



**DIKLOFENAAKIN JA DIATRITSOAATIN KVANTITATIIVISTEN JA
KVALITATIIVISTEN TUTKIMUKSIEN ANALYYSIMENETELMÄT**

Lappeenrannan–Lahden teknillinen yliopisto LUT

Kemiantekniikan kandidaatintyö

2022

Joona Pienmunne

Tarkastaja: Yliopisto-opettaja Maaret Paakkunainen

TIIVISTELMÄ

Lappeenrannan–Lahden teknillinen yliopisto LUT

LUT Teknis-luonnontieteellinen

Kemiantekniikka

Joona Pienmunne

Diklofenaakin ja diatritsoatin kvantitatiivisten ja kvalitatiivisten tutkimuksien analyysimenetelmät

Kemiantekniikan kandidaatintyö

30 sivua, 3 kuvaa ja 13 taulukkoa

Tarkastaja: Yliopisto-opettaja Maaret Paakkunainen

Avainsanat: Diklofenaakki, Diatritsoatti, Lääkeaine, analyysimenetelmä, kaasukromatografia, nestekromatografia

Tässä kandidaatin työssä perehdytään kahden lääkeaineen; diklofenaakin ja diatritsoatin analyysi- ja esikäsittelymenetelmiin. Pääpaino työssä on analyysimenetelmissä käytettyjen laiteparametrien tutkimisessa sekä aikaisemmin tehtyjen tutkimuksien tuloksien eroissa. Lisäksi perehdyttiin kyseisten lääkeaineiden mahdollisiin ympäristövaikutuksiin.

Molemmat tutkitut lääkeaineet kertyvät helposti vesistöihin. Diklofenaakki on tulehduskipulääke, joka on yksi havaituimmista lääkeaineista vesissä. Diatritsoatti on röntgenkuvauksissa käytetty varjoaine, joka vakaan rakenteensa vuoksi, kertyy helposti ympäristöön. Molempien lääkeaineiden aineenvaihdunnallisten tuotteiden ympäristöriskit herättävät huolta yhteiskunnassa. Siksi on tärkeää kehittää tehokkaita ja nopeita analyysimenetelmiä kyseisille lääkeaineille

Yleisimmät analyysimenetelmät diklofenaakille sekä diatritsoatille ovat nestekromatografia-massaspektrometria ja kaasukromatografia-massaspektrometria. Lähes kaikissa menetelmissä näytteiden esikäsittelyä käytettiin kiinteäfaasiuuttoa. Työssä perehdyttiin diklofenaakin analysointiin LC-MS/MS, HPLC-MS/MS sekä GC-MS menetelmillä. Kaikilla menetelmillä saavutettiin alhaiset (ng/L) havaitsemis- ja/tai määrittämissrajat. Pienimmät määrittämissrajat saavutettiin HPLC-MS/MS ja GC-NCI-MS menetelmillä. Diatritsoatin osalta perehdyttiin LC-MS/MS ja HPLC-UV/VIS analyysimenetelmiin. HPLC-UV/VIS menetelmällä saavutettiin huomattavasti alhaisemmat (ng/L) havaitsemis- ja määrittämissrajat.

LYHENNELUETTELO

CI	kemiallinen ionisaatio
CRM	consecutive reaction monitoring
DIAT	diatritsoatti
DCF	diklofenaakki
ESI	sähkösumuionisaatio
GC	kaasukromatografia
HPLC	korkean erotuskyvyn nestekromatografia
HSY	Helsingin seudun ympäristöpalvelut
LC	nestekromatografia
LOD	havaitsemisraja
LOQ	määrittämisraja
MRM	multi reaction monitoring
MS	massaspektrometria
MS/MS	tandemmassaspektrometria
PNEC	predicted no effect concentration
RP-HPLC	käänteisfaasinestekromatografia
SIM	selected ion mode
SPE	kiinteäfaasiuutto
SYKE	Suomen ympäristökeskus
VOC	helposti haihtuvat yhdisteet

Sisällysluettelo

Tiivistelmä

Lyhenneluettelo

1	Johdanto.....	5
2	Diklofenaakki ja diatritsoaatti	6
3	Ympäristövaikutukset.....	7
4	Diklofenaakin ja diatritsoaatin esikäsittely- ja analyysimenetelmiä	8
4.1	Neste- ja kaasukromatografia.....	8
4.2	Massaspektrometria.....	9
4.3	Kiinteäfaasiuutto	9
5	Aikaisempien tutkimuksien analyysien ja niiden tulosten käsittely.....	10
5.1	Diklofenaakki	11
5.1.1	Lindholm-Lehto et al. (2016)	11
5.1.2	Lindqvist et al. (2005)	13
5.1.3	Roberts ja Thomas (2006)	15
5.1.4	Zhao et al. (2009)	17
5.2	Diatritsoaatti	21
5.2.1	Echeverría et al. (2013)	21
5.2.2	Rastogi et al. (2014)	22
6	Yhteenveto.....	24
7	Lähteet	26

1 Johdanto

Lääkeaineiden kulutus nyky-yhteiskunnassa on jatkuvassa kasvussa ja huoli niiden aiheuttamista ympäristövaikutuksista on kasvanut. Merkittävä osa kulutetuista lääkeaineista kulkeutuu virtsan ja ulosteiden mukana jätevedenpuhdistamoille. (Vieno, Tuhkanen, Kronberg 2005.) Lääkeaineet voivat päätyä vesistöihin myös jätevedenpuhdistamoiden purkuvesien mukana (Vieno 2007).

Jätevedenpuhdistusprosessi koostuu kahdesta eri osasta; kemiallisesta puhdistuksesta ja biologisesta puhdistuksesta. Kemiallisessa puhdistuksessa jätevedestä poistetaan fosfori saostamalla se niin sanotuksi biofosforiksi, joka painuu saostusaltaan pohjalle lietteeksi. Saostimena käytetään esimerkiksi ferrosulfaattia. Biologinen puhdistus tapahtuu jätevedessä olevien bakteerien avulla. Jätevesi ilmataan, jolloin bakteerit alkavat lisääntymään ja kuluttamaan vedessä olevaa eloperäistä ainetta. Edellä mainittujen vaiheiden jälkeen jätevesi ohjataan jälkiselkeyttimeen, jossa liete vajoaa altaan pohjalle ja puhdas vesi jää altaan yläosaan. (HSY 2021.)

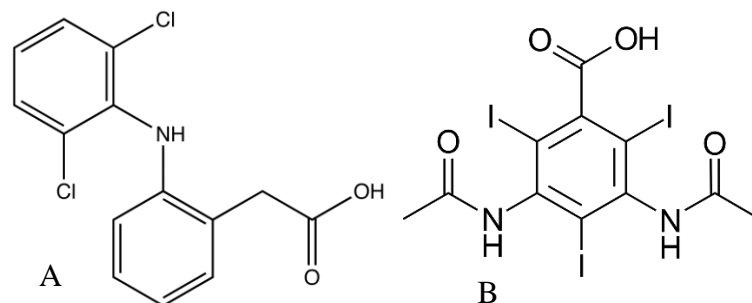
Käsittelymenetelmistä kemiallinen saostus ja hiekkasuodatus eivät poista lääkejäämiä kunnolla, aktiivihiihaisuodatus ja otsonointi puolestaan poistavat tehokkaasti lääkeaineita (Vieno 2007). Lääkeaineiden analysointi vesistöissä on lisääntynyt paljon, kuitenkin monille lääkeaineille on huonosti saatavilla analytiikkaa (SYKE 2020). Monipuolisten, tehokkaiden ja nopeiden analyysimenetelmien kehittäminen ja löytäminen on erittäin tärkeää lisääntyneiden lääkeainepitoisuuksien ja niiden aiheuttamien ympäristövaikutuksien vastaisessa kamppailussa.

