

Tiedotus
Report

211

FRANCISKA SUNDHOLM
GUNILLA GAROFF
IRMA MÄKINEN
VAPPU PENNANEN
ULLA-MAIJA TAIVAINEN

LIGNIINI- JA HUMUSYHDISTEIDEN MÄÄRITTÄMINEN VESISTÖSTÄ SPEKTROFLUOROMETRISESTI

English summary: Spectrofluorometric determination of lignin and humic substances in water

Abstract: The lignin and humic substances in water were determined spectrofluorometrically. The method is simple and rapid. The detection limit is 0.1 µg/l.

Abstract: The lignin and humic substances in water were determined spectrofluorometrically. The method is simple and rapid. The detection limit is 0.1 µg/l.

HELSINKI 1981

Yhteistyö
keskittämällä
voimaa

Yhteistyö
keskittämällä
voimaa

Yhteistyö
keskittämällä
voimaa

Yhteistyö
keskittämällä
voimaa

Tekijät ovat vastuussa julkaisun sisällöstä, eikä siihen voida vedota vesihallituksen virallisena kannanottona

VESIHALLITUKSEN TIEDOTUKSIA koskevat tilaukset: Valtion painatuskeskus PL 516, 00101 Helsinki 10,
puh. 90-539 011/julkaisutilaukset

ISBN 951-46-5999-6
ISSN 0355-0745

SISÄLLYSLUETTELO

Sivu

1.	TUTKIMUKSEN TARKOITUS	5
2.	TUTKIMUKSEN TAUSTA	5
3.	LIGNIINIIN JA HUMUSYHDISTEIDEN OMINAISUUKSISTA	6
3.1	Ligniini	6
3.2	Humus	6
4.	NÄYTTEIDENOTTOALUEET, NÄYTTEIDEN KÄSITTELY JA MITTAUSMENETELMÄT	7
4.1	Näytteidenottoalueet	7
4.2	Näytteiden käsittely	8
4.3	Mittausmenetelmät	9
4.31	Yleistä fluoresenssispektrometriasta	9
4.32	Spektrofluorometri	10
4.33	Laitekohtainen muuttujien oikaisu ja spektrin korjaus	10
4.34	Fluoresenssispektrien mittaaminen vesinäytteistä	11
4.35	Tulosten laskeminen spektreistä	11
4.4	Laitteet ja kemikaalit	18
5.	TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU	19
5.1	Spektrofluorometrisen menetelmän soveltuvuus ja tarkkuus	19
5.2	Mittau tuloksia vesinäytteistä	21
5.3	Tulosten tarkastelu	28
5.4	Analyysimenetelmän jatkotutkimustarve Tutkimukseen saatu rahoitus	32
6.	YHTEENVETO	32
7.	SUMMARY	34
	KIRJALLISUUS	35

1. TUTKIMUKSEN TARKOITUS

Tarkkojen analyysimenetelmien puuttuessa veden laadun tarkkailu ligniini- ja humusyhdisteiden osalta on osoittautunut vaikeaksi. Tämän työn tarkoituksena oli kehittää selektiivistä spektrofluorometristä menetelmää veden sisältämän ligniinin ja humuksen määrittämiseksi siten, että ne voidaan yksinkertaisilla mittauksilla määrittää samanaikaisesti.

Ligniini- ja humusyhdisteiden määrittämistä spektrofluorometrisellä menetelmällä kokeiltiin alustavasti vesihallituksessa vuosina 1978-1979 analyyttisen kemian erikoistyönä (Garoff, 1979, Taivainen, 1979) Helsingin yliopistosta. Tällöin tutkittiin humuksen ja natriumlignosulfonaatin seoksia sekä muutamia vesistönäytteitä. Syksystä 1979 vuoden 1980 loppuun tutkimusta laajennettiin käsittämään myös sulfaattiligniinin määrittäminen. Pyrkimyksenä on ollut edelleen kehittää spektrofluorometristä menetelmää siten, että humuksen, lignosulfonaattien ja sulfaattiligniinin määrittäykset ovat mahdollisia samasta näytteestä rinnakkain.

Näytteitä kerättiin eri tavalla kuormitetuista vesistöistä ja niistä määritettiin ligniini- ja humuspitoisuudet.

Lignosulfonaatin määrittäminen on alunperin kehitetty vähän humusta sisältäville merivesille. Menetelmää on tässä tutkimuksessa sovellettu myös humusrikkaisiin järvesiin. Sulfaattiligniinin määrittäminen on pidetty tärkeänä, koska Suomen puunjalostusteollisuudesta suurin osa on siirtynyt sulfiittiprosessista sulfaatti- ja kemimekaanisiin prosesseihin. Näin ollen on oletettavissa, että lähivuosina jätevesien mukana vesistöihinkin tulee pääasiallisesti sulfaattiligniiniä.

2. TUTKIMUKSEN TAUSTA

Puunjalostusteollisuuden kemiallisten prosessien yhteydessä puussa esiintyvä ligniini joutuu osaksi vesistöön pienimolekyylisinä purkautumistuotteina lisäten vastaanottavan vesistön orgaanista kuormitusta. Tämä saattaa olla entuudestaan huomattava luontaisen

humuskuormituksen takia. Raakavedessä esiintyessään ligniinijätteet ja humusyhdisteet vaikeuttavat ensiluokkaisen talous- ja käyttöveden valmistusta. Viime aikoina on lisäksi kiinnitetty huomiota siihen, että valkaisu- ja selluloosan valmistuksen yhteydessä sekä kloorattaessa talousveden valmistuksessa saattaa muodostua terveydelle haitallisia yhdisteitä (Harjula, 1979, Stockman, 1980), jotka voivat joutua talousveteen (Paasivirta, 1978).

3. LIGNIININ JA HUMUSYHDISTEIDEN OMINAISUUKSISTA

3.1 L i g n i i n i

Ligniini on polymeerinen fenolihdiste. Selluloosan valmistuksessa ligniini reagoi keitossa käytettävien kemikaalien kanssa muodostaen osittain vesiliukoisia yhdisteitä, jotka voivat joutua jätevesiin. Yleisiä ligniinin reaktioita ovat depolymeroituminen, hydrolyysi, demetyloituminen, hapetus ja kondensaatio. Sulfiittikeitossa muodostunutta ligniinituotetta sanotaan lignosulfonihapoksi, sulfaattikeiton jätelius sisältää sulfaattiligniiniä. Edellisessä esiintyvät sulfonihapporyhmät, jälkimmäisessä mm. fenoliset hydroksyyli- ja karboksyyli-ryhmät lisäävät ligniinin vesiliukoisuutta. Alkaliligniiniä syntyy alkalisessa selluloosan valmistusprosessissa, jossa ei käytetä sulfidia keittoliipeässä. Se muistuttaa kemiallisesti sulfaattiligniiniä.

Sekä sulfonihappojen suolat (lignosulfonaatit) että alkali- ja sulfaattiligniini fluoresoituvat. Ligniinin jätevesiin joutuvien pilkkoutumistuotteiden molekyyllipaino vaihtelee. (Sarkanen, 1971).

3.2 H u m u s

Humusmolekyylien rakenteellisina pääosina ovat erilaiset fenolit ja fenolijohdannaiset, mahdollisesti myös kinonit ja heterosykliset typpi- ja happiyhdisteet. Pääosaan kiinnittyneinä sivuosina esiintyy alifaattisia hiiliketjuja, hiilihydraatteja, aminohapposasia ja metalleja.

Vesistöjen humusaines on peräisin valuma-alueen soilta, metsistä

ja pelloilta, joista humusta huuhtoutuu kullekin ekosysteemille luonteenomaisella tavalla. Eri lähteistä eristetyn humuksen samankaltaisuus saattaa olla näennäistä ja johtua humukselle tyypillisten suurten polymeerisysteemien fysikaalisista ominaisuuksista sekä pintaosien funktionaalisista ryhmistä, joita ovat karboksyyli-ryhmät, fenolit ja alkoholiset hydroksyyli-ryhmät sekä karbonyyli-ryhmät.

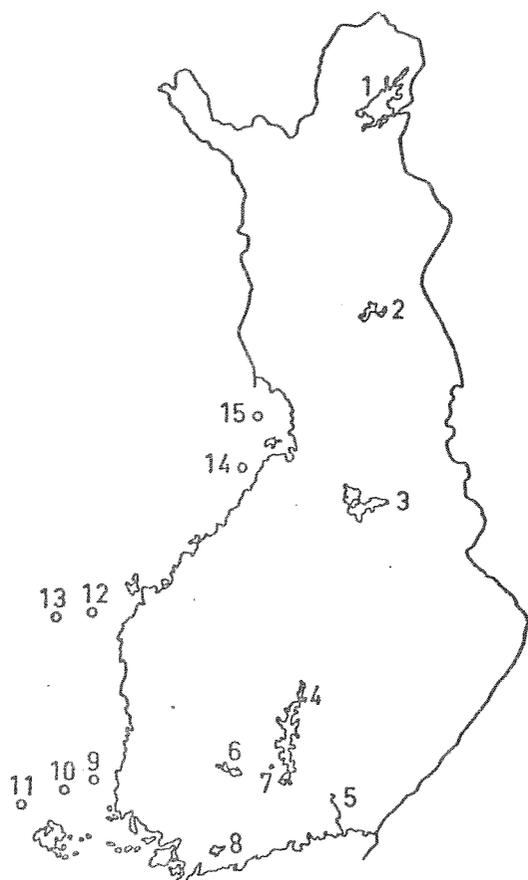
Humusyhdisteiden fluoresenssi-ilmiö on ollut tiedossa vuosisadan alusta. Useissa tutkimuksissa on havaittu, että fluoresenssi liittyy humuksen nk. fulvohappofraktioon. Rautaa ja fosforia sisältävä humushappofraktio fluoresoi niukasti (Shapiro, 1957, Ghassemi & Christman, 1968, Levesque, 1972, Pennanen & Sederholm, 1974).

