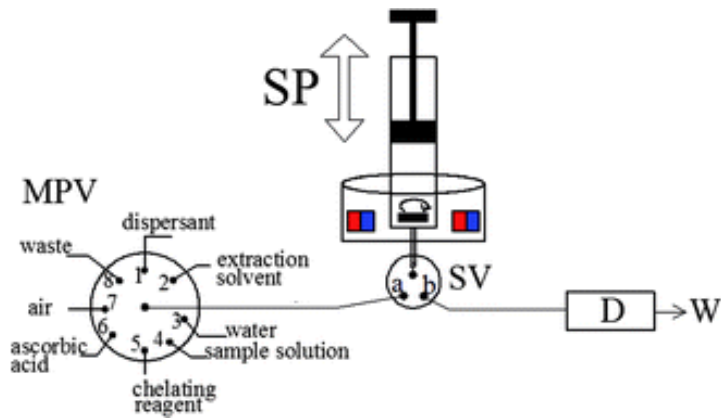
Orgaanisen liuottimen jähmettämiseen perustuvassa uutossa (SFDME) käytetään liuotinta, jonka sulamispiste on lähellä huoneenlämpötilaa. Liuotinta lisätään näyteliuokseen pieni määrä (muutama mikrolitra) ja näytettä sekoitetaan voimakkaasti, jolloin orgaaniseen kompleksiin sitoutunut arseenispesies siirtyy orgaaniseen liuottimeen. Uuton jälkeen näyteliuos laitetaan jäähautteeseen, jolloin orgaaninen faasi jähmettyy, jonka jälkeen kiinteä orgaaninen faasi erotetaan vesiliuoksesta ja sulatetaan jälleen ennen analyysiä. Pieni liuotinmäärä suhteessa näytemäärään mahdollistaa korkean rikastumiskertoimen saavuttamisen erotettavalle spesiekselle.⁶³

Maya et al. kehittivät ”lab-in-syringe”-ksi (LIS) nimetyn uuttosysteemin⁶⁵, jota on viime vuosina sovellettu muun muassa raskasmetallien⁶⁶ ja fenolisten haitta-aineiden⁶⁷ määrittämisessä. LIS mahdollistaa SI-tyyppisen (sequential injection) täysin automatisoidun ruiskun sisäisen uuttoprosessin sisältäen ruiskun puhdistusvaiheen, kompleksointivaiheen, uuttovaiheen ja faasien erotuksen. Tämä puolestaan mahdollistaa esikonsentroinnin ja spesiaatiomäärittäykset suoraan mittaustekniikkaan liitetyllä on-line-nestemikrouutolla. Wang et al käyttivät viimeaikaisessa tutkimuksessa magneettisekoitusavusteista ”lab-in-syringe” dispersiivistä nestemikrouuttoa (MAS-LIS-DLLME) yhdistettynä GFAAS-tekniikkaan As(III):n ja As(V):n määrittämisessä riisinäytteistä.⁶⁸ Kuvassa 3 on esitetty kaavakuva MAS-LIS-DLLME-laitteistosta. Taulukkoon 3 on koottu esimerkkejä nestemisteuuton ja -mikrouuton käytöstä arseenispesiesten erotuksessa.

Taulukko 3. Esimerkkejä neste-nesteuuton käytöstä arseenin spesiaatioanalytiikassa

Erotusmenetelmä	Erotettavat yhdisteet*	Uuttoliuotin ja liuottimen määrä	Kompleksoiva reagenssi	Näyte	Näyttilavuus	Määritystekniikka	Toteamisraja	Viite
USASS-ME	As(III), As(V)	70 mg Kapriinihappo, 0,5 ml THF	APDC	Vesi ja maa	10 ml	GFAAS	0,2 µg/l	28
DLLME	As(III), As(V)	0,05 ml hiilitetrakloridi	APDC	Juoma- ja merivesi	5 ml	GFAAS	0,01 µg/l	34
LLE	As(III), As(V)	10 ml DIPK	HMDC	Luonnonvesi	250 ml	FI-HGAAS	0,008 µg/l	55
SFDME	As(III), As(V)	0,015 ml 1-undekanoli	APDC	Hana- ja kaivovesi	20 ml	GFAAS	0,0092 µg/l	63
DES-UALPME	As(III), As(V)	1ml Koliinikloridi- fenoliseos, 0,5 ml THF	NaDDC	Järvi-, joki- hana- ja kivennäisvesi	25 ml	GFAAS	0,01 µg/l	60
MAS-LIS-DLLME	As(III), As(V)	0,045 ml [C6MIM][PF6], 0,5 ml metanoli	Ammoniummolybdaatti	Riisi	5 ml	GFAAS	0,005 µg/l	68

* Kompleksoitu spesies lihavoituna, USASS-ME = ultraääniaavusteinen mikrouutto supramolekulaarisella liuottimella, DLLME = dispersiivinen neste-nestemikrouutto, LLE = neste-nesteuutto, SFDME = kelluvan pisanan mikrouutto (engl. solidification of floating drop microextraction), DES-UALPME = ultraääniaavusteinen nestefaasimikrouutto syvätehtisellä liuottimella, MAS = magneettisekoitusavustettu, LIS = "lab-in-syringe", THF = tetrahydrofuraani, DIPK = di-isobutyryliketoni, [C6MIM][PF6] = 1-heksyyli-3-metyyli-imidazoliumheksafluorofosfaatti, APDC = ammoniumpyrrolidiniiditiokarbamaatti, HMDC = heksametyleeniditiokarbamaatti, NaDDC = natriumdietyyliiditiokarbamaatti, GFAAS = grafiittiuuniatomiabsorptiospektrometria, FI = flow injection, HGAAS = hydridinmuodostusatomabsorptiospektrometria



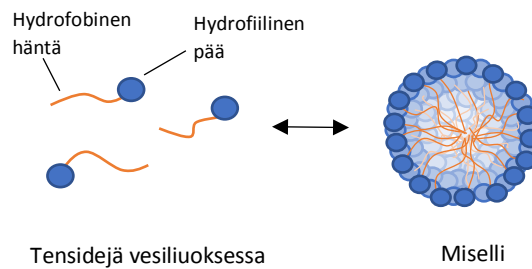
Kuva 3. MAS-LIS-DLLME-laitteisto. MPV = monipaikkainen venttiilijärjestelmä, SP = ruiskupumppu, SV = kolmipaikkainen solenoidiventtiili, D = määritystekniikka, W = jäteastia, 1 = dispersoiva liuotin, 2 = uuttoliuotin, 3 = vesi, 4 = näyteliuos, 5 = kelatoiva reagenssi, 6 = askorbiinihappo, 7 = ilma, 8 = jäte.*

3.1.2. Samepisteuutto

Samepisteuutto on kahteen toisiinsa sekoittumattomaan faasiin, vesifaasiin ja tensideistä eli pinta-aktiivisista aineista koostuvaan faasiin, perustuva erotusmenetelmä. Samepisteuuton etuja ovat hyvä uuttotehokkuus, yksinkertaisuus ja edullisuus. Samepisteuutto on myös hyvin ympäristöystävällinen erotusmenetelmä, jossa ei käytetä myrkyllisiä orgaanisia liuottimia, kuten perinteisessä neste-nesteuutossa.

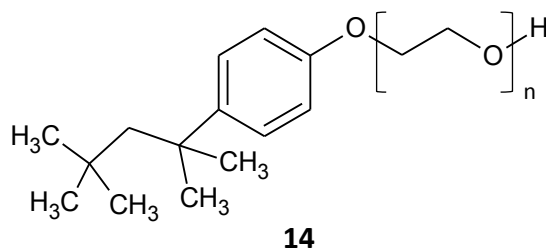
Uutossa tensidit muodostavat misellejä, jonka hydrofobiseen keskustaan erotettava spesies kiinnittyy. Kuvassa 4 on havainnollistettu misellin muodostumista. Lämmitettäessä uuttoliuosta niin sanotun samepistelämpötilan yläpuolelle muodostuu samea liuos ja liuos alkaa jakautua vesifaasiksi ja tensidirikkaaksi faasiksi. Ilmiötä on selitetty muun muassa tensidin oksietyleeniketjujen äkillisellä dehydraatiolla⁶⁹, joka voi olla seurausta konformaatiomuutoksesta lämpötilan noustessa⁷⁰. Faasit voidaan erottaa toisistaan sentrifugoimalla. Sentrifugoitu näyte voidaan jäädyttää jäähauteessa tai jääkaapissa, jolloin tensidifaasin viskositeetti kasvaa ja se

vesifaasi voidaan erottaa kaatamalla tai pipetoimalla.^{27,35,43,58} Viskositeetin alentamiseksi erotettuun tensidifaasiin voidaan lisätä happoa^{27,43,58} tai metanolia^{27,35}.

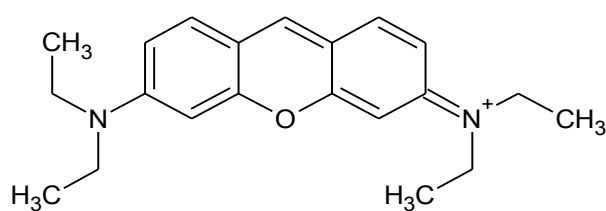


Kuva 4. Misellin muodostuminen

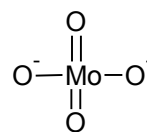
Samepisteuuttoa voidaan käyttää epäorgaanisen arseenin spesiaation määrittämiseen sitomalla toinen epäorgaanisen arseenin hapetusmuodoista orgaaniseen yhdisteeseen. Muodostuneet hydrofobiset kompleksit kiinnittyvät misellien ytimiin ja kompleksoitumaton ionimainen arseenispesies pysyy faasin erottuessa vesiliuoksessa. Erotettu arseenispesies voidaan halutessa takaisinluuttua vesifaasiin happolisäyksen avulla⁴³. Varaukseton Triton X-114 (oktyylifenoksi-polyetoksietanoli) (**14**) on yleisin samepisteuutossa käytetyistä tensideistä.^{35,43,58,61} Sen etuja ovat alhainen samepistelämpötila ja korkea tiheys, joka edistää faasin erottumista sentrifugoitaessa.⁷¹



Arseenin oksoioneiden kompleksoinnissa on käytetty esimerkiksi pyroniini-B:tä⁵⁸ (**15**), APDC:tä⁴³ (**9**) ja molybdaattia³⁵ (**16**). Pyroniini-B voi muodostaa kompleksin sekä As(III):n että As(V):n kanssa, mutta suosii natriumlauryylisulfaatin (SDS) läsnäollessa As(III)-kompleksin muodostusta, kun liuoksen pH-arvo on noin 10. SDS edistää lisäligandin ominaisuudessa kompleksinmuodostusta ja orgaanisen kompleksin siirtymistä tensidifaasiin edistämällä hydroksyyliyhymien liittymistä kompleksinmuodostajaan.⁵⁸ Kuvassa 5 on esitetty Ulusoy:n et. al postuloima reaktiomekanismi As(III)-pyroniini-B-kompleksin muodostumiselle natriumlauryylisulfaatin läsnäollessa.⁵⁸



