



# **Seleenin spesiaatioanalytiikka jätevesinäytteistä HPLC-ICP-MS-tekniikalla**

Ida Korkea-aho  
Kandidaatintutkielma  
Kemian tutkinto-ohjelma  
Oulun yliopisto  
2022

# SISÄLLYSLUETTELO

1. JOHDANTO .....	1
2. SELEENI .....	2
2.1. Yleistä seleenistä.....	2
2.2. Spesiaatio .....	3
3. HPLC.....	6
4. ICP-MS .....	8
4.1. ICP (Inductively coupled plasma – induktiivisesti kytketty plasma).....	8
4.1.1. Näytteen syöttö.....	9
4.1.2. Plasmayksikkö .....	9
4.2. Massaspektrometri .....	10
4.2.1. Detektori.....	10
4.3. Häiriötekijät.....	11
5. SPESIAATIOANALYTIikka .....	12
5.1. Näytteen käsittely.....	12
5.2. Analytiikka.....	15
5.3. Häiriöt ja niiden minimointi.....	18
6. YHTEENVETO .....	20
7. KIRJALLISUUSVIITTEET .....	21

# 1. JOHDANTO

Seleenin on tärkeä alkuaine kaikille elämänmuodoille. Sitä löytyy luonnollisesti maankuoresta ja vulkaanisten tapahtumien, eroosion sekä esimerkiksi kaivosteollisuuden kautta alkuaineseleenin ja seleeniyhdisteet ovat päässeet leviämään muun muassa vesistöihin ja ilmakehään. Seleenin on suurissa määrin saastuttava aine, joka aiheuttaa ympäristö- ja terveyshuolia. Seleenin on ihmisille välttämätön hivenaine, mutta liiallisen seleenin terveysvaikutukset voivat olla hengenvaarallisia. Seleenin käytetään runsaasti elektroniikassa, lasiteollisuudessa ja maataloudessa. Kiinnostus seleenin spesiaatioanalytiikkaa kohtaan on kasvanut viimeisen parin vuosikymmenen aikana ja erityistä kiinnostusta on herättänyt spesiaatioanalytiikka, kun käytetään kromatografista erotusta yhdistettynä induktiivisesti kytketty plasma massaspektrometriaan (ICP-MS).<sup>1-3</sup>

Korkean erotuskyvyn nestekromatografiaa (high performance liquid chromatography, HPLC) käytetään liuosnäytteen aineiden erotteluun. Tarkoituksena on erottaa aineet toisistaan liikkuvan faasin eli eluenttivirtauksen ja stationäärifaasin komponenttien vuorovaikutusten avulla. Erotetut komponentit siirretään detektorille, eli ICP-MS-laitteelle, jossa lopullinen analysointi tapahtuu.<sup>4</sup>

Induktiivisesti kytketty plasma massaspektrometri (inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS) on suosittu analyysitekniikka. ICP-MS-laitetta käytetään usein liuosmuodossa olevien näytteiden analysointiin. Näyte muutetaan aerosoliksi ja korkean lämpötilan plasmapurkausta käytetään positiivisten ionien tuottamiseen, jotka siirretään massaspektrometrille, joka vuorostaan analysoi ja erottelee aineet niiden massa-vaussuhteiden perusteella.<sup>5</sup>

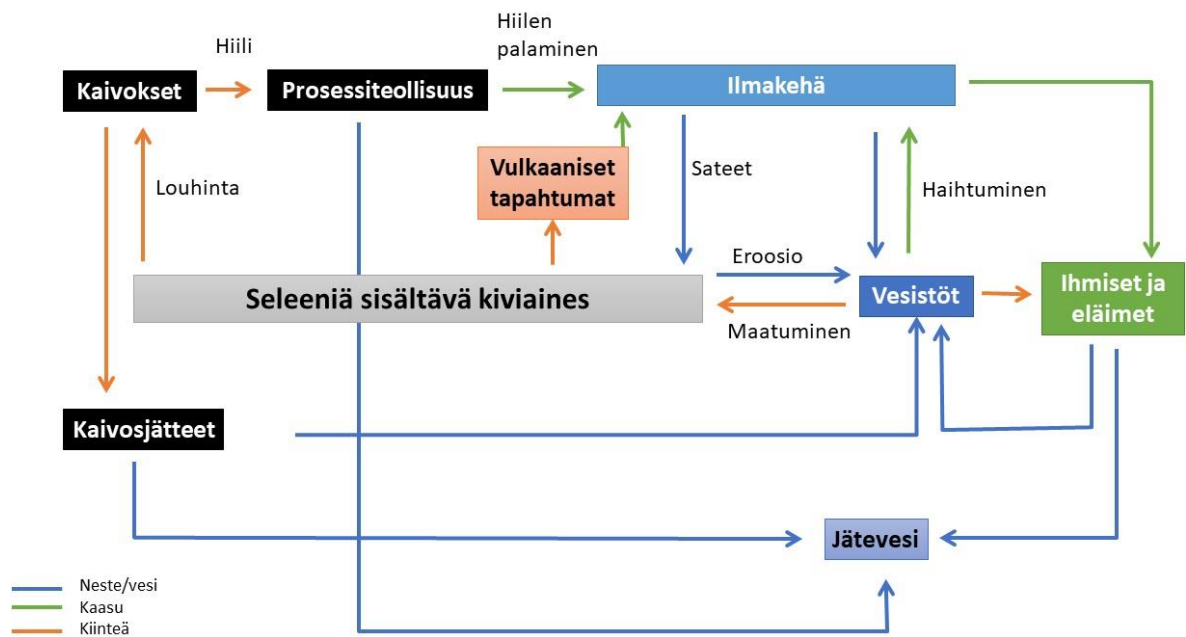
Tässä tutkielmassa tarkoituksena on tutkia jätevesissä olevaa seleeniä ja sen johdannaisia HPLC-ICP-MS-tekniikalla. Lisäksi tutkielmassa käsitellään seleenin kiertokulkua, käyttöä ja terveysvaikutuksia, sekä seleenin spesiaatiota, kuten hapetuslukuja ja isotooppeja. Lisäksi perehdytään HPLC- ja ICP-MS-tekniikoiden teoriaan ja ICP-MS-tekniikkaan liittyviin häiriöihin.

## 2. SELEENI

Seleenin on tärkeä alkuaine niin ihmisille kuin eläimille ja kasveillekin. Seleni on yleisesti luonnosta löytyvä alkuaine ja sitä löytyykin esimerkiksi maankuoresta runsaasti. Seleniä vapautuu ilmakehään ja leviää muualle ympäristöön vulkaanisten kaasujen avulla. Seleni ja sen johdannaiset toimivat kuitenkin myös saastuttajina ja niistä onkin muodostunut merkittävä ympäristö- ja terveyshuoli.<sup>1,6</sup>

### 2.1. Yleistä seleenistä

Seleenin on puolimetalli ja se kuuluu jaksollisessa järjestelmässä ryhmään 16 eli happiryhmään. Se on jaksollisen järjestelmän 34. alkuaine ja sen keskimääräinen atomimassa on 78,96 amu. Selenillä on sekä metallin, että epämetallin ominaisuuksia, ja se luonnehditaan metalloidiksi. Se esiintyy luonnossa alkuainemuodossa ( $\text{Se}^0$ ), selenideinä ( $\text{Se}^{2-}$ ), selenaatteina ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ) ja seleniitteinä ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ).<sup>2,6</sup>



Kuva 1. Selenin kiertokulku<sup>1,6</sup>

Seleenä löytyy maankuoresta, josta sitä vapautuu monien prosessien seurauksena ympäristöön. Sitä vapautuu ympäristöön myös luonnostaan eroosion ja vulkaanisten tapahtumien kautta. Mekaanisesti sitä vapautuu luontoon kaivosteollisuuden kautta. Selenin kiertokulkua on kuvattu kuvassa 1. Seleni rikastuu helposti ravintoketjussa, jonka

vuoksi se on haitallinen useille eläimille ja eliöille ja näin ollen luokitellaankin ympäristöhaitaksi. Jätevesiin sitä kulkeutuu muun muassa kotitalouksista, maataloudesta ja teollisuudesta. Seleenin pitoisuus jätevesissä voi olla kymmeniä tuhansia mikrogrammoja litraa kohden. Jätevesissä seleeni esiintyy niin alkuaine-, kuin yhdistemuodossa. Seleenipitoisuudet on ilmoitettu pinta- ja pohjavesille olevan noin 0,06–400 µg/l.<sup>7</sup> Juomavesille suurin sallittu seleenipitoisuus on noin 10 µg/l.<sup>8,1,2</sup>

