

Opinnäytetyö (AMK)

Prosessi- ja materiaaliteknikan koulutusohjelma

Kemiantekniikka

NPROMS 14

2018

Juha Karjalainen

VALIDOINTISUUNNITELMA SULFIDIN MÄÄRITYSMENETELMÄLLE



OPINNÄYTETYÖ (AMK) | TIIVISTELMÄ

TURUN AMMATTIKORKEAKOULU

Prosessi- ja materiaaliteknikan koulutusohjelma | Kemianteeniikka

2018 | 40 sivua, 15 liitesivua

Juha Karjalainen

VALIDOINTISUUNNITELMA SULFIDIN MÄÄRITYSMENETELMÄLLE

Opinnäytetyön tavoitteena oli tehdä menetelmän validointisuunnitelma sulfidin määrittämiseen ioniselektiivisellä sulfidielektrodilla. Kyseisellä sulfidielektrodilla mitattiin vesinäytteiden sulfidipitoisuudet.

Validointisuunnitelmaan otettiin mukaan seuraavat parametrit: määrittämisraja, mittausalue ja lineaarisuus, toistettavuus, satunnaisvirhe, systemaattinen virhe, mittausepävarmuus ja selektiivisyys. Parametrit käsiteltiin esimerkkien ja tilastomatematiikan kautta. Suunnitelman laatimisessa käytettiin hyväksi testiajojen tuloksia. Parametrien validointiohjeet kirjoitettiin Eurachemin, Suomen ympäristökeskuksen ja VTT:n ohjeiden mukaisesti.

Validoitavien parametrien kautta pysytään osoittamaan analyttisen menetelmän paikkansapitävyys. Validoinnin tuloksia voidaan käyttää analyysitulosten toistettavuuden, laadun ja luotettavuuden arviointiin.

ASIASANAT:

sulfidi, sulfidielektrodi, potentiometri, validointi

BACHELOR'S THESIS | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Chemical and Materials Engineering

2018 | 40 pages, 15 pages in appendices

Juha Karjalainen

VALIDATION PLAN FOR SULFIDE DETERMINATION METHOD

The purpose of this thesis was to compose a validation plan for a sulfide determination method by using an ionselective sulfide electrode. With this particular sulfide electrode, the sulfide concentrations of water samples were analyzed.

The following parameters were included in the validation plan: limit of detection and limit of quantification, working and linear range, repeatability, random error, bias, uncertainty of measurement, and selectivity. The parameters were examined through examples and statistics. Results from tests were used when composing this plan. Validation instructions for the parameters were written in compliance with the guidelines of Eurachem, the Finnish Environment Institute, and VTT.

The validity of the analytical method can be confirmed with the parameters under validation. The validation results can be used to evaluate the repeatability, quality and reliability of the analysis results.

KEYWORDS:

sulfide, sulfide electrode, potentiometer, validation

SISÄLTÖ

JOHDANTO	7
YLEISESTI SULFIDEISTA	8
2.1 Sulfidit ja niiden fysikaaliset ja kemialliset ominaisuudet	8
2.2 Rikkivety ympäristössä ja dissimilatorinen sulfaatinpelkistys	9
VALIDOINTI	11
3.1 Määritelmä	11
3.2 Suunnittelu	11
3.3 Validoinnin laajuus	12
SULFIDIMITTAUS, MENETELMÄKUVAUS	14
4.1 Sulfidielektrodi	14
4.2 Sulfidimittauksen toteuttaminen	16
4.2.1 Elektrodin valmistelu	16
4.2.2 Reagenssit	16
4.2.3 Viikkostandardin konsentraation määrittäminen	18
4.2.4 Standardiliuosten valmistaminen	19
4.3 Standardien ja näytteiden mittaaminen	20
4.4 Elektrodin ja menetelmän testaus	21
SULFIDIMÄÄRITYKSEN VALIDOINTI	25
5.1 Määritys- ja toteamisraja	25
5.2 Menetelmän lineaarisuus- ja mittausalue	27
5.3 Toistettavuus	29
5.4 Satunnaisvirhe	31
5.5 Systemaattinen virhe	31
5.6 Mittausepävarmuus	32
5.7 Selektiivisyys	34
5.8 Menetelmien vertailu	34
5.9 Jäljitettävyys	36
5.10 Raportointi	36
LOPUKSI	38

LIITTEET

1. Liite 1. Validointisuunnitelma

KAAVAT

Kaava 1. Kaava liuksen mitatun potentiaalin laskemiseksi (ThermoFischer 2007, 50).	14
Kaava 2. Kaava vapaiden sulfidi-ionien aktiivisuuden laskemiseksi (ThermoFischer 2007, 50).	14
Kaava 3. Kaava ionivahvuuden laskemiseksi (ThermoFischer 2007, 51).	15
Kaava 4. Kaava viikkostandardin konsentraation laskemiseksi (ThermoFischer 2007, 4).	18
Kaava 5. Kaava liuoskonsentraatioiden laskemiseksi.	19
Kaava 6. Kaava residuaalien laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 18).	23
Kaava 7. Kaava toteamisrajan laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 30).	26
Kaava 8. Kaava määritysrajan laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 30).	26
Kaava 9. Kaava keskihajonnan laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 30).	27
Kaava 10. Kaava residuaalien laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 18).	27
Kaava 11. Kaava satunnaisvirheen laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 49).	31
Kaava 12. Kaava saannon laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 34).	32
Kaava 13. Kaava kokonaisepävarmuuden laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 54).	33
Kaava 14. Kaava laajennetun mittausepävarmuuden laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 54).	33
Kaava 15. Kaava tulosten erotusten keskiarvon laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 64).	35
Kaava 16. Kaava varianssin laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 64).	35
Kaava 17. Kaava t-testin laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 64).	35

KUVAT

Kuva 1. Sulfidielektrodin kaaviokuva (ThermoFischer 2007, 6).	15
Kuva 2. Viikkostandardin titrauskäyrä.	19
Kuva 3. Standardisuoran lineaarisuuden määrittäminen.	22
Kuva 4. Standardisuoran lineaarisuuden määrittäminen.	23
Kuva 5. Residuaalien mahdollinen jakauma.	28

TAULUKOT

Taulukko 1. Rikkivedyn ominaisuuksia (Jukkala 2008, 10).	8
Taulukko 2. Esimerkki validointiprotokollasta (Huber 2007, 127).	11
Taulukko 3. Standardisuoran pisteiden lukuarvot kuvasta 3.	21
Taulukko 4. Standardisuoran pisteiden lukuarvot kuvasta 4.	22
Taulukko 5. Residuaalien laskenta kuvan 4 suorasta.	24
Taulukko 6. Standardisuoran toistettavuuden testaus.	24

JOHDANTO

Opinnäytetyö tehtiin Turun ammattikorkeakoulun laboratoriossa ja työ oli osa Suomen Ympäristökeskuksen ja Turun ammattikorkeakoulun yhteishanketta. Hankkeessa käsiteltiin luonnonvesissä tapahtuvaa sulfaatin pelkistymistä sulfidiksi ja sen vaikutusta raudan kiertoon ja fosforin vapautumiseen vesistöissä.

Opinnäytetyön tavoitteena oli laatia validointisuunnitelma sulfidimittaukselle. Tarve tämän työn tekemiseen tuli alun perin hankkeessa, jossa sulfidipitoisuudet piti määrittää luonnonvesi- ja sedimenttinäytteistä.

Validointi on tärkeä osa analyttistä käytäntöä. Validoinnin tarkoituksena on osoittaa käytetyn menetelmän paikkansapitävyys ja sen tuloksia voidaan käyttää validoinnin kohteena olleen menetelmän laadun ja luotettavuuden arviointiin. Olennainen osa validointia ovat raportointi ja jäljitettävyyden arviointi. Raportissa todetaan menetelmän soveltuvuus käyttötarkoitukseensa ja täyttääkö se annetut vaatimukset. Jäljitettävyyden tarkoituksena on osoittaa tulosten jäljitettävyyttä referenssimateriaaliin tai mittanormaaliin.

Validointisuunnitelmassa päätetään validoinnin laajuus kysymyssarjan avulla. Suunnitelmassa käsitellään myös validointiin liittyvien liuosten käsittely ja valmistus sekä elektrodin toimintakunnon tarkastaminen ja huoltotoimenpiteet.

Sulfidielektrodilla tehtiin useita testiajoja. Näistä ajoista saatua tietoa on käytetty validointisuunnitelmassa hyväksi esimerkkien muodossa.

YLEISESTI SULFIDEISTA

2.1 Sulfidit ja niiden fysikaaliset ja kemialliset ominaisuudet

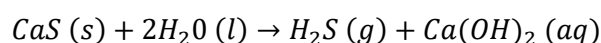
Yleisiä rikin esiintymismuotoja ilmakehässä, maaperässä ja vesistöissä ovat sulfidit (H_2S ja HS^-). Sulfideja päätyy luontoon myös teollisuuden laajan rikkihapon käytön vuoksi. Rikin vaikutukset luonnossa nähdään yleisimmin happamina sateina. Näillä sateilla on kauaskantoisia haitallisia vaikutuksia maaperään ja vesistöihin. Rikin anioninen muoto pystyy muodostamaan myrkyllisiä yhdisteitä. Eräs näistä yhdisteistä on rikkivety (H_2S). (Jukkala 2008, 8.)

Alkuainerikin pelkistyneessä muodossa sulfidissa (S^{2-}) kaksi rikkiatomia on liittynyt toisiinsa kaksoissidoksella. Rikkivety (H_2S) muodostuu rikkiatomista, johon on liittynyt kaksi vetyatomia. Rikkivety on väritön ja myrkyllinen kaasu, jonka haju muistuttaa mätää kananmunaa. (Jukkala 2008, 10.)

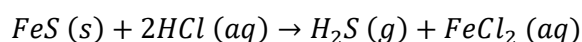
Taulukko 1. Rikkivedyn ominaisuuksia (Jukkala 2008, 10).

sp(K)	kp(K)	$\Delta_{vap} H^\theta(kp)$, (kJ/mol)	$\Delta_f H^\theta(298K)$, (kJ/mol)	pKa (1)	pKa (2)
187,5	214	18,7	-20,6	7,04	19

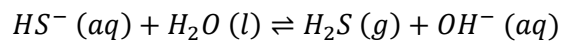
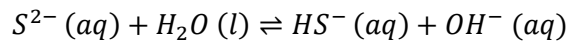
Metallisulfidien liukoisuus veteen on heikko. Vain alkali- ja maa-alkalimetallisulfidit sekä alumiinisulfidit liukenevat helposti veteen. (Jukkala 2008, 10.) Esimerkiksi kalsiumsulfidin liuetessa muodostuu rikkivetyä ja kalsiumhydroksidia:



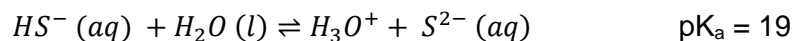
Metallisulfidien reaktio happamissa olosuhteissa johtaa rikkivedyn syntyyn (Jukkala 2008, 10). Esimerkiksi rautasulfidin reagoiessa vetykloridihapon kanssa muodostuu rikkivetyä ja rautakloridia:



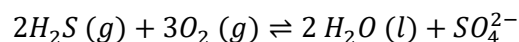
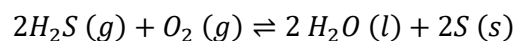
Liuksen happamuuden kasvaessa tapahtuu sulfidin hydrolysoituminen vedessä H_2S :ksi. Olosuhteiden ollessa erittäin happamat HS^- hydrolysoituu H_2S :ksi. (Jukkala 2008, 10.) Sulfidi hydrolysoituu kahdessa vaiheessa. Ensimmäisessä vaiheessa sulfidi hydrolysoituu vetysulfidiksi ja toisessa vaiheessa vetysulfidi hydrolysoituu rikkivedyksi:



H_2S hydrolysoituu vedessä vähäisissä määrin takaisin sulfidiksi. Tällöin muodostuu liuoksia, jotka ovat heikosti happamia. (Jukkala 2008, 10.) Esimerkiksi rikkivety hydrolysoituu kahdessa vaiheessa. Ensimmäisessä vaiheessa rikkivety hydrolysoituu vetysulfidiksi ja toisessa vaiheessa vetysulfidi hydrolysoituu sulfidiksi.