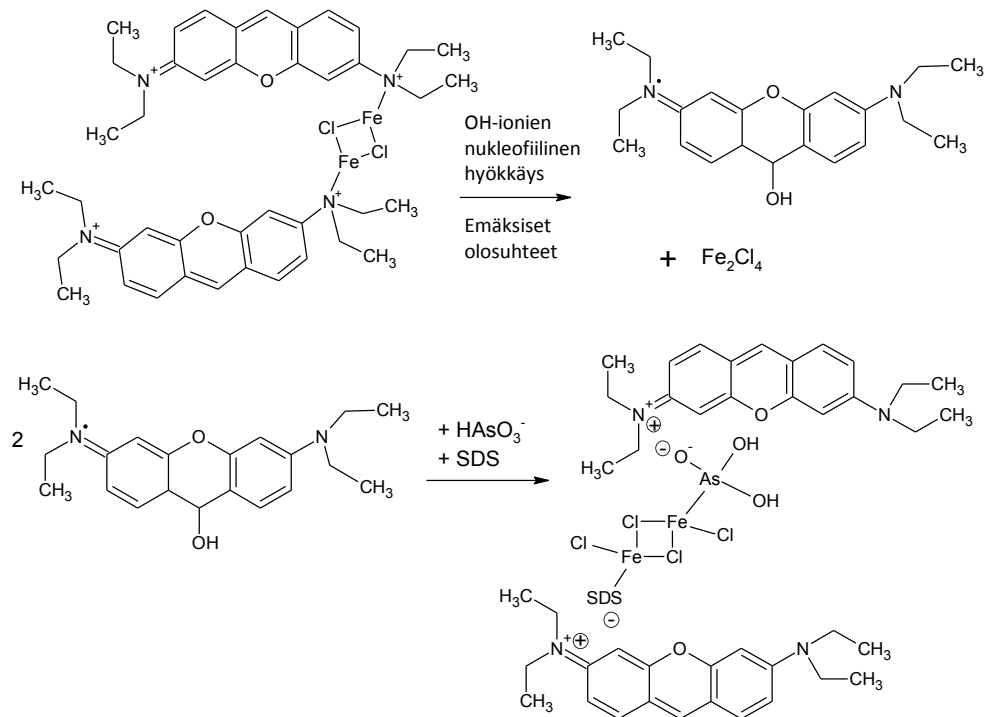
15



16

Samepistelämpötilaan vaikuttaa tensidin rakenne, kuten hiiliketjun pituus ja haaroittuneisuus, ja muut liuoksessa olevat aineet. Suolalisäyksellä voidaan tehostaa oksietyleeniketjujen dehydraatiota ja laskea samepistelämpötilaa⁷². Lisäksi suolalisäys voi voimistaa hydrofobisia vuorovaikutuksia tensidien ja kompleksoidun analyytin välillä tehostaen erotettavan spesieksen siirtymistä tensidifaasiin, kuten edellä mainitun SDS-lisäyksen tapauksessa. Suuri suolapitoisuus voi toisaalta häiritä kompleksinmuodostusta. Ionivahvuuden lisäksi myös monet muut tekijät, kuten liuottimien määrä, pH-arvo, kompleksoivan ligandin pitoisuus, lämpötila ja uuttoaika, vaikuttavat samepisteuton tehokkuuteen.⁴³ pH-arvolla on olennainen vaikutus halutun arseenispesieksen selektiivisessä

kompleksoinnissa. Esimerkiksi pH-arvossa 10 As(V) esiintyy vetyarsenaatti-ionina, jonka varaus on -2, ja As(III) vetyarseniitti-ionina, jonka varaus on -1. Jos kompleksoinnissa käytetään tällöin pyroniini-B:tä, 1:1-suhteessa kompleksinmuodostajan kanssa reagoiva As(III) muodostaa stabiilimman kompleksin kuin As(V).⁵⁸ Neste-nesteuton tavoin myös samepisteuuttoa on tehostettu käyttäen mikroaalto-⁷³ ja ultraääniavustusta⁷⁴. Taulukkoon 4 on koottu esimerkkejä samepisteuuton käytöstä arseenin spesiaatioanalytiikassa.



Kuva 5. Hypoteettinen reaktiomekanismi pyroniini-B:n ja As(III):n ionipari-kompleksin muodostumiselle natriumlauryylisulfaatin läsnäollessa.⁵⁸

Taulukko 4. Esimerkkejä samepisteuuton käytöstä arseenin spesiaatioanalytiikassa

Kompleksinmuodostaja	Tensidi	Määritettävät spesiekit*	Näyte	Näyte-tilavuus	Määrittystekniikka	Toteamisraja	Viite
Molybdaatti	Triton-X114	As(III), As(V)	Hanavesi	10 ml	GFAAS	0,01 µg/l	35
Pyroniini-B	Triton-X114	As(III), As(V)	Hanavesi	10 ml	HGAAS	0,008 µg/l	58
APDC	Triton-X114	As(III), As(V)	Vesi	10 ml	ICP-OES	0,72 µg/l	43
APDC	Triton-X114	As(III)	Järvi- ja jokivesi	10 ml	GFAAS	0,04 µg/l	27
Molybdaatti	Triton-X114	As(III), As(V)	Saastunut järvivesi, maa, liete, vihannes, virtsa, kynsi, hius ja kemikaali	< 4ml	Spektrofotometria	1 µg/l	61
APDC	Triton-X114	As(III)	Pohjavesi	20 ml	GFAAS	0,12 µg/l	75

* Kompleksoitu spesies lihavoituna, APDC = ammoniumpyrrolidiniiditiokarbamaatti, Triton X-114 = oktyylifenoksiipolyetoksietanoli,

GFAAS = grafiittiuuniatomiabsorptiospektrometria, HGAAS = hydridinmuodostusatomiaabsorptiospektrometria,

ICP-OES = induktiivisesti kytketty plasma optinen emissiospektrometria

3.1.3. Kiinteäfaasiuutto

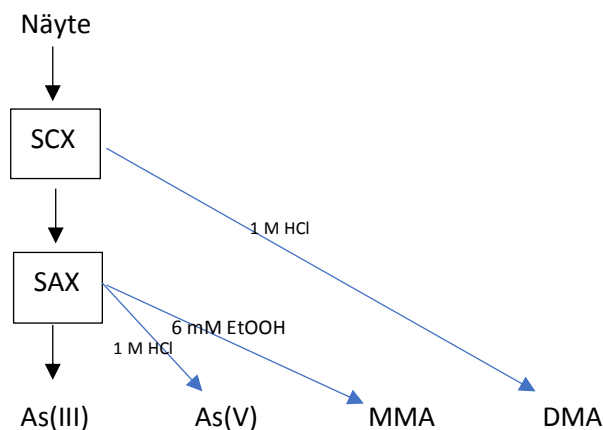
Kiinteäfaasiuutto (Solid Phase Extraction, SPE) on erotusmenetelmä, jossa liuosmainen näyte valutetaan kiinteään adsorbenttiin läpi, jolloin erotettavat yhdisteet kiinnittyvät adsorbenttiin. Adsorption jälkeen erotetut spesiekit irrotetaan sopivan eluentin avulla. SPE on helppokäyttöinen menetelmä analyttien esikonsentroinnissa ja yhdisteiden selektiivisessä erotuksessa. Kiinteäfaasiuutossa käytettävät kolonnit, levyt ja patruunat ovat yleensä pieniä ja helposti kuljetettavia, minkä vuoksi kiinteäfaasiuutto voidaan suorittaa myös näytteenotto paikalla (in-situ) heti näytteenoton jälkeen, jolloin varmistuu, että analyttien spesiaatio säilyy muuttumattomana ennen analyysiä.

Kiinteäfaasiuuton muotoja ovat yhdisteiden poolisuuteen perustuvat normaali- ja käänteisfaasimenetelmät sekä analyttien sähkövaraukseen perustuva ioninvaihto-SPE. Yksi yleisimmistä kiinteäfaasiuutossa käytetyistä adsorbenteista on silika, johon on usein kiinnitetty erotettavan yhdisteen sitomiseen soveltuvia funktionaalisia ryhmiä. Tyypillisimpiä esimerkkejä näistä ryhmistä ovat erilaiset käänteisfaasi-SPE:ssä käytettävät hiiliketjut (poolittomien yhdisteiden sitominen), kationinvaihdossa käytettävät sulfoni- ja karboksyylihapporyhmät sekä anioninvaihdossa käytettävät amiiniryhmät ja kvaternäärinen ammoniumryhmä. Ioninvaihtajat voidaan edelleen jakaa vahvoihin ja heikkoihin ioninvaihtajiin. Esimerkiksi sulfonihapporyhmät esiintyvät aina negatiivisesti varautuneena ja ovat siten vahvoja anioninvaihtajia, kun taas karboksyylihapot ovat heikkoja anioninvaihtajia, jotka ovat varauksellisia vain tietyllä pH-alueella. Eluenttina käytetään normaalifaasiuutossa jotain poolista liuotinta ja käänteisfaasiuutossa poolitonta liuotinta. Ioninvaihtoon perustuvassa kiinteäfaasiuutossa eluenttina tulee käyttää ainetta, joka neutraloi stationäärifaasin ja adsorboitujen spesiesten väliset sähköiset vuorovaikutukset. Muita kiinteäfaasiuutossa käytettyjä materiaaleja ja ryhmiä ovat muun muassa titaanidioksidi-, hartsi- ja polymeeripohjaiset materiaalit, dioliryhmä, aktiivihiili, syanoryhmä, alumiinioksidi ja grafiitti.^{39,53} Arseenin spesiaatiossa

on hyödynnetty SPE-materiaaleina esimerkiksi setrimoniumbromidilla (CTAB) modifioitua silikaa³⁹, sukkimeerillä (DMSA) modifioitua titaanidioksidia⁵⁶ ja Zr-/Ca-ladattua kationinvaihtolevyä³⁷. Edellä mainituista adsorbenteista dioliryhmän, syanoryhmän ja puhtaan silikan ei ole havaittu adsorboivan As(III):a, As(V):a, monometyyliarsonihappoa (MMA) tai dimetyyliarsonihappoa (DMA), kun taas alumiinioksidipatruuna adsorboi voimakkaasti kaikkia neljää arseenispesiästä, eikä siten ole käyttökelpoinen arseenin spesiesten erotuksessa.⁵³ Sen sijaan alumiinioksidia voidaan hyödyntää arseeniyhdisteiden poistamisessa tai niiden esikonsentroinnissa pieniä pitoisuuksia mitattaessa. Kolonnien ja kiekkojen lisäksi kiinteäfaasiuuttoon voidaan käyttää myös hartsista valmistettuja mikrohelmiä tai suspensioita. Arseenin oksoionien erottamiseen ja esikonsentrointiin on käytetty esimerkiksi kvaternäärisillä ammoniumryhmillä funktionalisoitua hartsia.⁴¹

Ioninvaihtoon perustuva kiinteäfaasiuutto on erityisen käyttökelpoinen As(III):n ja As(V):n erotuksessa. Näyteliuoksen ja eluenttien pH-arvon valinta sekä arseenin esiintymismuotojen tuntemus on oleellista suunniteltaessa epäorgaanisen arseenin, eli käytännössä As(III):n ja As(V):n oksoanionien ja -happojen sekä niiden suolojen, erotusta ioninvaihto-SPE:llä. As(V) esiintyy varauksellisena oksoanionina pH-arvoa 2,2 korkeammilla pH-arvoilla, kun taas As(III):n oksohappo arseenihapoke, jonka ensimmäinen pK_a -arvo on 9,23, esiintyy neutraalina spesieksenä pH-arvoa 9 pienemmillä arvoilla. As(V) on tästä syystä helppo eristää As(III):sta ioninvaihdolla käyttäen pH-alueella, jolla vain toinen hapetusmuodoista esiintyy varauksellisessa muodossa. Esimerkiksi Xiong et al. ovat erottaneet As(V):a luonnovesinäytteestä anioninvaihdolla käyttäen adsorbenttina CTAB-modifioitua silikaa ja pH-arvoa 6,5, jossa As(V) esiintyy pääasiassa muodossa HAO_4^{2-} .³⁹ Huang, Hu ja Jiang havaitsivat, että käytettäessä DMSA-modifioitua silikaa sekä As(V) ja As(III) saadaan erotettua liuoksesta pH-alueella 4-7, kun taas pH-alueella 10-11 SPE-kolonneihin kiinnittyy ainoastaan As(III). Arseenihapon- ja hapokkeen sekä monometyyliarsonihappo ja dimetyyliarsonihapon esiintymismuodot pH-arvon funktiona on esitetty kuvassa 2.

Jos halutaan erottaa useampia arseenispesieksiä toisistaan, voidaan käyttää joko selektiivistä eluointia yhdestä SPE-patruunasta tai useita peräkkäisiä SPE-patruunoita ja eluointeja. Kuvassa 6 on esitetty kaaviokuva Yalcinin ja Len kehittämästä SPE-menetelmästä, jota on käytetty As(V):n, As(III):n, MMA:n ja DMA:n erotuksessa.⁵³ Menetelmässä erotettiin ensin DMA käyttäen vahvaa kationinvaihtajaa, joka ei adsorboinut muita tutkittavia spesieksiä. DMA irrotettiin SPE-patruunasta 1 M suolahapolla. Kationinvaihtajan läpäisseestä liuksesta erotettiin vahvalla ioninvaihtajalla MMA ja As(V). MMA irrotettiin anioninvaihtajasta 6 mM etikkahapolla ja As(V) 1 M suolahapolla. Varaukseton As(III) ei kiinnittynyt kumpaankaan ioninvaihtopatruunaan.