Seleenä käytetään laajasti teollisuudessa. Elektroniikassa sitä käytetään valokennoissa, valomittareissa, tasasuuntaajissa, sekä elektrofotografiakopiokoneissa. Lisäksi seleeninanopartikkeleiden on huomattu olevan hyvä materiaali esimerkiksi polttokennoille, katalysaattoreille, valodiodeille ja jopa syöpälääkkeille. Lasiteollisuudessa sitä käytetään vihertävän värin poistamiseen ja rubiinipunaisen värin luomiseen. Maataloudessa seleeniä käytetään laajalti lannoitteena.<sup>2,9</sup>

Seleenin päivittäinen tarve on noin 1 µg/kg, ja yleinen suositus seleenin tarpeelle naisilla on noin 50 µg ja miehillä noin 60 µg. Ruoka-aineita, joilla on korkea seleenipitoisuus, ovat muun muassa nokkonen, parapähkinä, munuainen ja kananmuna. Seleeni toimii ihmiskehossa antioksidanttina ja suojaa vapaiden radikaalien haittavaikutuksilta, ja näin ollen sen riittävä saanti voi vähentää syövän riskiä. Seleenin puutos vaikuttaa haitallisesti kilpirauhasen, sydän- ja verisuonijärjestelmän, sekä hermoston toimintaan. Puutoksesta johtuvia tauteja ja terveysongelmia ovat muun muassa sydäninfarkti, nivelten ruston rappeutuminen, masennus ja ahdistuneisuus. Lisäksi seleenin puutoksesta kärsivillä henkilöillä on suurentunut riski sairastua Alzheimerin tautiin. Seleenin liiallisen päiväsaannin raja on 500 µg. Liika seleeni alkaa vaikuttaa kehon rikkiaineenvaihduntaan ja syrjäyttää rikin aminohapoissa, sekä se voi pitkällä aikavälillä aiheuttaa hiustenlähtöä, sekä kynsi- ja ihovaurioita. Seleeni on korkeina pitoisuuksina myös karsinogeeni ja voi ajan myötä aiheuttaa syövän muodostumisen. Seleenimyrkytys aiheuttaa rytmihäiriöitä, alhaista verenpainetta, vapinaa ja lihasten supistumista.<sup>2,6,10</sup>

## 2.2. Spesiaatio

Seleenä esiintyy luonnossa neljällä eri hapetusasteella -II, 0, +IV ja +VI. Alkuainemuodossa olevaa seleeniä voidaan hapettaa +IV ja +VI muotoon. Dioksideissa (SeO<sub>2</sub>), seleenihapossa (H<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>) ja seleniittisuoloissa (SeO<sub>3</sub><sup>-2</sup>) seleeni esiintyy hapetusasteella +IV. Seleenä

sisältävät dioksidit syntyvät seleenin palamisessa tai seleenin hapettamisen yhteydessä. Seleenihappo, joka on vahva happo, muodostuu, kun seleeniä hapetetaan voimakkaalla hapettimella veden läsnä ollessa. Seleeniittisuolat ovat hyvin liukoisia, ja ne liukenevat hyvin niin emäksisiin, kuin hieman happamiinkin liuoksiin. Seleenin reagoi halogeenien kanssa, se muodostaa halideja, joissa seleeni voi esiintyä +IV tai +VI muodoissa. Seleeniä sisältäviä halideja ovat esimerkiksi  $\text{SeF}_6$ ,  $\text{SeCl}_4$  ja  $\text{SeBr}_4$ . Seleenin ollessa -II tilassa se esiintyy selenidinä. Vetyseleeniä ( $\text{H}_2\text{Se}$ ) muodostuu metalliselenidien hydrolyysin aikana, ja se on väritön ja hyvin myrkyllinen kaasu, joka kuitenkin hajoaa nopeasti, kun se pääsee kosketuksiin ilman kanssa. Muita seleeniä sisältäviä yhdisteitä ovat esimerkiksi erilaiset organoseleeniyhdisteet, joita ovat esimerkiksi selenoaminohapot kuten selenokysteini ja selenometioniini. Seleenille on ominaista, että se pystyy siirtymään hapetustilasta toiseen. Tähän vaikuttaa useat tekijät, kuten pH, kosteus, redox-potentiaali ja vapaan hapen pitoisuus. Alemmat hapetusasteet vaativat itselleen hapanta ja anaerobista ympäristöä ja korkeammat hapetusasteet emäksistä ja aerobista ympäristöä.<sup>2,6</sup>

Seleenillä on viisi allotrooppista muotoa, joista kolme on kiteisiä ja kaksi amorfisia. Kaksi kiteistä seleenin allotrooppia ovat monokliinisiä ja ne muodostuvat  $\text{Se}_8$ -renkaista. Näitä kahta allotrooppia kutsutaan punaiseksi seleeniksi. Kolmas kiteinen seleenin allotrooppi on heksagonaalinen. Se on stabiilein seleenin allotroopeista ja se on väriltään harmaata. Amorfiset seleenin allotroopit muodostuvat, kun sula ketjumainen seleeni jäähtyy äkillisesti. Amorfiset seleenin muodot ovat lasimaisia ja ne ovat väriltään yleensä harmaita tai mustia.<sup>2,6</sup>

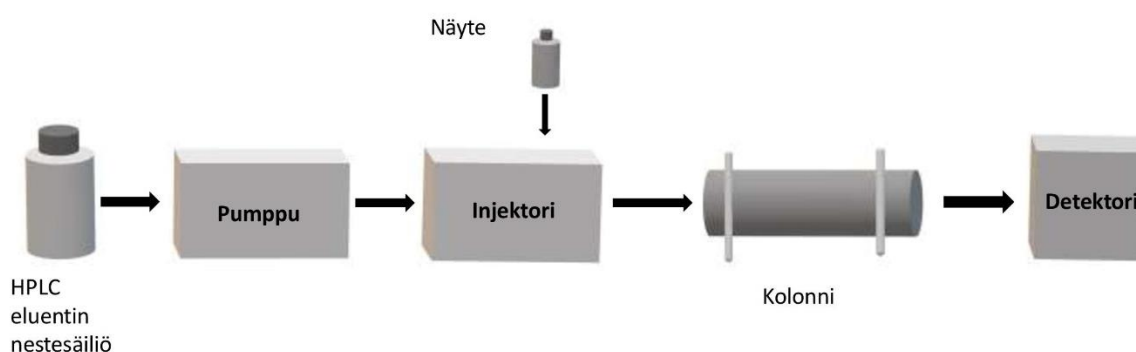
Seleenin yleisimmät isotoopit ovat  $^{74}\text{Se}$ ,  $^{76}\text{Se}$ ,  $^{77}\text{Se}$ ,  $^{78}\text{Se}$ ,  $^{80}\text{Se}$  ja  $^{82}\text{Se}$ . Seleeni-80 on seleenin isotoopeista kaikkein yleisin. Selenin isotooppien luonnolliset runsaudet löytyvät taulukosta 1. Luetelluista isotoopeista kaikki muut paitsi  $^{82}\text{Se}$  ovat stabiileja isotooppeja.  $^{82}\text{Se}$ :n puoliintumisaika on kuitenkin todella pitkä, noin  $9,6 \times 10^{19}$  vuotta, joten myös sitä voidaan pitää stabiilina. Kun tutkitaan seleenin isotooppeja massaspektrometrisesti, kuten ICP-MS-tekniikalla, täytyy ottaa huomioon mahdolliset spektraaliset häiriöt, joita saattaa ilmetä. Massaspektrometrisessä analytiikassa mahdollisia häiriöitä aiheuttavat ionit on esitetty taulukossa 1.<sup>11,12</sup>

**Taulukko 1.** Seleenin yleisimmät isotoopit ja ICP-MS-tekniikalla analysoitaessa esiintyvät mahdolliset spektraaliset häiriöt<sup>11,12</sup>