Luonnonvesille tavanomaisella pH-alueella (lievästi hapan tai lähes neutraali) fluoresenssin intensiteetti pysyy vakiona, mihin perustuen on esitetty, että kokonaishiilen monitorointi olisi kohtalaisen laajalla pitoisuusalueella mahdollinen fluoresenssimittauksen avulla (Smart et.al., 1976).

4. NÄYTTEIDENOTTOALUEET, NÄYTTEIDEN KÄSITTELY JA MITTAUSMENETELMÄT

4.1. Näytteenottoalueet

Tutkimuksen kohteiksi on valittu vesistöjä ja merialueita, joihin tulee erityyppisten puunjalostustehtaiden jätevesiä. Lignosulfo-naattipitoisuutta on määritetty Oulunjärvestä ja merestä otetuista näytteistä. Vastaavasti sulfaattiligniiniä määritettiin Kemijärven vedestä ja merivedestä. Päijänteen ja Vanajaveden näytteissä voidaan olettaa esiintyvän sekä sulfiitti- että sulfaattiteollisuuden jätevesiä. Inarinjärvi valittiin vertailualueeksi. Hakojärven vesinäytteistä on erotettu humusta standardeiksi. Näytteenottoalueet on merkitty kuvaan 1.



KUVA 1. NÄYTTEIDENOTTOALUEET.

Fig. 1. Sampling areas

Järvet: 1. Inarinjärvi
2. Kemijärvi
3. Oulunjärvi
4. Päijänne
5. Kymijoki
6. Vanajavesi
7. Hakojärvi
8. Lohjanjärvi

Merialueet:

9. SR 8
10. SR 7
11. SR 5
12. US 6
13. US 5 b
14. RR 8
15. F 2 a

Näytteet on otettu useista eri syvyyksistä useimmiten kuitenkin 1 m:n tai 5 m:n syvyydeltä.

4.2. Näytteiden käsittely

Näytteet kerättiin 0,5 l hapolla pestyihin lasipulloihin, joiden sisältö suojattiin valolta alumiinifoliolla. Pullot säilytettiin jääkaapissa (4°C).

Ligniinin ja humuksen määrittämiseksi vesinäytteistä kokeiltiin mittauksia sekä käsittelemättömistä näytteistä että eri tavoin esikäsitellyistä näytteistä.

Pelkistys. Eräät ligniinin ja humuksen sisältämät funktionaaliset ryhmät kuten karbonyyliryhmät, voivat vähentää fluoresenssin intensiteettiä. Karbonyyliryhmien pelkistystä alkoholiryhmiksi kokeiltiin natriumboorihydridillä Nyqvistin menetelmän mukaisesti (Nyqvist, 1979).

Puskurointi. Ligniini ja humuksen karboksyyli- ja fenoliryhmät aiheuttavat liuoksessa monimutkaisia happo- ja emästasapainoreaktioita. Näytteiden pH säädettiin Sörensen puskurilla pH 4,3-4,5 ennen mittausta.

Dioksaanikäsitteily. Vesistönäytteiden sisältämä orgaaninen aines on osittain kolloidisena. Kolloidin liuottamiseksi vesinäytteisiin lisätään orgaanista liuotinta. Kaupallista dioksaania lisättiin näytteisiin suhteessa 1:1 ja näytteitä seisotettiin 2 tuntia ennen mittausta.

4.3 M i t t a u s m e n e t e l m ä t

4.31 Yleistä fluoresenssispektrometriasta

Mittausmenetelmäksi valittiin fluoresenssispektrometria. Fluoresenssimittauksen suurin etu on sen herkkyys, joka rutiinilaitteellakin on 100-kertainen valonabsorptiomittauksiin verrattuna.

Absorboidessaan sähkömagneettisen säteilyn valokvantteja ultravioletti- tai näkyvältä alueelta molekyyli siirtyy perustilastaan virittyneeseen tilaan. Molekyylin palatessa takaisin perustilaansa energiasiirtymiä tapahtuu eri mekanismeilla. Näistä ne prosessit, joissa molekyyli emittoi sähkömagneettista säteilyä, aiheuttavat fluoresenssia tai fosforensia. Fluoresenssi on lyhytikäinen, primäärinen prosessi, joka on tyypillinen mm. aromaattisille orgaanisille yhdisteille laimeissa liuoksissa huoneen lämpötilassa. Fosforenssi kilpailee tehokkaasti fluoresenssin kanssa mikäli molekyylissä on karbonyyliryhmiä, laajoja konjugoituja systeemejä tai raskaita atomeja.

Fluoresenssin aallonpituus (emission aallonpituus) on riippuvainen absorptioaallonpituudesta (eksitaatio-, viritys- eli herätevalon aallonpituus) ja vaihtelee aineen rakenteen mukaan. Valitsemalla tarkoin herätevalon aallonpituus on mahdollista selektiivisesti mitata eri absorptiojuovien ja/tai eri aineiden fluoresenssispektrit samasta näytteestä. Fluoresenssin intensiteetti on suoraan verrannollinen emittoivan aineen konsentraatioon laimeissa liuoksissa.

4.32 Spektrofluorometri

Spektrofluorimetrin oleelliset osat ovat valolähde, herätevalo- tai eksitaatiomonokromaattori, kyvettikammio, fluoresenssi- tai emissiomonokromaattori, detektori, vahvistin ja piirturi.

Valolähteenä on yleisesti elohopea- tai ksenonlamppu. Ksenonlampun intensiteetti on pienempi kuin elohopealampun. Valolähteiden suuresta tehosta (150-200 W) johtuen on usein joko ilma- tai vesijäähdytys välttämätön. Näitä valolähteitä käytettäessä niiden intensiteetti pienenee, joten sitä on seurattava käytön yhteydessä.

Herätevalo- ja fluoresenssimonokromaattorit ovat tavallisesti identtisiä. Hilamonokromaattorit ovat yleisesti käytettyjä spektrofluorometreissa. Detektorina spektrofluorometreissa käytetään valomonistinputkea. Valomonistinputken herkkyys ei ole kuitenkaan sama koko spektrialueella. Kyvettikammion rakenne on spektrofluorometrissä erittäin tärkeä, koska hajavalo ja sironnut valo häiritsevät fluoresenssiemission mittausta. Fluoresenssia voidaan mitata kohtisuoraan herätevaloa vastaan. Tätä menetelmää käytetään yleisesti laimeiden liuosten tutkimiseen.

Kvartsi on paras kyvettimateriaali fluoresenssimittauksissa. On kuitenkin muistettava, että eräät kvartsilaadut fluoresoivat voimakkaasti alhaisilla herätevalon aallonpituuksilla.

4.33 Laitekohtaisten muuttujien oikaisu ja spektrin korjaus

Kaupalliset spektrofluorometrit mittaavat spektrejä, jotka ovat erittäin suuressa määrin riippuvaisia laitteen sisäisistä muuttujista, mikäli laite ei ole varustettu elektronisella laskijalla. Jotta olisi mahdollista verrata mitattua fluoresenssispektriä esim. absorptiospektriin, se on korjattava jokaiselle laitteelle ominaisten oikaisukäyrien avulla (Sundholm, 1972).

Spektrien oikaisu voidaan myös suorittaa riittävän tarkasti vertaamalla niitä tunnetuilla standardeilla mitattuihin spektreihin, tai korjattuja spektrejä mittaavan laitteen vastaavien näytteiden

spektreihin. Tässä työssä on käytetty rinnan kumpaakin menetelmää.

4.34 Fluoresenssispektrien mittaaminen vesinäytteistä

Ligniini- ja humusyhdisteet ovat kemiallisesti samankaltaisia ja niiden selektiivinen määrittäminen samasta näytteestä on osoittautunut vaikeaksi käytössä olevilla klassisilla absorptiomittauksilla (Nordforsk, 1978). Ligniinin ja humuksen emissiomaksimien aallonpituudet eroavat kuitenkin toisistaan, joten niiden rinnakkaismääritys samasta näytteestä fluoresenssimittauksella on mahdollista. Määrityksen selektiivisyyttä on lisätty esikäsitteilyllä: pelkistys, puskurointi tai dioksaanilisäys.

Heräteaallonpituudeksi mittauksessa valittiin käsittelemättömille näytteille, pelkistetyille ja dioksaanipitoisille näytteille 315 nm, puskuroiduille näytteille 290 nm. Emissiospektri mitattiin säätelämällä herätevalon rakoa 1 mm ja emissiovalon rakoa 2 mm, sekä herkkyysasteikkoa, joka oli lineaarinen: 0,3;1 tai vastaavasti 3 %. Emissiospektrit rekisteröitiin alueelta 320-430 nm. Kyvetinä mittauksissa oli vakio 10 mm kvartsikyvetti.

4.35 Tulosten laskeminen spektreistä

Vesistönäytteistä määritettiin joko humus- ja sulfaattiligniini- tai humus- ja lignosulfonaattipitoisuudet. Lisäksi kokeiltiin myös kolmen komponentin määrittämistä näytteestä samanaikaisesti.