H_2S hapettuu helposti. Hapettumisen tulokseen vaikuttaa saatavilla olevan hapen määrä. (Jukkala 2008, 10.) Esimerkiksi niukkahappisessa ympäristössä rikkivety hapettuu vedeksi ja rikiksi. Runsahappisessa ympäristössä rikkivety hapettuu vedeksi ja sulfaatiksi.



2.2 Rikkivety ympäristössä ja dissimilatorinen sulfaatinpelkistys

Happea sisältävien radikaalien vuoksi rikkivety hajoo ilmassa sulfaatiksi ja rikkidioksidiksi. Hajoamisen kesto voi olla yli 40 päivää koska se on riippuvainen esimerkiksi lämpötilasta. Rikkivedyn vesiliukoisuus saa sen kulkeutumaan sateen vaikutuksesta maaperään ja pohjaveteen. Vesistöjen ja maaperän happamuus lisääntyvät rikkivedyn ja sen hajoamistuotteiden vaikutuksesta. Rikkivety on luokiteltu vesieliömyrkyllisyytensä vuoksi ympäristölle vaaralliseksi. (Työterveyslaitos 2015)

Sulfaatti (SO_4^{2-}) pystyy pelkistymään sulfideiksi sopivissa olosuhteissa. Pelkistyminen tapahtuu silloin kun ympäristössä on sulfaatin pelkistämiseen kykeneviä mikrobeja. Mikrobit tarvitsevat toimiakseen hapettomat olosuhteet ja ravinnokseen hiiltä sopivassa muodossa kuten sokereina. Sulfaatin pelkistyessä muodostuvat sulfidit vähentävät raudan kiertoa sedimentissä ja liittävät sulfaatin vesistöjen rehevöitymiseen fosforin vapautumisen kautta. (Ekholm & Lehtoranta 2013, 40.)

VALIDOINTI

3.1 Määritelmä

Menetelmän validointi on prosessi, jota käytetään osoittamaan spesifiseen testiin käytetyn analyttisen menetelmän paikkansapitävyys. Validoinnin tuloksia voidaan käyttää analyttisten tulosten luotettavuuden, laadun ja toistettavuuden arviointiin. Validointi on olennainen osa hyvää analyttistä käytäntöä. (Huber 2007, 125.)

Analyttisen menetelmän validointi tehdään ennen menetelmän toistuvan käytön aloittamista. Validointi suoritetaan myös menetelmän muuttamisen jälkeen, kun muutos on menetelmän tavanomaisen käyttöalueen ulkopuolella. Mikäli olosuhteet ovat muuttuneet edellisen validoinnin jälkeen (esim. mittauslaitteen tai näytteiden muuttuneet ominaisuudet), validointi suoritetaan uudelleen. (Huber 2007, 125.)

3.2 Suunnittelu

Tietyn menetelmän validius tulee näyttää toteen laboratorikokeilla. Kokeissa käytetään standardeja tai näytteitä, jotka ovat samankaltaisia kuin tuntemattomat näytteet, joita analysoidaan rutiininomaisesti. Kokeiden valmistelu ja suorittaminen tulee tapahtua validointiprotokollan mukaan. Protokolla kirjoitetaan opastusmuotoon, jossa jokainen kohta käydään suoritusjärjestyksessä lävitse. (Huber 2007, 127.)

Taulukko 2. Esimerkki validointiprotokollasta (Huber 2007, 127).

1.	Validointiprotokollan, toimintaohjeen ja pääsuunnitelman kehittäminen.
2.	Henkilöstön ja heidän vastualueidensa määrittäminen.
3.	Projektisuunnitelman tekeminen.
4.	Menetelmän tarkoituksen, laajuuden ja sovellusmahdollisuuksien määrittäminen.
5.	Hyväksyttävyyssuhteiden ja suoritusparametrien määrittäminen.
6.	Validoimiskokeiden valitseminen.
7.	Reagenssien laatuvaatimusten määrittäminen.
8.	Esikokeiden suorittaminen.

(jatkuu)

Taulukko 2. Esimerkki validointiprotokollasta (Huber 2007, 127). (jatkuu)

9.	Parametrien ja hyväksyttävyysskriteerien muuttaminen tarvittaessa.
10.	Validointikokeiden suorittaminen.
11.	Menetelmäohjeen laatiminen rutiinikäyttöä varten.
12.	Uudelleenvalidointikriteereiden määrittäminen.
13.	Kontrolli- ja soveltuvuuskokeiden määrittäminen.
14.	Validointiraportin laatiminen dokumentoinnin ja havaintojen perusteella.

3.3 Validoinnin laajuus

Menetelmän ja sen validointikriteerien sovellettavuuden laajuus tulee määrittää validointiprosessin alkuvaiheessa. Tähän kuuluu vastauksien löytäminen seuraaviin kysymyksiin:

- Mitä analyyttejä halutaan todeta?
- Mitä tasoa ovat konsentraatiot?
- Minkälaiset ovat näytteiden matriisit?
- Mikäli näytteissä on läsnä analyysia häiritseviä aineita, tulisiko nekin määrittää?
- Onko olemassa erityisiä lakiin tai sääntöihin perustuvia vaatimuksia?
- Tulisiko tiedon olla kvalitatiivista vai kvantitatiivista?
- Mitkä ovat vaadittavat toteamis- ja määrittämissrajat?
- Mitä odotetaan tarkkuudelta ja virheettömyydeltä?
- Kuinka vakaa menetelmän tulee olla?
- Onko menetelmä tarkoitettu vain yhdelle vai kaikille saman tyypin laitteille?
- Tullaanko menetelmää käyttämään vain yhdessä laboratoriossa vai tulisiko menetelmän olla vapaasti käytettävissä?
- Mikä on metodin käyttäjien tiedon ja taidon taso? (Huber 2007, 128.)

Validoinnin määrittely

Tässä validointityössä mitataan pääasiassa luonnonvesinäytteiden sulfidipitoisuuksia, jotka ovat aikaisempien analyysien perusteella 0,1–3,0 ppm. Sulfidien hapettumisesta johtuen näytteet sisältävät myös sulfaattia, jonka häiritsevyys arvioidaan.

Kerätty tieto on kvantitatiivista eli määrällistä. Analyysit perustuvat mittaamiseen, jossa syntyy tilastollisin menetelmin käsiteltäviä lukuarvoja. Määritysrajan alarajan ja toteamisrajan odotetaan olevan pienempi kuin 0,5 ppm aikaisempien testiajojen perusteella. Tarkkuus määritetään toistettavuusmittausten kautta, tavoitteena on RSD < 1 %. Virheettömyys määritetään saannon kautta, saantoprosentin tavoitteena on 95–105 %.

Menetelmä on tarkoitettu validoinnissa käytössä olleelle laitteistolle. Menetelmää käytetään laboratoriossa, jossa testit suoritetaan.

Menetelmän käyttäjiltä edellytetään laboratoriokokemusta. Tämä tarkoittaa ymmärrystä laitteiden käytöstä, reagensseihin liittyvistä käytännöistä, työrutiineista ja laboratorion työturvallisuudesta. Analyyseissa syntyy vaarallisia jätteitä, jotka lakien mukaan toimitetaan asianmukaiseen laitokseen jatkokäsittelyä varten.

SULFIDIMITTAUS, MENETELMÄKUVAUS

4.1 Sulfidielektrodi

Sulfidielektrodi koostuu epoksirunkoon liitetystä sensorelementistä ja vertailuelektrodista. Elementin ollessa kontaktissa sulfidi-ioneja sisältävän liuoksen kanssa syntyy elektrodipotentiaali. Tämä potentiaali on riippuvainen vapaiden sulfidi-ionien konsentraatiosta ja se voidaan mitata mV-mittarilla. Liuoksen mitattu potentiaali vastaa liuoksen sisältämien sulfidi-ionien määrää Nernstin yhtälön mukaan. (ThermoFischer 2007, 50.) Liuoksen mitattu potentiaali saadaan laskettua kaavalla 1.

$$E = E_0 + S \cdot \log(A)$$

jossa

E = mitattu potentiaali (mV)

E_0 = vertailupotentiaali (vakioarvo, mV)

A = sulfidi-ionien aktiivisuustaso liuoksessa

S = elektrodin herkkyys (eli kulmakerroin)

Kaava 1. Kaava liuoksen mitatun potentiaalın laskemiseksi (ThermoFischer 2007, 50).

Aktiivisuus A on vapaiden sulfidi-ionien aktiivisuus liuoksessa. Sulfidi-ionien aktiivisuus on riippuvainen vapaiden ionien konsentraatiosta C_f aktiivisuuskertoimen Y_i kautta. (ThermoFischer 2007, 50.) Sulfidi-ionien aktiivisuus lasketaan kaavalla 2.

$$A = Y_i \cdot C_f$$

Kaava 2. Kaava vapaiden sulfidi-ionien aktiivisuuden laskemiseksi (ThermoFischer 2007, 50).

Ioniaktiivisuuskertoimet ovat riippuvaisia kokonaisonivahvuudesta. Ionivahvuutta voidaan kuvata seuraavalla kaavalla. (ThermoFischer 2007, 51.)

$$Ionivahvuus = \frac{1}{2} \sum C_i Z_i^2$$

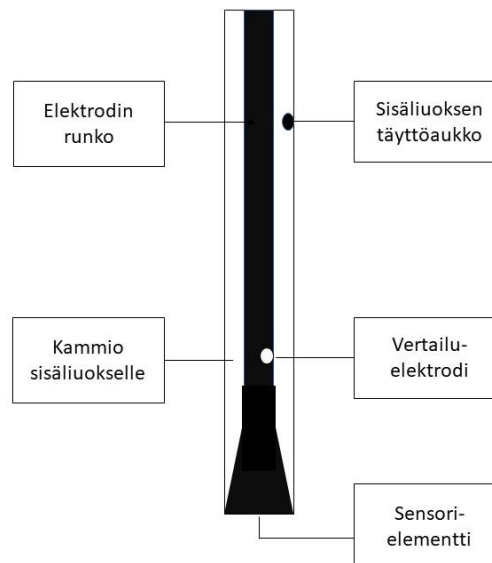
jossa

C_i = ionin i konsentraatio

Z_i = ionin i varaus

Kaava 3. Kaava ionivahvuuden laskemiseksi (ThermoFischer 2007, 51).

Mikäli taustan ionivahvuus on korkea ja vakioarvo on riippuvainen mitatusta ionikonsentraatiosta, niin tällöin aktiivisuuskerroin on vakio ja aktiivisuus on suoraan riippuvainen konsentraatiosta. Sulfidiantioksidanttipuskuria (SAOB II) lisätään standardeihin ja näytteisiin. Puskurin tarkoituksena on estää sulfidien hapettumista, vapauttaa sulfideja vetyioneista ja säätää taustan ionivahvuutta. (ThermoFischer 2007, 51.)



Kuva 1. Sulfidielektrodin kaaviokuva (ThermoFischer 2007, 6).

4.2 Sulfidimittauksen toteuttaminen

4.2.1 Elektroodin valmistelu

Mikäli elektrodi on yli viikon käyttämättä, se säilytetään kuivana ilman sisäliuosta. Tällöin valmisteluissa elektroodin sisäkammio tulee täyttää täytöreikään asti täyttöliuoksella. Elektroodin yläpäästä painamalla tulee sisäliuosta laskea ulos sisäkammioista. Näin elektroodin ulkorungon ja sisärungon välinen liitos saadaan kostutettua. Täyttöliuoksena toimii elektroodin mukana toimitettu liuos (Optimum Results B filling solution, Cat. No. 900062). (ThermoFischer 2007, 5.)