Isotooppi	Esiintyvyys luonnossa (%)	Mahdolliset häiriöt
<sup>74</sup> Se	0,89	<sup>37</sup> Cl <sub>2</sub> <sup>+</sup> , <sup>40</sup> Ar <sup>34</sup> S <sup>+</sup> , <sup>74</sup> Ge, <sup>148</sup> Sm <sup>2+</sup> , <sup>148</sup> Nd <sup>2+</sup> , <sup>74</sup> Ge <sup>+</sup> , <sup>36</sup> Ar <sup>38</sup> Ar <sup>+</sup>
<sup>76</sup> Se	9,36	<sup>36</sup> Ar <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>38</sup> Ar <sup>38</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>40</sup> Ar <sup>36</sup> S <sup>+</sup> , <sup>31</sup> P <sub>2</sub> <sup>14</sup> N <sup>+</sup> , <sup>152</sup> Sm <sup>2+</sup> , <sup>152</sup> Gd <sup>2+</sup> , <sup>75</sup> As <sup>1</sup> H <sup>+</sup> , <sup>76</sup> Ge <sup>+</sup>
<sup>77</sup> Se	7,63	<sup>40</sup> Ar <sup>37</sup> Cl <sup>+</sup> , <sup>40</sup> Ar <sup>36</sup> Ar <sup>1</sup> H <sup>+</sup> , <sup>154</sup> Sm <sup>2+</sup> , <sup>154</sup> Gd <sup>2+</sup> , <sup>38</sup> Ar <sup>38</sup> Ar <sup>1</sup> H <sup>+</sup> , <sup>76</sup> Se <sup>1</sup> H <sup>+</sup>
<sup>78</sup> Se	23,78	<sup>38</sup> Ar <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>31</sup> P <sub>2</sub> <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , <sup>156</sup> Gd <sup>2+</sup> , <sup>77</sup> Se <sup>1</sup> H <sup>+</sup>
<sup>80</sup> Se	49,61	<sup>40</sup> Ar <sub>2</sub> <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H <sup>79</sup> Br <sup>+</sup> , <sup>80</sup> Kr <sup>+</sup> , <sup>160</sup> Dy <sup>2+</sup> , <sup>160</sup> Gd <sup>2+</sup>
<sup>82</sup> Se	8,73	<sup>12</sup> C <sup>35</sup> Cl <sub>2</sub> <sup>+</sup> , <sup>34</sup> S <sup>16</sup> O <sub>3</sub> <sup>+</sup> , <sup>82</sup> Kr <sup>+</sup> , <sup>40</sup> Ar <sub>2</sub> <sup>1</sup> H <sub>2</sub> <sup>+</sup> , <sup>1</sup> H <sup>81</sup> Br <sup>+</sup> , <sup>165</sup> Ho <sup>2+</sup> , <sup>164</sup> Dy <sup>2+</sup> , <sup>160</sup> Er <sup>2+</sup>

### 3. HPLC

Korkea erotuskyvyn nestekromatografian (high performance liquid chromatography, HPLC) päätarkoitus on erotella liuosnäytteen eri komponentit toisistaan. HPLC-laite koostuu liuottimen syöttöjärjestelmästä, korkeapainepumppujärjestelmästä, injektorista, kromatografisesta kolonnista ja detektorista. Tässä tutkielmassa käsitellään HPLC-ICP-MS-laitteistoa, joten detektori sisältyy ICP-MS-osaan.<sup>4,13</sup> HPLC-laitteisto on esitetty kuvassa 2.



**Kuva 2.** HPLC-laitteisto<sup>4</sup>

Liuottimensyöttöjärjestelmän tehtävänä on syöttää laitteistoon liikkuvaan faasiin tarvittavat liuottimet. Yleisimpinä liuottimina ovat metanoli ja asetonitrili. Liuottimensyöttöjärjestelmän osana on usein myös kaasunpoistaja, joka poistaa liuottimiin liuenneet kaasut. Liuottimet siirretään alipaineletkujen avulla pumppujärjestelmään. Pumppujärjestelmä koostuu yhdestä tai useammasta pumpusta, joiden tarkoituksena on tuottaa jatkuva eluentivirtaus injektorin ja kolonnin läpi detektorille. Pumppujen on kyettävä tuottamaan ja ylläpitämään tarvittavan korkea paine, jolla pystytään viemään eluentti kolonnissa olevan tiiviisti pakatun stationäärifaasin läpi. Pumppujen virtaus on oltava vakio, jotta virtauksen vaihtelut eivät tuottaisi häiriöitä detektorille. Pumppujen tuottaman korkean paineen vuoksi kaikkien laitteistossa pumppujen jälkeen olevien letkujen on kestettävä painetta ja niiden on oltava inerttejä. Letkut ovat usein valmistettu joko ruostumattomasta teräksestä tai polyeteerietteriketoneista<sup>4</sup>

Injektorin tehtävä on lisätä eluentivirtaukseen tilavuudelta pieni määrä tutkittavaa liuosnäytettä. Injektorin on pystyttävä syöttämään näytettä eluentivirtaukseen tarkasti ja toistettavasti. Perinteiset injektorit pystyvät injektoimaan näytettä 1–100 µl. Tyypillisin



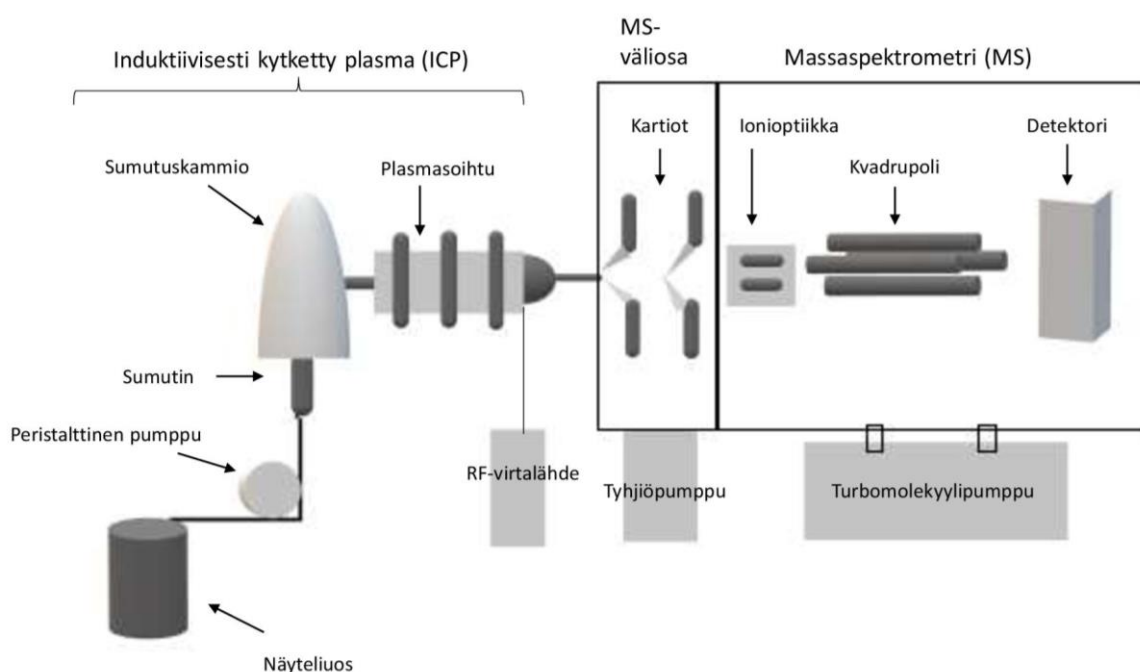
injektoitava näytemäärä on noin 1–25 µl. Näytemäärän kasvu voi vaikuttaa analyysin herkkyyteen. Injektiotilavuuden kasvun johdosta kolonniin tulee enemmän näytettä, jonka johdosta herkkyys lisääntyy. Tavallisin injektorityyppi koostuu silmukasta, jolla on tarkka tilavuus, jonka toinen pää on näyteastiassa ja toinen pää kytketään kytkentäventtiilillä virtauspiiriin. Silmukka voidaan täyttää kokonaan näyteliuoksella tai vaihtoehtoisesti silmukkaan voidaan viedä ensin hieman eluenttia, ja sen jälkeen loput silmukasta täytetään näyteliuoksella. Molemmilla tavoilla liuokset siirretään virtauspiiriin kytkentäventtiilin kautta.<sup>4,13</sup>

Kolonni erottelee näytteessä olevat aineet toisistaan. Kolonni sisältää stationäärifaasin, joka rakentuu tiiviisti pakatuista mikropartikkeleista, jotka on päällystetty aktiivisella materiaalilla, joka osallistuu erotukseen. Yleisin mikropartikkelimateriaali on silikageeli, joka on päällystetty aktiivisella aineella, joka voi sisältää esimerkiksi erilaisia orgaanisia funktionaalisia ryhmiä. Näyte vuorovaikuttaa kolonnissa mikropartikkeleiden huokosten kanssa. Huokoskoon pienentyessä, pinnalla olevien huokosten pinta-ala kasvaa, jonka johdosta retentio paranee. Kolonnin, kuten pumpun jälkeisten letkujenkin, täytyy olla materiaalia, joka kestää korkean paineen. Samalla sen täytyy olla kemiallisesti resistentti siitä läpi menevälle liikkuvalla faasilla. Kolonni voidaan valmistaa esimerkiksi lasista, teflonista, polymeeristä tai polyeetterieetteriketonista, mutta yleisin HPLC:ssä käytetty kolonni on teräskuorinen.