Humuksen ja lignosulfonaatin rinnakkaismääritys

A. Kokonaismääritys

Tätä laskumenetelmää on käytetty lignosulfonaatti- ja humuspitoisuuksien määrittämiseen puskuroidusta liuoksesta (pH 4,3-4,5). Humus- ja lignosulfonaattipitoisuudet saadaan eri aallonpituuksissa mitatuista intensiteeteistä seuraavasti:

$$390 \text{ nm} : Y = B_L C_L + B_H C_H \quad (1)$$

$$425 \text{ nm} : Z = D_L C_L + D_H C_H \quad (2)$$

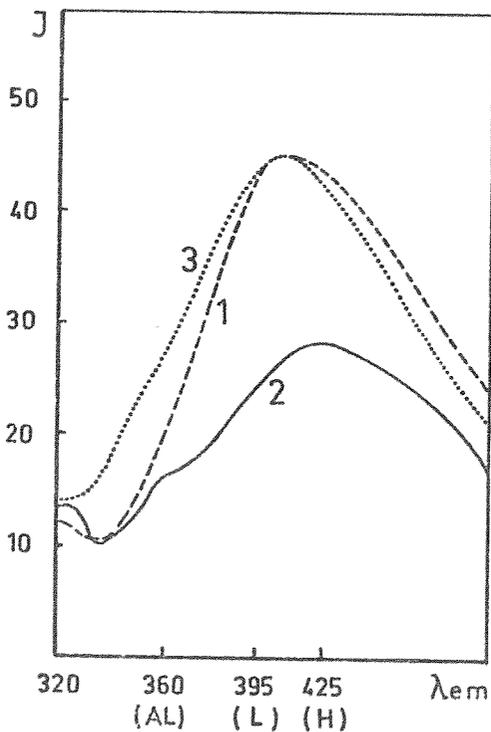
$$C_L = \frac{Z B_H - Y D_H}{B_H D_L - B_L D_H} \quad (3)$$

$$C_H = \frac{Y D_L - Z B_L}{B_H D_L - B_L D_H} \quad (4)$$

missä Y ja Z ovat mitattuja emissiointensiteettejä, B ja D standardikäyrien kertoimet, C_L ja C_H ovat lignosulfonaatin ja humuksen konsentraatiot. Humuksen ja lignosulfonaatin spektri on esitetty kuvassa 2. (käyrä 1).

KUVA 2. Ligniinin- ja humusseoksien fluoresenssispektrit

FIG. 2. Fluorescence spectra of lignin and humic substances in aqueous solution



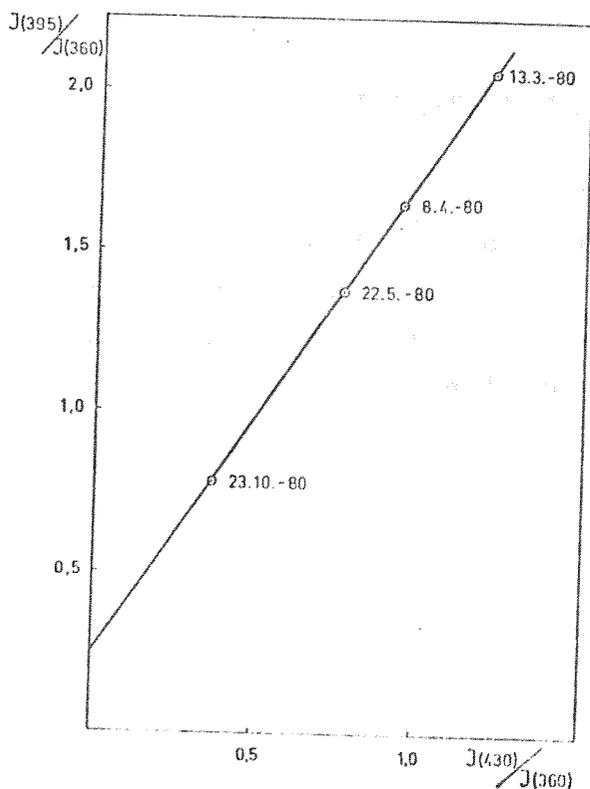
1. Humus-lignosulfonaattiseos (10 mg/l H + 1 mg/l L)
Humic substances and lignosulfonate
2. Humus-sulfaattiligniini-seos (7 mg/l H + 2 mg/l AL)
Humic substances and kraft lignin
3. Humus-lignosulfonaattisulfaattiligniini-seos (10 mg/l H + 1 mg/l L + 5 mg/l AL)
Humic substances, lignosulfonate and kraft lignin

$\lambda_{ex} = 290 \text{ nm}$, pH 4,3-4,5

B. Lignosulfonaatin muuttuminen huomioituna

Tätä menetelmää on käytetty etupäässä tuloksien laskennassa ja nimetään jatkossa kaksikomponenttimenetelmäksi. Lignosulfonaattia sisältävien vesistönäytteiden emissiospektrit muuttuvat ajan funktiona johtuen lignosulfonaatissa tapahtuvista reaktioista.

Tuoreen lignosulfonaattiliuoksen emissiospektrin maksimi sijaitsee 395 nm:ssa, humuksen 430 nm:ssa heräteaallonpituuden ollessa 290 nm. Lignosulfonaattiliuosten spektrien muuttuminen ajan mukana voidaan ottaa huomioon tuloksia laskettaessa siten, että käytetään vertailuarvoina sopivalla aallonpituudella olevaa emissiointensiteettiä, johon vanhenemisilmiö ei vaikuta. Täksi vertailuaallonpituudeksi valittiin 360 nm. On havaittu, että emissiointensiteettien pieneneminen aallonpituuksilla 395 ja 430 nm tapahtuu samalla nopeudella. Vanhenemisilmiö voidaan ottaa laskuissa huomioon määrittämällä intensiteettien $I(395)$ ja $I(430)$ välinen suhde käyttäen emissiointensiteettiä $I(360)$ vertailuarvoina. Kuvassa 3 esitetty suora ($I(395)/I(360)$ vs $I(430)/I(360)$) perustuu mittauksiin, joita suoritettiin eri ikäisillä 5 mg/l lignosulfonaattiliuoksilla n. 7 kk:n ajan. Liuoksia säilytettiin valolta suojattuna huoneenlämmössä. Suoran kulmakerroin ($k=1,52$) ja y-akselin leikkauspiste ($M=0,21$) on huomioitu laskukaavoissa.



KUVA 3. Suhteiden $I(395)/I(360)$ ja $I(430)/I(360)$ välinen riippuvuus. Suoran yhtälö on $1,52x+0,21$.

FIG. 3. The relation between the ratios $I(395)/I(360)$ and $I(430)/I(360)$. The equation for the straight line is $y = 1,52x + 0,21$

Humuksen ja lignosulfonaatin standardikäyrien kulmakertoimet eri aallonpituuksissa kuvaavat ko. yhdisteiden emissiointensiteetti-
osuutta summaspektrissä:

$$360 \text{ nm: } X = A_L C_L + A_H C_H \quad (5)$$

$$395 \text{ nm: } Y = B_L C_L + B_H C_H \quad (6)$$

$$430 \text{ nm: } Z = D_L C_L + D_H C_H \quad (7)$$

missä X, Y ja Z ovat emissiointensiteettejä, A, B ja D standardi-
käyrien kulmakertoimet. C_L ja C_H ovat lignosulfonaatin ja humuk-
sen konsentraatiot. Muuttuminen ajan funktiona voidaan kuvata kaa-
valla:

$$\text{eli } B_L/A_L = k(D_L/A_L) + M \quad (8a)$$

$$B_L = k D_L + M A_L \quad (8b)$$

Kaavojen (5) ja (6) perusteella voidaan laskea konsentraatiot:

$$C_L = (YD_H - Z B_H)/(B_L D_H - B_H D_L) \quad (9)$$

$$C_H = (Z B_L - YD_L)/(B_L D_H - B_H D_L) \quad (10)$$

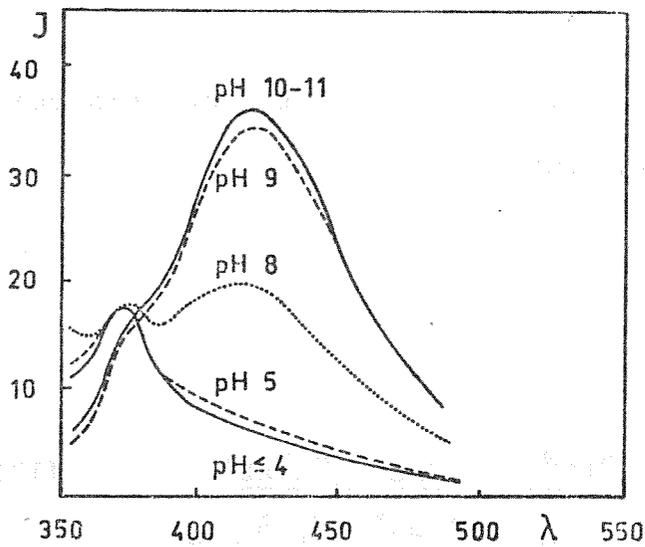
Kerroin D_L lasketaan kaavojen (5), (8b), (9) ja (10) avulla.

$$D_L = \frac{[(ZB_H - YD_H) + M(XD_H - ZA_H)] A_L}{k(ZA_H - XD_H) - YA_H + XB_H} \quad (11)$$

B_L saadaan kaavasta (8b). Muut vakiot (A_H , B_H , D_H ja A_L) saadaan
standardikäyrien kulmakertoimista.