Tässä työssä käsitellään aikaisemmin tehtyjen tutkimusten analyysimenetelmiä, niiden eroja sekä tuloksia. Työssä rajoitutaan tutkimaan diklofenaakin ja diatritsoaatin analyysimenetelmiä ja niissä käytettyjä laiteparametreja. Tämän lisäksi perehdytään lääkeaineiden ympäristövaikutuksiin sekä raja-arvoihin.

2 Diklofenaakki ja diatritsoaatti

Tutkittavista lääkeaineyhdisteistä diklofenaakki (DCF) on tilapäiseen hoitoon tarkoitettu tulehduskipulääke. Se estää elimistössä tulehdusta, kipua ja kuumetta aiheuttavien välittäjäaineiden syntymistä ja siten lievittäen kipua ja turvotusta. DCF:a sisältäviä itsehoitolääkkeitä saa apteekeista tabletteina sekä geelinä paikallisten kiputilojen hoitoon. (Terveyskirjasto 2022a.) DCF:a myydään Suomessa muun muassa Diclomex- ja Voltaren-nimillä (Äystö, Mehtonen and Kalevi 2014). Aus der Beekin et al. (2016) mukaan DCF on yksi havaituimmista ja mitatuimmista lääkeaineista vesistöissä maailmanlaajuisesti. Suomen ympäristökeskuksen (SYKE), LUT-yliopiston ja Helsingin yliopiston toteuttaman EPIC-hankkeen alustavien tulosten mukaan DCF:a päätyy kunnallisille jätevedenpuhdistamoilla noin 20–40 kg vuodessa (SYKE 2017). Diklofenaakin rakennekaava on esitetty kuvassa 1.

Toinen tutkittavista lääkeaineyhdisteistä on diatritsoaatti eli diatritsoinihappo. Diatritsoaattia käytetään varjoaineena maha-suolikanavan röntgen- ja tietokonetomografiatutkimuksissa (Terveyskirjasto 2022b). Diatritsoaatti on orgaaninen yhdiste, joka kuuluu trijodobentsoehapon johdannaisiin (Koulu, Mervaala and Tuomisto 2012). Diatritsoaatti kuuluu World Health Organizationin laatimaan tärkeimpien lääkeaineiden listaan (WHO 2021). Listaan on listattu lääkkeet, joita pidetään turvallisimpina ja tehokkaimpina terveydenhuollon tarpeisiin. Diatritsoaatin rakennekaava on esitetty kuvassa 1.



Kuva 1 A) diklofenaakki, B) diatritsoaatti

Seuraavaan taulukkoon on koottu työssä tutkittavien yhdisteiden kemiallis-fysikaalisia ominaisuuksia, kuten moolimassa, vesiliukoisuus, oktanoli/vesi-jakaantumiskerroin (K_{ow}) ja happovakio (pKa). Diatritsoaatin oktanoli/vesijakaantumiskertoimen ja happovakion arvot ovat estimaatteja.

Taulukko 1 Tutkittavien yhdisteiden kemiallis-fysikaalisia ominaisuuksia. (1 PubChem, 2 DrugBank)

Yhdiste	Molekyylikaava ¹	Moolimassa, g/mol ¹	Vesiliukoisuus, mg/l ¹	Oktanoli/vesijakaantumiskerroin, K_{ow} ¹	Happovakio, pKa ²
Diklofenaakki	$C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$	296,1	2,37	4,51	4,15
Diatritsoaatti	$C_{11}H_9I_3N_2O_4$	613,92	-	1,37 (est)	2,17 (est)

3 Ympäristövaikutukset

DCF:n yleinen esiintyminen makean veden ympäristössä ja sen mahdollinen myrkyllisyys useita organismeja kohtaan tekevät DCF:sta merkittävän saasteen ympäristölle (Lonappan et al. 2016). Lisääntynyt altistuminen DCF:lle aiheuttaa terveysongelmia vesieliöille, kasveille ja nisäkkäille. Diklofenaakki ja sen aineenvaihduntatuotteet aiheuttavat nisäkkäissä ja vesieliöissä muun muassa maksa-, munuais- ja sydänvaurioita sekä vaikuttavat negatiivisesti kasvien kasvuun, kehitykseen sekä viherhiukkasiin. (Sathishkumar et al. 2020.)

Röntgenkuvauksissa varjoaineena käytetty diatritsoaatti kertyy helposti ympäristöön vakaan rakenteensa sekä tehottoman jätevedenkäsittelyn takia. Kemiallisen rakenteensa takia diatritsoaatti voi pysyä muuttumattomana tai muuttua erilaisiksi sivutuotteiksi jätevedenpuhdistuksen fyysisten, kemiallisten ja biologisten prosessien takia. Jodioidut varjoaineet voivat pienissäkin konsentraatioissa tuottaa ei-toivottuja sivutuotteita veden desinfiointin aikana. (Nowak, Pacek, Mrozik 2020.)

Diatritsoaatti voi aiheuttaa haittavaikutuksia ympäristössä, mutta riskienarviointien tulokset eivät kuitenkaan ole yksiselitteisiä (Nowak et al. 2020). Rastogin, Lederin ja Kümmererin (2014) tekemässä tutkimuksessa ennustettiin diatritsoaatin fotolyyssissä syntyvän tuotteen olevan mutageeninen sekä genotoksinen eli soluja vahingoittava. Polon et al. (2016) tekemässä tutkimuksessa kuitenkin havaittiin, että diatritsoaatin emorakenne on vaaraton. Varjoaineiden ja niiden sivutuotteiden haitoista ympäristössä on vielä vähän tietoa (Nowak et al. 2020).

Aineiden ympäristövaikutusten arvioinnin työkaluna käytetään PNEC-arvoja (*engl.* Predicted No-Effect Concentration). Määriteltyä PNEC-arvoa alhaisemmat pitoisuudet eivät todennäköisesti aiheuta haittaa tarkasteltavassa ympäristössä (Euroopan Komissio 2003). Äystön et al. (2020) kokoaman lääkeaineriskit-taulukon mukaan DCF:n PNEC-arvo Suomen pintavesille on 20,0 ng/l. Diatritsoaatille ei löytynyt PNEC-arvoa.

4 Diklofenaakin ja diatritsoaatin esikäsitteily- ja analyysimenetelmiä

Seuraavissa kappaleissa esitellään lyhyesti yleisimmät analyysi- ja esikäsitteilymenetelmät tutkittavien lääkeaineiden analysointiin.

4.1 Neste- ja kaasukromatografia

Nestekromatografia (LC) on tehokas menetelmä lääkeaineiden analysointiin, sillä se soveltuu hyvin suurikokoisten orgaanisten yhdisteiden määrittelyyn. Kaasukromatografia (GC) soveltuu helposti haihtuvien yhdisteiden (VOC) ja orgaanisten yhdisteiden erottamiseen. Tällaisia yhdisteitä ovat muun muassa alkoholit sekä polysykliset aromaattiset hiilivedyt eli PAH-yhdisteet. Lääkeaineita kaasukromatografialla ei pysty analysoimaan sellaisenaan, vaan ne täytyy muuttaa ensin helposti höyrystyvään muotoon.

4.2 Massaspektrometria

Massaspektrometria on erittäin tehokas menetelmä yhdisteiden detektointiin. Sen avulla voidaan tutkia molekyylien suhteellisia massa/varaus-suhteita (m/z). Massaspektrometriassa tutkittava yhdiste höyrystetään ja ionisoidaan vakuumissa. Tutkittavan yhdisteen ionisoimiseen voidaan käyttää erilaisia tekniikoita, kuten sähkösuihkuionisaatiota (ESI) tai kemiallista ionisaatiota (CI). (Poole & Poole 1991.) Massaspektrometria voidaan operoida erilaisissa tiloissa esimerkiksi MRM-tilassa (*engl.* Multiple Reaction Monitoring mode) tai CRM-tilassa (*engl.* consecutive reaction monitoring).