HPLC-laitteen kanssa voidaan käyttää monia erilaisia detektoreita, esimerkiksi UV-Vis-spektrofotometriä, fluoresenssidetektoria, massaspektrometriä tai refraktometriä.<sup>14</sup>

## 4. ICP-MS

Induktiivisesti kytketty plasma massaspektrometria on yksi suosituimpia analyysitekniikoita, jonka etuina ovat esimerkiksi kyky tunnistaa ja mitata tarkasti jaksollisen järjestelmän alkuaineita, kyky tehokkaasti analysoida yksittäisiä määritettävien alkuaineiden isotooppeja, sekä alkuainekoostumuksen määrittäminen. Lisäksi ICP-MS-tekniikan etu verrattuna moniin muihin analyysimenetelmiin on kyky mitata analysoitavien aineiden pitoisuudet alhaisilla tasoilla.<sup>15</sup> Kuvassa 3 on esitetty kaaviokuva kvadrupoli ICP-MS laitteistosta.



**Kuva 3.** ICP-MS laitteisto<sup>16</sup>

### 4.1. ICP (Inductively coupled plasma – induktiivisesti kytketty plasma)

ICP-osaan sisältyy näytteensyöttö ja plasmayksikkö. Lisäksi ICP-osan lopusta löytyy rajapinta, joka yhdistää ICP- ja MS-osat toisiinsa. ICP-osan päätehtävä on saattaa näyte ja näytteessä olevat aineet sellaiseen muotoon, että aineet voidaan analysoida MS-osassa.<sup>15</sup>

#### 4.1.1. Näytteensyöttö

Näytteensyöttöyksikön perimmäinen tarkoitus on muuttaa näytteen fysikaalinen muoto sellaiseksi, että se on optimaalinen ionilähteen toiminnan kannalta. ICP-MS-laitteistossa se toteutetaan sumuttamalla nestemäinen näyte, jolloin näyte saadaan muutettua aerosoliksi.<sup>17</sup>

Näytteensyöttöyksikössä näyte pumpataan sumuttimeen peristalttisen pumpun avulla. Sumuttimessa nestemäinen näyte hajotetaan aerosoliksi kaasuvirtauksen avulla. Kaasuvirtaus hajottaa nesteen pienemmiksi pisaroiksi. Sumutuskammioista päästetään eteenpäin vain pienimmät aerosolipisarot, sillä plasmapurkaus ei toimi halutulla tavalla aerosolipisaroiden ollessa liian suuria. Sumutuskammioita on muutamia erilaisia. Esimerkkinä ovat Scottin sumutuskammio, joka on yleisempi, ja sykloninen sumutuskammio. Sumutuskammiossa aerosoli ohjataan sumuttimen jälkeen putkeen, jossa suurimmat pisarat tippuvat painovoiman vaikutuksesta pois. Pisarot poistetaan tyhjennysputken kautta. Näytepisarat siirtyvät näyteinjektorin kautta plasmasoihdulle. Sumuttimen toinen tarkoitus on tasoittaa pulsseja, joita syntyy esimerkiksi peristalttisen pumpun käytöstä.<sup>18</sup>

#### 4.1.2. Plasmayksikkö

Plasmayksikössä tuotetaan atomeista ioneja induktiivisesti kytketyn suurtaajuisen sähkömagneettikentän ulkoisien energioiden avulla.<sup>17</sup> Plasmayksikkö koostuu plasmasoihdusta, radiotaajuisesta kelasta sekä radiotaajuisesta virranlähteestä.<sup>19</sup>

Plasmasoihdu sisältää kolme putkea, joissa virtaavat plasma-, apu- ja sumutuskaasu. Kaasu on yleensä argonkaasua. Plasmakaasu on osittain ionisoitua kaasua, jota käytetään plasman muodostamiseen, ja apukaasu on kaasua, jonka tehtävänä on plasman asennon ylläpitäminen. Sumutuskaasun tarkoitus on kuljettaa näyteaerosoli plasmaan.

Plasmasoihdun yläpäässä on kuparinen induktiokela, joka on kiinni radiotaajuusgeneraattorissa. Radiotaajuusgeneraattori aiheuttaa kelan radiotaajuisen värähtelyn, jonka johdosta plasmasoihdun päälle syntyy voimakas sähkömagneettinen kenttä, joka kuumentaa argonkaasun plasmaksi. Plasmapurkausta ylläpidetään radiotaajuuden avulla.

Näyteaerosoli liikkuu hyvin suurella nopeudella, jonka takia se pystyy menemään plasmapurkauksen läpi. Näytteessä tapahtuvat muutokset johtuvat lähinnä siitä, kun näyte törmäilee argonelektronien kanssa. Ensin aerosoli muuttuu kiinteäksi, jonka jälkeen näyte liikkuu plasmassa syvemmälle, jolloin näyte muuttuu kaasuksi, perustilassa oleviksi atomeiksi ja lopulta vielä ionisoituu.<sup>19</sup>

Plasmayksikön ja massaspektrometrin välissä on rajapinta, jonka perimmäinen tarkoitus on kuljettaa ionit massaspektrometrin ionioptiikkaosaan. Rajapinnalla paine muuttuu ilmanpaineesta vakuumiin, jonka avulla kartioihin yhdistettynä plasmasta tulevat ionit saadaan ohjattua oikeaan suuntaan kohti MS-osan ionioptiikkaa.<sup>20</sup>

## 4.2. Massaspektrometri

Massaspektrometrin ensimmäinen osa ionioptiikka on kartioiden ja massanerotuslaitteen välissä oleva sähköstaattisesti ohjattu linssikomponentti. Sen tehtävänä on ottaa rajapintakartioiden avulla plasmasta, jossa vallitsee ilmanpaine, ioneja ja ohjata ne massa-analysointiin, jossa vallitsee korkeampi paine. Lisäksi ionioptisella järjestelmällä on tehtävänä estää laitteiston toimintaa häiritsevien hiukkasten ja fotonien pääsy massa-analysointiin ja detektoriin.<sup>21</sup>

Massa-analysointin tehtävä on erottaa ionit niiden  $m/z$ -suhteiden perusteella.<sup>17</sup> Yleisin massa-analysointilaitteisto on kvadrupolinen massa-analysointilaitteisto, joka koostuu neljästä saman pituuden ja halkaisijan omaavasta metallisauvasta. Kvadrupolin resoluutio on noin 1 atomimassayksikkö. Erottelu tapahtuu siten, että yhteen sauvapariin kohdistetaan tasavirtakenttä ja vastakkaiseen sauvapariin radiotaajuuskenttä, jolloin ionit, joilla on tietty  $m/z$ -arvo, pääsevät kulkeutumaan sauvojen läpi detektorille ja loput ionit poistetaan kvadrupolista. Tämä voidaan toistaa monta kertaa eri taajuuksilla, saadaan määritettyä useiden ionien  $m/z$ -suhteet kerralla.<sup>22</sup>

### 4.2.1. Detektori

Detektorin tehtävänä on mitata tuotetun ionivirran suuruus. Yleisin detektori on elektronimonistin, joka muuttaa ionit sähkövirraksi, joka pystytään mittaamaan. Elektronimonistimessa on metallioksidilla päällystetty ilmaisin, jonka pinnalle ionisäde osuu. Osumassa ionisäteestä irtoaa elektroneja, jotka sinkoutuvat edelleen dynodille,

johon osuessa irtoaa yhä enemmän elektroneja. Mitä enemmän osumia on, sitä enemmän saadaan irrotettua elektroneja. Detektorin etupäähän kohdistetaan negatiivinen potentiaali ja negatiivisesti varautuneisiin elektroneihin kohdistetaan kiihdyttävä positiivinen potentiaali. Elektronit saavuttavat lopulta kollektorin, joka mittaa tasavirtana elektroneista tulevan sähköisen signaalin.<sup>15</sup>

### 4.3. Häiriötekijät

ICP-MS-laitteiston häiriöt ovat joko spektraalisia tai ei-spektraalisia, joista spektraaliset häiriöt ovat yleisempiä. Spektraalisia häiriöitä ovat esimerkiksi isobaariset häiriöt, moniatomisten molekyyli-ionien päällekkäisyys isotooppi-ionien kanssa, sekä kahdesti varautuneet ionit. Isobaarinen häiriö tulee, kun kahdella eri isotoopilla on sama massa-varaussuhde. Esimerkkinä isobaarisesta häiriöstä on nikkeli  $^{58}\text{Ni}^+$  ja rauta  $^{58}\text{Fe}^+$ , joilla on sama isotooppi 58.