Sulfidistandardityöliuoksella tarkastetaan menetelmän herkkyys. Liuoksen valmistus on käsitelty luvussa 4.2.2. Kyseisen liuoksen sulfidikonsentraatio on noin 100 ppm. Dekanterilasiin lisätään 22,5 ml SAOB II-liuosta ja sama määrä ultrapuhdasta kaasutonta vettä. Liuosta sekoitetaan magneettisekoittajalla ja liuokseen lasketaan huuhdeltu ja kuivattu sulfidielektrodi. Liuokseen pipetoidaan kaksi kertaa sulfidistandardityöliuosta. Pipetoitavat tilavuudet ovat 1 ml ja 10 ml. Mittarin lukemien annetaan asettua pipetointien jälkeen ja kirjataan ylös. Lukemien erotuksen tulee olla 25–30 mV. (ThermoFischer 2007, 7.)

4.2.2 Reagenssit

Ultrapuhdas kaasuton vesi

Kaikissa sulfidielektroodin validointiin liittyvissä toimenpiteissä (liuokset, elektroodin huuhtelu) tulee käyttää ultrapuhdasta vettä, joka on saatettu kaasuttomaan tilaan ultraäänihauteessa (ThermoFischer 2007, 4). Veden tulee olla samana päivänä valmistettua, kun sitä käytetään.

Natriumsulfidikantaliuos

Kidevedellistä natriumsulfidia ($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) käytetään natriumsulfidikantaliuoksen valmistukseen. Ultrapuhtaaseen kaasuttomaan veteen liuotetaan natriumsulfidia suhteessa 5 g / 5 ml vettä. Liuos suositellaan otettavaksi käyttöön vasta seuraavana päivänä, jolloin siitä voidaan valmistaa viikkostandardi. Tällöin reagenssi on kokonaan liuennut veteen. On suositeltavaa säilyttää liuos ilmatilattomassa säilöpullossa jääkaapissa. (ThermoFischer 2007, 4.)

Viikkostandardi

Viikkostandardi on viikottain valmistettava liuos, joka sisältää tunnetun määrän sulfidi-ioneja. Viikkostandardin sulfidikonsentraatio määritetään titraamalla 25 ml viikkostandardia 0,1 M Pb^{2+} -liuoksella. Titraus suoritetaan samana päivänä, jolloin mittaukset aloitetaan. Viikkostandardista valmistetaan sulfidistandardityöliuos, josta valmistetaan edelleen varsinaiset sulfidistandardiliuokset. (ThermoFischer 2007, 4.)

Viikkostandardi valmistetaan pipetoimalla 1 ml natriumsulfidikantaliuosta 100 ml:n mittapulloon. Mittapulloon lisätään 50 ml SAOB II-liuosta ja täytetään merkkiin ultrapuhtaalla kaasuttomalla vedellä. Viikkostandardi siirretään säilöpulloon säilytystä varten. (ThermoFischer 2007, 4.)

Sulfidistandardityöliuos

Viikkostandardista valmistetaan sekoittamisen ja solvatoitumisen jälkeen noin 100 ppm:n sulfidityöliuos menetelmän herkkyyden tarkastamista varten. Työliuosta varten pipetoidaan 10 ml viikkostandardia 100 ml:n mittapulloon. Mittapulloon lisätään 22,5 ml SAOB II-liuosta ja täytetään merkkiin ultrapuhtaalla kaasuttomalla vedellä. (ThermoFischer 2007, 4.)

SAOB II

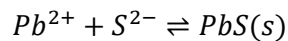
Sulfidiantioxidanttipuskuria (SAOB II) lisätään näytteisiin ja standardeihin pH-arvon nostamiseksi ja sulfidien hapettumisen ehkäisemiseksi. Arvon ollessa yli 12, HS^- ja H_2S ionit muuttuvat haluttuun S^{2-} muotoon. (ThermoFischer 2007, 49.)

SAOB II:n valmistus: 500 ml:n mittapulloon lisätään 250 ml 4 M NaOH:a ja 200 ml ultrapuhdasta kaasutonta vettä. Seuraavaksi liuokseen lisätään 17,6 g askorbiinihappoa ja 37,2 g kidevedellistä etyleenidiamiinitetraetikkahappoa. Mittapullo täytetään merkkiin ultrapuhtaalla kaasuttomalla vedellä ja sekoitetaan hyvin. Liuos siirretään säilöpulloon säilytettäväksi jääkaapissa. (NTsensors.)

Tässä työssä käytetty kaupallinen SAOB II-liuos valmistetaan sekoittamalla reagenssit A -ja B keskenään. Reagenssi A on NaOH-liuos. Reagenssi B on kiteinen tai jauhemainen kiinteä seos, jonka koostumusta valmistaja ei ilmoita. (VWR 2015, 1–11.) SAOB II-liuos on käyttökelpoinen 30 päivää valmistamisesta. Tämän jälkeen liuos muuttuu tummanruskeaksi. (ThermoFischer 2007, 4.)

4.2.3 Viikkostandardin konsentraation määrittäminen

Viikkostandardin konsentraatio määritetään titraamalla 25 ml viikkostandardia 0,1 M Pb^{2+} -liuoksella. Viikkostandardia lisätään 100 ml:n dekantertiin 25 ml:n täyspipetillä. Titrauksessa tapahtuvassa reaktiossa sulfidi-ioni saostaa lyijy(II)sulfidia seuraavan reaktioyhtälön mukaisesti (Antikainen 1977, 171).



Viikkostandardin konsentraatio lasketaan seuraavalla kaavalla:

$$C = 3206 \cdot \frac{V_t}{V_s}$$

jossa

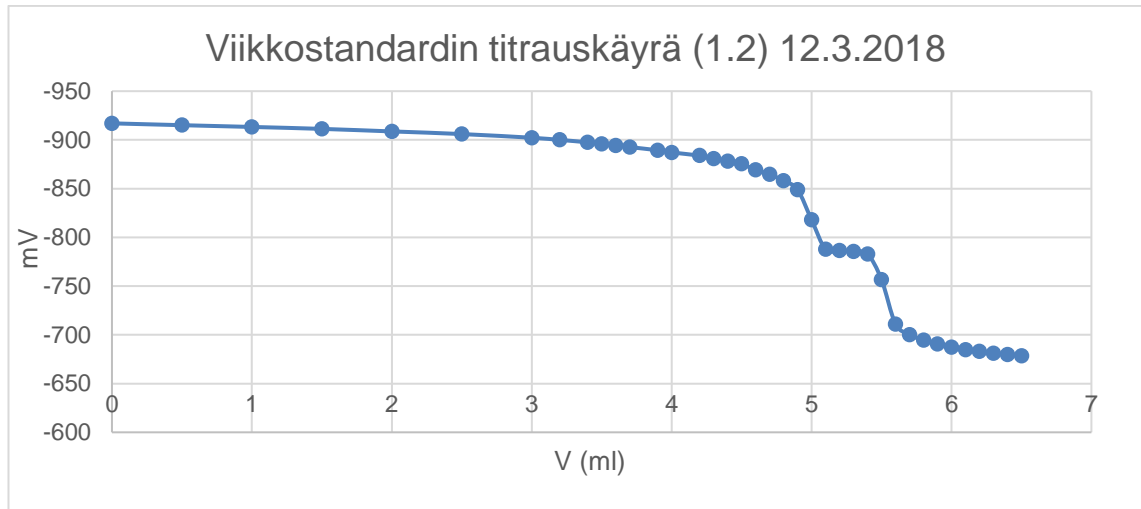
C = sulfidikonsentraatio (ppm)

V_t = titrantin kulutus (ml)

V_s = standardin tilavuus (ml)

Kaava 4. Kaava viikkostandardin konsentraation laskemiseksi (ThermoFischer 2007, 4).

Määrittämissä titrauskäyrässä on huomattu useasti myös toinen ekvivalenttipiste. Viikkostandardin konsentraatiota määritettäessä tulee käyttää ensimmäistä ekvivalenttipistettä. Kuvassa 2 on tyypillinen viikkostandardin titrauskäyrä. Oheisesta käyrästä katsottiin ekvivalenttipisteeksi kohta, jossa titrantin kulutus oli 5,0 ml.



Kuva 2. Viikkostandardin titrauskäyrä.

Titrauksia tulee tehdä kolme rinnakkaista, joiden keskiarvo huomioidaan. Toinen ekvivalenttipiste osoittaa kantaliuoksen olevan hapettunut. Tällöin sen sulfidipitoisuus on myös odotettua pienempi.

4.2.4 Standardiliuosten valmistaminen

Sulfidistandardiliuokset valmistetaan viikkostandardista, jonka pitoisuus tunnetaan tarkasti. Esim. jos viikkostandardin konsentraatio on 660 ppm, niin noin 100 ppm:n työliuos valmistetaan seuraavasti:

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

jossa

C_1 = viikkostandardin konsentraatio

V_1 = viikkostandardin tilavuus

C_2 = noin 100 ppm:n liuoksen tarkka konsentraatio

V_2 = 100 ppm:n liuoksen tilavuus

Kaava 5. Kaava liuoskonsentraatioiden laskemiseksi.

Kaavan muokkaamisen jälkeen saadaan seuraava yhtälö:

$$V_1 = \frac{C_2 \cdot V_2}{C_1}$$

Tästä kaavaan sijoituksella saadaan yhtälö muotoon:

$$V_1 = \frac{100 \text{ ppm} \cdot 100 \text{ ml}}{660 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 15,1 \text{ ml}$$

Viikkostandardia pipetoidaan tasan 15 ml. Näin noin 100 ppm:n liuoksen todellinen konsentraatio on:

$$C_2 = \frac{15 \text{ ml} \cdot 660 \text{ ppm}}{100 \text{ ml}}$$

$$C_2 = 99 \text{ ppm}$$

Kaikkien analyysistandardien tarkat konsentraatiot tulee laskea kaavan 5 mukaan.

4.3 Standardien ja näytteiden mittaaminen

Analysoitaessa standardiliuosten ja näyteliuosten konsentraatioita liuoksen vähimmäis-tilavuuden tulee olla 20 ml. Elektrodiin täyttöaukon tulppa avataan ja elektrodi huuhdellaan ultrapuhtaalla kaasuttomalla vedellä. Elektrodi voidaan kuivata varovasti painelemalla sitä nukkaamattomalla liinalla. (ThermoFischer 2007, 9.)

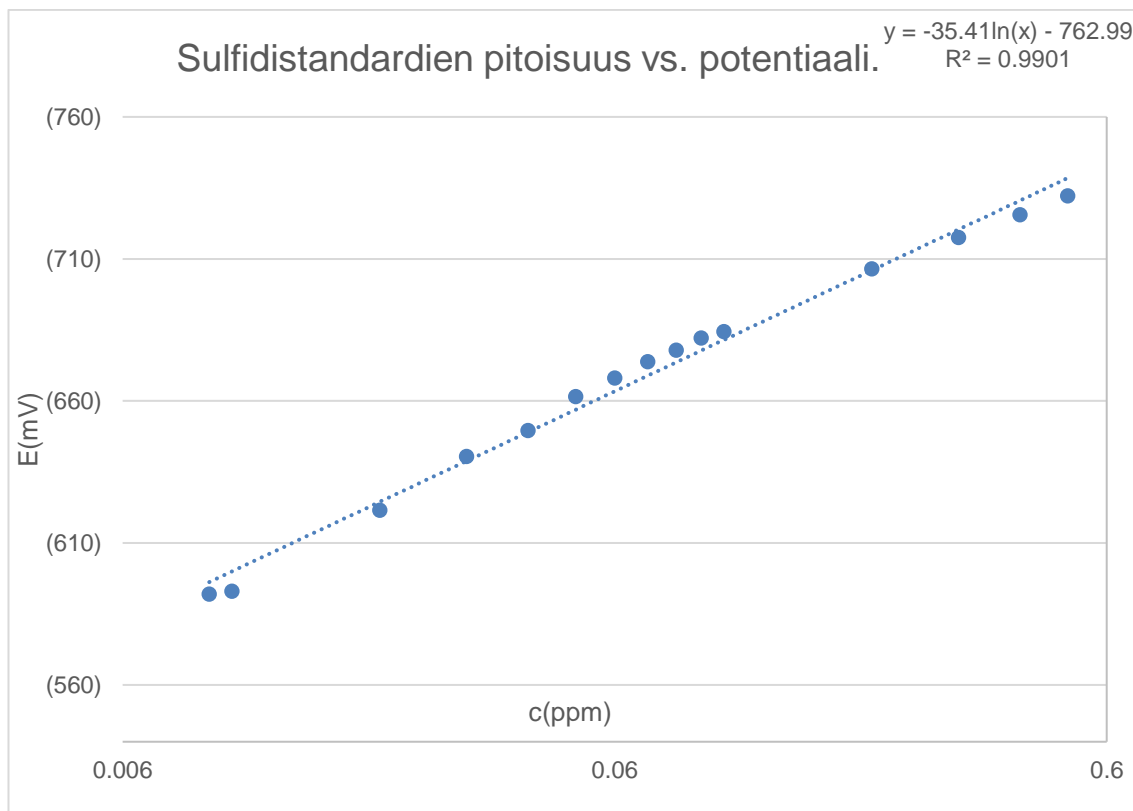
Elektrodiin kärki lasketaan mitattavaan liuokseen nestepinnan alapuolelle ja magneettisekoitus kytketään päälle. Mittarista kirjataan mV-lukema sen asettumisen jälkeen. Tähän voi kulua aikaa useita minuutteja. Elektrodi huuhdellaan, kuivataan ja seuraava näyte tai standardi voidaan mitata.