Humuksen ja sulfaattiligniinin rinnakkaismääritys

Puskuroimattomassa vesinäytteessä sulfaattiligniinin ja humuksen
spektrit peittävät osittain toisiaan. Sulfaattiligniinin emissio-
spektrejä eri pH:ssa on esitetty kuvassa 4. Puskuroidussa liuok-
sessa sulfaattiligniinin ja humuksen spektrit erottuvat toisistaan
niin, että rinnakkaismääritys on mahdollinen (vrt. kuva 2).



KUVA 4. Sulfaattiligniinin fluoresenssiemissio-
spektri eri pH:ssa.

$\lambda_{ex} = 290 \text{ nm}$

FIG. 4. Fluorescence emission
spektrum of kraft
lignin at different
pH values

Pitoisuuksia määritettäessä mitattiin spektrin suhteellinen emissio-
intensiteetti 360 ja 425 nm:ssä pH:n ollessa 4,3-4,5. Samoja
kaavoja käytettiin laskettaessa tuloksia dioksaanipitoisista liuok-
sista. Pitoisuudet laskettiin seuraavilla kaavoilla:

$$360 \text{ nm: } X = A_{AL} C_{AL} + A_H C_H \quad (12)$$

$$425 \text{ nm: } Z = D_{AL} C_{AL} + D_H C_H \quad (13)$$

$$C_{AL} = \frac{X D_H - Z A_H}{A_{AL} D_H - D_{AL} A_H} \quad (14)$$

$$C_H = \frac{Z A_{AL} - X D_{AL}}{A_{AL} D_H - D_{AL} A_H} \quad (15)$$

missä X ja Z ovat mitattuja emissiointensiteettejä vastaavissa
aallonpituuksissa, A ja D standardikäyrien kulmakertoimet, C_{AL} ja
 C_H ovat sulfaattiligniinin ja humuksen konsentraatiot.

Humuksen, lignosulfonaatin ja sulfaattiligniinin rinnakkaismääritys

Laskumenetelmää sanotaan jatkossa kolmikomponenttisysteemiksi.

Vesistönäytteissä esiintyy yleisesti kaikkia kolmea komponenttia
(humus, sulfaattiligniini ja lignosulfonaatti) samanaikaisesti.
Niiden rinnakkaismääritys on mahdollinen seuraavalla tulosten

tarkastelulla, jossa on käytetty hyväksi sulfaattiligniinin emissio-
spektrin siirtymää puskuroidussa liuoksessa:

$$360 \text{ nm: } X = A_L C_L + A_{AL} C_{AL} + A_H C_H \quad (16)$$

$$395 \text{ nm: } Y = B_L C_L + B_{AL} C_{AL} + B_H C_H \quad (17)$$

$$425 \text{ nm: } Z = D_L C_L + D_{AL} C_{AL} + D_H C_H \quad (18)$$

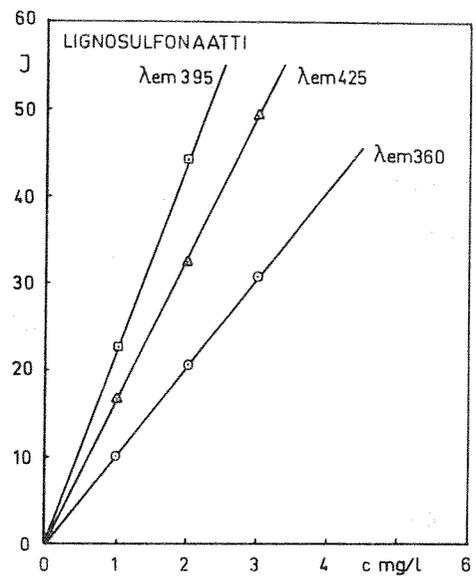
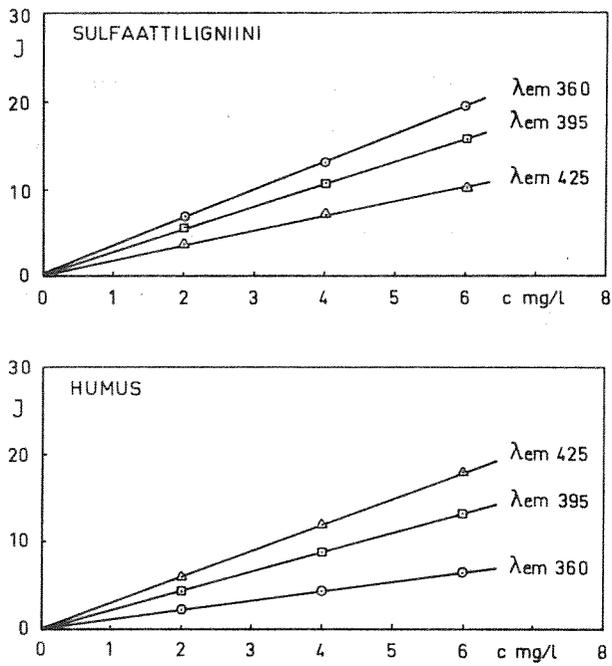
$$C_H = \frac{X(B_{AL} D_L - B_L D_{AL}) + Y(A_L D_{AL} - A_{AL} D_L) + Z(A_{AL} B_L - A_L B_{AL})}{A_H (B_{AL} D_L - B_L D_{AL}) + B_H (A_L D_{AL} - A_{AL} D_L) + D_H (A_{AL} B_L - A_L B_{AL})} \quad (19)$$

$$C_L = \frac{Y A_{AL} - X B_{AL} + B_{AL} A_H C_H - A_{AL} B_H C_H}{A_{AL} B_L - A_L B_{AL}}$$

$$C_{AL} = \frac{X - A_L C_L - A_H C_H}{A_{AL}}$$

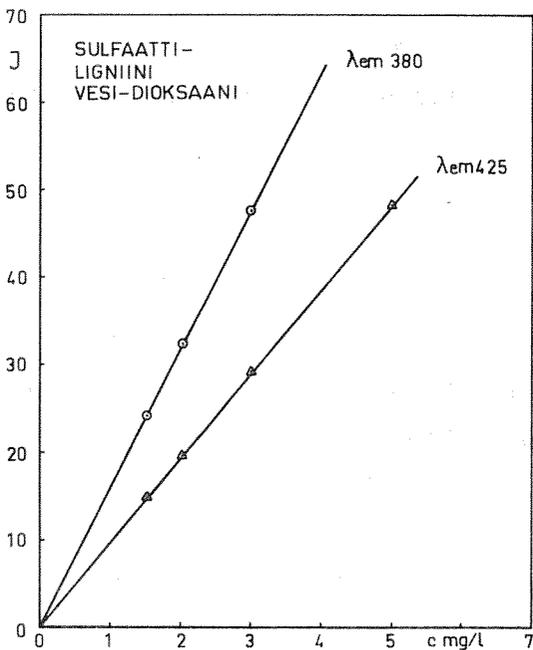
missä, X, Y ja Z ovat mitattuja emissiointensiteettejä vastaavissa aallonpituuksissa, A, B ja D ovat standardikäyrien kulmakertoimet. C_L , C_{AL} ja C_H ovat lignosulfonaatin, sulfaattiligniinin ja humuksen konsentraatiot. Kolmen komponentin seospektri on esitetty kuvassa 2 (käyrä 3).

Standardikäyrät. Humuksen, sulfaattiligniinin ja lignosulfonaatin emissiointensiteetti on lineaarisesti riippuvainen näytteen pitoisuudesta konsentraatioalueella 0,0001-7 mg/l. Standardikäyrät määritettiin suoraan tai epäsuorasti lisäysmenetelmää käyttäen. Standardikäyrät vesiliuoksista on esitetty kuvassa 5.



KUVA 5. Lignosulfonaatin, sulfaattiligniinin ja humuksen standardikäyrät (λ_{ex} 290 nm)

FIG. 5. Calibration curves for lignosulfonate, kraft lignin and humic substances.



KUVA 6. Sulfaattiligniini ja humuksen standardikäyrät vesidioksaani-liuoksessa (λ_{ex} 315 nm)

FIG. 6. Calibration curves for kraft lignin and humic substances in aqueous dioxane.

Lisäysmenetelmä. Tulosten tarkistamiseksi ja mittaustarkkuuden lisäämiseksi on suoritettu mittauksia myös lisäämällä standardi- ja vesistönäytteisiin tunnettu määrä standardiliuosta puskuroituun näytteeseen. Menetelmästä käytetään jatkossa yllämainittua nimeä. Tulokset on laskettu käyttäen kaavoja 3 ja 4 (lignosulfo-naatti ja humus) sekä 14 ja 15 (sulfaattiligniini ja humus).

4.4 L a i t t e e t j a k e m i k a a l i t

Laitteet ja vakionäytteet.

Fluoresenssispektrometrit:

Aminco-Bowman TMSPF J4-8961E

Spektrin korjauksessa käytettiin: Perkin-Elmer MPF-2A

IR-spektrometri: Perkin-Elmer 257

Vakionäytteet:

1 % kiniinisulfaattia 0,05 mol/l rikkihappoliuoksessa ja referenssinäyte, jossa on tetrafenyylibutadieeniä polymeerinäytteessä (Fluorescent Standards 6BF set).