Isobaariset häiriöt voidaan välttää esimerkiksi valitsemalla toinen isotooppi samalle määritettävälle alkuaineelle tai ionille. Toinen vallitseva ongelma on ionisoituneista molekyyli-ioneista johtuvien piikkien esiintyminen. Näitä häiriöitä aiheuttavat esimerkiksi erilaiset happi-, rikki-, ja klooripohjaiset molekyyli-ionit, jotka eivät atomisoituneet plasmassa. Esimerkkinä tästä on  $^{32}\text{S}^{16}\text{O}^+$ -molekyyli-ioni, joka häiritsee  $^{48}\text{Ti}^+$ -ionia.

Alkuaineet, joilla on alhainen ionisaatiopotentiaali, voivat muodostaa kahdesti varautuneita ioneja. Esimerkiksi kalsium  $^{48}\text{Ca}^{2+}$ , joka on kahdesti varautunut, sekä magnesium  $^{24}\text{Mg}^+$ .

Ei-spektraalisia vaikutuksia ovat matriisivaikutukset. Matriisin ainesosien suuret pitoisuudet voivat aiheuttaa analyyttilajien ionivirran supression. Näitä häiriöitä voidaan pienentää matriisikomponenttien pitoisuutta pienentämällä esimerkiksi laimentamalla tai kiinteäfaasiuutolla. Muut matriisihäiriöt voivat puolestaan johtua esimerkiksi liuoksessa olleista kiinteistä partikkeleista, liuoksen viskositeetista, pintajännityksestä tai haihtuvuudesta. Viskositeettia, pintajännitystä ja haihtuvuutta voidaan kontrolloida esimerkiksi laimentamalla.<sup>15,16</sup>

## 5. SPESIAATIOANALYTIikka

Seleenin on vesistöissä suurilla pitoisuuksilla haitallinen aine, jonka vuoksi sen pitoisuustasoa on valvottava muun muassa juoma- ja jätevesissä. Analyysitekniikkaa valittaessa huomionarvoisia seikkoja ovat tarvittava tarkkuus, määritettävän aineen pitoisuusalue, näytteiden tilavuus, näytematriisin fysikaaliset ja kemialliset ominaisuudet sekä mahdolliset häiriöt. Seleenin spesiaatioanalytiikassa on noussut kiinnostus kromatografisen erotuksen käyttämisestä yhdistettynä ICP-MS-tekniikkaan. Kromatografisista menetelmistä HPLC on yleisimmin käytetty seleenin spesiaatioanalytiikassa, ja sen etuna on esimerkiksi haihtumattomien seleenilajien erottelu. Instrumentaaliset menetelmät varmistavat monia muita analyysijä lyhyemmän analyysiajan ja suuremman tunnistuskapasiteetin. ICP-MS-menetelmällä on erinomainen havaitsemiskyky, monialkuaine- ja isotooppitunnistus, sekä korkea herkkyys ja laaja lineaarinen dynaaminen havaintoalue. Jätevesinäytteissä seleenipitoisuudet saattavat olla tuhansia mikrogrammoja litraa kohden.<sup>3,23-25</sup>

### 5.1. Näytteenkäsittely

Näytteenkäsittelyn ensimmäinen vaihe on näytteenotto ja näytteen kestävänto. Näytteen säilytykseen käytettävän astian on oltava sellaista materiaalia, että se ei reagoi näytteen kanssa. Lisäksi mahdollisten haihtuvien spesiesten takia säiliön tulee olla mahdollisimman tiivis. Seleniitti hapettuu helposti, joten säilömiseen käytettävän hapon on oltava sellainen, että se ei reagoi seleniitin kanssa. Lisäksi, jos näyte sisältää mahdollisesti bakteereja, täytyy varoa, että ne eivät pääse hajottamaan epäorgaanista seleeniä metyloituihin muotoihin. Näytteen pakastaminen on ideaali tapa kestäväntä näyte, varsinkin silloin, kun näytettä täytyy säilyttää kauan.<sup>3</sup>

Näytteen esikäsittely on olennainen osa seleenin spesiaatioanalytiikkaa ja sen tavoitteena on säilyttää seleeni tai seleeniä sisältävä yhdiste alkuperäisessä muodossaan. Seleniitti hapettuu herkästi selenatiksi, joten esikäsittelyssä hapettavia aineita on vältettävä. Seleenillä voi myös olla sellaisia yhdisteitä, jotka ovat liukenemattomia tai muuten vain suurimolekyylisiä, jotka ovat hyvin vaikeita analysoitavia. Näytteen valmistelemiseen käytettävä menetelmä riippuu esimerkiksi siitä, onko näyte helposti haihtuva vai ei. Yleisimpiä analysoitavia seleeniyhdisteitä on lueteltu taulukossa 2 ja

samalla on ilmoitettu, onko kyseinen yhdiste helposti haihtuva vai ei. Useimmat seleeniyhdisteet ovat haihtumattomia. Helposti haihtuvien näytteiden käsittelyyn voidaan käyttää esimerkiksi kiinteäfaasiuuttoa, kiinteän faasin mikrouuttoa tai headspace-tekniikkaa. Haihtumattomien näytteiden valmisteleminen on yksinkertaisempaa ja siihen käytettäviä menetelmiä ovat esimerkiksi kiinteä-nesteuutto, neste-nesteuutto tai kiinteäfaasiuutto. Joissain tapauksissa seleeniinäytteiden valmistelemiseen voidaan käyttää myös mikroaltouttoa. Seleniitin hapettumisherkkyuden takia miedot uutto-olosuhteet ovat usein suotavia.<sup>3</sup>

Jätevesinäytteillä saattaa olla korkea kiintoainepitoisuus. Jätevesinäytteen laadusta riippuen parhaimpia näytteenkäsittelymenetelmiä ovat esimerkiksi neste-nesteuutto, kiinteäfaasiuutto ja mahdollisesti tehostetut tekniikat, kuten mikroaltoaavusteinen uuttaminen ja entsymaattiset liuotusmenetelmät. Yksi tärkeimmistä seikoista jätevesien analysoinnissa on kuitenkin se, että HPLC-ICP-MS-tekniikalla analysoitaessa näytteestä täytyy suodattaa kaikki liukenematon kiinteä materiaali pois. Jätevesinäytteen käsittelemiseen vaikuttaa myös se, onko se tuleva vai lähtevä jätevesi. Tulevista jätevesistä riittää usein pienempi näyte kuin lähtevistä jätevesistä.<sup>26,27</sup>

**Taulukko 2.** Tutkittavat seleenispesieokset ja niiden haihtuvuus<sup>3,23</sup>

Nimi	Kaava	Helposti haihtuva
<b>Alkuaineseleeni</b>	Se <sup>0</sup>	Ei
<b>Vetyseleeni</b>	H <sub>2</sub> Se	Kyllä
<b>Seleeni-happo (seleniitti)</b>	SeO <sub>3</sub> H <sub>2</sub>	Ei
<b>Seleeni-happo (selenaatti)</b>	SeO <sub>4</sub> H <sub>2</sub>	Ei
<b>Selenosyanaatti</b>	HSeCN	Ei
<b>Trimetyyliseleeni-kationi</b>	(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> Se <sup>+</sup>	Ei
<b>Dimetyyliseleeni</b>	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Se	Kyllä
<b>Dimetyylidiseleeni</b>	(CH <sub>3</sub> )Se-Se(CH <sub>3</sub> )	Kyllä
<b>Dimetyyliseleenisulfidi</b>	(CH <sub>3</sub> )Se-S(CH <sub>3</sub> )	Kyllä
<b>Dimetyyliseleeni-dioksidi</b>	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SeO <sub>2</sub>	Kyllä
<b>Dimetyyliseleeni-propionaatti</b>	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Se <sup>+</sup> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH	Ei
<b>Metyyliseleenioli</b>	CH <sub>3</sub> SeH	Ei
<b>Metyyliseleeniini-happo</b>	CH <sub>3</sub> Se(O)OH	Ei
<b>Metyyliseleeni-happo</b>	CH <sub>3</sub> SeOH	Ei
<b>Selenokysteini</b>	HOOCCH(NH <sub>2</sub> )CH <sub>2</sub> -Se-H	Ei
<b>Selenometyylidikysteini</b>	HOOCCH(NH <sub>2</sub> )CH <sub>2</sub> -Se-CH <sub>3</sub>	Ei
<b>Selenokystiini</b>	HOOCCH(NH <sub>2</sub> )CH <sub>2</sub> -Se-Se- CH <sub>2</sub> CH(NH <sub>2</sub> )COOH	Ei
<b>Selenometioniini</b>	HOOCCH(NH <sub>2</sub> )CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -Se-CH <sub>3</sub>	Ei
<b>Selenometioniini selenoksidi</b>	CH <sub>3</sub> Se(O)CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH(NH <sub>2</sub> )COOH	Kyllä
<b>Selenoetioniini</b>	HOOCCH(NH <sub>2</sub> )CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -Se-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Ei
<b>γ-glutamyyli-Se-metyyliseleeni-kysteini</b>	H <sub>2</sub> NCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -CO-NHCH(COOH)CH <sub>2</sub> -Se- CH <sub>3</sub>	Ei
<b>Selenokystatiini</b>	HOOCCH(NH <sub>2</sub> )CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -Se- CH <sub>2</sub> CH(NH <sub>3</sub> )COOH	Ei
<b>Selenohomokysteini</b>	HOOCCH(NH <sub>2</sub> )CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -Se-H	Ei
<b>Se-adenoksyyliseleeni-homokysteini</b>	HOOCCH(NH <sub>2</sub> )CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -Se- CH <sub>2</sub> C <sub>4</sub> H <sub>5</sub> C <sub>5</sub> N <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>	Ei
<b>Selenosokerit</b>	Useita rakenteita	Ei
<b>Selenoproteiinit</b>	Useita rakenteita	Ei