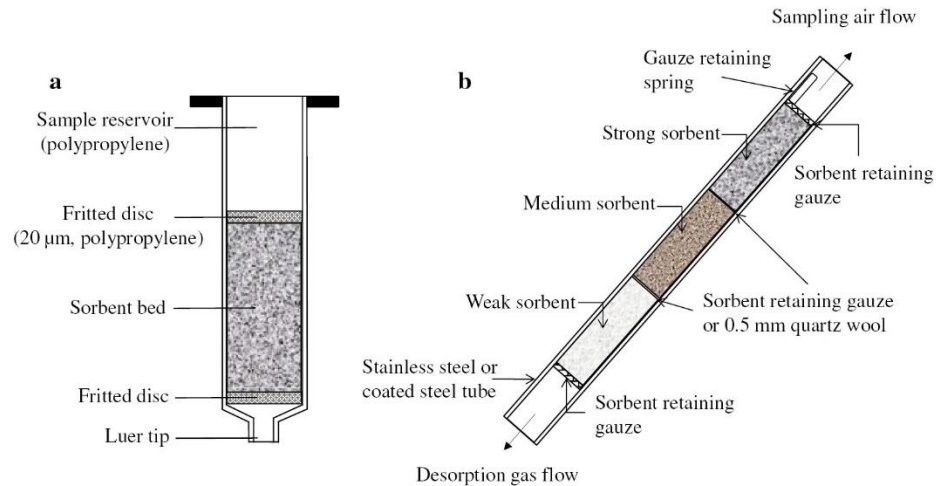
MRM-tila on yleisimmin käytetty tapa analyyttien kvantitatiiviseen analyysiin LC-MS/MS menetelmällä. MRM perustuu ionien kulkeutumiseen massaspektrometrin eri kvadrupolien läpi. Ensimmäiseen kvadrupoliin jäävää ionia kutsutaan edeltäjäioniksi. Siitä mahdollisesti fragmentoituneet ionit läpäisevät seuraavan kvadrupolin. Näitä ioneita kutsutaan tuoteioneiksi. Analyyttejä voidaan tunnistaa näiden ionien suhteellisilla massa/varaus-suhteilla. Kyseistä ionien siirtymää eri kvadrupoleihin kutsutaan ionisiirtymäksi. (LabCE 2022.) CRM-tilassa voidaan valita useita tiettyjä m/z -suhteita, joissa peräkkäisen fragmentoitumisen tuotteet valitaan detektointia varten (Murray 2013).

4.3 Kiinteäfaasiuutto

Kiinteäfaasiuuttoa (SPE) käytettiin esikäsittelymenetelmänä tarkastelluissa tutkimuksissa. Se perustuu tutkittavien yhdisteiden siirtymiseen kaasusta, vedestä tai ylikriittisestä liuoksesta kiinteään absorbenttiin. Tyypillisesti, tutkittavia yhdisteitä sisältävä näyte virtaa kiinteään absorbenttiin yli, joka pidättää yhdisteet absorbenttin kanssa tapahtuvien suotuisien vuorovaikutusten avulla. Absorbentti erotetaan näytteestä ja tutkittavat yhdisteet otetaan talteen korvaamalla liuotin tai termisellä desorptiolla kaasufaasiksi. (Poole 2020.)

Tyypillinen kiinteäfaasiuutossa käytetty patruuna koostuu lyhyestä kolonnista, joka sisältää absorbenttin. Absorbenttin partikkelikoko on yleensä 20–60 μm , ja partikkelikokojakauma on yleensä suppea. Absorbentti on pakattu huokoisen materiaalin, esimerkiksi muovin, väliin. Kuvassa 2 on esitetty kiinteäfaasiuuttopatruunoiden rakenne. Yleisesti patruunoissa

käytettyjä absorbentteja ovat erilaiset pioksidigeelit (silika), huokoiset polymeerit ja hiili. (Poole 2020.)



Kuva 2 SPE-patruunan rakenne nestefaasisissa oleville näytteille (A) ja kaasufaasisissa oleville näytteille (B) (Poole 2020)

5 Aikaisempien tutkimuksien analyysien ja niiden tulosten käsittely

Seuraavissa kappaleissa käsitellään DCF:n ja diatritsoatin analysointiin liittyviä tutkimuksia ja niissä käytettyjä menetelmiä sekä menetelmien ajoparametrejä. Lisäksi vertaillaan määrittys- ja havaitsemisrajoja. Määrittysrajalla (LOQ, *engl.* Limit of quantification) tarkoitetaan pienintä tutkittavan aineen pitoisuutta, joka voidaan määrittää luotettavasti ja tarkasti. Havaitsemisrajalla (LOD, *engl.* Limit of detection) puolestaan tarkoitetaan pienintä tutkittavan aineen pitoisuutta, joka voidaan varmuudella havaita. (Ruokavirasto 2021.) Kaikissa tarkastelluissa tutkimuksissa tutkittiin erinäisten lääkeaineiden esiintymistä jäte- ja/tai pintavesistöissä. Kaikki tutkimukset ovat pääpiirteittäin samankaltaisia.

5.1 Diklofenaakki

Seuraavissa kappaleissa käydään läpi aikaisempia tutkimuksia, analyyseissä käytettyjä parametreja sekä saatuja tuloksia.

5.1.1 Lindholm-Lehto et al. (2016)

Lindholm-Lehdon, Ahkolan, Knuutisen ja Herven (2016) toteuttamassa tutkimuksessa tutkittiin lääkeaineiden laajaa esiintymistä Keski-Suomen pintavesissä ja jätevedenpuhdistuslaitoksissa. Jätevesinäytteitä kerättiin neljästä eri puhdistuslaitoksista. Puhdistetut jätevedet ohjataan puhdistuslaitoksilta läheisiin järviin ja jokiin. Tutkimukseen valittujen puhdistuslaitosten puhdistusprosessit olivat pääperiaatteiltaan samanlaiset. Jätevesinäytteiden lisäksi pintavesinäytteitä otettiin yhteensä kuusi kappaletta.

Näytteet esikäsiteltiin käyttäen kiinteäfaasiuuttoa. Näytteet väkevöitiin kiinteäfaasiuuttopatruunoilla (Agilent Bond Elut C18 LO, 500 mg). Patruunat esipestiin 3 ml etanolia ja 3 ml UHQ-vettä ennen näytteiden lataamista patruunoihin. Lääkeaineet eluoiitiin 3 ml asetonia. Uutteet haihdutettiin typpellä ja tämän jälkeen liuotettiin 300 µL:aan metanolia ja vettä (1:1, v/v). Näytteet analysoitiin LC-MS/MS:lla välittömästi tämän jälkeen. (Lindholm-Lehto et al. 2015.)

Analyytit erotettiin nestekromatografilla (Agilent 1260 Infinity series). Kolonnina käytettiin 1,8µm partikkelikoon 2,1*50 mm Zorbax Eclipse Plus C18 (Agilent Technologies) analyyttistä käänteisfaasikolonnia. Käytetty liikkuva faasi oli 0,01M ammoniumhydroksidi (A) ja 0,01M ammoniumhydroksidia 90 %:ssa asetonitriilissa (B). Asetonitriilin koostumuksen muutos ajon aikana on esitetty taulukossa 2. Liikkuvan faasin virtausnopeus oli 0,2 µL/min. Syötetty näytemäärä oli 15 µL. (Lindholm-Lehto et al. 2015.)