Humus Hakojärvestä ja Jämsänjoesta:

Humuksen erottamiseksi järvivedestä käytettiin kahta eri ionivaihtohartsia: Chelex 100 (Almgren, 1975) ja Amberlite XAD-2. (Mantoura, 1975). Erotetusta humuksesta valmistettujen liuosten fluoresenssiominaisuudet olivat samat kuin vedellä, josta erotus suoritettiin. Chelexillä erotettu humus ei liuennut täydellisesti veteen ilman emäslisäystä, joten pääasiassa käytettiin Amberlite-hartsia. Hakojärven vedestä erotettaessa humussaanto oli 71 %, Jämsänjoen vedestä vastaavasti 66 %. Hakojärven veden humuspitoisuus oli 25 mg/l ja Jämsänjoen 28 mg/l. Humusfraktiot karakterisoitiin IR-spektriin avulla (Taivainen, 1979). 70 % humuksesta edustaa fraktiota, jonka molekyylipaino on 1000-7500.

Natriumlignosulfonaatin (Keskuslaboratorio, Espoo) valmistuksessa raaka-aineena on käytetty kuusipuun sulfiittikeiton jätelientä. Molekyylipainojakautumassa molekyylipainon yli 10 000 omaavien molekyylien osuus on 53,2 %. Metoksyylipitoisuus on 11,1 %. Natriumlignosulfonaatti on vesiliukoinen.

Sulfaattiligniini standardina käytettiin induliinia (Indulin ATR, Westvaco, USA), joka on kuusipuun sulfaattikeiton jätelipeästä eristetty ligniini (Sarkanen, 1971, s. 839).

Muut reagenssit

Ammoniakki, metanoli, ferrikloridi, kiniinisulfaatti, indoli, naftyyliamiini, natriumhydroksidi, kloorivetyhappo, puskuraineet (Titrisol) p.a.-laatuja; 1,4-dioksaani spektroskopia-laatua, natriumboorihydridi (Merck) puskurilaatua. Reagenssit käytettiin sellaisenaan.

5. TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU

5.1 Spektrofluorometrisen menetelmän soveltuvuus ja tarkkuus

Spektrofluorometrinen mittausmenetelmä on herkkä ja nopea. Mittauslaitteen käyttö on yksinkertaista. Vesinäytteet vaativat vain vähäistä esikäsitteilyä. Eri ligniinien ja humuksen rinnakkaismääritys on osoittautunut mahdolliseksi tällä mittausmenetelmällä.

Määritysmenetelmän herkkyys on huomattavasti suurempi kuin esim. UV-absorptiomittauksella voidaan saavuttaa. Havaitsemisraja on edellä selostettua mittausta käyttäen lignosulfonaateille ja sulfaattiligniinille 0,01 mg/l ja humukselle 0,03 mg/l. Luotettava mittausalue on laimentamattomia näytteitä mitattaessa lignosulfonaatille 0,1-4 mg/l, sulfaattiligniinille 0,1-6 mg/l ja humukselle 1-10 mg/l. On mahdollista määrittää tätäkin huomattavasti pienempiä ligniini- ja humuspitoisuuksia.

Suhteellinen keskihajonta mittaussarjassa on 1 %. Tällöin intensiteetteihin vaikuttaa vain laitteen stabiilisuus ja tarkkuus. Mittaus-

sarjojen välillä suhteellinen keskihajonta on suurempi. Yhden komponentin sisältäville standardiliuoksille saatiin puskuroidussa liuoksessa pitoisuudet 95 % luotettavuustasolla ja keskihajonnat seuraavasti:

		mitattu pitoisuus mg/l	suht. keskihajonta
humus	10 mg/l	10,7 [±] 0,4	2 %
sulfaattiligniini	6 mg/l	5,5 [±] 0,4	3 %
lignosulfonaatti	3 mg/l	2,8 [±] 0,3	5 %

Vastaavasti saatiin seuraavat arvot kolmen komponentin puskuroidusta standardiliuoksesta, jossa oli 10 mg/l humusta, 1 mg/l lignosulfonaattia ja 3 mg/l sulfaattiligniiniä:

		mitattu pitoisuus mg/l	suht. keskihajonta
humus		11,3 [±] 1,1	5 %
sulfaattiligniini		3,1 [±] 0,7	10 %
lignosulfonaatti		0,6 [±] 0,2	13 %

Näytteissä ja standardiliuoksissa, joissa määritettiin kaksi komponenttia kerrallaan, saatiin fluoresenssimittauksessa suhteelliset keskihajonnat ja pitoisuudet 95 % luotettavuustasolla seuraavasti:

		mitattu pitoisuus mg/l	suht. keskihajonta
lignosulfonaatti		2,0 [±] 0,7	19 %
humus		7,3 [±] 1,0	7 %
sulfaattiligniini		2,4 [±] 1,0	21 %
humus		6,8 [±] 1,0	9 %
sulfaattiligniini	} dioksaani- vesiliuos	3,7 [±] 0,4	6 %
humus		6,6 [±] 2,4	18 %

Virhe on huomattava, mutta mittausmenettelyn yksinkertaisuuden takia se on ymmärrettävä. Menetelmän toistettavuudeksi on siis saatu noin 15 %. Pitoisuudet on määritetty laimentamattomista näytteistä, jolloin ne vastaavat myös laimentamattomien vesinäytteiden pitoisuuksia. Analyyttisen menetelmän tarkkuus lisääntyy näytteitä laimentamalla, jota on tarkoitus jatkoissa kokeilla. On mahdollista, että seoksen eri komponenteilla on toistensa fluoresenssia sammuttava vaikutus käytetyillä konsentraatioalueilla.

5.2. Mittaustuloksia vesinäytteistä

Vesinäytteitä on kerätty syksyllä 1979 Päijänteeltä ja mereltä, sekä vuonna 1980 elo- ja lokakuussa kaikilta ko. näytteotto-alueilta. Vesihallituksen näytteidenottoalueiden numerot on merkitty taulukkoihin (VH n:o), merialueiden osalta on merkitty merentutkimuslaitoksen numerot (MTL n:o), mikäli sellainen on ollut käytettävissä.

Merivesinäytteet

Näytteidenottoalueet on merkitty kuvaan 1.

Taulukko 1. Lignosulfonaattipitoisuus C_L (mg/l), humuspitoisuus C_H (mg/l) ja sulfaattiligniinipitoisuus C_{AL} (mg/l) Kemian edustalla elokuussa 1980. Tulokset on laskettu sisäistä standardia käyttäen (lisäysmenetelmä ja kaksikomponenttimenetelmällä).

Table 1. Concentration of lignosulfonate (C_L , mg/l), kraft lignin (C_{AL} , mg/l), and humic substances (C_H , mg/l) in samples from the sea area F 2a (Fig. 1) in August 1980.

Havainto- paikka Station	Syvyys (m) Depth	Lisäysmenetelmä Standard addition method		Kaksikomponentti- menetelmä Two components method		Lisäysmenetelmä Standard addition method	
		C_L	C_H	C_L	C_H	C_{AL}	C_H
MTL n:o F 2a	0	0,4	3,4	0,8	3,7	1,4	1,8
	5	0,3	3,8	0,8	3,7	0,7	3,5
	60	0,3	3,7	0,8	3,7	0,4	2,9

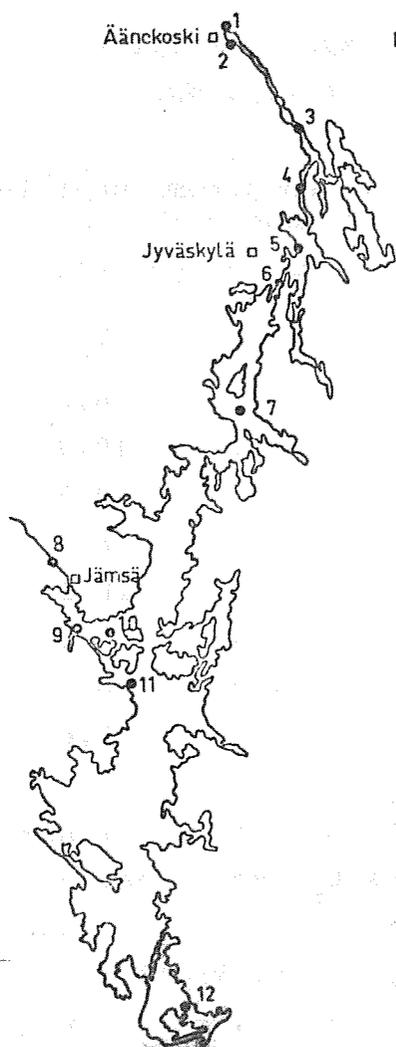
Taulukko 2. Lignosulfonaattipitoisuus C_L (mg/l), sulfaattiligniini-
pitoisuus C_{AL} (mg/l) ja humuspitoisuus C_H (mg/l) meri-
vesinäytteissä, jotka on otettu merentutkimuslaitoksen
toimesta Pohjanlahdella elo-syyskuussa 1980. Tulokset
on laskettu kaksikomponenttimenetelmällä. Sulfaatti-
ligniini määräytyy on suoritettu pH-alueella 4,3-4,5.

Table 2. Concentration of lignosulfonate (C_L , mg/l), kraft
lignin (C_{AL} , mg/l) and humic substances in samples
from different sea areas (Fig. 1) in August and in
September 1980.