## 5.2. Analytiikka

HPLC on laajimmin käytetty erotustekniikka seleenin spesiaatioanalytiikassa. HPLC-tekniikka vaatii sen, että eroteltavat aineet ovat liukenevia. Seleenin liukenemiseen voidaan vaikuttaa sopivan liuottimen valinnalla. Etuna HPLC:llä on erotuksen toistettavuus ja yhdistettynä ICP-MS-tekniikkaan, seleenispesiesten määrittelylle saadaan yleensä alhaiset havaitsemisrajat. HPLC:llä, seleenin spesiaatioanalytiikassa, erotukseen voidaan käyttää muutamaa erilaista tekniikkaa. Erotukseen voidaan käyttää muun muassa ioninvaihtokromatografiaa, käänteisfaasi-ioniparikromatografiaa, kokoekskluusiota ja kiraalista HPLC-tekniikkaa. Koska jätevesinäytteet saattavat sisältää monia eri seleeniyhdisteitä, jätevesinäytteen laadun ja tutkittavan seleeniyhdisteen kautta kannattaa valita paras mahdollinen erotusmenetelmä.<sup>3</sup>

Käänteisfaasi-HPLC on kaikista HPLC-tekniikoista yleisin. Käänteisfaasi- ja ionipari-HPLC-menetelmät ovat taas yleisimmät seleenin analytiikassa. Käänteisfaasikromatografiaa käytetään yhdisteille, joista osa on hydrofobisia, ja joilla ei ole hallitsevaa polaarista luonnetta. Käänteisfaasikromatografiassa käytetään vesipitoista liikkuvaa faasia, jossa voi olla hieman orgaanista modifiointiaainetta mukana. Määritettävät aineet erotetaan toisistaan käyttämällä stationäärifaaseja, joiden pinta on vähemmän polaarinen kuin liikkuvan faasin. Käänteisfaasi-ionipari-HPLC:ssä liikkuvaan faasiin lisätään vastaioni ja sekundäärisen kemiallisen tasapainon avulla säädetään analyttien selektiivisyyttä ja retentiota.<sup>3,4</sup>

Ioninvaihtokromatografiassa näytteen ioniyhdisteet erotellaan liikkuvassa faasissa, eli eluenttivirtauksessa. Ioninvaihtokromatografiassa voidaan käyttää erotusmenetelmänä kationin- tai anioninvaihtoa, joista molempia on käytetty seleenin spesiaatioanalytiikassa. Tässä menetelmässä on huomioitava liuenneen aineen ionivahvuus, eluenttivirtauksen pH, lämpötila ja eluenttivirtauksen ionivahvuus, sillä kaikki näistä saattavat vaikuttaa erotukseen. Ioninvaihtokromatografiassa liuotinpuskurit, joita käytetään seleenin polaaristen yhdisteiden erottamiseen, sisältävät usein fosfaattia, sitraattia tai formiaattia. Puskurin on oltava haihtuva, jotta siitä ei jäisi jäännöksiä ICP-MS-laitteiston kartioihin, eli esimerkiksi natrium- ja kaliumfosfaattipuskureita ei suositella käytettäväksi.<sup>3,4</sup>

Kokoeksklusiokromatografiaa käytetään erittelemään molekyylit niiden hydrodynaamisen tilavuuden perusteella. Seleenin spesiaatioanalytiikassa sitä käytetään usein sellaisille näytteille, joissa on selenoproteiineja. Erotus tapahtuu huokoisessa absorboimattomassa stationäärifaasissa, jossa on huokosia, joilla on sama koko, kuin analyytin liuenneella aineella. Tässä menetelmässä stationäärifaasin ja määritettävän aineen vuorovaikutukset on minimoitu, jolloin saadaan aikaan tehokas kokoerotus.<sup>3,4</sup>

Selenoproteiinien erottelu voidaan tehdä myös kiraalisella kromatografialla. Useilla eri seleeniyhdisteillä on kiraalisia enantiomeerejä, ja niiden erotukseen voidaan käyttää kahta eri menetelmää. Suora lähestymistapa hyödyntää kiraalista stationäärifaasia ja epäsuorassa lähestymistavassa esikolonne derivatisoidaan kiraalisella reagenssilla, jonka jälkeen diasteromeerit erotetaan aksiaalisessa kolonnissa. Suoraa lähestymistapaa hyödynnetään enemmän seleenin analytiikassa.<sup>3</sup>

Koska HPLC:stä saapuva näyte on nestemäisessä muodossa, ICP-MS-osa vaatii oikeanlaisen sumutusjärjestelmän. Esimerkiksi perinteiset pneumaattiset sumuttimet, yhdistettynä yksi- tai kaksivaiheiseen sumutuskammioon soveltuu hyvin nestemäisten HPLC:stä tulevien näytteiden sumutukseen. Näytteensyöttönopeus on usein noin 1 ml/min. Näytettä saadaan usein kuitenkin kuljetettua plasmaan vain noin 1-3 %, mutta näytteensyöttöä voidaan tehostaa esimerkiksi pienentämällä näytteensyöttönopeus 0,1 ml/min, jolloin näytettä voidaan saada kuljetettua plasmaan jopa 20 %. Seleenin spesiaatioanalytiikassa pienemmän virtausnopeuden käyttäminen on yleistä. Plasmaan saattaa päästä HPLC:stä liuotinta, joka voi epävakauttaa plasmaa ja täten olla haitallista radiotaajuusgeneraattorille. Ratkaisu tähän on esimerkiksi näyteaerosolin desolvatoiminen ennen plasmaa, ja tämä voidaan tehdä esimerkiksi käyttämällä sumutuskammiota, joka on jäähdytetty, joka täten kondensoi liuottimen.<sup>3,28</sup>

ICP-MS-tekniikalla saadaan mitattua yhdisteiden seleenipitoisuudet selektiivisesti, kun erotukseen käytetään HPLC-tekniikkaa. Ilman HPLC-tekniikkaakin voidaan mitata ICP-MS-tekniikalla seleenipitoisuuksia, mutta silloin selektiivisyys jää pois, eikä seleeniyhdisteistä saada tarkempaa tietoa. Jäteveden puhdistuksessa voidaan seurata seleeniyhdisteiden pitoisuuksia tarkemmin HPLC-ICP-MS-tekniikalla tai suppeammin pelkällä ICP-MS-tekniikalla.<sup>28</sup>

ICP-MS-laitteella analysoitaessa pitää olla mukana mahdollisuuksien mukaan näytteen lisäksi kalibrointiliuoksia, joissa on jo ennalta tunnettu pitoisuus seleeniä, kalibroinnin nollanäyte, joka sisältää veden lisäksi samaa happoa, joita käytetään kalibrointistandardien valmistukseen, nollanäyte, jossa on samat reagenssit, joita käytettiin itse näytteen valmisteleminen ja lisäksi laadunvarmistusnäytteitä, joihin käytetään reagensseja, joissa on ennalta tiedossa oleva määrä seleeniä, ja jotka on mahdollisesti tehty eri reagensseista kuin kalibrointinäytteet. Lisänä analyysissä voidaan käyttää sisäistä standardia, jolla korjataan laitteen poikkeamia.<sup>27</sup>

Martinez-Bravo et al.<sup>29</sup> tutkimuksessa mitattiin vesinäytteistä samanaikaisesti seleniitin ja seleniitin pitoisuuksien lisäksi arseniitti, arsenaatti, monometyyliarsonihappo ja kuusiarvoisen kromin pitoisuuksia anioninvaihto-LC-ICP-MS-tekniikalla. Eluenteina käytettiin vaihtelevasti 20–60 mM NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>. pH-arvoja muutettiin NH<sub>3</sub>:n avulla välillä 7,7–10,2. Lisäksi ionivahvuuden muuttamisen vaikutuksia seurattiin. Huomattiin, että gradientteluentin käyttämisellä saatiin parhaat retentioajat. Parhaat tulokset saatiin silloin kun pH oli noin 8,7. Ionivahvuuden muutoksella ei huomattu olevan merkittävää vaikutusta. Seleenispesioksien havaitsemisrajat olivat < 1,5 µg/l. Mahdollisesti häiriöitä aiheuttava kloori erotettiin kromatografisesti näytteestä.