Taulukko 2 Ammoniumhydroksidin koostumuksen muutos erotuksen aikana (Lindholm-Lehto et al. 2015)

Aika [min]	Ammoniumhydroksidin pitoisuus [%]
0	7
3	10
14	60
13	25
16	5

Lääkeaineiden detektointiin käytettiin 6460 Triple Quad triple-quadrupole massaspektrometria, joka oli varusteltu sähkösuihkuionisaatiolla (ESI). Massaspektrometria operoitiin MRM-tilassa. Happamat lääkeaineet, mukaan lukien diklofenaakki, analysointiin negatiivisessa ionisaatiotilassa. Kuivauskaasuna käytettiin 300°C:sta tyyppä 300 L/h virtausnopeudella. Argonia käytettiin törmäyskaasun. Kapillaarijännite oli 4000 V. Yhdisteet identifioitiin vertaamalla saatujen merkkiaineen ja tuotteen ionisiirtymiä referenssinäytteiden retentioaikoihin. (Lindholm-Lehto et al. 2015.) Taulukkoon 3 on koottu näytteiden analysoinnissa käytetyt parametrit.

Taulukko 3 Analyysissä käytetyt laite- ja ajoparametrit (Lindholm-Lehto et al. 2015)

Kolonni	1,8µm partikkelikoon 2,1*50 mm Zorbax Eclipse Plus C18
Liikkuva faasi	0,01M ammoniumhydroksidi ja 0,01M ammoniumhydroksidia 90 %:ssa asetonitriilissa
Virtausnopeus	0,2 µL/min
Kuivauskaasu	Typpi
Kuivauskaasun lämpötila	300°C
Kuivauskaasun virtausnopeus	300 L/h
Kapillaarijännite	4000 V

Tutkimuksessa DCF:n havaitsemisrajaksi (LOD) saatiin 25 ng/L ja määrittämisrajaksi (LOQ) 84 ng/L. Havaitsemis- ja määrittämisrajat määritettiin MRM-tilassa. DCF-pitoisuus jätevesinäytteiden sisääntulovirroissa vaihtelivat noin 250–750 ng/L:n välillä ja ulostulovirroissa 950–2250 ng/L:n välillä. Pintavesinäytteissä DCF-pitoisuus vaihteli 25–475 ng/L:n välillä. (Lindholm-Lehto et al. 2016)

5.1.2 Lindqvist et al. (2005)

Lindqvistin, Tuhkasen ja Kronbergin (2005) tekemässä tutkimuksessa tutkittiin happamien lääkeaineiden esiintymistä käsittelemättömissä ja käsitellyissä jätevesissä sekä joissa, joihin jätevedenpuhdistamoiden purkuvesi lasketaan. Yksi tutkittavista happamista lääkeaineista oli DCF. Vesinäytteitä otettiin useista eri jätevedenpuhdistuslaitoksilta ja päästövesistöistä ympäri Suomea. Näytteet analysoitiin käyttäen HPLC-ESI-MS/MS menetelmää.

Lääkeaineet erotettiin nestefaasista käyttäen kiinteäfaasiuuttoa. Näytteet suodatettiin 0,45 µm huokoskoon suodattimen (GF 6, Schleicher & Schuell) läpi. Suodattimet esipestiin n-heksanolilla, asetonilla, metanolilla ja MilliQ-vedellä. Näytteiden pH-arvo säädettiin 2,0 väkevällä suolahapolla. Tämän jälkeen näytteisiin lisättiin surrogaattistandardiksi 500 ng:a fenopropia (2,4,5-TP). Kaikki näytteet analysointiin sekä surrogaattistandardin kanssa että ilman. Tällä varmistettiin, etteivät näytteet kontaminoituneet fenopropista. Kiinteäfaasiuuttopatruunoin käytettiin Oasis MCX 3cc- patruunoita, jotka sisälsivät 60 mg:a absorbenttia. Patruunat esipestiin 2 mL:lla n-heksaania ja asetonia sekä 10 mL:lla metanolia ja saastumattomalla pohjavedellä, jonka pH-arvo oli säädetty 2,0. Näytteet ladattiin patruunoihin polytetrafluorieteeni-putken avulla, tasaisella 8 mL/min virtausnopeudella. Lääkeaineita kuivattiin tunnin ajan tyypellä. Kuivaamisen jälkeen lääkeaineet liuotettiin absorbentista neljä kertaa 1 mL:lla asetonia. Uutteet haihdutettiin 100 µL:n tyypeä, jonka jälkeen niihin lisättiin 100 µL:a metanolia. Haihdutusta jatkettiin, kunnes uutteen tilavuus oli 50 µL. Lopuksi lisättiin 450 µL 0,01M ammoniakkihydroksidia. Näytteitä säilytettiin -18°C:ssa ennen analysointia. (Lindqvist et al. 2005.)

Näytteiden sisältämät analyytit erotettiin korkean erotuskyvyn nestekromatografilla (HPLC) (Agilent 1100 system). Kolonnina käytettiin 5 µm partikkelikoon 2,1*50 mm Zorbax Extend-C18 (Agilent Technologies) analyyttista käänteisfaasikolonnina. Lisäksi

nestekromatografissa oli 5 µm partikkelikoon 2,1*12,5 mm kapea esikolonne. Liikkuvana faasina käytettiin 0,01M ammoniumhydroksidia. Kolonne eluointiin isokraattisesti 3 min ajan 5 %:lla asetonitriilillä 0,01M ammoniumhydroksidissa. Asetonitriilin koostumuksen muutos ajon aikana on esitetty taulukossa 4. Kolonnin annettiin tasaantua 8 min ajan ennen seuraavaa injektiota. Liikkuvan faasin virtausnopeus oli 250 µL/min. Kolonnin lämpötila pidettiin 30°C:ssa ja syötetty näytemäärä oli 50 µL. (Lindqvist et al. 2005.)

Taulukko 4 Asetonitriilin koostumuksen muutos eluoinnin aikana (Lindqvist et al. 2005)

Aika [min]	Asetonitriilin pitoisuus [%]
0	5
12	35
13	100
14	5

Analyyttien detektointiin käytettiin Quattro Micro triple-quadrupole massaspektrometria (Micromass), joka oli varusteltu sähkösuihkuionisaatolla (ESI). Massaspektrometria operoitiin MRM-tilassa. Kuivauskaasun käytettiin 325°C:sta typpeä 639 L/h virtausnopeudella. Törmäyskaasuna käytettiin argonia ja törmäyskennojännitte oli $2,8 \cdot 10^{-3}$ mbar. (Lindqvist et al. 2005.) Taulukkoon 5 on koottu näytteiden analysoinnissa käytetyt parametrit.

Taulukko 5 Analyysissä käytetyt laite- ja ajoparametrit (Lindqvist et al. 2005)

Esikolonne	5 µm partikkelikoon 2,1*12,5 mm kapea esikolonne
Kolonne	5 µm partikkelikoon 2,1*50 mm Zorbax Extend-C18
Liikkuva faasi	0,01M ammoniumhydroksidi
Virtausnopeus	250 µL/min
Kolonnin lämpötila	30°C

Kuivauskaasu	Typpi
Kuivauskaasun lämpötila	325°C
Kuivauskaasun virtausnopeus	629 L/h
Törmäyskaasu	Argon
Törmäyskennojäännite	$2,8 \cdot 10^{-3}$ mbar

Tutkimuksessa DCF:n määritysrajaksi (LOQ) pohja- ja pintavesinäytteissä saatiin 1 ng/L ja jätevesinäytteissä 5 ng/L. Käsittelemättömissä jätevesinäytteissä diklofenaakkia havaittiin kaikissa näytteissä. DCF-konsentraatio näytteissä oli $35,0 \pm 0,1$ ng/L. Taulukossa 6 on esitetty DCF-konsentraatiot eri joista, joihin jätevedenpuhdistamon purkuvedet lasketaan.

Taulukko 6 DCF-konsentraatiot (ng/L) tutkituissa joissa (Lindqvist et al. 2005)

	Joki 1			Joki 2				Joki 3		
	YV	JTP	AV (30 km)	YV	JTP	AV (2 km)	AV (90 km)	YV	JTP	AV (5 km)
Diklofenaakki	6.0	34	3.0	<LOQ	40	35	2.0	<LOQ	11	<LOQ

YV=Ylävirtaan jätevedenpuhdistamon purkupisteestä.