4.4 Elektroodin ja menetelmän testaus

Elektroodin käyttöönotossa testattiin lineaarista aluetta ja toistettavuutta. Taulukossa 3 ovat mitattujen sulfidistandardien pitoisuudet ja niiden mitatut vasteet. Kuvassa 3 on taulukon 3 arvojen mukaan piirretty standardisuora, jolla lineaarisuutta testattiin. Kyseinen suora ei ole silmämääräisesti koko alueeltaan lineaarinen.

Taulukko 3. Standardisuoran pisteiden lukuarvot kuvasta 3.

std no	c(ppm)	E(mV)
1	0,009	-592
2	0,01	-593
3	0,02	-621,5
4	0,03	-640,4
5	0,04	-649,5
6	0,05	-661,5
7	0,06	-668
8	0,07	-673,8
9	0,08	-677,8
10	0,09	-682,1
11	0,1	-684,4
12	0,2	-706,5
13	0,3	-717,5
14	0,4	-725,5
15	0,5	-732,2

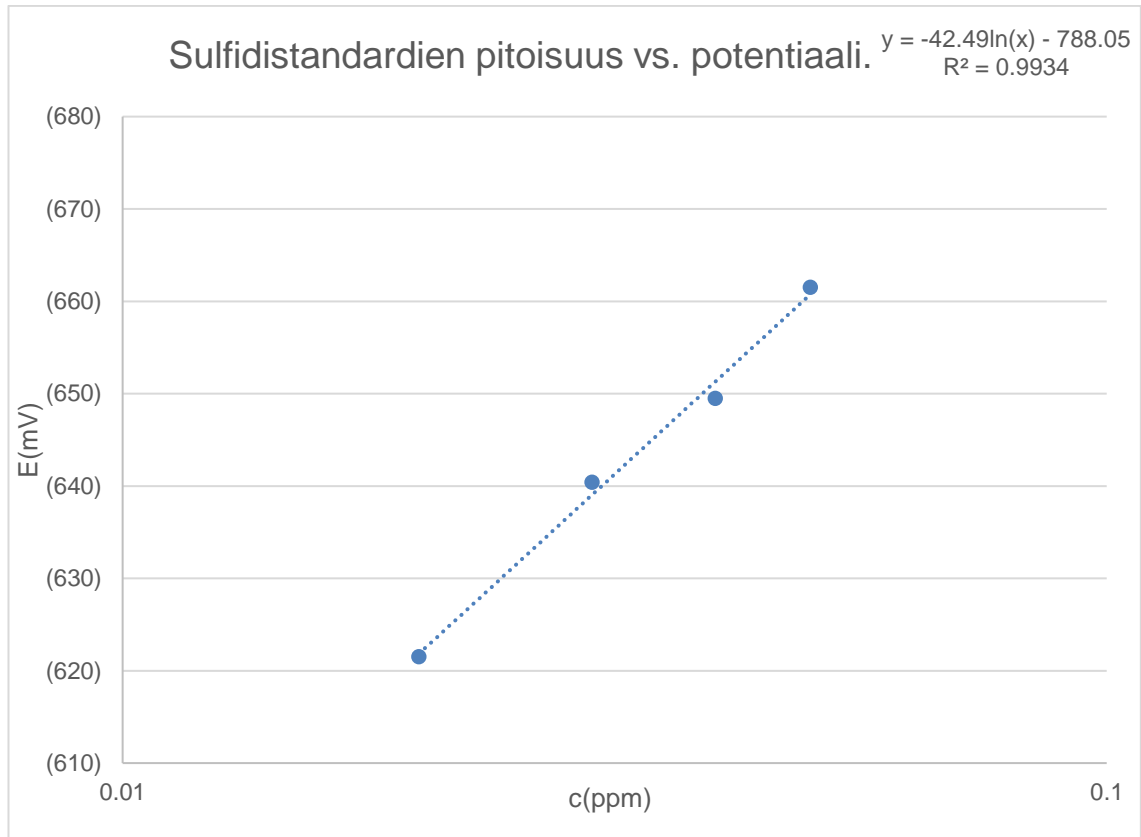


Kuva 3. Standardisuoran lineaarisuuden määrittäminen.

Kuvan 3 standardisuorasta valittiin neljä pitoisuutta lineaarisuuden määrittämistä varten residuaalien avulla. Pitoisuudet olivat välillä 0,02–0,05 ppm. Taulukossa 4 ovat pitoisuudet ja niiden mitatut vasteet. Kuvassa 4 on lukuarvojen mukaan piirretty standardisuora.

Taulukko 4. Standardisuoran pisteiden lukuarvot kuvasta 4.

std no	c(ppm)	E(mV)
1	0,02	-621,5
2	0,03	-640,4
3	0,04	-649,5
4	0,05	-661,5



Kuva 4. Standardisuoran lineaarisuuden määrittäminen.

Kuvan 4 suoran lineaarisuus analysoidaan vielä matemaattisesti. Taulukossa 5 on suoritettuna residuaalien laskenta kuvan 4 suorasta. Laskenta on suoritettu kaavan 6 mukaan. Määritelmän mukaan suora on lineaarinen, koska residuaalien arvot vaihtelevat vuorotellen positiivisesta negatiiviseen.

$$\varepsilon = y_i - \hat{y}_i$$

jossa

ε = residuaalin arvo

y_i = mitattu y-arvo

\hat{y}_i = regressiosuoralta laskettu y-arvo

Kaava 6. Kaava residuaalien laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 18).

Taulukko 5. Residuaalien laskenta kuvan 4 suorasta.

c(ppm)	Arvo suoralta (mV)	Mitattu arvo (mV)	Residuaalin arvo
0,02	-621,89	-621,5	0,39
0,03	-638,70	-640,4	-1,7
0,04	-650,63	-649,5	1,13
0,05	-659,89	-661,5	-1,61

Taulukossa 6 ovat vasteet, jotka saatiin, kun jokaisesta standardiliuoksesta mitattiin kolme rinnakkaisnäytettä. Taulukossa on myös rinnakkaisnäytteiden arvojen tilastollinen käsittely toistettavuuden kannalta. Käsittelyssä tarkasteltiin suhteellista virheprosenttia (RSD). Tavoite oli, että RSD on alle 1 %. Tämä tavoite saavutettiin.

Taulukko 6. Standardisuoran toistettavuuden testaus.

Konsentraatio (ppm)	1.1 (mV)	1.2 (mV)	1.3 (mV)	Keskiarvo (mV)	Keskihajonta	RSD
0,072	-673,8	-673,9	-674,8	-674,17	0,45	0,07
0,036	-653,2	-654,1	-652,7	-653,33	0,58	0,09
0,018	-631,8	-631,9	-630,1	-631,27	0,83	0,13
0,009	-605	-601,9	-598,8	-601,9	2,53	0,42
0,0045	-534,8	-533,5	-533,7	-534	0,57	0,11
0,0023	-495,1	-496,1	-492,9	-494,7	1,34	0,27

Testituloksista voidaan huomata elektrodimittauksen olevan lineaarinen, mutta ei Nernstin yhtälön mukainen. Asia havaitaan kuvien 3 ja 4 suorien kulmakertoimista. Näin alhaisilla konsentraatitasoilla titrausmenetelmä on luotettavampi verrattuna suoraan standardinmittaukseen.

Nernstin yhtälön mukainen lineaarinen alue on suurempi kuin 0,32 ppm ja mittausalue 0,003–32000 ppm elektrodimanuaalin tietojen mukaan (ThermoFischer 2007, 35–58).

SULFIDIMÄÄRITYKSEN VALIDOINTI

Yleistä

Testeissä käytettävän näytematriisin tulee muistuttaa varsinaisia analyysinäytteitä. Tämän vuoksi testeissä käytetään mahdollisuuksien mukaan jokivesinäytteitä. Jokivesinäytteet suodatetaan käyttäen 45 µm kalvosuodattimia.

Jokaiseen rinnakkaisnäytteeseen tarvitaan näytettä vähintään 30 ml. Jokivesinäytteisiin lisätään myös 1:1 suhteella SAOB II-liuosta hapettumisen ehkäisemiseksi. Valmistettaessa standardinlisäysnäytteitä, SAOB II-liuos lisätään näytteeseen ennen standardiliuosta. Standardinlisäysnäytteitä analysoimalla saadaan selville, onko näytematriisissa sulfidien määrittämistä häiritseviä yhdisteitä.

Parametrien mittausjärjestyksen suunnittelulla saadaan yhdestä mittaussarjasta tietoa monien parametrien laskemiseksi (VTT 2016, 15). Mittausjärjestys on seuraava:

- määritys- ja toteamisraja, jokivesinäytteet ja standardinlisäysnäytteet
- mittausalueen ja lineaarisuuden standardiliuokset
- toistettavuuden standardiliuokset ja nollanäytteet

Elektrodin kalibrointi tulee tarkastaa mittausten aikana kahden tunnin välein. Tämä tapahtuu mittaamalla vaste tuoreesta pienimmän pitoisuuden standardiliuoksesta, joka on hyväksytty standardisuoraan. Mikäli vaste poikkeaa yli 4 % aikaisemmasta mittauksesta, kalibrointi tulee suorittaa uudestaan uusilla standardiliuoksilla. (ThermoFischer 2007, 9).

5.1 Määritys- ja toteamisraja

Toteamisrajalla mitattava arvo on suurempi kuin siihen liittyvä epävarmuustekijä. Tämä tarkoittaa näytteen sisältämän analyytin alinta pitoisuutta, joka voidaan havaita ja joka poikkeaa nollanäytteestä. Tätä pitoisuutta ei välttämättä voida kuitenkaan määrittää tarkasti numeerisessa muodossa. (Huber 2007, 148.)

Määritys- ja toteamisrajan määrittämisessä analyytin tulee olla matriisiltaan samanlainen kuin säännöllisesti analysoitavat näytteet. Mikäli tämä ei ole mahdollista analyytiksi valitaan nollanäyte. Joissakin tapauksissa nollanäytteellä ei saada vastetta. Tällöin määrittämisessä voidaan käyttää määritysrajan lähellä olevaa standardiliuosta. Määritys- ja

toteamisrajan matemaattisessa arvioinnissa käytetään muuttujina näytteiden keskihajontaa ja keskiarvoa. (Mäkinen ym. 1996, 30.)

Toteamisrajan määrittämisessä voidaan nollanäytteenä käyttää ultrapuhdasta kaasutonta vettä. Tällöin mitattavista parametreista voidaan kuitenkin saada liian optimistinen arvo (Mäkinen ym. 1996, 30). Nollanäytteenä voidaan käyttää myös jokivesinäytettä, josta on hapettamalla poistettu valtaosa sulfideista. Tähän jokivesinäytteeseen lisätään SAOB II-liuos hapettamisen jälkeen. Hapetetun jokivesinäytteen signaalin tulee olla suurempi, kuin mitä saadaan mitattaessa ultrapuhdasta kaasutonta vettä.