Reyes et al.<sup>30</sup> tutkimuksessa käytettiin ionikromatografia (IC) ICP-MS-tekniikkaa, jossa hyödynnettiin isotooppilaimennusta (IDA) seleenin kvantitatiiviseen spesiaatioon öljynjalostamon jätevesistä. ICP-MS-laitteessa hyödynnettiin oktapolireaktiokenno (ORS), jossa käytettiin vetykaasua, ja jota käytettiin vähentämään argondimeerien aiheuttamia spektraalisia häiriöitä <sup>78</sup>Se- ja <sup>80</sup>Se-isotoopeille. Tutkittavina seleenispesieksinä olivat seleniitti, seleniitti ja selenosyanaatti. Ionikromatografisessa menetelmässä käytettiin isokraattista erotusta, jossa eluettina toimi 20 mmol/l Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ja 2 mmol/l NaHCO<sub>3</sub> seos. Erotuksen jälkeen eluentin sisältämät karbonaatit muutettiin hiilidioksidiksi, jotta ne eivät aiheuta sumuttimeen tai rajapinnan kartioihin tukoksia. Seleenispesiesten kvantitatiiviseen määrittämiseen käytettiin isotooppilaimennusta, jossa jäteveten lisättiin jatkuvalla sekoituksella rikastettua <sup>77</sup>Se-isotooppia. Lisätyn <sup>77</sup>Se avulla seurattiin <sup>78</sup>Se/<sup>77</sup>Se ja <sup>80</sup>Se/<sup>77</sup>Se isotooppisuhteita ja vastaavien isotooppien pitoisuuksia. Havaitsemisrajoiksi saatiin seleniitille 0,18 ng/g, seleniitille 0,13 ng/g ja selenosyanaatille 1,0 ng/g.

### 5.3. Häiriöt ja niiden minimointi

Seleenipitoisuuksia määritettäessä ICP-MS-tekniikalla, analysoinnissa saattaa esiintyä erilaisia spektraalisia häiriöitä. Mahdollisia spektraalisia häiriöitä on listattu taulukkoon 1, joka löytyy sivulta 5. Yksi suurimmista ongelmista on polyatomisten ionien muodostuminen argonplasmassa, esimerkiksi  $^{80}\text{Se}$ -isotooppia häiritsee  $^{40}\text{Ar}_2^+$ -dimeerin muodostuminen. Plasmassa muodostuva argonin dimeeri on yleisin polyatominen häiriö, joka voi plasman seurauksena muodostua. Muut plasmassa olevan argonin muodostavat häiritsevät polyatomiset ionit ovat harvinaisempia. HPLC-tekniikkaa käytettäessä liikkuvassa faasissa saattaa muodostua häiritseviä polyatomisia ioneja tai joissain tilanteissa liikkuvassa faasissa saadaan mahdollisesti eliminoitua kromatografisesti potentiaalisia häiriöitä.<sup>3</sup>

Polyatomiset häiriöt voidaan poistaa myös törmäys- tai reaktiokenno -tekniikalla. Tällä menetelmällä ICP-osasta tulevat ionit siirtyvät normaalista rajapinta-alueelle, jossa ne poimitaan tyhjiössä törmäys- tai reaktiokennossa, ennen kvadrupolia. Kenno sisältää multipolin, joka voi olla kvadrupoli, heksapoli tai oktapoli, joka toimii radiotaajuudella, ja joka reagoi kennoon lisätyn törmäys/reaktiokennokaasun kanssa, joka on usein inerttiä heliumkaasua, mutta seleenin spesiaatioanalytiikassa saatetaan käyttää myös vety-, dityppioksidi-, metaani- tai metaanin ja ammoniakkin yhdistelmäkaasua. Seleenin analytiikassa vetykaasu on yleisin. Törmäyksessä polyatomiset ionit törmäilevät inertin kaasun kanssa, jonka seurauksena polyatomiset ionit joko hajoavat tai niiden energia vähenee, jolloin pienenergiset ionit eivät pääse etenemään kvadrupolille multipolin ja kvadrupolin välille muodostuneen energiavallin vuoksi. Häiritsevät ionit ja analyysin ionit voivat myös reagoida kaasun kanssa, jonka johdosta häiritsevät ionit voivat muuttaa muotoaan, jolloin ne eivät enää ole spektraalisesti samanlaisia tutkittavien isotooppien kanssa. Törmäys- tai reaktiokennotekniikkaa käytettäessä on huomioitava, että se voi aiheuttaa uusia polyatomisia häiriöitä, jos kennossa tapahtuu tuntemattomia reaktioita.<sup>3</sup>

Yleisesti isobaarisia tai molekyyli-ionihäiriöitä vastaan tullessa voidaan vaihtaa tutkittavaa isotooppia, jolla on sellainen massa, jonka kanssa ei pitäisi esiintyä häiriöitä. Tällä tekniikalla ongelmaksi voi kuitenkin ilmetä se, että uudella isotoopilla on hyvin pieni runsaus, joka huonontaa huomattavasti toteamisrajoja.<sup>31</sup> Taulukosta 1 nähdään, että esimerkiksi  $^{80}\text{Se}$  runsaus on noin 49,61 %, ja  $^{74}\text{Se}$  runsaus on vain 0,89 %, jolloin

toteamisrajat huononevat huomattavasti, jos  $^{80}\text{Se}$  sijasta tutkittavaksi isotoopiksi vaihdettaisiin  $^{74}\text{Se}$ .

Toinen tapa korjata isobaarisia ja molekyyli-ionihäiriöitä on korjata häiriöt matemaattisesti. Tällöin mitataan määritettävän isotoopin lisäksi saman aineen toisen isotoopin vaste. Mitattu toinen isotooppi suhteutetaan toisen isotoopin massalukuun isotooppien luonnollisten runsauksien mukaan, jonka jälkeen vähennetään häiritsevä isotooppi kokonaisvasteesta ja saadaan määritettävän isotoopin vaste. Matemaattisesti laskut saadaan tehtyä käyttämällä kaavoja 1 ja 2.

$$I({}^m/_Z n) = I({}^n\text{määritettävä isotooppi}) + I({}^n\text{häiriö}) \quad (1)$$

jossa I on intensiteetti eli vaste ja n on isotoopin massaluku.

$$I({}^n\text{häiriö}) = \left( \frac{A({}^n\text{häiriö})}{A({}^n\text{häiriön toinen isotooppi})} \right) \cdot I({}^n\text{häiriön toinen isotooppi}) \quad (2)$$

jossa A on isotoopin runsaus luonnossa.<sup>31</sup>

Analysoinnin yhteydessä voi esiintyä myös fysikaalisia häiriöitä, jotka voivat liittyä näytteen kuljetukseen, kun näytettä kuljetetaan plasmaan, näytteen muuttumiseen plasmassa, sekä siihen, kun ionit siirtyvät rajapinnan kautta ICP-osasta MS-osaan. Nämä häiriöt voivat aiheuttaa eroja vasteeseen näytteissä ja kalibrintistandardeissa. Sisäistä standardia käyttämällä voidaan vaikuttaa useissa tapauksissa mahdollisiin fysikaalisiin häiriöihin.<sup>27</sup>

## 6. YHTEENVETO

Seleenin on ihmisille välttämätön, mutta vain pienissä määrin. Jätevesissä seleenipitoisuudet ovat paikoittain todella suuria ja näitä pitoisuuksia tulee tarkkailla tulevaisuudessa tarkkaan. Seleenipitoisuudet kasvavat vuosi vuodelta jätevesistä, sillä luonnollisten lähteiden lisäksi seleeniä päästävät jätevesiin ja ympäristöön on kaivos- ja prosessiteollisuus. Seleenipitoisuuksien tutkimiseen löytyy nykypäivänä paljon eri menetelmiä ja laitteistoja, joita yhdistelemällä saadaan määritettyä seleenipitoisuudet hyvin tarkasti.<sup>3,24</sup>