JTP=Ulostulovirta jätevedenpuhdistamon purkupisteestä.

AV=Alavirtaan jätevedenpuhdistamon purkupisteestä.

5.1.3 Roberts ja Thomas (2006)

Robertsin ja Thomasin (2006) tekemässä tutkimuksessa tutkittiin useiden eri lääkeaineiden, mukaan lukien DCF, esiintymistä jätevesipuhdistamon ulostulovirroissa sekä pintavesissä Tyne-joessa, Yhdistyneessä kuningaskunnassa. Jätevesinäytteet kerättiin Howdonin jätevedenpuhdistamolta ja pintavesinäytteet Tyne-joen eri kohdista. Jätevesinäytteet kerättiin kolmesta eri puhdistusprosessin kohdasta; käsittelemättömästä ulostulovirrasta, ennen UV-säteilyä käsittelyä ja sen jälkeen. Jätevesinäytteitä oli yhteensä yhdeksän ja

pintavesinäytteitä 18. Näytteet analysoitiin HPLC-ESI-MS/MS-menetelmällä Hiltonin ja Thomasin (2003) tekemän tutkimuksen mukaisesti.

Kaikki tutkimuksessa käytetyt lasiastiat silanisoitiin huuhtelemalla ne ensin 10 % (v/v) diklorometaaniin (DCM) liuotetulla dikloorimetyylisilaanilla, sitten kahteen kertaan DCM:llä ja kahteen kertaan metanolilla. Vesinäytteet suodatettiin 0,45 µm huokoskoon lasikuitusuodattimen (GFC) läpi ja pH-arvo säädettiin 3,0 väkevällä suolahapolla. Tämän jälkeen näytteisiin lisättiin 1 mL metanoliin liuotettua [¹³C] -fenasetiiniä surrogaatiksi. Näytteet uutettiin sitten kiinteäfaasiuutolla käyttäen Strata X 6 mL (Phenomenex) kiinteäfaasiuuttopatruunoita, jotka sisälsivät 200 mg absorpenttia. Ennen uuttoa patruunat solvatoitiin kolme kertaa 2 mL metanolia, sitten kolme kertaa 2 mL vettä ja 3 kertaa 2 mL vettä, jonka pH-arvo oli säädetty 3,0. Näytteet ladattiin patruunoihin polytetrafluorieteeni-putken avulla, tasaisella noin 10 mL/min virtausnopeudella. Uuton jälkeen patruunoita kuivattiin tyhjiössä 30 min. (Hilton, Thomas 2003.)

Analyytit eluoiitiin kolme kertaa 2 mL metanolia. Patruunoiden annettiin liota metanolissa viisi minuuttia ennen kuin metanolin annettiin valua patruunoiden läpi noin 5 ml/min tilavuusvirtana. Eluoinnin jälkeen utteet haihdutettiin noin 100 µL tilavuuteen typen avulla. Näytteet siirrettiin tämän jälkeen analyysipulloihin, jotka täytettiin 1 mL tilavuuteen 1:1 metanolia ja 0,04M ammoniumasetaattia. (Hilton, Thomas 2003.)

HPLC-analyysi suoritettiin Thermo-Finnigan Surveyor -nestekromatografilla. Kolonnina käytettiin 5 µm huokoskoon 250*2 mm C18 Luna (2) (Phenomenex). Liikkuvana faasina käytettiin vettä (A), metanolia (B) sekä 0,04M veteen liuotettua ammoniumasetaattia (C), jonka pH-arvo oli säädetty 5,5 muurahaishapolla. Liikkuvan faasin virtausnopeus oli 200 µl/min. Analyyttien erotus suoritettiin käyttäen erilaisia gradientteja liuottimissa. DCF:n erotukseen käytetty liuottimien gradientti on esitetty taulukossa 7. (Hilton, Thomas 2003.)

Taulukko 7 DCF:n erotukseen käytetyn liuottimen koostumuksen muutos liuotuksen aikana (Hilton, Thomas 2003)

Aika [min]	Vesi [%]	Metanoli [%]	Veteen liuotettu ammoniumasetaatti (0,04M) [%]
0	75	15	10
3	75	15	10
10	0	90	10
20	0	100	0
25	0	100	0
26	75	15	10
30	75	15	10

Analyyttien detektointi suoritettiin Thermo Finnigan LCQ Advantage massaspektrometrillä. Massaspektrometri oli varusteltu sähkösuihkuionisaatolla (ESI). Anturin lämpötila oli asetettu 220°C:een. DCF detektoitiin käyttäen tandem massaspektrometria positiivisessa ionisaatiotilassa CRM:n (*engl.* consecutive reaction monitoring) kanssa. (Roberts, Thomas 2006.)

Jätevesinäytteissä DCF:n konsentraatio vaihteli käsittelemättömässä jätevedessä 901–1036 ng/L välillä, ennen UV-säteily käsittelyä välillä 120–499 ng/L ja käsittelyn jälkeen välillä 261–598 ng/L. Tyne-joesta kerättyjen pintavesinäytteiden DCF-pitoisuudet jäivät määritetyn havaitsemisrajan (LOD) 8 ng/L alle. (Roberts, Thomas 2006.)

5.1.4 Zhao et al. (2009)

Zhaon et al. (2009) toteuttamassa tutkimuksessa tutkittiin fenolisten hormonitoimintaa häiritsevien kemikaalien ja happamien lääkeaineiden tunnistamista Etelä-Kiinan Helmijoen pintavesistä CG-NCI-MS-menetelmällä. Tutkittaviin yhdisteisiin kuului seitsemän estrogeenistä fenolia, 14 hapanta lääkeainetta, mukaan lukien diklofenaakki sekä kolme hapanta torjunta-ainetta. Pintavesinäytteitä otettiin yhteensä 14.

Otetut vesinäytteen uutettiin käyttäen kiinteäfaasiuuttoa. Aluksi vesinäytteet suodatettiin 0,7 µm huokoskoon lasikuitusuodattimen (Whatman GF/F) läpi. Tämän jälkeen 100 µL 4-*n*-nonyylifenolia (4-*n*-NP), [²H₁₆] bisnofenoli-A:ta (BPA-d16), estroni-2,4,16,16-D₄ (E1-d4), ¹³C-merkittyä triklosaania (13C12-TCS), mekopropia and fenopropia lisättiin näytteisiin ja 100 µL 2,4-dikloorifenoksietikahappoa (2,4-DCPA) lisättiin surrogaatiksi. Kaikkien liuosten konsentraatio oli 1 mg/L. Kiinteäfaasiuutossa patruunoina käytettiin Oasis HLB (6 mL, 500 mg) -patruunoita. Patruunat esipestiin 10 mL etanolia ja 10 mL tislattua vettä. Suodatettujen vesinäytteiden annettiin valua esipestyjen patruunoiden lävitse 5–10 mL/min virtausnopeudella. Näytepullot huuhdeltiin 50 mL 5 % (v/v) metanolilla tislatussa vedessä kahteen kertaan ja huuhteluliukset suodatettiin patruunoiden läpi. Analyytit sitten eluoiitiin patruunoista 7 mL metanolilla ja 5 mL dikloorimetaanilla. Uutteet sekoitettiin ja kuivattiin typpellä. Tämän jälkeen ne uudelleen liuotettiin 1 mL etanolia. Lopulliset utteet suodatettiin 0,45 µm huokoskoon membraanin läpi 2 mL lasipulloihin ja säilöttiin -18°C odottamaan analyysia. (Zhao et al. 2009.)