Havainto- paikka	Syvyys (m)	Lisäysmenetelmä		Kaksikomponentti- timenetelmä		Lisäysmenetelmä		Dioksaanikäsitteily	
Station	Depth	Standard addition method		Two components method		Standard addition method		Aqueous diorane	
MTL n:o		C_L	C_H	C_L	C_H	C_{AL}	C_H	C_{AL}	C_H
RR 8	0					1,7	3,3	0,1	2,5
	5					1,6	3,2	0,1	2,5
	30					1,7	2,9	0,2	2,1
Raahan edusta US 5 B	0								
	5					2,0	3,4	1,9	1,2
US 6	30								
	0								
	5					2,3	3,4	1,6	0,9
Rauman edusta SR 5 B	20								
	0			0,9	4,4				
	5	0,5	2,6	0,9	4,6				
SR 7	20			0,9	4,8				
	0			0,9	3,9				
	5	0,6	2,1	0,9	4,1				
SR 8	20			0,9	4,8				
	0			1,0	4,7				
	5	0,6	2,6	1,0	4,7				
SR 8	20			1,0	4,7				

KUVA 7. Päijänteen havaintopaikat

FIG. 7. Sampling stations in Päijänne area



1. Virtapaikka 3400
2. " 3500
3. Kuusankoski
4. Virtapaikka 4000
5. Syväne 68
6. Virtapaikka 4100
7. Syväne 70
8. Jämsänkoski
9. Tiirinselkä
10. Syväne 73
11. Syväne 76 B
12. Virtapaikka 4800

Näytteet Päijänteeltä

Taulukko 3. Lignosulfonaattipitoisuus C_L (mg/l) ja humuspitoisuus C_H (mg/l) näytteissä Päijänteeltä syksyllä 1979.

Table 3. Concentration of lignosulfonate (C_L , mg/l) and humic substances (C_H , mg/l) in samples from Päijänne in autumn 1979.

Havaintopaikka		Syvyys (m) Depth	Kaksikomponenttimenetelmä	
Station	VH:n n:o tai nimi (kuva 7.)		C_L	C_H
			Two components method	
8	Jämsänkoski	1	0,1	28,4
9	Tiirinselkä	5	5,3	16,5
10	syv. 73	5	2,4	12,2
11	syv. 76 B	5	0,7	8,9
12	VP 4800	1	0,8	8,0

Taulukko 4. Lignosulfonaattipitoisuus C_L (mg/l), sulfaattiligniini-pitoisuus C_{AL} (mg/l) ja humuspitoisuus C_H (mg/l) Päijänteellä elokuussa 1980.

Table 4. Concentration of lignosulfonate (C_L , mg/l), kraft lignin (C_{AL} , mg/l) and humic substances (C_H , mg/l) in samples from Päijänne in August 1980.

Havaintopaikka		Syvyys	Dioksaanikäsittely			Kaksikomponentti-	
Station		(m)	Aqueous dioxane			method	
N:o	VH:n n:o tai nimi	Depth	C_{AL}	C_H	C_L	C_H	
1	VP 3400	1	0,6	4,6	1,0	6,2	
3	Kuusankoski	1	3,1	7,8	3,3	10,9	
4	VP 4000	1	2,0	7,2	2,4	10,3	
5	syv. 68	5	1,4	6,2	1,1	8,3	
6	VP 4100	1	1,2	7,0	1,8	10,6	
7	syv. 70	5	0,7	6,9	1,4	9,2	
11	syv. 76B	5	1,0	6,4	1,3	8,1	
12	VP 4800	1	0,3	6,3	1,2	7,6	

Taulukko 5. Lignosulfonaattipitoisuus C_L (mg/l), sulfaattiligniini-pitoisuus C_{AL} (mg/l) ja humuspitoisuus C_H (mg/l) näyt-teissä Päijänteeltä lokakuussa 1980.

Table 5. Concentration of lignosulfonate (C_L , mg/l), kraft lignin (C_{AL} , mg/l) and humic substances (C_H , mg/l) in samples from Päijänne in October 1980.

Havaintopaikka		Syvyys	Lisäysmenetelmä			Lisäysmenetelmä			Dioksaanikäsittely		Kaksikomponentti-
Station		(m)	(lis. LS)			(lis. AL)			Aqueous dioxane		method
n:o	VH:n n:o tai nimi	Depth	Standard addition method			Standard addition method			C_H	C_{AL}	C_L
1	VP 3400	1	9,4	0,7	1,3	10,0	0,6	1,5	7,5	0,4	1,4
2	VP 3500	1	20,5	2,2	8,7	12,8	3,1	9,8	19,5	4,5	4,2
4	VP 4000	1	12,2	1,1	7,0	14,9	1,4	5,1	9,9	4,5	3,3
3	Kuusankoski	1	16,6	1,7	7,2	14,9	1,8	3,8	16,3	4,7	3,9
6	VP 4100	1	8,2	1,3	5,3	17,3	0,5	7,6	9,6	3,3	3,0



KUVA 8. Oulunjärven havaintopaikat

FIG. 8. Sampling stations in lake Oulunjärvi.

1. Virtapaikka 12 200
2. Paltajärvi 7
3. Syväne 157
4. Syväne 138
5. Syväne 139

Näytteet Oulun- ja Inarinjärveltä

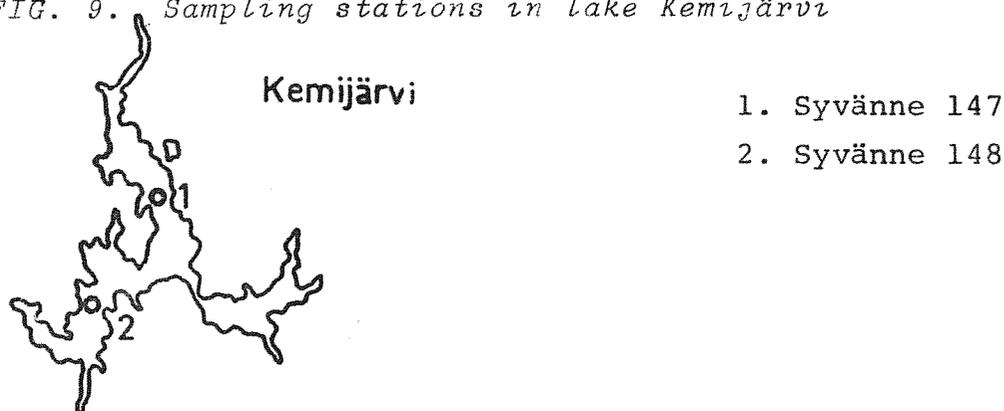
Taulukko 6. Lignosulfonaattipitoisuus C_L (mg/l) ja humuspitoisuus C_H (mg/l) näytteissä Oulunjärveltä ja Inarinjärveltä elokuussa 1980.

Table 6. Concentration of lignosulfonate (C_L , mg/l) and humic substances (C_H , mg/l) in samples from Oulunjärvi and in Inarinjärvi in August 1980.

Havaintopaikka		Syvyys (m)	Lisäysmenetelmä		Kaksikomponentti- menetelmä	
Station (kuva 8)			Standard addition method		Two components method	
n:o	VH:n n:o tai nimi		C_L	C_H	C_L	C_H
1	Oulunjärvi VP 12200	1	-	-	5,2	12,8
2	Paltajärvi 7	1	5,6	15,2	6,4	14,5
		5	5,6	14,2	6,4	14,0
		10	-	-	4,9	14,4
		15,5	3,5	13,7	3,9	14,1
3	Syv. 157	1	1,2	13,4	1,7	14,9
		5	1,7	13,3	2,4	15,0
		9	0,9	13,1	1,5	15,0
4	Syv. 138	1	0,6	14,4	1,2	14,7
		5	0,6	14,1	1,2	15,5
		10	0,5	12,9	1,2	14,9
		15	0,4	13,4	1,1	15,0
		29	0,4	13,5	1,4	10,7
5	Syv. 139	5	0,5	13,7	1,2	14,5
	Inarinjärvi Syv. 150	5	0,1	6,9	0,5	6,5

KUVA 9. Kemijärven havaintopaikat

FIG. 9. Sampling stations in lake Kemijärvi



Näytteet Kemi- ja Inarinjärveltä

Taulukko 7. Sulfaattiligniinipitoisuus C_{AL} (mg/l) ja humuspitoisuus C_H (mg/l) näytteissä Kemi- ja Inarinjärveltä elokuussa 1980.

Table 7. Concentration of kraft lignin (C_{AL} , mg/l) and humic substances (C_H , mg/l) in samples from Kemijärvi and Inarinjärvi in August 1980.

Havaintopaikka		Syvyys (m) Depth	Lisäysmenetelmä		Dioksaanikäsittely	
Station (kuva 9)			Standard addition method		Aqueous dioxane	
N:o	VH:n n:o tai nimi		C_{AL}	C_H	C_{AL}	C_H
Kemijärvi						
1	Syv. 147	5	0,8	11,4	0,2	7,5
2	Syv. 148	5	0,1	10,8	0,1	7,3
Inarinjärvi						
	Syv. 150	5	0,6	6,6	0,1	4,2

Näytteet Lohjanjärveltä ja Vanajavedeltä

Näytteenottoalueet on esitetty kuvassa 1.

Taulukko 8. Lignosulfonaattipitoisuus C_L (mg/l), sulfaattiligniini-
pitoisuus C_{AL} (mg/l) ja humuspitoisuus C_H (mg/l) näyt-
teissä Lohjanjärveltä ja Vanajavedeltä kevättalvella
1980.

Table 8. Concentration of lignosulfonate (C_L , mg/l), kraft
lignin (C_{AL} , mg/l) and humic substances (C_H , mg/l)
in samples from Lohjanjärvi and Vanajavesi in
winter 1980.