Seleenin spesiaatioanalytiikka kehittyi vuosi vuodelta ja tällä hetkellä suosioon on noussut ICP-MS yhdistettynä HPLC-tekniikkaan. ICP-MS-tekniikkaa seleenin analytiikassa on myös yhdistetty kaasukromatografiaan ja kapillaarielektroforeesiin. HPLC-tekniikka on monipuolisuudellaan kasvanut suosituimmaksi erotusmenetelmäksi. HPLC-tekniikalla on monia muotoja käänteisfaasikromatografiasta kiraaliseen kromatografiaan ja kokoekskluusiokromatografiaan. HPLC:n muotoja voidaan vaihdella tarpeen mukaan, riippuen tutkittavista yhdisteistä ja näytematriisista.<sup>3</sup>

Näytteenotolla, näytteenkäsittelyllä ja näytteenäytöksellä on myös iso rooli seleenin spesiaatioanalytiikassa. Näytteenotossa ja säilytyksessä täytyy ottaa huomioon bakteerit, hapettavat säilöntäaineet ja näyteastian materiaali ja tiiviys. Näytteenkäsittelyssä täytyy ottaa huomioon, onko tutkittava yhdiste mahdollisesti helposti haihtuva, ja onko näytteessä mahdollisesti kiintoainetta mukana, joka on yleistä jätevesille.<sup>3</sup>

Seleenin spesiaatioanalytiikassa ICP-MS-tekniikalla esiintyy monia häiriöitä, mutta nykyisillä tekniikoilla ne saadaan usein joko minimoitua tai mahdollisesti poistettua jopa kokonaan. Törmäys- ja reaktiokennoteknologia on noussut suosituksi ratkaisuksi vuosien mittaan. Tutkittavia isotooppeja vaihtelemalla tai matemaattisesti laskemalla saadaan myös usein pienennettyä häiriöiden vaikutusta analytiikkaan.<sup>3</sup>

## 7. KIRJALLISUUSVIITTEET

- (1) Stefaniak, J.; Dutta, A.; Verbinnen, B.; Shakya, M.; Rene, E. R. Selenium Removal from Mining and Process Wastewater: A Systematic Review of Available Technologies. **2018**. <https://doi.org/10.2166/aqua.2018.109>.
- (2) *Selenium in Nutrition*; National Academies Press: Washington, D.C., 1983; Vol. Rev. ed.
- (3) B'Hymer, C.; Caruso, J. A. Selenium Speciation Analysis Using Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2006**, *1114* (1), 1–20. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.02.063>.
- (4) Moldoveanu, S.; David, V. *Essentials in Modern HPLC Separations*; Elsevier: Waltham, MA, 2013.
- (5) Thomas, R. A Beginner's Guide to ICP-MS, Part I. *Spectroscopy* **2001**, *16* (4), 38–41.
- (6) Kieliszek, M. Selenium<sup>-</sup>Fascinating Microelement, Properties and Sources in Food. *Molecules* **2019**, *24* (7), 1298. <https://doi.org/10.3390/molecules24071298>.
- (7) Organization, W. H. *Selenium in Drinking-Water: Background Document for Development of WHO Guidelines for Drinking-Water Quality*; World Health Organization: Geneva, 2003.
- (8) *EUR-Lex - 31998L0083 - EN - EUR-Lex*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A31998L0083> (accessed 2022-04-19).
- (9) Chaudhary, S.; Mehta, S. Selenium Nanomaterials: Applications in Electronics, Catalysis and Sensors. *J Nanosci Nanotechnol* **2014**, *14*, 1658–1674. <https://doi.org/10.1166/jnn.2014.9128>.
- (10) *Ravintotekijä - Fineli*. <https://fineli.fi/fineli/fi/ravintotekijat/2244> (accessed 2022-04-18).
- (11) Layton-Matthews, D.; Leybourne, M. I.; Peter, J. M.; Scott, S. D. Determination of Selenium Isotopic Ratios by Continuous-Hydride-Generation Dynamic-Reaction-Cell Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **2006**, *21* (1), 41–49. <https://doi.org/10.1039/B501704A>.
- (12) Teng, F.-Z.; Watkins, J.; Dauphas, N. *Non-Traditional Stable Isotopes*; Reviews in Mineralogy & Geochemistry; De Gruyter: Berlin/Boston, 2017.
- (13) Moldoveanu, S. C.; David, V. Chapter 4 - Basic Information Regarding the HPLC Techniques. In *Selection of the HPLC Method in Chemical Analysis*; Moldoveanu, S. C., David, V., Eds.; Elsevier: Boston, 2017; pp 87–187. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803684-6.00004-4>.

- (14) Weston, A.; Brown, P. R. *High Performance Liquid Chromatography & Capillary Electrophoresis : Principles and Practices*; Academic Press: San Diego, 1997.
- (15) Taylor, H. E. *Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry : Practices and Techniques*; Academic Press: San Diego, 2001.
- (16) Vanhaecke, F.; Degryse, P. *Isotopic Analysis : Fundamentals and Applications Using ICP-MS*; Wiley-VCH: Weinheim, 2012.
- (17) Golloch, A. *Handbook of Rare Earth Elements : Analytics*; De Gruyter Reference; De Gruyter: Berlin, 2017.
- (18) Thomas, R. A Beginner's Guide to ICP-MS, Part II: The Sample-Introduction System. *Spectroscopy* **2001**, *16* (5), 56–60.
- (19) Thomas, R. A Beginner's Guide to ICP-MS, Part III: The Plasma Source. *Spectroscopy* **2001**, *16* (6), 26–30.
- (20) Thomas, R. A Beginner's Guide to ICP-MS, Part IV: The Interface Region. *Spectroscopy* **2001**, *16* (7), 26–34.
- (21) Thomas, R. A Beginner's Guide to ICP-MS, Part V: The Ion Focusing System. *Spectroscopy* **2001**, *16* (9), 38–44.
- (22) Thomas, R. Beginner's Guide to ICP-MS, Part VI: The Mass Analyzer. *Spectroscopy* **2001**, *16* (10), 44–48.
- (23) LeBlanc, K. L.; Kumkrong, P.; Mercier, P. H. J.; Mester, Z. Selenium Analysis in Waters. Part 2: Speciation Methods. *Science of The Total Environment* **2018**, *640–641*, 1635–1651. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.394>.
- (24) Santos, S.; Ungureanu, G.; Boaventura, R.; Botelho, C. Selenium Contaminated Waters: An Overview of Analytical Methods, Treatment Options and Recent Advances in Sorption Methods. *Science of The Total Environment* **2015**, *521–522*, 246–260. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.107>.
- (25) B'Hymer, C.; Caruso, J. A. Arsenic and Its Speciation Analysis Using High-Performance Liquid Chromatography and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2004**, *1045* (1–2), 1–13. <https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2004.06.016>.
- (26) Sadutto, D.; Picó, Y.; Samanidou, V.; Panderi, I. Sample Preparation to Determine Pharmaceutical and Personal Care Products in an All-Water Matrix: Solid Phase Extraction. *Molecules* **2020**, *25* (21), 5204.
- (27) Martin, T. D.; Martin, E. R. Determination Of Trace Elements In Waters And Wastes By Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry. *Technology Applications Inc.* **1991**, *8*.
- (28) Sutton, K.; Sutton, R. M. C.; Caruso, J. A. Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometric Detection for Chromatography and Capillary Electrophoresis. *Journal*



*of Chromatography A* **1997**, 789 (1), 85–126.  
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)00970-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)00970-9).

- (29) Martínez-Bravo, Y.; Roig-Navarro, A. F.; López, F. J.; Hernández, F. Multielemental Determination of Arsenic, Selenium and Chromium(VI) Species in Water by High-Performance Liquid Chromatography–Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2001**, 926 (2), 265–274.  
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)01062-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)01062-7).
- (30) Reyes, L.; García-Ruiz, S.; Tonietto, G.; Godoy, J.; Garcia Alonso, J.; Sanz-Medel, A. Quantification of Selenium Species in Petroleum Refinery Wastewaters Using Ion Chromatography Coupled to Post-Column Isotope Dilution Analysis ICP-MS. *Journal of The Brazilian Chemical Society - JBCS* **2009**, 20. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532009001000016>.
- (31) Neubauer, K. Reducing the Effects of Interferences in Quadrupole ICP-MS. *Spectroscopy* **2010**, 25 (11), 30–36.