Happamat yhdisteet derivatisoitiin CG-NCI-MS analyysia varten. 100 µl metanolissa olevaa uutetta siirrettiin 2 mL lasipulloon. Metanoli kuivattiin typpellä. Tämän jälkeen 40 µL toluenia, 40 µL 10 % trietyyliamiinia (TEA) toluenissa ja 20 µL 10 % PFBBr toluenissa lisättiin lasipulloon. Lasipullo suljettiin korkilla ja ravistettiin huolellisesti vortex-sekoittimella. Tämän jälkeen liuos lämmitettiin 100°C ja annettiin sen reagoida 60 minuutin ajan. Lasipulloa sekoitettiin 15 minuuttia reagoimisen jälkeen. Lasipullon annettiin sitten jäähtyä huoneenlämpöön ja liuotin kuivattiin typpellä. Lopuksi derivatisoitu näyte liuotettiin 100 µL toluenia. (Zhao et al. 2009.)

Tutkittavat yhdisteet erotettiin Agilent 6890N kaasukromatografilla. Kolonnina käytettiin DB35-MS kapillaarikolonnia (30 m*0,25 mm), jonka filmin paksuus oli 0,25 µm. Kantajakaasuna käytettiin heliumkaasua, jonka tilavuusvirta pidettiin 1,0 mL/min. Happamien yhdisteiden syötetty näytetilavuus oli 2 µL, ja syöttölämpötila 260°C. Kolonnin lämpötila oli ohjelmoitu seuraavasti: Lämpötila nostettiin 100°C:sta (1 min) 150°C:een (2 min) nostamalla lämpötilaa 20°C/min, 150°C:sta 205°C:een (1 min) nostamalla lämpötilaa 3°C/min, 205°C:sta 260°C:een (5 min) nostamalla lämpötilaa 10°C/min, ja sitten samalla tahdilla 280°C:een (3 min), lopuksi lämpötila nostettiin 310°C:een nostamalla lämpötilaa 15 °C/min. (Zhao et al. 2009.)

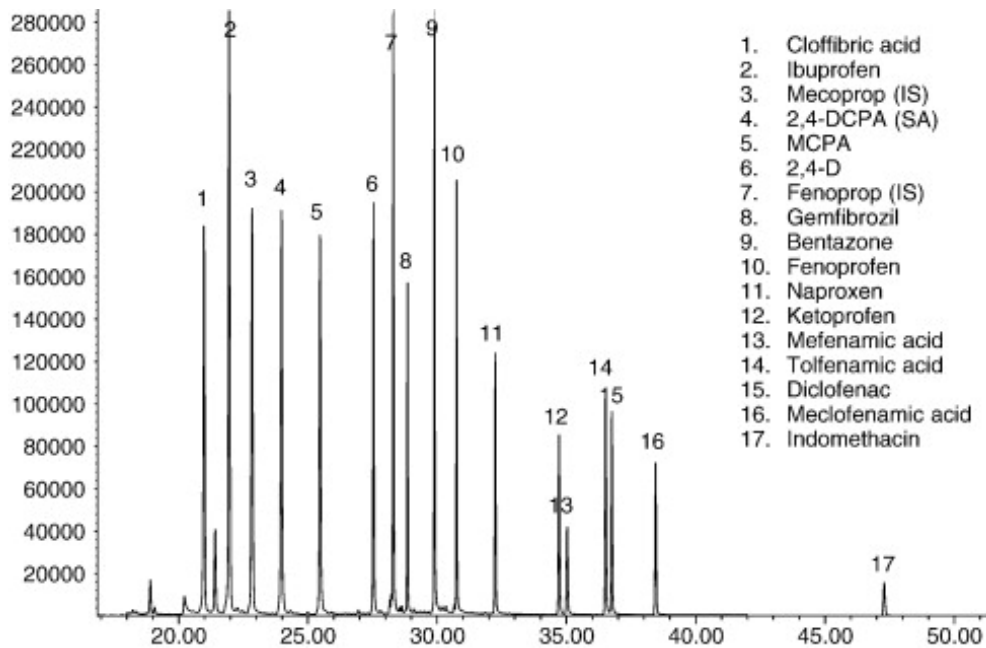
Yhdisteiden detektointiin käytettiin Agilent 5975B MSD massaspektrometriä, joka oli yhdistetty kaasukromatografiin kemiallisella ionisaatiolähteellä (CI). Negatiivinen kemiallinen ionisaatio (NCI) saatiin aikaiseksi käyttämällä metaania (puhtaus>99,9999 %) reaktiokaasuna. Metaanin virtausnopeus oli 2,0 mL/min. Ionilähteen sekä kvadrupolin lämpötila pidettiin 150°C:ssa analyysin aikana. (Zhao et al. 2009.) Taulukkoon 8 on koottu näytteiden analysoinnissa käytetyt parametrit.

Taulukko 8 Analyysissä käytetyt laite- ja ajoparametrit (Zhao et al. 2009)

Kolonni	DB35-MS kapillaarikolonni (30 m*0,25 mm), filmin paksuus 0,25 µm
Kantajakaasu	Helium
Tilavuusvirta	1,0 mL/min
Näytteen syöttölämpötila	260°C
Reaktiokaasu	Metaani
Reaktiokaasun virtausnopeus	2,0 mL/min
Kvadrupolin lämpötila	150°C
Törmäyskennojännite	2,8*10 ⁻³ mbar

Yhdisteet tunnistettiin CG-NCI-MS analyysistä saadun kromatogrammin avulla vertailemalla kromatogrammin piikkejä sekä retentioaikoja yhdisteiden tunnusomaisiin ioneihin ja retentioaikoihin. (Zhao et al. 2009.)

Kuvassa 3 on esitetty SIM-tilassa (*enlg.* selected ion mode) ajatun CG-NCI-MS analyysin tulokset tutkituille happamille yhdisteille. Diklofenaakki tulee ajan hetkellä n. 37 min. Kaikkien yhdisteiden konsentraatiot olivat 100 ng/mL. (Zhao et al. 2009.)



Kuva 3 SIM-tilassa ajettun CG-NCI-MS analyysin happamien yhdisteiden ionivirtauskromatogrammi (Zhao et al. 2009)

Taulukossa 9 on esitetty tutkimuksessa saadut diklofenaakin saannot (%) kolmella eri väkevöinnillä sekä havaitsemis- (LOD) ja määrittäysrajat (LOQ). Pintavesinäytteiden sisältämät DCF-konsentraatiot vaihtelivat 8-147 ng/L välillä.

Taulukko 9 DCF:n saanto (%) sekä havaitsemis- ja määrittäysraja (Zhao et al. 2009)

Yhdiste	Väkevöity näyte			LOD	LOQ
	5 ng/L	100 ng/L	200 ng/L		
Diklofenaakki	109±9 ng/L	111±1 ng/L	109±3 ng/L	1,1 ng/L	3,6 ng/L

Kaikissa neljässä tarkastellussa tutkimuksessa määrittäys- ja/tai havaitsemisrajoiksi saatiin suhteellisen pieniä (ng/L) pitoisuuksia. Pienimmät määrittäysrajat saatiin Lindqvistin et al. (2005) ja Zhaon et al. (2009) tekemissä tutkimuksissa.

5.2 Diatritsoaatti

5.2.1 Echeverría et al. (2013)

Echeverría, Borrullin, Fontanalsin ja Pocerullin (2013) tekemässä tutkimuksessa tutkittiin jodioitujen röntgentutkimuksissa käytettyjen varjoaineiden kvantitatiivista määrittämistä jätevesissä. Yksi tutkituista varjoaineista oli diatritsoaatti. Jätevesinäytteitä kerättiin kahdesta jätevedenpuhdistamon sisään- ja ulostulovirroista, jotka sijaittivat Tarragonassa, Espanjassa. Näytteet analysointiin LC-ESI-MS/MS menetelmällä

Jätevesinäytteet suodatettiin aluksi 0,45 µm ja 0,22 µm huokoskoon nailonsuodattimen (Whatman) läpi. Tämän jälkeen näytteet uutettiin käyttäen kiinteäfaasiuuttoa (SPE). SPE-patruunoina käytettiin 500 mg Oasis HLB-patruunoita (Waters). Patruunat esipestiin 5 mL etanolia ja 5 mL puhtaalla vedellä. Näytteiden pH-arvo säädettiin 2,6 suolahapolla, jonka jälkeen näytteiden annettiin suodattua patruunoiden läpi 10–15 ml/min virtausnopeudella. Analyytit eluointiin patruunoista 5 mL etanolia. Uutteet kuivattiin käyttäen tyypeä ja uudelleen liuotettiin 1 mL puhdasta vettä. (Echeverría et al. 2013.)