Havaintopaikka	Syvyys	Kolmikomponenttimenetelmä			
	(m)				
Station	Depth	Three components method			
		C_H	C_L	C_{AL}	
Lohjanjärvi					
Havaintopiste	10	1	13,6	0,1	1,9
	10	11,5	1,6	0,1	2,7
	53	1	12,9	0,1	1,9
	53	8,5	11,9	0,2	3,0
Vanajavesi					
VP 7300	1	9,1	0,5	8,5	
	21	9,8	0,5	7,5	
Syv. 99	1	12,0	0,3	6,2	
	4	9,5	0,5	7,6	

Näytteet Kymijoenalta

Näytteenottoalue on esitetty kuvassa 1.

Taulukko 9. Lignosulfonaattipitoisuus C_L (mg/l), sulfaattiligniini-
pitoisuus C_{AL} (mg/l) ja humuspitoisuus C_H (mg/l) Kymi-
joella tammikuussa 1980.

Table 9. Concentration of lignosulfonate (C_L , mg/l), kraft lignin
(C_{AL} , mg/l) and humic substances (C_H , mg/l) in samples
from Kymijoki in January 1980.

Havaintopaikka	Syvyys (m)	Kolmikomponentti menetelmä		
Station	Depth	Three components method		
		C_H	C_L	C_{AL}
Kuusankosken maan- tiesilta	1	8,1	0,4	1,4
Keltti	1	8,1	0,4	1,4

5.3 Tulosten tarkastelu

Näytteiden esikäsittelyssä on pyritty yksinkertaisuuteen. On mahdol-
lista, että perusteellisempi kemiallinen käsittely lisäisi määrittä-
menetelmän tarkkuutta, mutta käytännöllisten ja taloudellisten näkö-
kohtien vuoksi näytteet ainoastaan puskuroitiin tai niihin lisättiin
liuottimeksi dioksaania.

Pelkistysmenettelystä on luovuttu, koska osoittautui, että merivesi-
näytteisiin hyvin tuloksin sovellettu boorihydridikäsittely (Nyqvist,
1979) ei merkittävästi lisännyt esim. lignosulfonaatin emissiointen-
siteettiä järvi- ja jokivesinäytteissä. Lisäksi lignosulfonaatin
osalta oli vaikeuksia saada yksikäsitteisiä tuloksia, koska pelkis-
tyksen viimeisen vaiheen (boorihydridiylimäärän hajottaminen HCl:lla)
jälkeen liuoksen fluoresenssiemissio ei pysynyt vakiona, vaan laski
nopeasti kymmeniä prosentteja. Merivesissä pohjan läheisyydessä
usein esiintyvät pelkistävät olosuhteet aiheuttavat sen, että pinnas-
ta ja läheltä pohjaa otetuista näytteistä ei saada vertailukelpoi-
sia lignosulfonaattituloksia.

Happo-emäs-tasapainoilla sen sijaan on ratkaiseva vaikutus määrittämisen selektiivisyyteen ja tarkkuuteen. Lignosulfonaatin fluoresenssiemission intensiteetti ja maksimi-intensiteetin aallonpituus muuttuvat pH:n muuttuessa. Emissiointensiteetti spektrin korkeutena mitattuna on suurimmillaan pH:ssa 4-5.

Humuksen fluoresenssiemission pH:n vaikutus on vähäistä. Jos pH on pienempi kuin 3, emissiointensiteetti kuitenkin pienenee.

Sulfaattiligniinin fluoresenssispektri muuttuu pH:n funktiona (vrt. malliaineella saadut spektrit kuvassa 2). Sulfaattiligniinille tyypillinen maksimi on aallonpituudella 360 nm (pH 4,3-4,5), joka näkyy myös happamassa liuoksessa. Tämä tekee mahdolliseksi toisaalta humuksen ja sulfaattiligniinin rinnakkaismäärittämisen, toisaalta lignosulfaatin, sulfaattiligniinin ja humuksen rinnakkaismäärittämisen. Paras erotus kolmen komponentin spektrissä on saatu pH:n ollessa 4,3-4,5, joten spektrit on mitattu tässä happamuudessa. Lisäksi todettiin, että sulfaattiligniinin määrittäminen vesinäytteistä suoraan ilman esikäsitteilyä on epävarmaa.

Eräissä poolisissa liuottimissa kuten tetrahydrofuraanissa, dimeetyylisulfoksidissa ja dioksaanissa lignosulfonihappojen ja sulfaattiligniinin fluoresenssiintensiteetti on suurempi kuin vesiliuoksissa. Tämä johtuu ainakin osittain siitä, että ligniini voi esiintyä kolloidisena vesiliuoksessa, mutta liuenneena orgaanisissa liuottimissa (Sarkanen, 1971). Vesiliukoisen liuottimen lisäys ligniinipitoiseen vesinäytteeseen nostaa ligniinin fluoresenssi-intensiteettiä. Tässä työssä kokeiltu dioksaanilisäys antaa vertailukelpoisia mittaustuloksia parantaen menetelmän tarkkuutta sulfaattiligniinin määrittämisessä.

Määrittäytuloksien laskemista mitatuista spektrien intensiteeteistä on kokeiltu usealla tavalla. Malliaineiden standardiliuoksilla saavutettu tarkkuus on tyydyttävä, mutta on parannettavissa mm. seuraavasti:

- Laitesäädöillä: Aallonpituus- ja intensiteettiasteikkojen laajentaminen vähentää arviointivirheitä laskuja varten tarvittavissa intensiteettiluvuissa.
- Näytteitä laimentamalla: Fluoresenssimittauksista pääosa on suoritettu pitoisuusalueella, jossa fluoresenssin pitoisuussammutus on mahdollinen. Tähän viittaa myös dioksaanilisäyksen vaikutus fluoresenssi-intensiteettiin.
- Kaksikomponenttimenetelmällä puskuroimattomassa liuoksessa saadut tulokset ovat vielä alustavia, koska lignosulfonaatin vanhemisilmiön seuranta jatkuu ja tulosten laskemisessa käytetyt k- ja M-kertoimet eivät ole vielä lopullisia. Kertoimien arvon tarkistus on välttämätön.
- Sulfaattiligniini määrityksen yhteydessä esiintyviä vaikeuksia voidaan myös vähentää suorittamalla numeerista käsittelyä uudelleen suuremmalla lukumäärällä kokeellisia tuloksia.

Laskumenetelmistä kahden komponentin samanaikainen määrittäminen on antanut luotettavampia tuloksia kuin kolmen komponentin rinnakkaismäärittäminen. Kokemukset jälkimmäisestä menetelmästä ovat kuitenkin vähäisiä ja menetelmän vertailukelpoisuutta tarkistetaan.

Oulunjärveen tulee puunjalostusteollisuuden jätevesiä ainoastaan sulfiittitehtaalta Kajaanista. Taulukoissa 6 ja 7 näytteenotto- paikat ovat etäisyysjärjestyksessä tehtaasta. Vertailun vuoksi on ilmoitettu myös Inarinjärvestä saadut tulokset: Eri määrittämenetelmillä saaduissa tuloksissa ei humuspitoisuuksissa ole todettavissa huomattavaa eroa. Samoin kuin merivesinäytteissä (taulukot 1-2) lignosulfonaatin osalta alustavat kaksikomponenttimenetelmällä saadut tulokset ovat suurempia kuin lisäysmenetelmällä saadut tulokset. Myös Inarinjärvestä saatu lignosulfonaattipitoisuus (0,52 mg/l) viittaisi siihen, että arviointi (k, M)- kertoimilla (kaksikomponenttimenetelmä) antaa liian suuria tuloksia.

Sulfaattiligniinin määrittäminen vesinäytteistä suoraan ilman esikäsittelyä todettiin epävarmaksi. Elokuussa otetuista näytteistä sulfaattiligniinin ja humuksen määrittäminen suoritettiin myös käsittelemällä dioksaanilla (taulukko 7).

Dioksaanikäsittelyllä saadut tulokset ovat sekä sulfaattiligniinin että humuksen osalta pienempiä kuin lisäysmenetelmällä saadut tulokset. On todennäköistä, että myös lisäysmenetelmällä saadaan liian suuria tuloksia. Tähän viittaavat merivedestä saadut tulokset (taulukko 2). Oikeata pitoisuustasoa ei näiden alustavien tutkimusten perusteella pystytä vielä varmistamaan. On mm. syytä epäillä, että dioksaanikäsittelyllä saadut humuspitoisuudet ovat liian pieniä (taulukko 2 ja 7).

Lignosulfonaatin ja humuksen rinnakkaismäärittystä merivedestä Kemin edustalta otetuista näytteistä suoritettiin sekä kaksikomponenttimenetelmällä että lisäysmenetelmällä (taulukko 1). Edellisellä menetelmällä saadut tulokset ovat noin kaksinkertaiset verrattuna lisäysmenetelmällä saatuihin tuloksiin lignosulfonaatin osalta. Nyqvist on esittänyt samalta alueelta lignosulfonaattipitoisuuksia 0,2-0,3 mg/l ja humuspitoisuuksia 2,5-3,0 mg/l (Nyqvist, 1979).

Osa näytteistä otettiin vesistöistä, joissa esiintyy sekä sulfiittia että sulfaattitehtaiden vaikutusta (Vanajavesi ja Päijänne). Näiden näytteiden määrittäminen on osoittautunut vaikeaksi. Ainoana menettelynä toistaiseksi on käytetty sulfaattiligniinin määrittämistä dioksaanikäsittelyn jälkeen ja lignosulfonaatin määrittämistä kaksikomponenttimenetelmällä. Päijänteen tuloksissa havaintopaikka VH:n n:o 3400 on tehtaiden vaikutuksen yläpuolista vesistöä (taulukko 4).