Kuva 6. Esimerkkimenetelmä⁵³ As(III):n, As(V):n, MMA:n ja DMA:n vaiheittaiseen erotukseen käyttäen kiinteäfaasiuuttoa. Eluointeja on kuvattu sinisillä nuolilla. SCX = vahva kationinvaihtaja, SAX = vahva anioninvaihtaja, EtOOH = etikkahappo

Erotettaessa arseenia SPE-levyillä eluointia ei tarvita, jos levyt kuivataan ja arseeni määritetään XRF-tekniikalla tai muulla kiinteiden aineiden tutkimiseen käytettävällä tekniikalla. Esimerkiksi Hagiwara et al. kiinnittivät As(III):n APDC-kompleksiksi ja adsorboivat sen näytteestä hydrofiilisellä polytetrafluorieteenisuodattimella ennen analyysiä aallonpituus-dispersiivisellä XRF-tekniikalla.³⁷ As(V) erotettiin Zr- ja Ca-ladatulla kationinvaihtolevyllä ja määritettiin XRF-tekniikalla.

Ympäristönäytteitä uutettaessa ja analysoitaessa voi esiintyä monia erilaisia häiriöitä ja matriisiefektejä. Korkeat pitoisuudet orgaanisia aineita voivat häiritä SPE-adsorbenttien toimintaa. Muun muassa näytteiden laimennus ja kiinteäfaasiuutto C₁₈-patruunalla voi vähentää orgaanisten aineiden pitoisuutta näytteissä.^{32,53} Pitää kuitenkin huomioida, että vaikka C₁₈-patruuna ei adsorboi epäorgaanista As(V):a ja As(III):a, voi mahdollinen orgaanisiin yhdisteihin sitoutunut arseeni kiinnittyä patruunaan. Lyijy, joka voi kiinnittyä arseenin tavoin ioninvaihtokolonniin tai kompleksoiviin reagensseihin, aiheuttaa AsK α - and PbL α -viivojen välisestä peittymästä johtuen häiriön XRF-mittauksessa. Lyijy voidaan poistaa näytteestä kelatoivan SPE-levyn avulla.³⁷ Fe³⁺-ioni voi häiritä As(V):n kiinnittymistä Zr-ladattuun kelatoivaan hartsiin⁷⁶ ja Pb²⁺, Cu²⁺ ja Sn²⁺ voivat häiritä APDC-As(III)-kompleksin muodostumista.^{37,41} On myös havaittu, että varaukselliset tioarseniitit voivat kiinnittyä As(V):n ohella ioninvaihtohartsiin, mikä voi johtaa virheellisiin As(V)-pitoisuuksiin sulfidipitoisten näytteiden analytiikassa.⁷⁷ Taulukkoon 5 on koottu esimerkkejä kiinteäfaasiuuton käytöstä arseenin spesiaatioanalytiikassa.

Taulukko 5. Esimerkkejä kiinteäfaasiuuton käytöstä arseenin spesiaatioanalytiikassa

Adsorbentti		Eluentit	Määritetyt spesiekit*	Näyte	Näytetilavuus	Määrittys- tekniikka	Toteamisraja	Viite
Kantaja- materiaali	Funktionaalinen ryhmä							
Ca-/Zr-ladattu kationinvaihtolevy		Ei eluointia	As(V)	Juomavesi	50 ml	XRF	0,6 – 0,8 µg/l	37
PTFE-suodatin			As(III)**					
SiO ₂	CTAB	1 M HNO ₃	As(III), As(V)	Luonnonvesi	3 ml	FI-ICP-OES	0,15 µg/l	39
TiO ₂	DMSA	0,5 M NaOH	As(III), As(V)	Luonnonvesi	8 ml (on-line)	FI-ICP-OES	0,49 – 0,53 µg/l	56
					40 ml (off-line)	ICP-OES	0,10-0,11 µg/l	
Styreeni- DVB-hartsi	Trimetyyliammonium-ryhmä	0,1 M HNO ₃	As(III)** , As(V)	Vesi	150 ml	GFAAS	0,0067 µg/l	41
DVB-hartsi	Kloori	2 M HNO ₃	As(III), As(V)	Luonnonvesi, juomavesi	20 ml	ICP-OES	0,1 µg/l	44
DVB	-	Vesi	Orgaaninen ja epäorgaaninen arseeni***	Riisi	20 ml	HG-AFS	0,05 µg/l	78

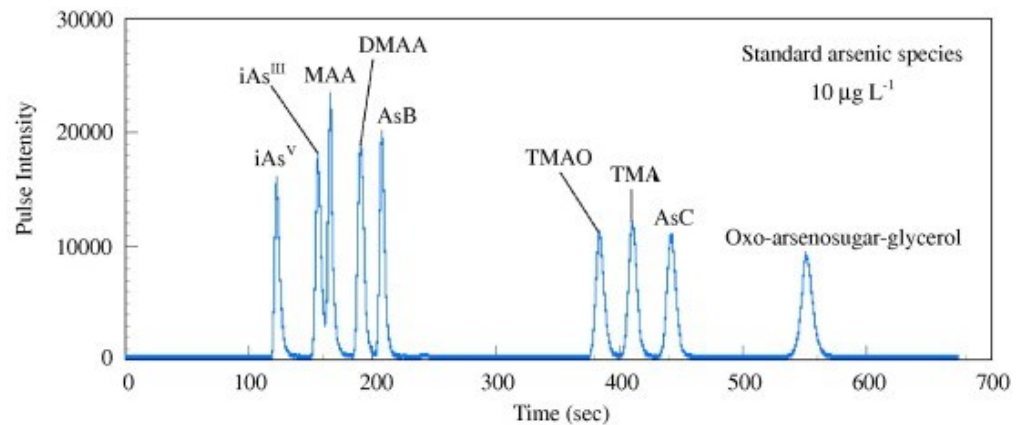
* Adsorboitu spesies lihavoituna, ** ammoniumpyrrolidiiniitiokarbamaatti(APDC)-kompleksointi, *** pelkistetty As(III):ksi,
 PTFE = polytetrafluoroetyleni, DVB = divinyylibentseeni, CTAB = setrimoniumbromidi, DMSA = suktimeeri, XRF = röntgenfluoresenssi,
 FI = flow injection, ICP-OES = induktiivisesti kytketty plasma optinen emissio-spektrometria, GFAAS = atomiadsorbtiiospektrometria,
 HG-AFS = hydridinmuodostus-atomi fluoresenssispektrometria

3.2. On-line-erotusmenetelmät

3.2.1. Nestekromatografia

Nestekromatografia on selkeästi yksi suosituimmista erotusmenetelmistä arseenin spesiaatioanalytiikassa etenkin orgaanisia arseeniyhdisteitä määritettäessä. Siinä aineiden erotus perustuu niiden vuorovaikutuksiin kahden eri faasin, nestemäisen liikkuvan faasin ja kiinteän stationäärifaasin, välillä. Yksi käytetyimmistä nestekromatografian muodoista on korkea painetta hyödyntävä HPLC (high-performance liquid chromatography, korkean erotuskyvyn nestekromatografia). HPLC:ssä yhdisteiden erotus perustuu tyypillisesti niiden erilaisiin vuorovaikutuksiin (ioniset, hydrofobiset tai dipoli-dipoli-vuorovaikutukset) stationäärifaasin kanssa. Poolisuuseroihin perustuvat normaalifaasi- ja käänteisfaasikromatografia lukeutuvat käytetyimpiin HPLC:n muotoihin. Esimerkiksi normaalifaasikromatografiassa poolisia vuorovaikutuksia suosivat aineet kulkevat kolonnissa hitaammin kuin stationäärifaasin kanssa heikommin vuorovaikuttavat poolittomat aineet, mikä mahdollistaa analyyttien erottumisen. Muita nestekromatografian muotoja ovat muun muassa geelisuodatus (size-exclusion chromatography), jossa erotus perustuu analysoitavien molekyylien kokoeroihin, ja ionikromatografia, jossa erotus perustuu analyyttien sähkövaraukseen. Ionikromatografiassa kolonneihin on kiinnitetty varauksellisia ryhmiä, joiden varauksen mukaan ne jaetaan anioninvaihtopylväisiin ja kationinvaihtopylväisiin. Kromatografisiin menetelmiin sisällytetään toisinaan myös kapillaarielektroforeesi, jossa varaukselliset yhdisteet erotetaan toisistaan sähkökentän avulla. Aikaa, joka kuluu analyytin kulkiessa kolonnin läpi, kutsutaan retentioajaksi. Spesiesten erottumista ja mittaustuloksia voidaan havainnollistaa kromatogrammilla, joka kuvaa mitatun vasteen suuruutta retentioajan funktiona. Analysoitavat spesiekit erottuvat toisistaan, jos niiden retentioajat eroavat toisistaan niin paljon, että kromatogrammin piikkien välillä ei ole peittämää. Kuvassa 7 on esimerkki kromatogrammista arseenispesiesten määrittämisessä.⁴⁰ Esimerkissä käytettiin

arseenispesiesten erotuksessa käänteisfaasikromatografiaa C₁₈-hiiliketjulla modifioidulla silikalla. Isokraattisessa erotuksessa käytettiin eluenttina natrium-1-butaanisulfonaatin, tetrametyyliammonium-hydroksidin, malonihapon ja metanolin vesiliousta. Mittausvasteena alla olevassa esimerkissä on ICP-MS-mittausten pulssi-intensiteetti.



Kuva 7. Kromatogrammi arseenispesiesten erotuksesta ja määrittämisestä ICP-MS-tekniikalla. MAA = monometyyliarsonihappo, DMAA = dimetyyliarsonihappo, AsB = arsenobetaini, TMAO = trimetyyliarsinioksidi, TMA = tetrametyyliarsonium-ioni ja AsC = arsenokoliini.*

Toisin kuin esimerkiksi kahteen sekoittumattomaan nestemäiseen faasiin perustuvalla neste-nesteuutolla, nestekromatografialla voidaan yhden ajon aikana erottaa toisistaan lukuisia eri arseenispesieksiä. Usean spesieksen erotus onnistuu periaatteessa myös kiinteäfaasiuutolla, mutta tällöin vaaditaan useita selektiivisiä eluointeja tai peräkkäisiä kiinteäfaasiuuttoja. Etuna nestekromatografiassa on myös sen nopeus. Sitä voidaan käyttää on-line-tyyppisesti yhdistettynä valittuun analyysitekniikkaan, mikä nopeuttaa merkittävästi spesiaatioanalyysin suoritusta. Itse erotusprosessi kestää tavallisesti 5 – 15 minuuttia.^{15,18,21,32,38}

Jos erotettavat yhdisteet eroavat poolisuudeltaan toisistaan, erotus onnistuu usein helposti normaali- tai käänteisfaasikromatografialla. Mikäli

* Kuva on lainattu Elsevier:n suostumuksella artikkelista Chemosphere, 75, Miyashita, S., Shimoya, M., Kamidate, Y., Kuroiwa, T., Shikino, O., Fujiwara, S., Francesconi, K.A., Kaise, T., "Rapid determination of arsenic species in freshwater organisms from the arsenic-rich Hayakawa River in Japan using HPLC-ICP-MS", 1067-1073, tekijänoikeus 2009.

analyytit ovat polaarisuudeltaan samankaltaisia, voi erotus kolonnikromatografialla tai HPLC:llä olla haastavampaa. Tärkein vaihe nestekromatografisen menetelmän valinnassa on käytettävän kolonnin ja liikkuvan faasin valinta, mikä vaatii usein esitutkimusta. Kromatografisen systeemin erotuskykyä voidaan arvioida esimerkiksi TLC:llä (ohutlevykromatografia).⁷⁹ Optimoitaessa käytettävää kromatografista menetelmää, voidaan analyyttien erottumiseen vaikuttaa muun muassa näytteen ja liikkuvan faasin virtausnopeutta säätämällä sekä liikkuvan faasin koostumusta, pH-arvoa ja pitoisuustasoa muuttamalla.