Tutkittavat yhdisteet erotettiin Agilent 1200 nestekromatografilla. Kolonnina käytettiin 2,7 µm partikkelikoon 50*4,6 mm Ascentis Express C18 Fused Core (Supelco) kromatografista kolonnia. Syötetty näytemäärä oli 50 µL. Kolonnin lämpötila pidettiin 25°C:ssa. Liikkuvana faasina käytettiin puhdasta vettä ja muurahaishappoa (A) sekä asetonitriiliä (B). Eluointi suoritettiin gradienttina eluentin B suhteen. Gradientti on esitetty taulukossa 10. Liikkuvan faasin virtausnopeus oli 0,2 mL/min. (Echeverría et al. 2013.)

Taulukko 10 Asetonitriilin koostumuksen muutos eluonnin aikana (Echeverría et al. 2013)

Aika [min]	Asetonitriilin pitoisuus [%]
0	5
4	5
6	25
13	25

16	5
----	---

Analyyttien detektointiin käytettiin triple quadrupole massaspektrometria (Agilent Technologies), joka oli varusteltu sähkösuihkuionisaatolla (ESI). Analyysit suoritettiin MRM-tilassa. (ESI)MS/MS-parametrit optimoitiin erikseen jokaiselle analyyttille. Taulukossa 11 on esitetty diatritsoatin dektektointiin optimoidut parametrit. Yhdisteet tunnistettiin retentioaikojen ja MRM-siirtymien avulla. (Echeverría et al. 2013.)

Taulukko 11 Diatritsoatin detektointiin optimoidut parametrit (Echeverría et al. 2013)

Typpikaasun virtausnopeus	12 L/min
Kapillaarijännite	4000 V
Sumutinpaine	45 psi
Lähteen lämpötila	350°C
Suutinjännite	120 V
Törmäysenergia	15 V

Diatritsoatin havaitsemisrajoiksi saatiin sisääntulovirroissa 100 ng/L ja ulostulovirroissa 40 ng/L. Diatritsoatin määritysrajaksi saatiin 250 ng/L. Diatritsoatin konsentraatio sisääntulovirroissa vaihteli 3,8–4,7 µg/L välillä ja ulostulovirroissa 2,7–2,8 µg/L välillä. (Echeverría et al. 2013.)

5.2.2 Rastogi et al. (2014)

Rastogin, Lederin ja Kümmererin (2014) tekemässä tutkimuksessa tehtiin diatritsoatin fotolyyttisten tuotteiden kvalitatiivinen ympäristöriskien arviointi. Tutkimuksessa käytettiin käänteisfaasinestekromatografia (RP-HPLC) UV/VIS-detektorilla diatritsoatin konsentraation määrittämiseen vesiliuoksessa.

RP-HPLC:ssä kolonnina käytettiin 5 µm huokoskoon 125*4 mm NUCLEODUR® 100–5 C18 ec (Macherey & Nagel) käänteisfaasikolonnina. Liikkuvana faasina käytettiin 0,2 % muurahaihappoa vedessä (A) ja 100 % asetonitriilia (B). Kromatografinen erottaminen

suoritettiin käyttämällä gradienttia liikkuvassa faasissa. Käytetty gradientti on esitetty taulukossa 12. Liikkuvan faasin virtausnopeus oli 0,5 mL/min. Kolonnin lämpötila oli asetettu 30°C:een. Syötetty näytemäärä oli 10 µL. UV/VIS - valonlähteen käytettiin polykromaattista keskipaineista elohopealamppua (TQ150). Lampun lähettämää säteilyä mitattiin Opsytec Dr. Gröbel GmbH UVPad-sensorilla aallonpituusalueella 200–440 nm. RP-HPLC:tä ajettiin 25min ajan. Diatritsoatti eluotui 13,7min (retentioaika) kohdalla ja se havaittiin UV/VIS-detektorissa 254 nm aallonpituudella. Diatritsoatin havaitsemisrajaksi menetelmällä saatiin 15 ng/L ja määrittämisrajaksi 50 ng/L. (Rastogi, Leder, Kümmerer 2014.)

Taulukko 12 Asetonitriilin koostumuksen muutos liuotuksen aikana

Aika [min]	Asetonitriili [%]
0-3	1
3-13	1-15
13-15	15-5
15-20	5-1
20-25	1

Diatritsoatti on hapan lääkeaine, joten on myös mahdollista, että sitä voitaisiin analysoida ja tutkia Zhaon et al. (2009) sekä Lindqvist et al. (2005) tekemien tutkimuksien analyysimenetelmillä ja laiteparametreilla.

6 Yhteenveto

Työssä perehdyttiin diklofenaakin ja diatritsoatin analyysimenetelmiin ja niissä käytettyihin laiteparametreihin. Tietoa etsittiin kirjallisuudesta sekä aikaisemmin tehdyistä tutkimuksista. Työssä tarkastellut tutkimukset olivat pääpiirteittäin samankaltaisia. Lisäksi työssä perehdyttiin lyhyesti edellä mainittujen lääkeaineiden ympäristövaikutuksiin ja raja-arvoihin ympäristössä.

Kaikissa tarkastelluissa tutkimuksissa päästiin suhteellisen pieniin (ng/L) määrittys- ja/tai havaitsemisrajoihin. Diklofenaakille pienimmät määrittysrajat saatiin Lindqvistin et al. (2005) ja Zhaon et al. (2009) tekemissä tutkimuksissa. Zhaon et al. (2009) saavutettiin myös pieni havaitsemisraja diklofenaakille. Diatritsoatille pienin havaitsemis- ja määrittysraja saavutettiin Rastogin et al. (2014) tutkimuksessa. Tutkimuksissa käytetyt analyysimenetelmät, näytteiden esikäsittelyt sekä määrittys- ja/tai havaitsemisrajat on kasattu seuraavaan taulukkoon.

Taulukko 13 Työssä tarkastelluissa tutkimuksissa käytetyt analyysimenetelmät, näytteiden esikäsittelyt sekä määrittys- ja/tai havaitsemisrajat.

Yhdiste	Menetelmä	Esikäsittely	LOD	LOQ	Referenssi
DCF	LC-ESI-MS/MS	Kiinteäfaasiuutto	25 ng/L	85 ng/L	Lindholm-Lehto et al. (2015)
DCF	HPLC-ESI-MS/MS	Suodatus, kiinteäfaasiuutto	-	1–5 ng/L	Lindqvist et al. (2005)
DCF	HPLC-ESI-MS/MS	Suodatus, pH-arvon säätäminen, surrogaattistandardin lisäys, kiinteäfaasiuutto	8 ng/L	-	Hilton, Thomas (2003)
DCF	CG-NCI-MS	Suodatus, pH-arvon säätäminen, surrogaattistandardien lisäys, kiinteäfaasiuutto, suodatus	1,1 ng/L	3,6 ng/L	Zhao et al. (2009)
DIAT	LC-ESI-MS/MS	Suodatus, kiinteäfaasiuutto	40–100 ng/L	250 ng/L	Echeverría et al. (2013)
DIAT	RP-HPLC-UV/VIS	-	15 ng/L	50 ng/L	Rastogi et al. (2014)

Kaikki tarkastelluissa tutkimuksissa käytetyt ovat menetelmät ovat tehokkaita analyysimenetelmiä analysoimaan lääkeaineiden pitoisuuksia vesistöissä. Tuloksista nähdään, että nestekromatografia on selvästi yleisin menetelmä lääkeaineiden pitoisuuksien määrittämiseen. Kaasukromatografia tarjoaa kuitenkin myös tarkan analyysimenetelmän. Kaasukromatografian haittana on kuitenkin vaativammat esikäsittelyt erityisesti lääkeaineita analysoidessa. Lääkeaineiden detektoimiseen käytettiin lähes yksinomaisesti massaspektrometriaa. Massaspektrometria onkin erittäin tehokas ja varma menetelmä yhdisteiden tunnistamiseksi.