Määrittämis- ja toteamisrajan mittauksissa analysoidaan 10 rinnakkaisnäytettä.

$$Toteamisraja = \mu_B + 3s$$

jossa

μ_B = nollanäytteen tulosten keskiarvo

s = nollanäytteen tulosten keskihajonta

Kaava 7. Kaava toteamisrajan laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 30).

Määrittämisrajan alarajana voidaan pitää lineaarisuuden määrittämisessä laskettua standardisuoran alinta hyväksyttyä pistettä nollanäyte pois lukien. Määrittämisraja saadaan myös laskettua seuraavalla kaavalla.

$$Määrittämisraja = \mu_B + 10s$$

Kaava 8. Kaava määrittämisrajan laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 30).

Mikäli nollanäytteiden rinnakkaismittaukset tehdään pitemmällä aikavälillä, keskihajonta lasketaan seuraavalla kaavalla (Mäkinen ym. 1996, 30).

$$s = \frac{\sqrt{\sum d^2}}{2m}$$

jossa

d = nollanäytteiden erotus (konsentraationa)

m = näytesarjojen lukumäärä

Kaava 9. Kaava keskihajonnan laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 30).

5.2 Menetelmän lineaarisuus- ja mittausalue

Analyttisen menetelmän mittausalue on määritelmän mukaan se ylemmän ja alemman tason väli (mukaanluettuna näiden välien tasot), joka täyttää tietyt vaatimukset. Vaatimuksien mukaan tällä välillä suoritettavien mittauksien tulee täyttää lineaarisuuden, tarkkuuden ja virheettömyyden vaatimukset kyseisen menetelmän mittauksia suoritettaessa. (Huber 2007, 148.)

Lineaarisuus on analyttisen menetelmän kyky saada selville testituloksia, jotka ovat suoraan verrannollisia näytteiden sisältämien analyttien konsentraatioihin tietyllä alueella (Huber 2007, 146).

Mittausalueen alussa menetelmän käyttöä rajoittaa määritys- tai toteamisraja. Mittausalueen lopussa rajoittavana tekijänä ovat mittalaitteen detektio-ominaisuudet, eli laitteen kyky mitata analyttin konsentraation muutoksia. (Mäkinen ym. 1996, 16.)

Mittausalueen sisällä voi olla enemmän kuin yksi lineaarisuusalue. Tämä tarkoittaa sitä, että näytteiden pienille ja suurille pitoisuuksille käytetään eri standardisuoraa. Mittausalueella voi myös olla yksi lineaarinen konsentraatioalue tai laajempi epälineaarinen konsentraatioalue. (Mäkinen ym. 1996, 16.)

Standardisuoraa arvioitaessa korrelaatiokerrointa (r^2) on usein pidetty lineaarisuuden osoituksena. Residuaaleilla voidaan selvittää tarkasti suoran lineaariset osuudet varsinkin kaareutuivissa suorissa. Residuaalit lasketaan yhtälön 19 mukaan. (Mäkinen ym. 1996, 18.)

$$\varepsilon = y_i - \hat{y}_i$$

jossa

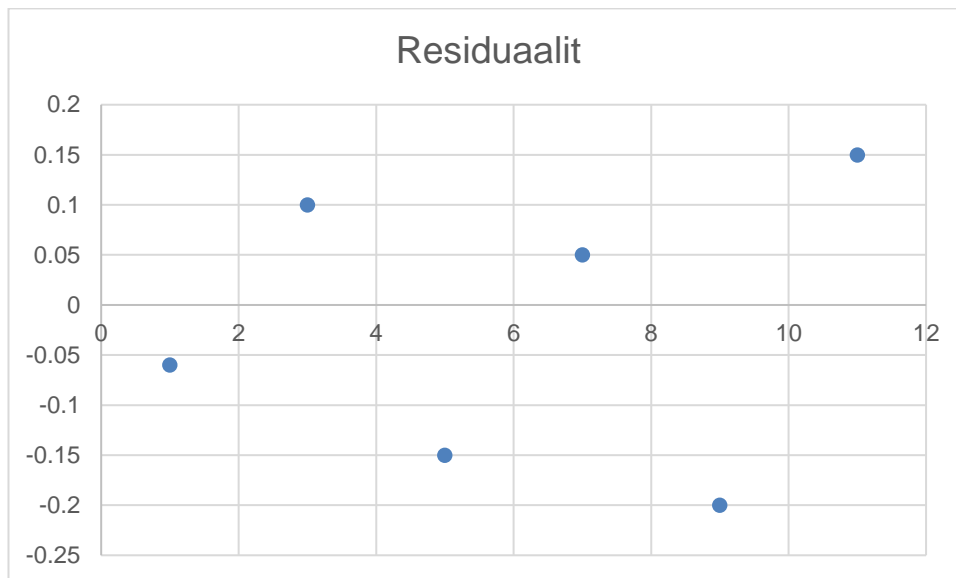
ε = residuaalin arvo

y_i = mitattu y-arvo

\hat{y}_i = regressiosuoralta laskettu y-arvo

Kaava 10. Kaava residuaalien laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 18).

Residuaaleista voidaan piirtää kuvaaja x:n funktiona. Standardisuoran lineaarisuuden osoituksena residuaalit jakautuvat nollassa molemmin puolin vuorotellen kuvan 5 mukaisesti. (Mäkinen ym. 1996, 18.)



Kuva 5. Residuaalien mahdollinen jakauma.

Residuaalien muodostaessa käyrän, standardisuoran sovitukseen voidaan kokeilla muita yhtälömuotoja kuten toisen asteen tai logaritminen yhtälö. (Mäkinen ym. 1996, 18.)

Mittausalue määritetään yhdessä lineaarisuustutkimusten kanssa ja on yleensä lineaarista aluetta laajempi (Mikes 2005, 29).

Menetelmän lineaarisuus- ja mittausalue määritetään aikaisempien mittaustulosten mukaan (0,1–2,5 ppm). Tähän perustuen testattava alue on 0,05–3,0 ppm. (Eurachem 2014, 27.) Standardien konsentraatiot jaetaan tälle alueelle.

Ensimmäisessä vaiheessa testialueelta mitataan 10 standardia ja nollanäyte. Nollanäytteenä käytetään ultrapuhdasta kaasutonta vettä. Jokaisesta näytteestä mitataan 3 rinnakkaisnäytettä, joiden keskiarvot lasketaan. Keskiarvojen perusteella lasketaan näytteiden pitoisuudet. Standardisuorasta arvioidaan visuaalisesti lineaarinen alue ja mittausalueen alaraja. (Eurachem 2014, 29.)

Edellä arvioidulta lineaariselta alueelta mitataan toisessa vaiheessa nollanäyte ja 10 standardia tasapitoisuusvälein. Tähän toiseen vaiheeseen standardiliuokset

valmistetaan uudelleen. Jokaisesta näytteestä mitataan 3 rinnakkaisnäytettä. Toisen vaiheen tuloksien käsittelyssä rinnakkaisnäytteistä lasketaan keskiarvot, joiden mukaan lasketaan pitoisuudet. Tämän jälkeen tehdään standardisuora sekä lasketaan lineaarinen regressio. Tämän jälkeen lineaarisuus arvioidaan vielä residuaalien avulla. (Eurachem 2014, 27.)

Standardisuoran lineaarisuuden osoituksena residuaalit jakautuvat nollatason molemmiin puolin vuorotellen. Mikäli residuaalien jakaumassa on huomattavissa säännönmukaisuutta esim. kaari, tällöin kyseinen suoran osuus ei ole lineaarinen. (Mäkinen ym. 1996, 18.)

Mittausalueen sisällä voi olla enemmän kuin yksi lineaarisuusalue. Tämä tarkoittaa sitä, että näytteiden pienille ja suurille pitoisuuksille käytetään eri standardisuoraa. Mittausalueella voi myös olla yksi lineaarinen konsentraatioalue tai laajempi epälineaarinen konsentraatioalue. (Mäkinen ym. 1996, 16.)

Mittaustuloksissa saattaa esiintyä oletusarvoista huomattavasti poikkeavia arvoja (outlier). Poikkeamat voivat olla oikeita tuloksia, tai ne voivat johtua erilaisista virheistä analyysissä. Koska poikkeamilla voi olla huomattava vaikutus analyysin tilastollisiin arvoihin, ne tulee arvioida huolellisesti ennen hyväksymistä tai poistoa. Rinnakkaisnäytteiden osalta tuloksen voidaan katsoa olevan poikkeama, mikäli sen etäisyys keskiarvosta on yli kaksi kertaa keskihajonta. (Porkess 2005, 178.)

Residuaalianalyysia voidaan myös käyttää poikkeamien määrittämisessä, varsinkin monimutkaisissa malleissa. Standardisuoran poikkeama arvioidaan jakamalla residuaalin arvo arvioidulla keskihajonnan arvolla. Mikäli tämä arvo on itseisarvoltaan yli 3, voidaan alkuperäistä mitattua arvoa pitää poikkeamana. (Hayter 2002, 645–646.)

Poikkeamat arvioidaan visuaalisesti ja poistetaan sekä ensimmäisessä, että toisessa vaiheessa. Ennen poikkeamien poistoa ne ja niiden viereiset standardit mitataan uudelleen. (Eurachem 2014, 29.)

5.3 Toistettavuus

Toistettavuus kuvaa analyysin täsmällisyyttä silloin, kun olosuhteet ovat toistettavissa lyhyellä aikavälillä. Tämä tarkoittaa samoja laitteita, olosuhteita, reagensseja, operaattoreita yms. (Huber 2007, 143.)

Toistettavuus määritetään erilaisten näytteiden analyyseissa samassa laboratoriossa toimittaessa. Toistettavuus tulee määrittää eri konsentraatioille. Toistettavuudesta saadaan turhan optimistinen käsitys yhdellä määrittämissarjalla. Tämän vuoksi suositellaan useaa määrittämissarjaa. (Mäkinen ym. 1996, 41.)

Testinäytteet voivat olla nollanäytteitä, luonnonvesinäytteitä, standardiliuoksia tai näytteitä standardinlisäyksellä. Nollanäyte voi olla ultrapuhdasta kaasutonta vettä. Tämä voidaan testata, jos halutaan tietää määrittämissarjalla olevien konsentraatioiden hajonta. (Mäkinen ym. 1996, 42.)

Näytteiden hajonta voi hyvinkin olla eri luokkaa verrattuna standardeihin. Tämän vuoksi näytteitä tulee testata monipuolisesti. Näin saadaan tietoa myös tarkkuudesta (standardinlisäys), mittausalueesta, standardeista johtuvasta kalibroinnin pysyvyydestä ja toistettavuudesta määrittämissarjalla. (Mäkinen ym. 1996, 42.)

Mikäli toistettavuus määritetään lyhyellä aikavälillä samassa laboratoriossa, saman analyytikon toimesta ja samoilla laitteilla jokaisesta näytteestä analysoidaan 6–15 rinnakkaisnäytettä. Tuloksista lasketaan keskiarvo, keskihajonta ja RSD. (Eurachem 2014, 43.)

Varsinaisissa näytteissä määritettävä sulfidi ei ole pysyvä yhdiste. Tämän vuoksi toistettavuuden määrittäminen tuoreilla jokivesinäytteillä sekä standardinlisäysnäytteillä tulee tehdä saman päivän aikana.

Monipäiväisessä testisarjassa analysoidaan nollanäytteitä, standardiliuoksia, jokivesinäytteitä ja standardinlisäysnäytteitä. Nollanäytteenä käytetään ultrapuhdasta kaasutonta vettä. Näytteiden konsentraatioiden tulee kattaa menetelmän mittausalue. (Eurachem 2014, 37.)

Standardien mittausten toistettavuus mitataan kolmella eri pitoisuudella, mittausalueen alusta, keskeltä ja lopusta. Tämä tarkoittaa 30 mittausta. Nollanäytteitä mitataan 10 kappaletta, samoin jokivesinäytteitä.