Äänekosken tehtaiden sekä sulfaatti- että sulfiittijätevesien vaikutus ulottuu Päijänteellä syvänehavaintopaikkaan 70 asti. Lisäksi Jämsänkosken sulfiittitehtaiden vaikutusta esiintyy Päijänteen syvänehavaintopaikasta 76 B alaspäin.

Taulukosta 4 ilmenee myös, että dioksaanikäsittelyllä sulfaattiligniinin määrittämisessä ja kaksikomponenttimenetelmällä lignosulfonaatin määrittämisessä saadut humuspitoisuudet poikkeavat keskimäärin n. 30 % toisistaan. Kaksikomponenttimenetelyssä spektrissä sulfaattiligniinin ja humuksen maksimikohdat ovat lähekkäin, jolloin sulfaattiligniinin esiintyminen todennäköisesti vaikuttaa siten, että tuloksia laskettaessa saadaan yleensä

liian suuria humuspitoisuuksia. Dioksaanikäsittely antaa mahdollisesti taas hieman liian pieniä humuspitoisuuksia.

Satunnaisiin eroavuuksiin vesinäytteissä syynä voi olla fluoresenssiä häiritsevät tekijät, joita ei ole huomioitu.

5.4. Analyysimenetelmän jatkotutkimustarve Tutkimukseen saaturahoitus

Lignosulfonaattien, sulfaattiligniinin ja humuksen samanaikainen määrittäminen vesistöjä tutkivissa on tärkeää. Puunjalostusteollisuuden jätevesien vaikutusalueen luotettava arviointi on mahdollista vasta, kun on käytettävissä riittävän spesifiset ja luotettavat analyysimenetelmät orgaanisen kokonaiskuormituksen eri komponenttien määrittämiseksi. Mainittujen aineiden määrittämiseen tässä työssä esitelty spektrofotometrinen menetelmä tarjoaa kehittelykelpoisen lähtökohdan jatkotutkimuksille. Rahoitusvaikeuksien takia kokeilu kuitenkin keskeytyy toistaiseksi.

Maj ja Tor Nessling säätiö on myöntänyt varoja tähän tutkimukseen syyskuusta 1979 joulukuuhun 1980. Tästä avustuksesta työryhmä lausuu kiitoksensa.

6. YHTEENVETO

Työn tarkoituksena oli kehittää selektiivinen, rutiinityöskentelyyn soveltuva spektrofluorometrinen menetelmä veden sisältämän lignosulfonaatin, sulfaattiligniinin ja humuksen määrittämiseksi samasta vesinäytteestä. Näiden aineiden määrittäminen on olennaista vesistöjen orgaanisen kuormituksen tarkkailussa.

Työssä todettiin, että lignosulfonaatin, sulfaattiligniinin ja humuksen rinnakkaismääritykset ovat mahdollisia spektrofluorometrisesti. Spektrofluorometrinen mittausmenetelmä on herkkä ja nopea. Vesinäytteet vaativat vain vähäistä esikäsittelyä. Pitoisuusalueella 0,1-5 mg/l saatiin luotettavia tuloksia sekä ligniinille että humukselle. Näissä määrityksissä menetelmän suhteellinen keskihajonta vesinäytteille

oli noin 15 %. Tarkkuutta on mahdollista parantaa näytteiden laimennuksilla, laitesäädöillä ja häiritseviä epäpuhtauksia poistamalla. Myös tuloksien tietokonekäsittely lisää menetelmän luotettavuutta. Rutiinimäärityksessä havaitsemisrajaksi saatiin ligniinille 0,01 mg/l ja humukselle 0,03 mg/l. Menetelmän selektiivisyyden lisäämiseksi kokeiltiin kemiallista esikäsittelyä; pelkistystä, puskurointia ja dioksaanikäsittelyä.

Näytteitä otettiin eri tavalla kuormitetuista vesistöistä sekä järvistä että merestä. Ligniinin ohella kaikissa näytteissä oli humusta. Lignosulfonaattia määritettäessä on huomioitu lignosulfonaattien kemiallisista reaktioista johtuva intensiteetin muuttuminen vesistöissä. Humuksen ja sulfaattiligniinin kohdalla ei mainittua korjausta tarvita. Lignosulfonaattia ja sulfaattiligniiniä määritettiin puskuroiduista näytteistä (pH 4,3-4,5). Tällöin sulfaattiligniinin, lignosulfaatin ja humuksen emissiomaksimit erottuvat parhaiten toisistaan. Dioksaanikäsittely lisäsi sulfaattiligniinin fluoresenssi-intensiteettiä.

Fluoresenssimittausta voidaan käyttää sellaisenaan veden laadun tarkkailuun lignosulfaatin, sulfaattiligniinin ja humuksen osalta. Koska menetelmä on kehitetty selektiiviseksi näiden kolmen komponentin suhteen, se soveltuu käytettäväksi vesistönäytteisiin joiden avulla seurataan puunjalostusteollisuuden ligniinipäästöjen kulkeutumista ja laimenumista vesistöissä. Humuksen määrittämisellä on myös mahdollista arvioida vesistöjen luonnollista orgaanista kuormitusta.

Mittausmenetelmän tarkkuutta, varsinkin kolmikomponenttimenetelmällä on mahdollista parantaa mm. laitesäädöillä, laimennuksella ja tuloksien tietokonekäsittelyllä. Raportissa selostetaan alustavia kokeita, jotka rahoituksen loppuessa kuitenkin keskeytyvät toistaiseksi.

7. S U M M A R Y

The aim of the investigation was to develop a selective spectrophotometric method to determine lignosulfonates, kraft lignin and humic substances in water in routine analyses. The quantitative determination of these compounds is essential in estimating the total organic load of natural waters.

It was found that simultaneous determination of lignosulfonates, kraft lignin and humic substances is possible by fluorometry. The method is sensitive and rapid. The samples need only little pretreatment. The results were reliable for lignin and humic substances within the concentration range 0,1-5 mg/l. The relative standard deviation in determinations was 15 %.

It is possible to develop the method and increase its accuracy by diluting the samples, expand the spectra on the recording device and by excluding occasionally occurring impurities. Computer treatment of the results would further decrease the error of the determination. The limit of detection for lignin is 0,01 mg/l and 0,03 mg/l for humic substances in routine analyses. The selectivity in the determination was increased by buffering the solutions and by adding dioxane. Sodium borohydride reduction had no effect on the results. Samples were collected in sea and in fresh water areas with organic load of varying composition.

K I R J A L L I S U U S

- Almgren, T., Josefsson, B., Nyqvist, G., 1975. A fluorescence method for studies of spent sulfite liguor and humic substances in sea water. Anal. Chim. Acta 78:411.
- Garoff, G., 1979. En fluorescensspektrometrisk method att bestämma lignin i närvaro av humus. Arbetsbeskrivning över specialarbete. Helsingfors Universitet, Kemiska institutionen.
- Ghassemi, M., Christman, R.F., 1968. Properties of the yellow organic acids of natural water. Limnol. Oceanogr 13:583.
- Harjula, H., 1979. Myrkkykuormituksen vaikutukset juomaveden valmistukseen. Puunjalostusteollisuus myrkkykuormittajana Suomessa. Vesi ja Kalatalousmiehet ry. Helsinki 1980, 130 s.
- Levesque, M., 1972. Fluorescence and gel filtration of humic compounds. Soil sci 113:346.
- Mantoura, R.F.C., Riley, J.P., 1975. The analytical concentration of humic substances from waters. Anal. Chim. Acta 76:97.
- Nordforsks projektgrupp för undersøkelse av avfallsligniner fra celluloseindustrien 1978. Avfallsligniner fro celluloseindustrien. Effekter, spreding, omvandling og analyse, 39s.
- Nyqvist, G., 1979. Investigation of some optical properties of seawater with special reference to lignin sulfonates and humic substances. Akademisk avhandling. Chalmers tekniska högskola. Göteborg, 223 p.

- Paasivirta, J., 1978. Kloorifenolit - myrkkyjä, ehkä ympäristömyrkkyjä; *Kemia-Kemi* 5: 376.
- Pennanen, V., Sederholm, H., 1974. The fluorescence activity of gelfractionated lake waters of different colour values. *Aqua Fennica* 3-7.
- Sarkanen, K.V., Ludwig, C.H. (ed), 1971. Lignins - Occurrence, Formation, Structure and Reactions. Wiley-Interscience, New York, 916 p.
- Shapiro, J., 1957. Chemical and biological studies on the yellow organic acids of lake water. *Limnol. Oceanogr.* 2:161-179.
- Stockman, L., Strömberg, L., de Sousa, F., 1980. Mutagenic properties of bleach plant effluents: Present state of knowledge. *Cellulose Chem. Technol.* 14:517.
- Smart, P-L., Finlayson, B.L., Ryland, W.D. & C.M. Ball., 1976. The relation of fluorescence to dissolved organic carbon in surface waters. *Water Res.* 10: 805-811.
- Sundholm, F., Konschin, H., Tylli, H., 1972. Fluoresenssispektroskopia. *Suomen Kemistilehti A* 45: 77.
- Taivainen, U-M., 1979. Lignosulfonaatin ja humuksen määrittäminen fluoresenssispektrofotometrisesti. *Laudatur-erikoistytöselöstus*. Helsingin Yliopisto, Kemian laitos.