7 Lähdeet

aus der Beek T, Weber F, Bergmann A, Hickmann S, Ebert I, Hein A, Küster A (2016) Pharmaceuticals in the environment-Global occurrences and perspectives. Environmental Toxicology and Chemistry; Environ Toxicol Chem 35(4): 823-835.

Echeverría S, Borrull F, Fontanals N, Pocurull E (2013) Determination of iodinated X-ray contrast media in sewage by solid-phase extraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry. Talanta 116: 931-936.

Euroopan Komissio (2003) Proposal for a Regulation of the European Parliament and of the Council concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (Reach). [Verkkoaineisto]. [Viitattu 8.2.2022]. Saatavissa:

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=COM%3A2003%3A0644%3AFIN>

Hilton MJ, Thomas KV (2003) Determination of selected human pharmaceutical compounds in effluent and surface water samples by high-performance liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A 1015(1): 129-141.

HSY, 2022, Jätevedenpuhdistusprosessi. [Verkkojulkaisu]. [Viitattu 31.3.2022]. Saatavissa: <https://www.hsy.fi/vesi-ja-viemarit/jatevedenpuhdistusprosessi-lyhyesti/>

Koulu M, Mervaala E, Tuomisto J, (2012) Farmakologia Ja Toksikologia. Kuopio: Medicina. Luettu 9.2.2022. Saatavissa [LUT Tiedekirjastosta](#)

LabCE, 2022, Multiple Reaction Monitoring (MRM). [Verkkoaineisto]. [Viitattu 9.4.2022]. Saatavissa: https://www.labce.com/spg2056308_multiple_reaction_monitoring_mrm.aspx

Lindholm-Lehto P, Ahkola HSJ, Knuutinen JS, Herve SH (2016) Widespread occurrence and seasonal variation of pharmaceuticals in surface waters and municipal wastewater treatment plants in central Finland. *Environmental Science and Pollution Research International*; *Environ Sci Pollut Res Int* 23(8): 7985-7997.

Lindholm-Lehto P, Ahkola HSJ, Knuutinen JS, Herve SH (2015) Occurrence of pharmaceuticals in municipal wastewater, in the recipient water, and sedimented particles of northern Lake Päijänne. *Environmental Science and Pollution Research International*; *Environ Sci Pollut Res Int* 22(21): 17209-17223.

Lindqvist N, Tuhkanen T, Kronberg L (2005) Occurrence of acidic pharmaceuticals in raw and treated sewages and in receiving waters. *Water Research* 39(11): 2219-2228.

Lonappan L, Brar SK, Das RK, Verma M, Surampalli RY (2016) Diclofenac and its transformation products: Environmental occurrence and toxicity - A review. *Environment International* 96: 127-138.

Murray K (2013) Definitions of Terms Relating to Mass Spectrometry (IUPAC Recommendations 2013). *Chemistry International* 35.

Nowak A, Pacek G, Mroziak A (2020) Transformation and ecotoxicological effects of iodinated X-ray contrast media. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 19(2): 337-354.

Polo AMS, López-Peñalver JJ, Sánchez-Polo M, Rivera-Utrilla J, Velo-Gala I, Salazar-Rábago JJ (2016) Oxidation of diatrizoate in aqueous phase by advanced oxidation processes based on solar radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 319-320: 87-95.

Poole CF (2020) Solid-Phase Extraction. Amsterdam, Netherlands: Elsevier.

Poole CF and Poole SK, (1991) Chromatography Today. Amsterdam: Elsevier. Luettu 4.2.2022. Saatavissa [LUT Tiedekirjastosta](#)

Rastogi T, Leder C, Kümmerer K (2014a) Qualitative environmental risk assessment of photolytic transformation products of iodinated X-ray contrast agent diatrizoic acid. Science of the Total Environment 482-483: 378-388.

Roberts PH, Thomas KV (2006) The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment. Science of the Total Environment 356(1): 143-153.

Ruokavirasto, 2021, Tutkimustuloksen arviointi. [Verkkoaineisto]. [Viitattu 10.4.2022]. Saatavissa: <https://www.ruokavirasto.fi/yritykset/elintarvikeala/elintarvikealan-yhteiset-vaatimukset/valvonta/elaimista-saatavien-elintarvikkeiden-vierasainevalvonta/vierasainevalvontaohjelma/tutkimustuloksen-arviointi/>

Sathishkumar P, Meena RAA, Palanisami T, Ashokkumar V, Palvannan T, Gu FL (2020) Occurrence, interactive effects and ecological risk of diclofenac in environmental compartments and biota - a review. The Science of the Total Environment; Sci Total Environ 698: 134057.

Suomen Ympäristökeskus SYKE, 2020, Tehokkailla jäteveden puhdistusmenetelmillä voidaan vähentää lääkepäästöjä ympäristöön. [Tiedote]. [Viitattu 31.3.2022]. Saatavissa: [https://www.ymparisto.fi/fi-FI/Vesi/Tehokkailla_jateveden_puhdistusmenetelmi\(57928\)](https://www.ymparisto.fi/fi-FI/Vesi/Tehokkailla_jateveden_puhdistusmenetelmi(57928))

Terveyskirjasto, 2022a, Motifene Dual. [Verkkoaineisto]. [Viitattu 4.2.2022]. Saatavissa: <https://www.terveyskirjasto.fi/far01378>

Terveyskirjasto, 2022b, Gastrofin. [Verkkoaineisto]. [Viitattu 4.2.2022]. Saatavissa: <https://www.terveyskirjasto.fi/far02201>

Vieno N, Tuhkanen T, Kronberg L (2005) Seasonal Variation in the Occurrence of Pharmaceuticals in Effluents from a Sewage Treatment Plant and in the Recipient Water. *Environmental Science & Technology; Environ.Sci. Technol* 39(21): 8220-8226.

Vieno, N. (2007) Occurrence of Pharmaceuticals in Finnish Sewage Treatment Plants, Surface Waters and their Elimination in Drinking Water Treatment Processes. Tampere: TTY.

World Health Organization WHO, 2021, WHO model list of essential medicines - 22nd list, 2021. [Verkkoaineisto]. [Viitattu 4.2.2022]. Saatavissa: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-MHP-HPS-EML-2021.02>

Zhao J, Ying G, Wang L, Yang J, Yang X, Yang L, Li X (2009) Determination of phenolic endocrine disrupting chemicals and acidic pharmaceuticals in surface water of the Pearl Rivers in South China by gas chromatography–negative chemical ionization–mass spectrometry. *Science of the Total Environment* 407(2): 962-974.

Äystö L, Mehtonen J, Kalevi K, (2014) Kartoitus Lääkeaineista Yhdyskuntajätevedessä Ja Pintavedessä. Kulutuksen ja tuotannon keskus, Suomen ympäristökeskus. [Verkkoaineisto]. [Viitattu 8.2.2022]. Saatavissa:

<https://www.ymparisto.fi/download/noname/%7B0ED77EEB-6108-43F6-A327-4B84B6880177%7D/153903>

Äystö L, Vieno N, Sikanen T, Karlsson S, Virtanen V, (2020) Ympäristöön Päätyvien Lääkeainejäämien Aiheuttama Riski Pintavesille Suomessa. [Verkkoaineisto]. [Viitattu 8.2.2022]. Saatavissa:

https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/307536/L%c3%a4%c3%a4keaineriskit_070120.pdf?sequence=4&isAllowed=y