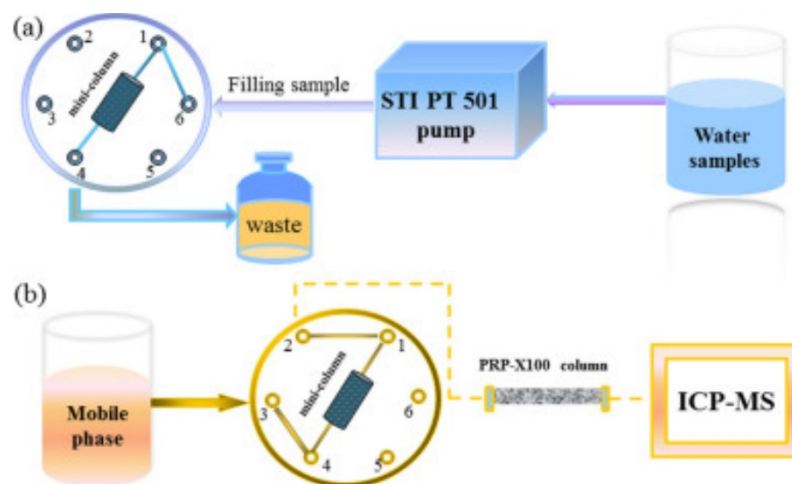
Ionikromatografiassa ioninvaihtokolonnien stationäärifaasina käytetään usein polymeerimateriaalia, johon on liitetty funktionaalisia ryhmiä. Ioninvaihtokolonneissa yleisesti käytettyjä polymeerimateriaaleja ovat etyyliivinylibentseenin ja divinyylibensteenin polymeerit sekä divinyylibensteenillä silloitettu polystyreeni (polystyreeni-divinyylibensteeni, PSDVB). Anioninvaihdossa polymeeri on funktionalisoitu tavallisimmin kvaternäärisellä ammonium-ryhmällä ja kationvaihdossa esimerkiksi sulfoni- tai karboksyylihapporyhmällä. Silika on edullisuudesta johtuen yksi yleisimmistä HPLC:n stationäärifaaseista. Muita yleisiä stationäärifaaseja ovat muun muassa alumiinioksidi ja PSDVB. Myös eri ryhmillä, kuten syanoryhmillä, fenyyli-ryhmillä ja hiiliketjuilla (yleisimmin C₁₈-ketjuilla), funktionalisoitua silikaa ja PSDVB:tä käytetään HPLC-kolonnien pakkausmateriaalina.⁵⁶ Tavallisimpien luonnossa esiintyvien arseeniyhdisteiden (arseniitti, arsenaatti, MMA ja DMA) kromatografisessa erotuksessa käytetään yleisimmin ioninvaihtajia, kuten ammonium-ryhmää^{15,18,32,38}. Myös esimerkiksi käänteisfaasikromatografiaa C₁₈-ryhmällä on käytetty¹⁷ orgaanisten arseeniyhdisteiden (muun muassa arseenihapot, arsenokoliini, arsenobetaiini, tetrametyyliarsonium-ioni ja trimetyyliarseenioksidi) määrittämiseen erityisesti biologisista näytteistä. Arseenispesieket esiintyvät eri muodoissa riippuen liuoksen happamuudesta (kuva 2). Käytettävän pH-alueen valinnalla voi siten olla oleellinen merkitys kromatografista erotusta, etenkin ionikromatografiaa, käytettäessä. Eri arseenispesiesten eluotumiseen voidaan vaikuttaa muuttamalla liikkuvan

faasin koostumusta tai pH-arvoa erotusprosessin aikana.^{15,21,32} Tätä periaatetta kutsutaan gradienttieluoinniksi tai gradienttiajoksi. Jos eluentin koostumus säilyy koko erotusprosessin ajan samana, on kyse isokraattisesta ajosta.

Nestekromatografisen erotuksen avulla voidaan erottaa näytteestä analyyttien lisäksi myös määritystä häiritseviä aineita. Jos jonkin analysoitavan arseenispesieksen määrityksessä esiintyy häiriö kromatografisen erotuksen jälkeen, voidaan tarvita muita keinoja häiriön poistamiseksi. Vergara Gallardo et al. havaitsivat, että jos kiinteitä näytteitä käsitellään ortofosforihappouutolla ennen HPLC:tä, 0,3 M suuremmat pitoisuudet huonontavat erotuksen resoluutiota ja voivat johtaa siihen, että spesiekit eivät erotu toisistaan.²¹ Stationäärifaasina kolonnissa käytettiin tertiäärisellä ammonium-ryhmällä funktionalisoitua polystyreeni-divinylibentseeniä. Ongelma voidaan ratkaista laimentamalla käsitellyt näyteliuoksia tai käyttämällä laimeampaa uutoreagenssia arseenin liuottamiseksi. Jos tutkittavissa näytteissä on suuri klooripitoisuus, kloridia ei välttämättä saada täysin erotettua metyyliarsonihaposta.¹⁵ Kloori voi mittausvaiheessa häiritä arseenin määritystä, jos määritystekniikkana käytetään kvadrupoli-ICP-MS-tekniikkaa, koska plasmassa muodostuva argonkloridi esiintyy samalla nominaalisella massaluvulla kuin arseeni. Myös muita erotusmenetelmiä, kuten adsorptiota SPE-adsorbenttiin, voidaan käyttää häiritsevien matriisikomponenttien poistoon. Esimerkiksi kloridin ja muiden halogeeni-ionien poistamiseen voidaan käyttää hopeakolonnia.³⁸ Puhdistus C₁₈-kolonnilla tai neste-nesteuutto soveltuvat puolestaan hyvin orgaanisten aineiden poistoon.³¹ Jos näytematriisi sisältää erotettavien spesiesten lisäksi suuria pitoisuuksia muita aineita, jotka adsorboituvat kromatografisen kolonnin stationäärifaasiin, voi kolonni ylikuormittua ja sen suorituskyky heikentyä. Tämä voi ilmetä piikkien leventymisenä kromatogrammissa. Piikkien leventyminen voi aiheuttaa huomattavan negatiivisen virheen, jos pitoisuuden määrittämiseen käytetään signaalien korkeutta. Ylikuormittumista voidaan ehkäistä laimentamalla näytteitä ennen

kromatografista erotusta.¹⁸ Pitää kuitenkin huomioida, että näytteiden laimentaminen nostaa menetelmän toteamisrajaa.

Ympäristönäytteistä määritettävät arseenipitoisuudet ovat usein hyvin pieniä, minkä takia näytteet voivat vaatia esikonsentroitua ennen spesiesten erotusta ja analysointia. Xiaoyu et al.³⁸ kehittivät menetelmän, jossa HPLC-järjestelmän näytteensyöttöön liitettiin SPE-kolonne näytteiden esikonsentroiduiksi ennen HPLC-prosessia. Menettelyn ensimmäisessä vaiheessa näyte pumpattiin SPE-kolonnein, joka oli pakattu fosfiini-modifioidulla polymeerimateriaalilla. Toisessa vaiheessa adsorboituneet arseenispesieket eluoiitiin ammoniumnitraatin ja ammoniumdivetyfosfaatin seoksella ja johdettiin HPLC-kolonnein. Kuvassa 8 on esitetty kaavakuva SPE-HPLC-ICP-MS-systeemistä. HPLC-systeemiin liitetty SPE-kolonne adsorboi hyvin As(V):a, As(III):a, MMA:ta ja DMA:ta ja kiinteäfaasiuutolla saavutetut rikastustekijät olivat 28-30. Taulukkoon 6 on koottu lisää esimerkkejä nestekromatografian käytöstä arseenin spesiaatioanalytiikassa.



Kuva 8. Kaavakuva Xiaoyun et al. kehittämästä SPE-HPLC-ICP-MS-systeemistä. (a) Näytteen pumppaaminen SPE-kolonnein. (b) SPE-kolonnin eluointi sekä arseenispesiesten erotus HPLC-kolonnissa ja määrittäminen ICP-MS-tekniikalla.*

* Kuva on lainattu artikkelista Talanta, 160, Xiaoyu, J., Dirong G., Jiani W., Fuyi H., Taicheng, D., Xian, Z., "Arsenic speciation in environmental waters by a new specific phosphine modified polymer microsphere preconcentration and HPLC-ICP-MS determination", 437-433, Elsevier:n suostumuksella. Tekijänoikeus 2016

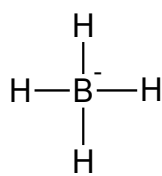
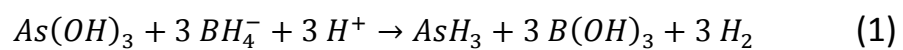
Taulukko 6. Esimerkkejä nestekromatografian käytöstä arseenin spesiaatioanalytiikassa

Liukuva faasi	Stationääri faasi		Erotettavat yhdisteet	Näyte	Erotuksen kesto	Toteamisraja	Määrittys- tekniikka	Viite
	Kantaja- materiaali	Funktionaalinen ryhmä						
0-50 mM NaOH*	EVB/DVB		As(V), As(III), MMA, DMA, AsB	Veden kiintoaines,	10 min	0,4-0,8 µg/l	ICP-MS	15
20 mM NH ₄ NO ₃ , 20 mM NH ₄ H ₂ PO ₄	PSDVB		As(III), As(V), MMA, DMA	Luonnonvesi	5 min	0,96-1,2 ng/l	ICP-MS	38
10-100 mM NaOH*	EVB/DVB	Kvaternäärinen ammonium-ryhmä	As(III), As(V), MMA, DMA	Saastunut maa ja	11 min	2,76-7,37 µg/l	HG-AFS	32
5-30 mM NH ₄ H ₂ PO ₄ *	PSDVB		As(III), As(V), MMA, DMA	Maa, sedimentti, jäteveden liete	12,8 min	0,05-0,07 µg/l	HG-AFS	21
10 mM natrium-1- butaanisulfonaatti, 4 mM tetrametyyli- ammoniumhydroksidi, 4 mM malonihappo, 0,5 % metanoli	PSDVB	C ₁₈	As(III), As(V), MMA, DMA, muita orgaanisia arseeniyhdisteitä	Luonnonvesi	10 min	0,25 µg/l (LOQ)	ICP-MS	40
5-100 mM fosfaattiliuos*	PSDVB	Kvaternäärinen ammonium-ryhmä	As(III), As(V), MMA, DMA, arsenosokereita	Kasvi	17 min	7-76 ng/l	HG-AFS	81
2,5 mM pyridiini	PSDVB	Sulfonaatti-ioni	As(V), As(III), AsB, TMAS, TMAO	Kasvi	14 min	33-67 ng/l	HG-AFS	

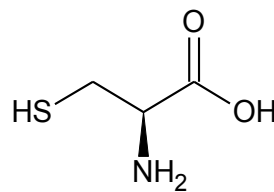
* Gradientteliuonti, EVB = etyylivinyylibentseeni, DVB = divinyylibentseeni, PSDVB = polystyreeni-divinyylibentseeni, MMA = monometyyliarsonihappo, DMA = dimetyyliarsonihappo, AsB = arsenobetaini, TMAS = tetrametyyliarsenium-ioni, TMAO = trimetyyliarsenioksiidi, LOQ = määrittysraja, ICP-OES = induktiivisesti kytketty plasma massaspektrometria HG-AFS = hydridimuodostus-atomifluoresenssispektrometria

3.2.2. Hydridinmuodostus

Hydridinmuodostusta (HG) käytetään yhdistettynä AAS-, GFAAS-, AFS-, OES- tai MS-spektrometriin hydridejä muodostavien alkuaineiden, kuten arseenin, antimonin, seleenin, telluriumin ja tinan, analytiikassa. Se on selektiivisyytensä ansiosta erinomainen tapa poistaa mahdollisia matriisihäiriöitä ennen mittauksia ja laskea menetelmän toteamisrajaa. Yleisimmin näytteen arseeni pelkistetään kaasumaiseksi arsiiniksi (AsH_3) tai sen metyylijohdannaisiksi käyttäen pelkistimenä tetrahydroboraattia (natriumborohydridin anioni, THB) (**17**). Reaktioyhtälössä (1) on esitetty As(III):n hydridinmuodostusreaktio käyttäen tetrahydroboraattia. Herkkyyden parantamiseksi arseeni esipelkistetään usein As(III):ksi ennen hydridinmuodostusta. Esipelkistimenä on käytetty muun muassa kaliumjodidia⁴², L-kysteiiniä⁸⁰ ja tinakloridia⁴². Esipelkistämällä käyttäen esimerkiksi L-kysteiiniä (**18**) voidaan lisäksi pienentää hydridinmuodostuksessa vaadittavaa happokonsentraatiota, mikä voi vuorostaan pienentää mahdollisia haposta aiheutuvia taustasignaaleja arseenia määritettäessä.