Jokivesinäytteitä, joihin on lisätty tunnettu määrä standardia, mitataan 20 kappaletta kahdella eri standardinlisäyksellä. Nämä näytteet valmistetaan lisäämällä jokivesinäytteeseen 1:1 tilavuussuhteella standardiliuosta. Kyseisiin jokivesinäytteisiin lisätään SAOB II-liuosta suhteella 1:1 ennen standardiliuoksen lisäämistä. Standardiliuosten pitoisuudet ovat mittausalueen lopusta ja keskivaiheelta.

Toistettavuuden määrittämisessä mitattavia näytteitä on yhteensä 70 kappaletta. Jokaisesta rinnakkaismäärityssarjasta lasketaan keskiarvo, keskihajonta ja suhteellinen keskihajonta (RSD). Vaatimuksena on $RSD < 1 \%$.

5.4 Satunnaisvirhe

Satunnaisvirhe mitataan, koska se antaa tietoa mittaustulosten epätarkkuudesta tai satunnaisvaihtelusta. Satunnaisvirhe kuvaa sarjan sisäistä ja sarjojen välistä hajontaa. Näytteiden kontaminoituminen on merkittävä tekijä sarjan sisäisessä hajonnassa. Standardisuoran muutokset vaikuttavat sarjojen väliseen hajontaan. Satunnaisvirhe arvioidaan rinnakkais tulosten kautta. Tuloksista lasketaan keskiarvo, keskihajonta ja suhteellinen keskihajonta. Varianssia voidaan käyttää satunnaisvirheen laskemisessa suhteellisen keskihajonnan sijasta. (Mäkinen ym. 1996, 41.) Satunnaisvirhe lasketaan kaavalla 11.

$$U_{\text{satunnaisvirhe}} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum (s^2)}$$

jossa

n = rinnakkaisnäytteiden lukumäärä

s = suhteellinen keskihajonta (RSD) % tai yksittäisen mittauksen varianssi

Kaava 11. Kaava satunnaisvirheen laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 49).

Satunnaisvirheen arvioinnissa käytetään toistettavuusmittauksen tuloksia jokivesinäytteiden osalta.

5.5 Systemaattinen virhe

Systemaattisen virheen arvioinnilla todetaan, eroaako tulos todellisesta arvosta. Systemaattisen virheen olemassaoloon vaikuttavat mm. näytteen muuttuminen ennen analyysia (kontaminaatio, konsentraation muuttuminen), analyysiolosuhteet, kalibrointivirheet, virheet nollanäytteen analysoinnissa ja puutteet kaikkien analyytin muotojen

analysoimisessa. Systemaattisen virheen tulee olla riippumaton mittauskertojen lukumääristä. (Mäkinen ym. 1996, 33.)

Systemaattinen virhe määritetään standardinlisäysmenetelmän avulla. Menettelyllä selvitetään myös häiritsevät yhdisteet näytematriisissa. Tiedetty määrä standardia lisätään analysoitavaan näytteeseen. Lisäys voidaan suorittaa (n) kertaa. Tuloksista saatua keskiarvoa verrataan saantoon. Saannon keskiarvon tavoite asetetaan ennakolta välille 95–105 %. Saanto lasketaan seuraavalla tavalla. (Mäkinen ym. 1996, 34.)

$$R = \frac{(S-U)100\%}{C}$$

jossa

R = saanto

S = lisäyksen sisältävän näytteen pitoisuus (mitattu)

U = alkuperäisen näytteen pitoisuus (mitattu)

C = lisätyn standardin pitoisuus (tunnettu)

Kaava 12. Kaava saannon laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 34).

Määrittämiseen voi kuulua usea rinnakkaisnäyte (n) ja sarja (m). Keskiarvo saannolle R on välillä $R \pm t_{0,05s_r} 95\%$ todennäköisyydellä. Yleensä saannon keskiarvo on hyväksyttävä ollessaan välillä 95–105 %. (Mäkinen ym. 1996, 34.)

Määrittämisessä analysoidaan kymmenen näytettä. Tiedot saadaan toistettavuuden mittauksesta, jossa on mitattu näytteet standardinlisäyksellä.

5.6 Mittausepävarmuus

Arvioitaessa mittausepävarmuutta, arviointiin vaikuttavat tekijät tulisi ottaa kokonaisuudessaan huomioon. Tärkeimmät tekijät tulevat yleensä esille, kun menetelmää testataan. (Mäkinen ym. 1996, 54.)

Mittausepävarmuuden määrittämisellä saadaan selville raja-arvot, joiden väliin varsinainen arvo tietyllä todennäköisyydellä sijoittuu. Tämä epävarmuusarvio on laskettavissa niissäkin tapauksissa, jolloin oikea arvo ei ole tiedossa. Mittausepävarmuus tuo esille

tulosten laadun ja on riippuvainen näytematriisista sekä analyytin konsentraatiosta. (Mäkinen ym. 1996, 54.)

Mittausepävarmuuden ilmoittaminen kvantitatiivisesti on tärkeää tulosten arvioinnin kannalta. Sitä käytetään mm. tulosten vertailemisessa, johtopäätösten tekemisessä, tieteellisen työn arvioinnissa ja pääasiallisesti tulosten luotettavuuden tutkimisessa. (Mäkinen ym. 1996, 54.) Kokonaisepävarmuus lasketaan kaavalla 13.

$$U_c = \sqrt{\sum u_i^2} = \sqrt{u(\text{satunnaisvirhe})^2 + u(\text{systemaattinen virhe})^2}$$

jossa

u_c = mittausepävarmuus

$u(\text{satunnaisvirhe})$ = satunnaisvirhe

$u(\text{systemaattinen virhe})$ = systemaattinen virhe

Kaava 13. Kaava kokonaisepävarmuuden laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 54).

Tästä lasketaan edelleen laajennettu mittausepävarmuus. Tällöin mittausepävarmuuden arvo kerrotaan kertoimella. Kerroin riippuu luottamustasosta mikä laajennetulle mittausepävarmuudelle annetaan. Luottamustasoksi valitaan 95 %, jolloin kerroin (k) on 2. (Mäkinen ym. 1996, 58.) Laajennettu mittausepävarmuus lasketaan seuraavalla kaavalla.

$$U = k \cdot u_c$$

jossa

U = laajennettu mittausepävarmuus

k = luottamustasosta riippuvainen kerroin

u_c = mittausepävarmuus

Kaava 14. Kaava laajennetun mittausepävarmuuden laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 54).

Mittausepävarmuuslaskentaan on saatavilla avuksi Mukit-mittausepävarmuusohjelma, joka perustuu standardiin SFS ISO 11352. Ohjelma on ladattavissa internetistä (VTT 2016, 25).

5.7 Selektiivisyys

Sulfidien hapettumisesta johtuen jokivesinäytteissä on läsnä myös sulfaattia. Aikaisemmissa näyteajoissa sulfaattipitoisuudet saattoivat olla 100 ppm. Samojen näytteiden korkea sulfidipitoisuus herätti epäilyjä tulosten luotettavuutta kohtaan. Tämän vuoksi sulfaatin häiritsevyys testataan.

Selektiivisyyden määrittämisessä analysoidaan jokivesinäytteitä, joihin lisätään sulfaattia. Nollanäytteenä toimii jokivesinäyte. Sulfaattilisäysten vaikutus näytekonsentraatioihin testataan 10, 40, 70 ja 100 ppm:n lisäyksillä. Jokaisesta näytteestä analysoidaan 10 rinnakkaisnäytettä. Rinnakkaisnäytteistä lasketaan keskiarvot ja tulokset käsitellään laskemalla saanto.

Saantoa määritettäessä tunnettu määrä standardia lisätään analysoitavaan näytteeseen. Tuloksista saatua keskiarvoa verrataan saantoon. Saannon keskiarvon tavoite asetetaan ennakolta välille 95–105 %. Mikäli saanto poikkeaa tavoitteesta, menetelmää tulee kehittää edelleen. Saanto lasketaan kaavalla 12.

5.8 Menetelmien vertailu

Menetelmän validoinnin jälkeen saatuja analyysituloksia voidaan verrata toisella menetelmällä saatuihin tuloksiin mm. seuraavissa tapauksissa:

- menetelmän muutoksien jälkeen (mittalaitteen uusinta, menetelmän automatisointi)
- menetelmää verrataan referenssi- tai standardimenetelmään
- mikäli uuden menetelmän validointiin ei saada referenssimateriaaleja, uutta verrataan vanhaan menetelmään
- halutaan tutkia menetelmän vaihdoksen vaikutusta tulostasoon pitkällä aikavälillä. (Mäkinen ym. 1996, 54.)

Menetelmien vertailussa käytetään apuna tilastollisia testejä ja toisistaan eroavia koejärjestelyjä. Standardissa DIN 38 402 Teil 71 (1987) käsitellään tulosten vertaamista, kun kahdella eri menetelmällä on analysoitu samaa näytettä. Standardi sisältää ohjeet siitä, kuinka voidaan tutkia mm. menetelmien tarkkuutta, herkkyyttä, toistettavuutta, lineaarisuutta ja mittausalueita sekä mikä on näytematriisin vaikutus tuloksiin. (Mäkinen ym. 1996, 54.)

Kahta menetelmää voidaan verrata keskenään analysoimalla 10 erilaista näytettä molemmilla menetelmillä. Menetelmillä saaduista tuloksista saadaan laskettua tulosten erotusten keskiarvo ja varianssi kaavoilla 15 ja 16. (Mäkinen ym. 1996, 64.)

$$\bar{d} = \frac{\sum d_i}{n}$$

Kaava 15. Kaava tulosten erotusten keskiarvon laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 64).

$$s_d^2 = \frac{\sum d_i^2 - \frac{(\sum d_i)^2}{n}}{n-1}$$

Kaava 16. Kaava varianssin laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 64).

$$t = \frac{\bar{d}}{\sqrt{\frac{s_d^2}{n}}} = \frac{\bar{d}\sqrt{n}}{s_d}$$

Kaava 17. Kaava t-testin laskemiseksi (Mäkinen ym. 1996, 64).

joissa

\bar{d} = keskiarvo

d_i = tulosparien x_1 ja x_2 erotus

s_d^2 = varianssi

Kahdella eri menetelmällä saatujen tuloksien tilastollinen eroavaisuus tutkitaan t -testillä. Tulosten tai tulosparien välisen erotuksen tulisi jakautua normaalisti, kun tulosparien määrä jää alle 30. Tällöin t-testi antaa luotettavan tuloksen vertailtaessa tuloksia. Kyseinen testi on laskettavissa kaavalla 17. (Mäkinen ym. 1996, 64.)

5.9 Jäljitettävyys

Mittaustulosten paikasta ja ajasta riippumaton vertailukelpoisuus vaatimus edellyttää, että kaikki tulokset ovat jäljitettävissä tunnettuun mittanormaaliin tai referenssimateriaaliin. Jäljitettävyyden toteuduttua tulosten luotettavuuden arviointi toteutuu mittanormaalin tai referenssimateriaalin suhteen. Tällöin syntyy jäljitettävyyshetken mittausepävarmuus arvioineen. Laskennallisiin kaavoihin kuulumattomat arvot kuten aika, pH ja lämpötila vaikuttavat myös mittauksien tuloksiin. Nämäkin arvot tulee linkittää referenssimateriaaleihin tai mittanormaaleihin. Laboratorion todisteisiin jäljitettävyydestä kuuluvat esimerkiksi seuraavat tiedot. (VTT 2011, 31–33.)

- referenssimateriaalin konsentraatio: sertifioidun vertailumateriaalin todistus
- massa: vaa`an kalibroinnista kalibroitodistus
- mittapullon, täyspipetin ja byretin tilavuus: jäljitettävyys SI-mittayksiköihin valmistajan kalibroitodistuksen kautta
- lämpötila

5.10 Raportointi

Validointiraportti kirjoitetaan validointiin liittyvistä mittauksista. Raportista tulee selvittää työn toteutus, tavoite sekä käytössä olleet materiaalit, laitteet ja välineet. Raportin tulee sisältää myös suunnitelman mukaiset tulokset ja toimenpiteet. Dokumentoinnin alaisia tietoja ovat mm. reagenssien ja referenssimateriaalien tunnistetiedot sekä niiden testausmenettelyt. Raportista tulee käydä ilmi määritetyt parametrit, saatujen tuloksien tarkastelutapa ja mahdollisten häiriötekijöiden arviointi. (VTT 2011, 27.)