17



18

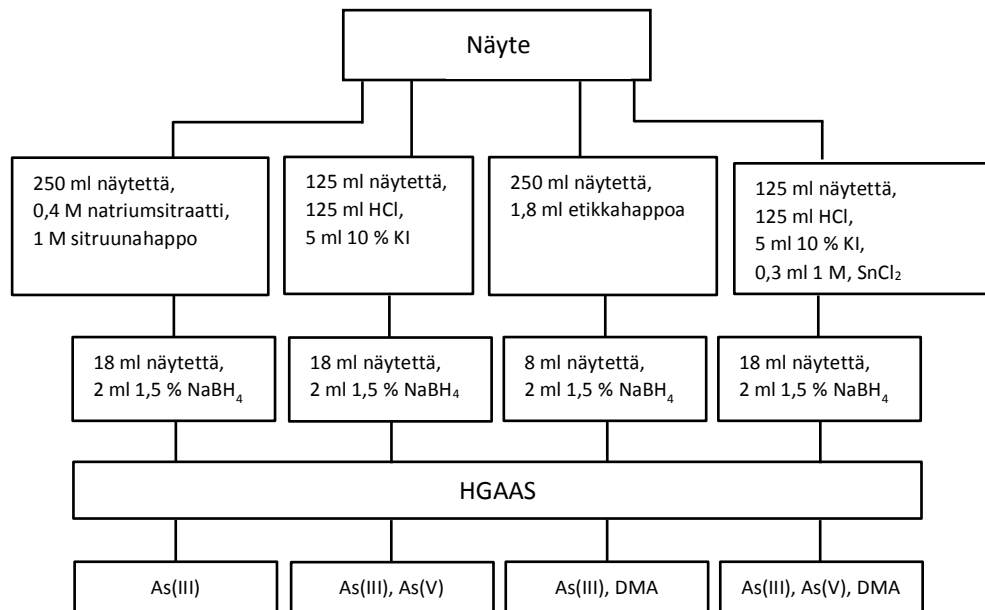
Arseenin spesiaatioanalytiikassa käytetään tavallisesti ennen hydridinmuodostusta erillistä erotusmenetelmää, kuten korkean erotuskyvyn nestekromatografiaa^{21,32}, kiinteäfaasiuuttoa⁵³, neste-nesteuuttoa⁵⁵ tai samepisteuuttoa⁵⁸. On myös kehitetty menetelmiä, jotka perustuvat selektiiviseen hydridinmuodostukseen tai hydridien vapauttamiseen. Braman ja Foreback kehittivät ja raportoivat vuonna 1973 ensimmäisen menetelmän, jossa arseenin spesiaatio määritettiin hydridinmuodostuksen avulla.⁸³ Menetelmässä muodostuneet hydridit kerättiin niin sanottuun nestetyypiloukkuun (cryogenic trapping, CT), josta ne vapautettiin tislauksmekanismilla lämpötilaa nostamalla. Ensin höyrystyy arsiini, jonka kiehumispiste on -55 °C , sitten metyyliarsiini 2 °C lämpötilassa ja viimeisenä dimetyyliarsiini 55 °C lämpötilassa. Sekä As(III) että As(V) höyrystyvät arsiinina (AsH_3), joten näiden spesiesten erottamiseen vaaditaan jokin muu erotusmenettely, ellei haluta määrittää vain epäorgaanisen arseenin kokonaispitoisuutta. Esimerkiksi Hasegawa et al. hyödynsivät As(III):n, As(V):n, MMA:n ja DMA:n määrittämisessä hydridinmuodostuksella nestetyypiloukun lisäksi neste-nesteuuttoa.¹⁹ Braman et al. kehittivät myös menetelmän, jossa As(III) määritettiin hydridinmuodostuksella selektiivisesti kaliumvetyftalaattiliuoksessa ja muut arseenispesieket (epäorgaaninen kokonaisarseeni, MMA ja DMA) nestetyypiloukkumenetelmällä oksaalihappoliuoksessa.⁸⁴ Shaikh ja Tallman määrittivät ensimmäisen kerran epäorgaanisen arseenin, MMA:n ja DMA:n käyttäen hydridinmuodostusta, nestetyypiloukkuja ja GFAAS-spektrometriaa⁸⁵, joka mahdollisti alhaisemmat toteamisrajat kuin muun muassa Bramanin ja Forebackin⁸³ käyttämä optinen emissiospektrometria.

Spesieskohtaiseen hydridinmuodostukseen voidaan vaikuttaa säätämällä pH-arvoa ja pelkistimen pitoisuutta.¹⁶ Hydridinmuodostusreaktio tetrahydroboraatin kanssa tapahtuu nopeiten, kun höyrystettävä arseenispesies on täysin protonoituneessa muodossa. Arseeni(V)happo on täysin

protonoitunut vain hyvin alhaisissa pH-arvoissa, kun taas As(III):n oksoioni on protonoituneessa muodossa jo neutraaleissa olosuhteissa (kuva 2). Selektiivinen hydridinmuodostus voidaan siten periaatteessa saavuttaa pH-säätelyllä käyttämällä As(III):n määrittämiseen neutraaleita tai lievästi happamia olosuhteita ja kokonaisarseenin määrittämiseen voimakkaasti happamia olosuhteita. Quinaia ja Rollemberg määrittivät luonnonvesinäytteistä As(III):n, As(V):n ja DMA:n pitoisuudet hyödyntämällä eri happoja, puskuriliuoksia ja esipelkistimiä.⁴² Kaavakuva Quinaian ja Rollembergin käyttämästä menetelmästä on esitetty kuvassa 9. Pelkän As(III):n määrittämiseksi käytettiin natriumsitraatti/sitruunahappopuskuria (pH 4,4), As(III):n ja As(V):n yhteiskonsentraation määrittämiseksi käytettiin suolahappoliuosta ja esipelkistystä kaliumjodidilla, As(III):n ja DMA:n määrittämiseksi käytettiin etikkahappoliuosta ja kokonaisarseenin (As(III), As(V) ja DMA) määrittämiseksi käytettiin suolahappoliuosta ja esipelkistystä kaliumjodidilla ja tinakloridilla. As(V):n ja DMA:n pitoisuudet voitiin määrittää laskemalla, kun tunnettiin näytteen As(III)-pitoisuus. Andersonin, Thompsonin ja Culbardin kehittämässä menetelmässä DMA määritettiin erikseen etikkahappoliuoksessa hapettamalla As(III) kaliumpermanganaatilla As(V):ksi ennen hydridinmuodostusta.⁸⁶

On myös havaittu, että As(III) voidaan määrittää selektiivisesti happamassa liuoksessa, jos THB-konsentraatio on pieni.^{48,87-90} Sopiva THB-konsentraatio on tällöin syytä selvittää huolella ennen analyysiä, koska liian pieni THB-konsentraatio voi johtaa liian huonoon herkkyYTEEN, kun taas liian suuri konsentraatio voi johtaa As(V)-häiriöön As(III):n määrittämisessä. Esimerkiksi Müller määrittäi selektiivisesti As(III)-pitoisuuden näytteessä käyttäen hydridinmuodostuksessa 13,2 mmol/l THB-konsentraatiota ja kokonaisarseenipitoisuuden käyttäen esipelkistystä L-kysteiinillä ja hydridinmuodostusta 158,4 mmol/l THB-konsentraatiolla.⁴⁸ As(V)-pitoisuus määritettiin tämän jälkeen laskennallisesti. Mikäli As(V):n

saanto hydridinmuodostuksessa on epätäydellinen, mutta toistettava, voidaan As(V):lle laskea myös saantokerroin, jota voidaan käyttää As(V)-häiriön korjaamisessa As(III)-pitoisuutta määrittettäessä.⁹¹



Kuva 9. Esimerkkimenetelmä arseenin spesiaation määrittämisestä selektiivisellä hydridinmuodostuksella.⁴² HGAAS = hydridinmuodostus-atomiadsorptiospektrometria, DMA = dimetyyliarsonihappo

Epäorgaanista arseenia määrittäessä metyloituneet arseenispesieket saattavat aiheuttaa häiriötä mitattaviin signaaleihin. Häiriötä voidaan ehkäistä sopivilla reagenssivalinnoilla, esimerkiksi perkloorihapon käytöllä²³, tai erottamalla häiritsevät spesieket ennen hydridinmuodostusta. Siirtymämetallit voivat häiritä hydridinmuodostusta muodostamalla saostumia tetrahydroboraatin kanssa.⁸² FI-tekniikan käyttö suosii kineettisesti hydridinmuodostusta ja vähentää siten saostumien muodostumista, joskin FI-tekniikan käyttö voi laskea menetelmän herkkyyttä.⁹²⁻⁹⁴ L-kysteiinin käytön on havaittu ehkäisevän tehokkaasti ainakin Fe(II):n, Ni(II):n, Co(II):n

Mn(II):n ja Cu(II):n aiheuttamia häiriöitä.^{80,95} Myös naamiointia tiourealla, 1,10-fenantroliinilla ja EDTA:lla on käytetty metallien aiheuttamien häiriöiden ehkäisyyn.^{86,96} Taulukossa 7 on esitetty esimerkkejä hydridinmuodostuksen käytöstä arseenin spesiaatioanalytiikassa.

Taulukko 7. Esimerkkejä hydridinmuodostuksen hyödyntäisestä arseenin spesiaatioanalytiikassa

Erotusmenetelmä	Määritettävät arseenispesiekit*	Reagenssit	Näyte	Toteamisraja	Määrittästekniikka	Viite
Selektiivinen hydridinmuodostus	As(III)	Natriumsitraatti, sitruunahappo, THB	Jokivesi	0,6 mg/l	HG-AAS	42
	As(III) + As(V)	Suolahappo, kaliumjodidi, THB		0,5 mg/l		
	As(III) + DMA	Etikkahappo, THB		1,1 mg/l		
	As(III) + As(V) + DMA	Suolahappo, kaliumjodidi, sinkkikloridi, THB		-		
Selektiivinen hydridinmuodostus	As(III)	13,2 mM THB	Standardiliuokset	1 µg/l***	HG-ICP-OES	48
	As(III) + As(V)	L-kysteini, HCl, 158,4 mM THB		1 µg/l		
Selektiivinen hydridinmuodostus	As(III)**	Suolahappo, THB	Lähdevesi	0,3 µg/l	HG-AAS	91
	As(III) + As(V)	Suolahappo, kaliumjodidi, THB				
	As(III) + As(V) + org. As	Natriumhydroksidi, kaliumpersulfaatti, suolahappo, kaliumjodidi, THB				
Selektiivinen hydridinmuodostus	As(III)	Sitruunahappo/natriumsitraatti (pH 6), tiourea, THB	Saastunut jokivesi	0,3-0,7 µg/l	HG-AAS	46, 86
	As(III) + As(V)	Suolahappo, kaliumjodidi, THB		0,2-0,6 µg/l		
	As(III) + DMA	Etikkahappo, tiourea, Na ₂ EDTA, THB		0,3-0,7 µg/l		
	As(III) + As(V) + DMA + MMA	merkaptotrikkahappo, tiourea, Na ₂ EDTA, 1,10-fenantroliini, THB		0,3-0,6 µg/l		
CT	As(III)	Kaliumvetyftalaatti, THB	Jokivesi	0,1-0,2 µg/l	HG-AAS	80
CT	As(III) + As(V), MMA, DMA	Oksaalihappo, THB		30-98 ng/l		
CT	As(III) + As(V), MMA, DMA, MEA	L-kysteini, HCl, THB	Järvi-, meri-, joki-, sade ja hanavesi	0,5-7,6 ng/l	HG-QFAAS	96
	As(III)	Suolahappo, Na ₂ EDTA, THB		1,5 ng/l		

* Selektiivisen hydridinmuodostuksen tapauksessa As(V):n ja DMA:n pitoisuudet määritettiin laskennallisesti vähentämällä As(III):n osuus tuloksista, ** Muodostunut As(V) huomioitiin korjauskertoimella, *** Pätee, kun näytteen arseenista vähintään 10 % esiintyy hapetusmuodossa As(III), CT = nestetyppiloukku, DMA = dimetyyliarsonihappo, MMA = monometyyliarsonihappo, MEA = monoetyyliarsonihappo, THB = tetrahydroboraatti, EDTA = etyleenidiamiinitetraetikkahappo, TRIS = Tris(hydroksimetyyli)amino-metaani, HG = hydridinmuodostus, AAS = atomiabsorptiospektrometria, ICP-OES = induktiivisesti kytketty plasma optinen emissiospektrometria, QFAAS = kvartsiuuniatomiabsorptiospektrometria

3.3. Arseenin yleisimmät määrittystekniikat

Yleisimpiä arseenin analytiikassa käytettyjä määrittystekniikoita ovat grafiittiuuniatomiabsorptiospektrometria (GFAAS) ja ICP-massaspektrometria (ICP-MS). GFAAS:n etuina ovat muun muassa korkea herkkyys ja vähäiset spektraaliset häiriöt. GFAAS-tekniikan näytekulutus on pieni, joten se on käyttökelpoinen myös näytemäärän ollessa rajallinen, esimerkiksi erilaisten mikrouuttojen tuotteiden analysoinnissa. Se on kuitenkin hidaskäyttöinen verrattuna esimerkiksi ICP-tekniikoihin. ICP-OES on suosittu valinta alkuaineanalytiikassa muun muassa nopeutensa, helppokäyttöisyytensä ja laajan lineaarisen määrittelyalueensa ansiosta. Se mahdollistaa myös useiden alkuaineiden samanaikaisen määrittelyn. Haittapuolena on sen alttius spektraalisille häiriöille sekä korkeammat toteamisrajat verrattuna GFAAS- ja ICP-MS -tekniikoihin. Arseni esiintyy esimerkiksi saastumattomissa luonnonnäytteissä usein pieninä hivenainetaso pitoisuuksina, joten tutkimuksen luonteesta riippuen määrittelyn herkkyys voi olla ratkaiseva tekijä analyysitekniikan valinnassa.