Raportissa todetaan, soveltuuko menetelmä käyttötarkoitukseensa ja täyttääkö se sille asetetut vaatimukset. Vastuuhenkilöiden allekirjoittamassa validointiraportissa todetaan, tarvitaanko menetelmän käyttöönotossa uusia toimenpiteitä. Raportista käy myös ilmi käyttöönottoon liittyvä aikataulusuunnitelma ja henkilökunnan mahdollisesti tarvitsema koulutus. Arkistoitavia asiakirjoja ovat validointiin liittyvä alkuperäinen tuloksiin liittyvä aineisto ja validointiraportti. Dokumentoitavia asioita validoinnin yhteydessä ovat seuraavat tiedot. (VTT 2011, 27.)

- aikataulu
- referenssimateriaalien varmennukset

- validointiin osallistuneet henkilöt
- tutkimustulokset ja niihin liittyvät johtopäätökset
- menetelmien ja niihin liittyvien parametrien soveltuvuus kyseessä olevaan tutkimukseen
- eri ajankohtina tapahtuneet vertailumittaukset (eri tutkijat)
- laitteiden kunto

Validoinnin yhteydessä tehdään menetelmään liittyvät laadunvarmistusmenettelyt. Nämä menettelyt kuvataan menetelmäohjeessa. Validointi tulee uusiksi, jos systemaattisia muutoksia havaitaan tulevaisuudessa laadunvarmistustulosten perusteella. (VTT 2011, 27.)

Liitteessä on esitetty sulfidimääritysmenetelmän validointisuunnitelma.

LOPUKSI

Tämän opinnäytetyön tuloksena laadittiin validointisuunnitelma, joka perustuu sulfidielektrodilla suoritettuihin testeihin ja analysointeihin. Tästä kirjallisesta työstä validoija saa tiivistetyn oppaan validointiin ja laitteiden käyttöön.

Osa analyyseistä suoritettiin tyypiteltassa. Kyseiseen teltaan luotiin typpi-atmosfääri, jonka happipitoisuus jäi alle kahteen prosenttiin. Sulfidien analysointi typpi-atmosfäärissä oli noin kaksi kertaa nopeampaa verrattuna mittauksiin normaali-ilmakehässä. Hapen vaikutuksesta johtuen sulfidit pyrkivät hapettumaan sulfaateiksi ja tästä johtuen mV-mittarin vasteen asettuminen kestää pitempään.

Jatkotoimenpiteenä suositellaan menetelmänvertailua, jossa testataan titrausta rinnakkain suoran elektrodimittauksen kanssa. Eräiden mittausten pitoisuudet olivat niin pieniä, jolloin Nernstin yhtälö ei ole voimassa. Elektrodimanuaalin mukaan lineaarinen alue alkaa 0,32 ppm:stä. Lisäksi titraus antaa tarkemman tuloksen, kuin suora elektrodimitaus.

Menetelmänvertailu suositellaan suoritettavaksi automaattititraattorilla. Kyseinen laite vaatii toimiakseen tarkoitukseensa sopivan ohjelman. Mikäli tällaista ohjelmaa ei ole saatavilla, valmiita ohjelmia voidaan helposti muokata käyttötarkoitukseensa sopiviksi. Manuaalisten titrausten korvaaminen automaattititraattorilla säästää aikaa ja virheiden esiintyminen minimoidaan. Lisäksi automaattititraattoreihin on saatavilla automaattisia näytteensyöttäjiä, joiden ansiosta manuaalinen työ vähenee ja aikaa vapautuu muihin työtehtäviin.

Sulfidielektrodin testiajot ja käyttöönotto suoritettiin usean kuukauden aikana. Loppuvaiheessa huomattiin standardisuorien lineaarisuuden heikentyneen ja kaareutuneisuuden lisääntyneen. Sulfidielektrodi tulee näiden havaintojen vuoksi huoltaa ennen varsinaista validointia.

Eräs tilavuusvirheisiin vaikuttava seikka johtuu ultrapuhtaan kaasuttoman veden valmistamisesta. Laitteen valmistama vesi on useita asteita laboratorion lämpötilaa korkeampi. Tämän etuna on se ominaisuus, että nesteen lämmittäminen vähentää kaasujen liukoisuutta. Lämpötila voi nousta lisää ultraäänikäsittelyssä. Vesi tulee valmistaa työpöydän ensimmäisenä toimenpiteenä, jotta se temperoituu laboratorion lämpötilaan kohtuullisessa ajassa.

Jokivesinäytteiden suodatuksessa suodatin tulee vaihtaa kyllin usein. Liikaa voimaa käytettäessä suodatin hajoaa ja suodatustulos on heikompi. Mikäli suodokseen joutuu suodattamatonta näytettä, tämä vaikuttaa mV-mittarin antamaan vasteeseen.

LÄHTEET

Antikainen, P. 1977. Epäorgaaninen kvalitatiivinen analyysi. Neljäs painos. Porvoo: WSOY.

Ekhholm, P & Lehtoranta, J. 2013. Sulfaatti-salakavala rehevöittäjä. Vesitalous 2/2013. Viitattu 25.2.2018. Saatavissa myös https://www.vesitalous.fi/wp-content/uploads/2013/04/Vesitalous_02_2013.pdf

Eurachem 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. Viitattu 8.6.2018. Saatavissa myös https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_EN.pdf

Hayter, A. 2002. Probability and statistics for engineers and scientists. Second edition. Pacific grove: Wadsworth group, Duxbury.

Huber, L. 2007. Validation and Qualification in Analytical Laboratories. Second edition. New York: Informa Healthcare USA, Inc.

Jukkala, J. 2008. Sulfidi – ja sulfaatti-ionien pitoisuuksien analysointi vesiliuoksista. Pro gradu -tutkielma ja erikoistyö. Kemian laitos. Epäorgaanisen ja analyttisen kemian osasto. Jyväskylä: Jyväskylän yliopisto. Viitattu 25.2.2018
https://jyx.jyu.fi/dspace/bitstream/handle/123456789/18840/URN_NBN_fi_jyu-200808085634.pdf?sequen

Mikes. julkaisu J6/2005. Kemian metrologian opas. Viitattu 12.4.2018. Saatavissa myös www.vtt.fi/inf/pdf/MIKES/2005-J6.pdf

Mikes 2011. Laadukkaan mittaamisen perusteet. Viitattu 8.6.2018. Saatavissa myös <https://www.vtt.fi/inf/pdf/MIKES/2011-J4.pdf>

Mäkinen, I.; Niemi, R.; Saares, R. & Suortti, A-M. 1996. Ohjeita ympäristönäytteiden kemiallisten analyysimenetelmien validointiin. Suomen ympäristökeskuksen moniste 59. Helsinki: Suomen ympäristökeskus. Viitattu 12.4.2018. Saatavissa myös <https://helda.helsinki.fi/handle/10138/169613?show=full>

NTsensors. Sulfide measurement methodology. Viitattu 12.4.2018.
http://www.ntsensors.com/pdf/combis/C32_support.pdf

Porkess, R. 2005. Collins dictionary of Statistics. Second updated edition. Glasgow: HarperCollins Publishers.

ThermoFischer. User guide Silver/sulfide ion selective electrode. 2007. Viitattu 12.4.2018. Saatavissa myös <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/9416BN>

Työterveyslaitos 2015. Rikkivety. OVA-ohje. Viitattu 25.2.2018. Saatavissa myös www.ttl.fi/ova/rikkivet.html

VTT 2016. Validoinnin suunnittelun opas. Viitattu 28.5.2018. Saatavissa myös <https://WWW.vtt.fi/inf/pdf/technology/2016/T276.pdf>

VWR. Orion Sulfide Anti-Oxidant Buffer Reagent Pack SDS. 2015. Viitattu 30.10.2018. Saatavissa myös <https://ca.vwr.com/store/searchMSDSResults.jsp?requestid=372962>

Sulfidimääritysmenetelmän validointisuunnitelma

Tämä validointisuunnitelma on tarkoitettu menetelmän validointiin sulfidin määrittämiseksi. Menetelmässä vesinäytteiden sulfidikonsentraatiot määritetään potentiometrisesti. Laitteistona on mV-mittari ja siihen liitetty ioniselektiivinen sulfidielektrodi (9616BNWP).

Elektrodin sensorielementin ollessa kontaktissa sulfidi-ioneja sisältävän liuoksen kanssa syntyy elektrodipotentiaali. Tämä potentiaali on riippuvainen vapaiden sulfidi-ionien konsentraatiosta ja se voidaan mitata mV-mittarilla. Liuoksen mitatun potentiaalin pitäisi vastata liuoksen sisältämien sulfidi-ionien määrää Nernstin yhtälön mukaan. Nernstin yhtälö ei kuitenkaan toteudu näin pienillä testatuilla pitoisuuksilla, vaikka mittausalueelta löydettiin lineaarisia alueita.

Validointisuunnitelma liittyy kiinteästi menetelmän käyttöönottoon. Menetelmän soveltuvuus käyttötarkoitukseensa ja mittausmenetelmän suorituskyky arvioidaan validoinnilla, joka toteutetaan validointisuunnitelman mukaan. Validoinnissa suoritetaan ennakkoon suunniteltuja testejä. Kyseisillä testeillä saadaan selville validointiparametrien arvot. Tilastomatematiikan keinoin selvitetään menetelmän kohdat, jotka vaikuttavat tuloksen luotettavuuteen.

Validoinnin hyväksymisen ja validoinnin tuloksiin liittyvien johtopäätösten jälkeen laite tai menetelmä voidaan ottaa käyttöön. Validointi kattaa testaukseen liittyvät näytteenotot, raportoinnit ja tulosten käsittelyn. Validointi käsittää vain testatut parametrit ja käyttöalueet, yhdisteet, laitteet, pitoisuusalueet ja näytematriisit.

Validoitavat parametrit

- määrittämis- ja toteutamisraja
- mittausalue ja lineaarisuus
- toistettavuus
- satunnaisvirhe
- systemaattinen virhe
- mittausepävarmuus
- selektiivisyys

Reagenssit

- kidevedellinen natriumsulfidi ($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)
- ultrapuhdas kaasuton vesi
- SAOB II (hapettumisenesto puskuriliuos)
- 0,1 M Pb^{2+} -liuos

Välineet ja laitteet

- analyysivaaka
- tarkkuusvaaka
- mV-mittari
- ioniselektiivinen sulfidielektrodi (9616BNWP)
- ultraäänihaude
- magneettisekoittaja
- täyspipettejä
- automaattipipetti (1–5 ml)
- mittalaseja
- lämpömittari
- mittapulloja
- byretti (10 ml \pm 0,02 ml)

Valmistelut

Kaikissa liuksissa käytetään ultrapuhdasta vettä. Vedestä poistetaan kaasut ultraäänihauhteessa: Vettä sisältävän pullon korkki jätetään kiertämättä täysin kiinni ja pulloa pidetään 15 minuutin ajan ultraäänihauhteessa.

Natriumsulfidikantaliuos

Natriumsulfidikantaliuos valmistetaan liuottamalla kidevedellistä natriumsulfidia ($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) ultrapuhdaaseen kaasuttomaan veteen. Reagenssien suhde kantaliuoksen

valmistamisessa on 5 g kidevedellistä natriumsulfidia ja 5 ml ultrapuhdasta kaasutonta vettä.

Kidevedellinen natriumsulfidi punnitaan tarkkuusvaa`alla ja huuhdotaan kvantitatiivisesti pieneen säilöpulloon. Huuhtelu suoritetaan mittalasilla, jossa on ultrapuhdasta kaasutonta vettä.

Kyseinen kantaliuos hapettuu nopeasti. Tämän vuoksi säilöpullon tilavuus tulee mitoittaa kantaliuoksen tilavuuteen siten, että pulloon jää mahdollisimman vähän ilmatilaa. Kantaliuos jätetään yön ylitse solvatoitumaan. Seuraavan vuorokauden aikana siitä valmistetaan viikkostandardi.