ICP-MS on herkin yleisesti käytetyistä määrittystekniikoista ja yleinen detektori HPLC-yhdistelmätekniikoissa. Myös ICP-MS-tekniikassa on haittapuolena spektraaliset häiriöt, joista merkittävimpiä arseenin analytiikassa ovat $^{150}\text{Sm}^{2+}$ -, $^{150}\text{Nd}^{2+}$ - ja $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^{+}$ -ionien aiheuttamat häiriöt. Jos spesiesten detektointiin käytetään ICP-MS-tekniikkaa ja näyte sisältää kloridia, näytteen kloridi voi reagoida plasmassa olevan argonin kanssa muodostaen ArCl^{+} -ioneita, jotka aiheuttavat spektraalisen peittämisen arseenin kanssa massa-varaussuhteella 75, joskin korkearesoluutiolaitteella ArCl^{+} - ja As^{+} -signaalit on mahdollista erottaa toisistaan. Lisäksi arseni on monoisotooppinen alkuaine, joten edellä mainittuja häiriötä ei voida välttää tekemällä mittauksia toisella isotoopilla. Kloridi voidaan saada erottumaan kromatografisesti arseenispeciesten erotuksen yhteydessä tai se voidaan poistaa näytteestä ennen arseenispeciesten erotusta ioninvaihdolla esimerkiksi hopeakolonnia käyttämällä.³⁸ Määritettäessä arseenispeiksiä ICP-MS-tekniikalla kannattaa välttää myös klooria sisältävien reagenssien, kuten suolahapon ja ammoniumkloridin, käyttämistä näytteiden esikäsitelyssä. Yksi vaihtoehto argonkloridihäiriön välttämiseksi on myös arseenin

hapettaminen ja määrittäminen AsO^+ -ionina.⁴⁰ ICP-MS-tekniikalla voidaan käyttää häiriöiden poistossa myös arseenisignaalin matemaattista korjausta ja moniatomisten molekyylien torjumista törmäyskaasulla.

Yksi ICP-tekniikoiden ongelmista on se, että erotusmenetelmissä käytetyt orgaaniset liuottimet voivat heikentää plasman stabiilisuutta, mikä voi johtaa herkkyuden vaihteluun mittauksissa tai plasman sammumiseen. Lisäksi orgaanisista molekyyleistä peräisin oleva hiili voi kertyä ICP-soihdun suulle ja heikentää soihdun toimintakykyä pitkällä aikavälillä. Esimerkiksi neste-nesteuuttoa tai samepisteuuttoa käytettäessä tämä ongelma voidaan ratkaista takaisinuuuttamalla erotettu arseenispesies vesiliuokseen.⁴³

Muita vähemmän käytettyjä arseenin analytiikkaan soveltuvia määrittästekniikoita ovat muun muassa helppokäyttöinen ja edullinen atomifluoresenssispektrometria (AFS), kiinteiden näytteiden tutkimisessa käytettävä röntgenfluoresenssispektrometria (XRF), ja sähkökemialliset määrittämenetelmät, jota käsitellään tarkemmin seuraavassa kappaleessa. Lisäksi As(V) muodostaa esimerkiksi molybdaatin kanssa värillisen kompleksin, mikä mahdollistaa myös spesiaation spektrofotometrisen määrittäksen.⁶¹

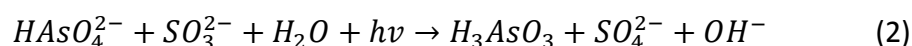
3.4. Sähkökemialliset menetelmät

Joillain sähkökemiallisilla menetelmillä on mahdollista määrittää haluttu arseenin hapetusmuoto tai oksoioni suoraan ilman varsinaista spesiesten erotusprosessia. Ainakin potentiometriaa^{1,42} ja voltammetrisiä menetelmiä^{36,51,99,100} on käytetty arseenispesiesten sähkökemiallisissa määrittäyksissä. Sähkökemiallisten menetelmien etuja ovat hyvä häiriönkestävyys ja herkkyys, laitetekniikan edullisuus ja yksinkertaisuus sekä kannettavien laitteiden kehitys, mikä mahdollistaa on-site-analyysit näytteenotto paikalla. Näytteet voivat toisaalta vaatia esikäsitelyä ennen määrittäystä, koska esimerkiksi vesinäytteen humusaineet, johon arseeni voi olla

sitoutunut, voivat häiritä mittausta. Sähkökemiallisiin tai sähköanalyttisiin määrittymenetelmiin lukeutuvat voltammetria, potentiometria ja kulometria, joista yleisimpiä ovat voltammetriset menetelmät, jossa mittausvasteena toimii virta.³⁴ Voltammetrisiä menetelmiä ovat esimerkiksi anodinen ja katodinen liuotusanalyysi, syklinen voltammetria, suora anodinen ja katodinen pyyhkäisyvoltammetria, neliöaaltovoltammetria, normaalipulssivoltammetria, differentiaalipulssivoltammetria ja vaihtovirtavoltammetria. Yksinkertaisin voltammetrian tyyppi on suora pyyhkäisyvoltammetria, jossa kennopotentiaalia nostetaan lineaarisesti ja virran arvo luetaan hapetus-pelkistysreaktion tapahtuessa analyyttille ominaisella potentiaaliarvolla. Yksi yleisimmistä voltammetrian muodoista arseenin analytiikassa on liuotusanalyysi. Se koostuu kahdesta vaiheesta: ensimmäinen vaihe on depositio, jossa ionimuodossa oleva määritettävä alkuaine pelkistetään työelektrodin pintaan, ja toinen vaihe on liuotus, jossa analyytti hapetetaan, jolloin hapettuneet ionit kulkeutuvat vastaelektrodille. Mittausten aikana säädetään elektrodien välistä jännitettä ja mittausvasteena toimii jälleen analyytti-ionien aiheuttama virta. Potentiometriassa vasteena on virran sijasta jännite, kun taas kulometriassa spesieksen konsentraatio määritetään siirtyneiden elektronien määrästä täydellisen hapetus-pelkistysreaktion aikana.

Sähkökemiallisisten mittausten kalibroinnissa käytetään usein lisäysmenetelmää, jolloin mahdolliset matriisivaikutukset huomioidaan tuloksissa. Kalibrointi standardilisäyksillä suoritetaan tällöin jokaiselle näytteelle erikseen, mistä johtuen lisäysmenetelmän haittapuolena on alhainen näytteiden läpisyöttö. Voltammetristä analyysimenetelmää optimoitaessa voidaan menetelmän suorituskykyyn vaikuttaa säätelemällä kennoliuoksen koostumusta, potentiaaliarvoja, mukaan lukien akkumulaatio-, alku-, vaimennus- ja liuotuspotentiaaleja, sekä potentiaalipyyhkäisyprofiilia ja nopeutta. Yleisemmin voltammetriassa ja potentiometriassa mitataan As(III):n pitoisuutta, jonka määrittämiskyky on parempi kuin As(V):llä, mutta myös As(V):n suoraa sähkökemiallista määrittämistä on tutkittu. Esimerkiksi Arkadani et al. määrittivät potentiometrisesti As(V):sta HAsO_4^{2-} -ionina käyttäen työelektrodina Fe^{2+} -modifioitua zeoliitti-hiielektrodia ja ulkoisena vertailuelektrodina kalomelielektrodia.¹

Voltammetriassa on käytetty työelektrodina muun muassa kullalla päällystettyä lasi- tai hiilikomposiittielektrodia. Myös kullan, platinan ja koboltin nanohiukkasilla modifioituja elektrodeja on käytetty As(III):n voltammetrisissä määrittämissä.⁹⁷⁻⁹⁹ Aiemmin mainittu kalomelielektrodi sisältää myrkyllistä elohopeaa ja elohopeakloridia, mistä johtuen sen käyttö vertailuelektrodina on viime aikoina vähentynyt. Nykyisin selkeästi yleisin vertailuelektrodi on Ag/AgCl-elektrodi.^{36,54} As(V)-pitoisuus lasketaan usein kokonaisarseenipitoisuudesta, joka saadaan pelkistämällä näytteen As(V) hapetusasteelle +III ennen As(III):n määrittämistä. Pelkistymistä voidaan edistää käyttämällä UV-avustusta tai katalyyttiä. Zakharova et al. hyödynsivät UV-säteilytystä arseenin pelkistämässä hapetusluvulta +V hapetusluvulle +III reaktioyhtälön (2) mukaisesti.⁵⁴ UV-säteilyn käyttö tehostaa lisäksi hapen poistoa kennoliuoksesta.



Sama tutkimusryhmä kehitti myös menetelmän, jossa käytettiin pelkistysreaktion katalyyttinä mangaania.⁵⁴ Reaktiossa Mn(II) pelkistyy kultamikroelektrodin pintaan Mn(0):ksi, joka toimii pelkistimenä As(V):lle. Menetelmällä voidaan määrittää As(V)-pitoisuus tekemällä näyteliuokseen mittausten aikana mangaanilisäys, jolloin mitattavan signaalin kasvu As(III):n aiheuttamaan vasteeseen nähden on verrannollinen As(V)-pitoisuuden kanssa. Kahdesta edellä mainitusta menetelmästä UV-avustettua pelkistystä hyödyntävä menetelmä on herkempi As(V):n suhteen ja sillä voidaan, toisin kuin Mn-katalysoitua pelkistystä käytettäessä, määrittää As(V)-pitoisuus myös As(III)-ylimäärässä. Mangaania sitovat aineet, kuten fosfaatit, voivat häiritä katalysoidun reaktion tapahtumista ja As(V):n määrittämistä, kun taas näyteliuoksen korkea nitraatti- tai nitriittipitoisuus voi häiritä valokatalyyttistä pelkistysreaktiota.

Dain ja Comptonin tutkimuksen mukaan differentiaalipulssivoltammetria, neliöaaltovoltammetria ja suora anodinen pyyhkäisyvoltammetria soveltuvat hyvin As(III):n määrittämiseen nano-Pt-

päällystetyllä lasimaisella hiilielektrodilla, mutta anodisen liuotusanalyysin käyttöä ei suositeltu kuparihäiriöistä johtuen.⁹⁹ Spektraalisen häiriön lisäksi kupari voi muodostaa arseenin kanssa Cu_3As_2 :a aiheuttaen ylimääräisen As(III)-signaalista poikkeavan huipun voltammogrammiin, kun työelektrodina käytetään kultaelektrodia. Henze, Wagner ja Sander raportoivat, että arseenipitoisuuteen nähden 20-kertainen kadmium-, antimoni- ja lyijypitoisuus sekä 100-kertainen sinkkipitoisuus aiheuttivat merkittävän häiriön arseenin määrittämisessä katodisella liuotusanalyysillä.⁵¹ Taulukkoon 8 on koottu esimerkkejä sähkökemiallisten määrittämenetelmien käytöstä arseenin spesiaatioanalytiikassa.

Taulukko 8. Sähkökemiallisten määrittämenetelmien käyttö arseenin spesiaatioanalytiikassa

Menetelmä	Määritettävä spesies	Työelektrodi	Vertailuelektrodi	Toteamisraja ($\mu\text{g/l}$)	Viite
Anodinen liuotusanalyysi	As(III)	Au-päällystetty lasielektrodi	Ag/AgCl-elektrodi	1,2 $\mu\text{g/l}$	36
Katodinen liuotusanalyysi	As(III)*	RETE	Ag/AgCl-elektrodi	0,52 $\mu\text{g/l}$	51
Anodinen liuotusanalyysi	As(III)	Au-päällystetty lasimainen hiilielektrodi	Ag/AgCl-elektrodi	0,19 $\mu\text{g/l}$	100
Suora anodinen pyyhkäisy-voltammetria	As(III)	Nano-Pt-päällystetty lasimainen hiilielektrodi	Kalomeli-elektrodi	2,1 $\mu\text{g/l}$	99
		Platina-elektrodi		35 $\mu\text{g/l}$	
Potentiometria	As(III)	Au-päällystetty hiilikomposiittielektrodi	Ag/AgCl-elektrodi	0,03 $\mu\text{g/l}$ **	1
				0,09 $\mu\text{g/l}$ (As(III)); 0,35 $\mu\text{g/l}$ (As(V))***	
Potentiometria	As(V)	Fe^{2+} -päällystetty zeoliitti-hiili-elektrodi	Kalomeli-elektrodi	0,03 $\mu\text{mol/l}$	42

*Kokonaisarseeni määritettiin As(V):na UV-käsittelyssä mannitolia sisältävässä lioksessa,
Kokonaisarseenin määrittäminen As(V):n fotokatalyyttisen pelkistyksen jälkeen, *As(V):n määrittäminen pelkistymistä katalysoivan Mn-lisäyksen jälkeen, RETE = riippuva elohopeatippaelektrodi

4. YHTEENVETO

Arseeni esiintyy luonnonvesissä ja maaperässä useina eri yhdisteinä, joista epäorgaaniset yhdisteet arseenin hapetusluvulla +III ovat yleisesti ottaen myrkyllisempiä kuin hapetusluvulla +V esiintyvät spesiekt. Orgaaniset arseeniyhdisteet ovat puolestaan huomattavasti vähemmän myrkyllisiä kuin epäorgaaniset yhdisteet. Tästä johtuen arseenin spesiaatiotutkimus tarjoaa paljon hyödyllisempää tietoa potentiaalisista ympäristö- ja terveysriskeistä kuin tieto arseenin kokonaispitoisuudesta. Usein spesiaatioanalytiikassakin keskitytään vain epäorgaanisten arseenispesiesten pitoisuuksien määrittämiseen. Suurimman altistumisriskin aiheuttavat saastuneet juomavedet. Arseeni kerääntyy veden välityksellä myös kasveihin ja eläimiin, kuten kaloihin, mutta arseenille altistuminen ruuan kautta ei silti yleensä aiheuta merkittävää terveysriskiä. Arseenin käyttö teollisuudessa on vähentynyt, kun tietoisuus sen terveyshaitoista on kasvanut. Kuitenkin esimerkiksi maatalous- tai kaivostoiminnan kautta saastuneissa maissa ja vesissä voi edelleen esiintyä korkeita pitoisuuksia arseenia.

Näytteiden käsittelyyn ennen spesiaation analyysiä liittyy monia haasteita. Kiinteiden näytteiden osalta arseenin muuttaminen liukoiseen muotoon on yksi analyysiketjun tärkeimmistä vaiheista. Monissa maa- ja mineraalinäytteissä valtaosa arseenista on sitoutunut näytematriisiin niin vahvasti, että sen mobilisoiminen vaatii voimakkaan käsittelyn, joskin usein arseenispesiaatiotutkimuksissa ollaan ympäristönäkökohdat huomioiden kiinnostuttu enemmän laimeammilla, luonnonolosuhteita vastaavilla käsittelyillä liukenevasta arseenista. Lisäksi voimakkaat käsittelyt, kuten monet happouutot, voivat muuttaa arseenin spesiaatiota näytteessä, mistä johtuen ne eivät sovellu käytettäväksi spesiaatioanalytiikassa. Koska arseeni esiintyy luonnossa yleensä hivenaine- ja ultrahivenainetason pitoisuuksina voi näytteen esikonsentroidi tai häiriöiden poisto olla tarpeellista ennen analyysiä. Riittävä määritysraja arseenille voi riippua tutkimuksen tavoitteista ja esimerkiksi alle 1 µg/l arseenipitoisuudet eivät ole toksikologisesti merkittäviä. Myös näytteiden säilytykseen on tärkeää kiinnittää huomiota, koska vääränlainen tai liian pitkäaikainen säilytys voi johtaa arseenin spesiaatiomuutoksiin. Spesiesten stabiilisuuteen vaikuttavat näytekohdaiset tekijät, kuten hapettavien ja pelkistävien yhdisteiden läsnäolo näytematriisissa ja näytteen mikrobitoiminta, sekä näytteen esikäsittelyyn ja säilytykseen liittyvät tekijät, kuten lämpötila, pH, kestäväointi ja muut reagenssilisäykset.

Erotusmenetelmät voidaan jakaa niin sanottuihin off-line- ja on-line-menetelmiin. Off-line-erotukset suoritetaan erikseen ennen analyysiä, kun taas on-line-menetelmät ovat liitettävissä suoraan analyysitekniikkaan. Neste-nesteuutto on yksi perinteisimmistä off-line-erotusmenetelmistä. Se on helppokäyttöinen menetelmä, mutta sen haittapuolena on korkeahko liuotinkulutus eikä se hitaudestaan johtuen ole ideaali menetelmä suurien näytesarjojen käsittelyssä. Neste-nesteuuton pohjalta on kehitetty monia mikrouuttomenetelmiä, kuten dispersiivinen neste-nestemikrouutto, onttokuitunestefaasimikrouutto, ultraääniavusteinen mikrouutto ja supramolekulaarista liuotinta hyödyntävä mikrouutto. Mikrouutot tarjoavat monia etuja perinteiseen neste-nesteuuttoon verrattuna, kuten pienemmän näyte- ja liuotinkulutuksen sekä tehokkaamman erotuksen perustuen esimerkiksi suurempaan reaktiiviseen pinta-alaan tai ultraääniavustukseen. Näistä syistä neste-nestemikrouutot ovat usein ympäristöystävällisempiä, edullisempia ja nopeampia vaihtoehtoja perinteiselle neste-nesteuutolle. Edellä mainitut ominaisuudet yhdistyvät myös neste-nesteuuttoa läheisesti muistuttavassa samepisteuutossa, jossa kohdeanalyytin erottamisessa käytetään misellejä. Neste-nesteuutoissa ja samepisteuutossa yksi arseenispesies kiinnitetään yleensä orgaanisiin ligandeihin, mikä mahdollistaa spesiesten erottamisen eri faaseihin.

Yksi hyvin yleinen offline-erotusmenetelmä arseenin spesiaatioanalytiikassa on kiinteäfaasiuutto, jonka lukuisiin etuihin lukeutuvat erotuksen nopeus ja helppokäyttöisyys. Kiinteäfaasiuutossa arseenispesiesten erottamiseen käytettävät adsorbenttikiekot ja -kolonnit ovat pienikokoisia, minkä ansiosta uuttovälineistön kuljettaminen on helppoa ja erotuksen voi suorittaa myös näytteenotto paikalla. Sopivilla adsorbenttimateriaali- ja liuotinvalinnoilla voidaan räätälöidä selektiivisiä kiinteäfaasiuuttomenetelmiä eri arseenispesiesten erotukseen ja myös useiden spesiesten erotus on mahdollista erottamalla spesiokset yksi kerrallaan peräkkäisissä uutoissa. Adsorbentteihin kiinnittyneet arseenispesiokset eluoidaan yleensä liuosfaasiin, mutta arseeni voidaan määrittää myös suoraan kiinteäfaasiuuttolevyistä käyttäen esimerkiksi XRF-tekniikkaa. Spesiosten erotusten lisäksi neste-nesteuutto, samepisteuutto ja kiinteäfaasiuutto soveltuvat hyvin myös arseenin esikonsentroimiseen ja häiriöiden poistoon näytteissä.

On-line-erotusmenetelmät yhdistävät erotus- ja analyysivaiheet, joten yksi on-line-menetelmien eduista on analyysiketjun nopeutuminen. Erityisesti nestekromatografiset menetelmät, kuten HPLC (high performance liquid chromatography), ovat suosittuja on-line-

menetelmiä arseenin spesiaatioanalytiikassa. Kuten kiinteäfaasiuuton tapauksessa, nestekromatografia on räätälöitävien kolonnimateriaalien ja liuotinvalintojen ansiosta monenlaiseen analyysikäyttöön mukautuva menetelmä. Nestekromatografian on mahdollista erottaa samanaikaisesti toisistaan useita eri orgaanisia ja epäorgaanisia arseenispesieksiä. Toinen mielenkiintoinen mutta vähemmän käytetty lähestymistapa arseenispesiesten on-line-erotukseen ovat hydridinmuodostukseen perustuvat menetelmät. Muodostuneet hydridit voidaan esimerkiksi kerätä nestetyypiloukkuun ja vapauttaa yksi arseenispesies kerralla lämpötilaa nostamalla. Toinen lähestymistapa on ohjata hydridinmuodostusta sopivia reagenssiliäyksiä käyttämällä ja olosuhteita säätelemällä siten, että vain haluttu arseenispesies höyrystyy.

Suosituimpia analyysitekniikoita arseenin analytiikassa ovat ICP-OES, ICP-MS ja GFAAS. Analyysitekniikan valinnassa huomioitavia tekijöitä ovat muun muassa laitetekniikan hinta, analyysin nopeus, häiriöalttius ja toteamisraja arseenille. Esimerkiksi ICP-MS-tekniikan etuina ovat erittäin suuri herkkyys ja alhaiset toteamisrajat, mutta spektraaliset häiriöt voivat aiheuttaa haasteita arseenin määrittämisessä. Muita yleisiä määrittästekniikoita ovat XRF, AFS ja HGAAS. Spesiaatioanalytiikan näkökulmasta mielenkiintoisia analyysitekniikoita ovat myös sähkökemialliset määrittäykset, kuten potentiometria ja voltammetria, joiden avulla voidaan määrittää näytteistä arseenin eri hapetusmuotoja suoraan ilman erotusmenetelmien käyttöä.

5. VIITTEET

1. Ardakani, M.M., Karimi, M.A., Mashhadizadeh, M.H., Pesteh, M., Azimi, M.S., Kazemian, H., *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **2007**, 87, 4, 285-294
2. Jaouen, G., Metzler-Nolte, N., *Medicinal Organometallic Chemistry*, **2010**, 32, 1-20
3. Nachman, K.E., Graham, J.P., Price, L.B., Silbergeld, E.K., *Environ. Health Perspect.*, **2005**, 113, 9
4. Water Sanitation Health, WHO, http://www.who.int/water_sanitation_health/dwg/chemicals/arsenic.pdf, Viitattu: 18.7.2018
5. National Primary Drinking Water Regulations, EPA, <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations>, Viitattu: 18.7.2018
6. Gil, R.A., Ferrúa, N., Salonia, J.A., Olsina, R.A., Martinez, L.D., *J. Hazard. Mater.*, **2007**, 104, 431-436
7. Rochette, E.A., Li, G.C. Li, Fendorf, S.E., *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, **1998**, 62, 1530-1537
8. Francesconi, K.A., Edmonds, J.S., *Adv. Inorg. Chem.*, **1997**, 44, 147-189
9. Chen, B., Lu, X., Shen, S., Arnold, L.L., Cohen, S.M., Le, X.C., *Chem. Res. Toxicol.*, **2013**, 26, 952-962
10. National Research Council, Subcommittee on Arsenic in Drinking Water, *Arsenic in Drinking Water*, **1999**
11. Kumar, A.R., Riyazuddin, P., *Trends Anal. Chem.*, **2010**, 29, 10, 1212-1223
12. Sadee, B., Foulkes, M.E., Hill, S.J., *J. Anal. At. Spectrom.*, **2015**, 102-118
13. García-Salgado, S., Quijano, M.Á., *Environ. Sci.: Processes and Impacts*, **2014**, 16, 3, 604-612
14. Morrison, G.M.P., Bately, G.E., Florence T.M., *Chem. Br.*, **1989** 25, 791-796
15. Vassileva, E., Becker, A., Broekaert, J. A. C., *Anal. Chim. Acta*, **2001**, 441, 135-146
16. Kumar, A., Riyazuddin, P., *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **2007**, 87, 7, 469-500
17. Pergantis, S. A., Winnik, W., Betowski, D., *J. Anal. At. Spectrom.*, **1997**, 12, 531-536
18. Larsen, E. H., Pritzl, G., Jansen, S. H., *J. Anal. At. Spectrom.*, **1993**, 8, 1075-1084
19. Hasegawa, H., Sohrin, Y., Matsui, M., Hojo, M., Kawashima, M., *Anal. Chem.*, **1994**, 66, 3247-3252
20. VTT, Kuusela-Lahtinen, A., Tarvainen, T., Backman, B., Hänninen, P., Reinikainen, J., Niskala, K., *Metalleilla pilaantuneiden maa-ainesten liukoisuusselvitykset*, <https://www.vtt.fi/inf/julkaisut/muut/2012/VTT-R-06935-12.pdf>, Viitattu: 25.8.2018
21. Vergara Gallardo, M., Bohari, Y., Astruc, A., Potin-Gautier, M., Astruc, M., *Anal. Chim. Acta*, **2001**, 441, 257-268
22. Nysten, T., *Maaperän puskurikapasiteetti ja sen riippuvuus geologisista tekijöistä Suomessa*, Pro gradu tutkielma, Turun yliopisto, Geologian laitos, **1988**
23. Shraim, A., Chiswell, B., Olszowy, H., *Analyst*, **2000**, 125, 949
24. Petrucci, R.H., Harwood, W.S., Herring, F.G., Madura, J.D., *General Chemistry, Principles and Modern Applications*, **2007**, 9, A25
25. Ahrens, W.H., *Herbicide Handbook of the Weed Science Society of America*, 7, Champaign, IL: Weed Science Society of America, **1994**, 210
26. Lide, D.R., *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 76, Boca Raton, FL: CRC Press Inc., **1995-1996**, 8-45

27. Tang, A.N., Ding, G.S., Yan, X.P., *Talanta*, **2005**, 67, 942-946
28. Kashanaki, R., Ebrahimzadeh, H., Moradi M., *Anal Methods*, **2017**, 9, 3121-3127
29. Vela N.P., Heitkemper D.T., Stewart K.R., *Analyst*, **2001**, 126, 1011-1017
30. Pyles, R.A., Woolson, E.A., *J. Agric. Food Chem.*, **1982**, 30, 866-870
31. Benramdane, L., Bressolle, F., Vallon, J.J., *J. Chromatogr. Sci.*, **1999**, 37, 330-344
32. Yuan, C.G., He, B., Gao, E.L., Lü, J.X., Jiang G.B., *Microchim Acta*, **2007**, 159, 175–182
33. Bissen, M., Frimmel, F. H., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **2000**, 367, 51-55
34. Rivas, R., Lopez-Garcia, I., Hernandez-Cordoba, M., *Spectrochim. Acta, Part B*, **2009**, 64, 4, 329-333
35. Shemirani, F., Baghdadi, M., Ramezani, M., *Talanta*, **2005**, 65, 4, 882-887
36. Rasul, S.B., Munir, A.K.M, Hossain, Z.A., Khan, A.H., Alauddin, M., Hussam, A., *Talanta*, **2002**, 58, 33-43
37. Hagiwara, K., Inui, T., Koike, Y., Aizawa, M., Nakamura, T., *Talanta*, **2015**, 134, 739-744
38. Xiaoyu, J., Dirong G., Jiani W., Fuyi H., Taicheng D., Xian, Z., *Talanta*, **2016**, 160, 437-443
39. Xiong, C., He, M., Hu, B., *Talanta*, **2008**, 76, 772-779
40. Miyashita, S., Shimoya, M., Kamidate, Y., Kuroiwa, T., Shikino, O., Fujiwara, S., Francesconi, K.A., Kaise, T., *Chemosphere*, **2009**, 75, 1067-1073
41. Anezaki, K., Nukatsuka, I., Ohzeki, K., *Anal. Sci.*, **1999**, 15, 829
42. Quinaia, S.P., Rollemberg, M.C.E., *J. Braz. Chem. Soc.*, **2001**, 12, 37
43. Wen, S., Zhu, X., *Talanta*, **2018**, 181, 265-270
44. Jitmanee, K., Oshima, M., Motomizu, S., *Talanta*, **2005**, 66, 3, 529-533
45. Hall, G.E.M., Pelchat, J.C., Gauthier, G., *J. Analytical Atomic Spectrometry*, **1999**, 14, 205-213
46. Anderson, R.K., Thompson, M., Culbard, E., *Analyst*, **1986**, 111, 1153-1158
47. Turner, R., *Environ. Sci. Technol.*, **1981**, 15, 1062-1066
48. Cherry, J.A. Shaikh, A.U., Tallman D.E., Nicholson, R.V., *J. Hydrol.*, **1979**, 43, 373-392
49. Borho M., Wilderer P., *J Water SRT – Aqua*, **1997**, 46, 3, 138–143
50. Stummeyer, J., Harazin, B., Wippermann, T. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1996**, 354, 344
51. Henze, G., Wagner, W., Sander, S., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1997**, 358, 741-744
52. Gallagher, P.A., Schwegel, C.A., Parks, A., Gamble, B.M., Wymer, L., Creed, J.T., *Environ. Sci. Technol.*, 2004, 38, 2919-292
53. Yalcin, S., Le, X. C., *J. Environ. Monit.*, **2001**, 3, 81-85
54. E. A. Zakharova, E.A., Antonova, S.G., Noskova, G.N., Skvortsova, N., Te, A.V., *J. Anal. Chem.*, **2016**, 71, 8, 823–833
55. Dapaah, A. R. K., Ayame, A., *Anal. Sci.*, **1997**, 13, 405-409
56. Huang, C.Z., Hu, B., Jiang, Z.C., *Spectrochim. Acta*, **2007**, 62B, 454-460
57. Murata, R., Shimizu, T., Uehara, N., *Bunseki Kagaku*, **2005**, 53, 9, 831-836
58. Ulusoy, H.İ., Akçay, M., Ulusoy, S., Gürkan, R., *Anal. Chim. Acta*, **2011**, 703, 137-144
59. Zhang, L., Morita, Y., Sakuragawa, A., Isozaki, A., *Talanta*, **2007**, 72, 723-729
60. Zounr, R.A., Tuzen, M., Khuhawar, M., *J. Mol. Liq.*, **2017**, 242, 1, 441-446
61. Kumar, K.S., Pandurangappa, M., *Sci. World J.*, **2012**, 837672
62. Crawford Scientific, *Sample Preparation, Liquid/Liquid Extraction Techniques*, http://www.chromacademy.com/lms/sco59/sample_preparation_liquid-liquid_extraction_techniques.pdf, Viitattu: 15.2.2018
63. Ghambarian, M., Khalili-Zanjani, M.R., Yamini, Y., Esrafil, A., Yazdanfar, N., *Talanta*, **2010**, 81, 197–201
64. Pena-Pereira, F., Lavilla, I., Bendicho, C., *Spectrochim. Acta Part B*, **2009**, 64, 1-15

65. Maya, F., Horstkotte, B., Estela J.M., Cerdà, V., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2012**, 404, 909-917
66. Horstkotte, B., Fikarová, K., Cocovi-Solberg, D.J., Sklenářová, H., Solich, P., Miró, M., *Talanta*, 2017, 173, 79-83
67. González, A., Avivar, J., Cerdà, V., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2015**, 407, 2013-2022
68. Wang, X., Xu, G., Chen, P., Sun, Y., Yao, X., Lv, Y., Guo, W., Wang, G., *RCS Adv.*, **2018**, 8, 16858-16865
69. Schick, M.J., *J. Colloid Sci.*, **1962**, 17, 801-813
70. Hey, M.J., Ilett, S.M., Davidson, G., *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **1995**, 91, 3897-3900
71. Gürkan R., Kir, U., Altunay, N., *Food Chem.*, **2015**, 180, 32-41
72. Ojeda, C.B., Rojas, F.S., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2009**, 394, 759-782
73. Tang, X., Zhu, D., Huai, W., Zhang, W., Fu, C., Xie, X., Quan, S., Fan, H., *Sep. Purif. Technol.*, **2017**, 175, 266-273
74. L. Chen, Z. Lei, S. Yang, X. Wen, *Microchem. J.*, **2017**, 130, 452-457
75. Brahman, K.D., Kazi, T.G., Afridi, H.I., Naseem, S., Arain, S.S., Wadhwa, S.K., Shah, F., *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **2013**, 89, 95-107
76. Balaji, T., Yokoyama, T., Matsunaga, H., *Chemosphere*, **2005**, 59, 1169-1174
77. Jay, J.A., Blute, N.K., Hemond, H.F., Durant, J.L., *Water Res.*, **2004**, 38, 1155-1158
78. Y. Huang, J. Shan, B. Fan, Y. He, S. Xia, Y. Sun, J. Lu, M. Wang and F. Wang, *Anal. Methods*, **2015**, 7, 8896-8900
79. Wiley-VHC, Miller, S., 2012, Tips and Tricks for the Lab: Column Choices, DOI: 10.1002/chemv.201200074, Viitattu: 8.1.2018
80. Howard, A.G., Salou, C., *Anal. Chim. Acta*, **1996**, 333, 89-96
81. García-Salgado, S., Quijano, M.Á., Bonilla, M., *Anal. Chim. Acta*, **2012**, 714, 38-46
82. Welz, B., Schubert-Jacobs, M., *J. Anal. At. Spectrom.*, **1986**, 1, 23-27
83. Braman, R.S., Foreback, C.C., *Science*, **1973**, 182, 1247
84. Braman, R. S., Johnson, D. L., Foreback, C. C., Ammons, J. M., Bricker, J.L., *Anal. Chem.*, **1977**, 49, 621-625
85. A.U. Shaikh, D.E. Tallman. *Anal. Chim. Acta*, 1978, 98, 251
86. Anderson, R.K., Thompson, M., Culbard, E., *Analyst*, **1986**, 111, 1143-1152
87. Sigrist, M.E., Beldomenico, H.R., *Spectrochim. Acta B*, **2004**, 59, 1041
88. Borho, M., Wilderer, P., *J. Wat. Suppl. Res. Technol. Aqua*, **1997**, 46, 138
89. Narsito, A.J., Agterdenbos, J., *Anal. Chim. Acta*, **1987**, 197, 315
90. Muller J., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1999**, 363, 572
91. Yano, Y., Miyama, T., Ho, A., Yasuda T., *Anal. Sci.*, **2000**, 16, 939-943
92. Welz, B., Sucmanova, M., *Analyst*, **1993**, 118, 1417-1423
93. Yamamoto, M., Yasuda, M., Yamamoto, Y., *Anal. Chem.*, 1985, 57, 1382-1385
94. Welz, B., Sucmanova, M., *Analyst*, **1993**, 118, 1425-1432
95. Hung, D.Q., Nekrassova, O., Compton, R., *Talanta*, **2004**, 64, 2, 269-277
96. Van Cleuvenbergen, R.J.A., Van Mol, W.E., Adams, F.C., *J. Anal. At. Spectrom.*, **1988**, 3, 169-176
97. Salimi A., Mamkhezri H., Hallaj R., Soltanian S., *Sens. Actuators B*, **2008**, 129, 246 -254
98. Rastogi, P.K., Yadav D.K., Pandey S., Ganesan V., Sonkar P.K., Gupta, R., *J. Chem. Sci.*, **2016**, 128, 3, 349-356
99. Dai, X., Compton, R.G., *Analyst*, **2006**, 131, 516-521
100. Sun, Y-C., Mierzwa, J., Yang, M-H., *Talanta*, **1997**, 44, 1379-1387