Viikkostandardi

Viikkostandardi valmistetaan pipetoimalla 2 ml natriumsulfidikantaliuosta 200 ml:n mittapulloon. Tämän jälkeen mittapulloon lisätään mittalasilla 100 ml SAOB II-liuosta. Mittapullo täytetään merkkiin ultrapuhdalla kaasuttomalla vedellä. Viikkostandardi säilytetään säilöpullossa huoneenlämpötilassa ja valmistetaan joka viikko uudestaan.

Viikkostandardin konsentraatio määritetään titraamalla 25,0 ml viikkostandardia 0,100 M Pb^{2+} liuoksella. Titrantin kokonaiskulutus on yleensä 5,0–6,0 ml. Pitoisuus lasketaan seuraavalla kaavalla.

$$C = 3206 \cdot \frac{V_t}{V_S}$$

jossa

C = sulfidipitoisuus (ppm)

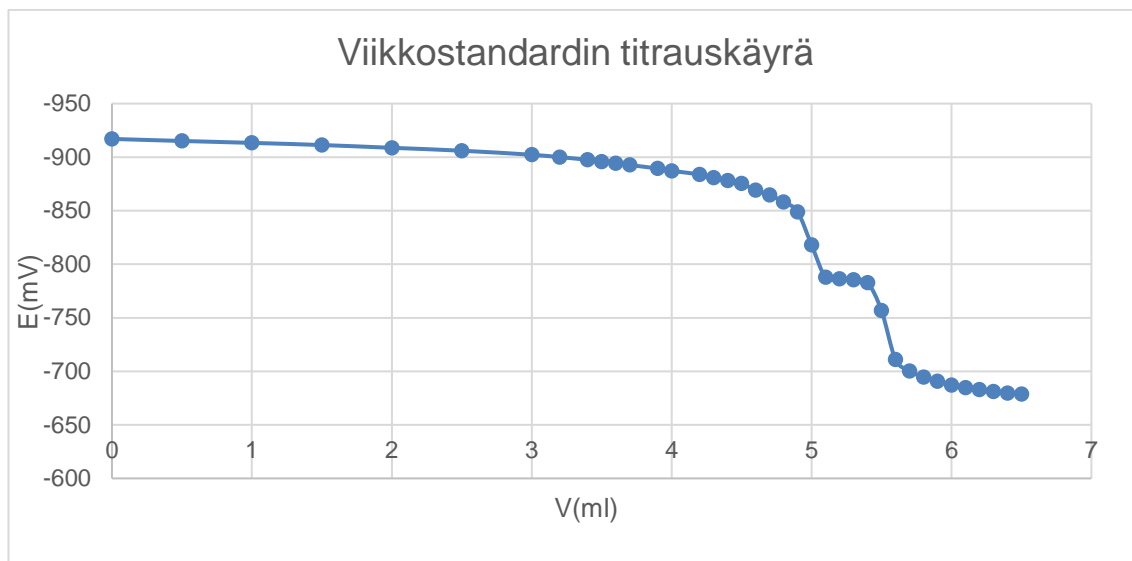
V_t = titrantin kulutus (ml)

V_S = standardin tilavuus (ml)

Kaava 1. Viikkostandardin konsentraation laskeminen.

Määritysten titrauskäyrässä on useasti huomattu myös toinen ekvivalenttipiste, mikä osoittaa kantaliuoksen olevan jo hieman hapettunut. Tällöin sen sulfidipitoisuus on myös odotettua matalampi. Kuvassa 1 on tyypillinen viikkostandardin titrauskäyrä.

Viikkostandardin konsentraatiota määritettäessä tulee käyttää ensimmäistä ekvivalenttipistettä. Konsentraatio lasketaan kolmen rinnakkaismäärittelyn keskiarvona.



Kuva 1. Viikkostandardin titrauskäyrä, jossa havaitaan kaksi ekvivalenttipistettä.

Sulfidistandardityöliuos

Viikkostandardista valmistetaan noin 100 ppm:n sulfidityöliuos elektrodin herkkyyden tarkastamista varten. Työliuos valmistetaan pipetoimalla täyspipetillä 10 ml viikkostandardia 100 ml:n mittapulloon. Mittapulloon lisätään 22,5 ml SAOB II-liuosta mittalasilla ja täytetään merkkiin ultrapuhtaalla kaasuttomalla vedellä.

Standardiliuosten valmistaminen

Viikkostandardista valmistetaan laimentamalla 100 ppm:n työliuos, tästä edelleen laimentamalla valmistetaan analyysistandardit. Tässä työssä tarkalleen 100 ppm:n työliuoksen valmistaminen on haastavaa. Viikkostandardin pitoisuus voi olla esimerkiksi 660 ppm. Tästä saadaan noin 100 ppm:n liuos seuraavasti:

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

jossa

C_1 = viikkostandardin pitoisuus

V_1 = viikkostandardin tilavuus

C_2 = noin 100 ppm:n liuoksen tarkka pitoisuus

V_2 = 100 ppm:n liuoksen tilavuus

Kaava 2. Kaava standardien pitoisuuksien laskemiseksi.

Kaavan 2 muokkaamisen jälkeen saadaan seuraava yhtälö:

$$V_1 = \frac{c_2 \cdot V_2}{c_1}$$

Tästä kaavaan sijoituksella saadaan yhtälö muotoon:

$$V_1 = \frac{100 \text{ ppm} \cdot 100 \text{ ml}}{660 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 15,1 \text{ ml}$$

Viikkostandardia pipetoidaan tasan 15 ml. Näin 100 ppm:n liuoksen todellinen konsentraatio on laskettavissa seuraavasti:

$$C_2 = \frac{15 \text{ ml} \cdot 660 \text{ ppm}}{100 \text{ ml}}$$

$$C_2 = 99 \text{ ppm}$$

Esimerkiksi pipetoitaessa kyseistä viikkostandardia 1 ml 100 ml:n mittapulloon, saadaan liuoksen konsentraatioksi:

$$C_2 = \frac{1 \text{ ml} \cdot 99 \text{ ppm}}{100 \text{ ml}}$$

$$C_2 = 0,99 \text{ ppm}$$

Kaikkien analyysistandardien tarkat konsentraatiot tulee laskea tällä tavalla. Seuraavassa taulukossa on esitettyä analyysistandardien suunnitellut pitoisuudet.

Taulukko 1. Standardiliuosten pitoisuudet mitta-alueen ja lineaarisuuden arviointiin.

c(ppm)
0,05
0,1

(jatkuu)

Taulukko 1. Standardiliuosten pitoisuudet mittausalueen ja lineaarisuuden arviointiin. (jatkuu)

0,3
0,6
0,9
1,25
1,5
2,0
2,5
3,0

SAOB II

Kaupallista sulfidiantioksidanttipuskuria (SAOB II) lisätään näytteisiin ja viikkostandardiin pH-arvon nostamiseksi sekä sulfidien hapettumisen ehkäisemiseksi. Arvon ollessa yli 12, HS⁻ ja H₂S ionit muuttuvat haluttuun S²⁻ muotoon.

Sulfaattistandardi

Sulfaattilisäyksiin tarvitaan 1000 ppm:n sulfaattistandardikantaliuos. Tämä valmistetaan kiinteästä natriumsulfaattista (Na₂SO₄). Kyseistä reagenssia kuivataan lämpökaapissa kahden tunnin ajan lämpötilassa +105° C. Reagenssi jäädytetään tunnin ajan eksikkattorissa ennen punnitsemista. Natriumsulfaattia punnitaan analyysivaa`alla 1,4786 g ja huuhdotaan kvantitatiivisesti 1000 ml:n mittapulloon, joka täytetään merkkiin ultra-putaalla kaasuttomalla vedellä. Näin saadusta 1000 ppm:n liuksesta valmistetaan ultrapuhtaalla kaasuttomalla vedellä laimentamalla 200 ppm:n työliuos, josta edelleen valmistetaan varsinaiset sulfaattilisäysstandardit.

Elektrodi

Kuivana säilytetyn elektrodin sisäkammio täytetään täyttöreikään asti täyttöliuksella. Elektrodin yläpäättä painamalla tulee sisäliuosta laskea ulos sisäkammioista. Näin elektrodin ulkorungon ja sisärungon välinen liitos saadaan kostutettua. Täyttöliuksena toimii elektrodin mukana toimitettu liuos (Optimum Results B filling solution, Cat. No. 900062).

Herkkyuden tarkastaminen

Sulfidistandardityöliuksella tarkastetaan menetelmän herkkyys ennen viikkostandardin konsentraation määrittämistä ja analyysejä. Kyseisen liuksen sulfidikonsentraatio on noin 100 ppm. 100 ml:n dekanterilasiin lisätään mittalasilla 22,5 ml SAOB II-liuosta ja 22,5 ml ultrapuhdasta kaasutonta vettä. Liuosta sekoitetaan magneettisekoittajalla ja liuokseen lasketaan huuhdeltu ja kuivattu sulfidielektrodi. Liuokseen pipetoidaan täyspipetillä kaksi kertaa sulfidistandardityöliuosta. Pipetoitavat tilavuudet ovat 1 ml ja 10 ml. Mittarin lukemien annetaan asettua pipetointien jälkeen ja kirjataan ylös. Lukemien erotuksen tulee olla välillä 25–30 mV. Menetelmän herkkyys tulee tarkastaa joka päivä ennen työn aloittamista.

Kalibroinnin tarkastaminen

Elektrodin kalibrointi tulee tarkastaa mittausten aikana joka kahden tunnin välein. Tämä tapahtuu mittaamalla vaste tuoreesta pienimmän pitoisuuden standardiliuoksesta, joka on hyväksytty standardisuoraan. Mikäli vaste poikkeaa yli 4 % aikaisemmasta mittauksesta, kalibrointi tulee suorittaa uudestaan uusilla standardiliuksilla.

Testit

Yleistä

Testeissä käytettävän näytematriisin tulee muistuttaa varsinaisia analyyseinäytteitä. Tämän vuoksi testeissä käytetään mahdollisuuksien mukaan jokivesinäytteitä. Analyyseihin varataan jokivesinäytettä 3200 ml, 200 ppm:n sulfaattistandardiliuosta 750 ml ja SAOB II-liuosta 3000 ml. Näissä tilavuuksissa on ylimäärää noin 30 %.

Jokivesinäytteet suodatetaan käyttäen 20 ml:n luerlock-injektioruiskuja ja niihin kiinnitettäviä 45 µm kalvosuodattimia. Jokaiseen jokivesinäytteeseen tarvitaan suodatettua näytettä 15 ml. Jokivesinäytteeseen lisätään myös 15 ml SAOB II-liuosta hapettumisen ehkäisemiseksi. Jokaisen yksittäisen näytteen tilavuudeksi on suunniteltu 30 ml.

Näytteet, standardiliuokset ja näytteet standardinlisäyksellä valmistetaan käyttäen täyspipettejä, milloin se on tarkkuuden kannalta oleellista. SAOB II-lisäys tehdään mittalasilla. Standardiliuosten tarkat pitoisuudet lasketaan kaavalla 2. Punnittaessa käytetään kalibroitua ja viritettyä analyyssi- tai tarkkuusvaakaa. Standardiliuokset valmistetaan mittapulloihin. Liuosten annetaan temperoitua huoneenlämpötilaan ennen mittauksia ja laimennoksia.

Mittauksessa tulee varmistaa, että elektrodi on riittävän syvällä liuoksessa. Tämän vuoksi analysoitava liuos kaadetaan 50 ml:n dekantteriin. Tällöin elektrodi voidaan laskea liuokseen riittävän syvälle, koska yksittäisen näytteen kokonaistilavuudeksi on suunniteltu 30 ml. Näytteiden antama mV-vaste mitataan näytettä magneettisekoittajalla sekoittaen.

Parametrien mittausjärjestyksen suunnittelulla saadaan yhdestä mittaussarjasta tietoa monien parametrien laskemiseksi. Alustava mittausjärjestys on seuraava:

- määrittämis- ja toteamisraja, jokivesinäytteet ja jokivesinäytteet standardinlisäyksellä
- selektiivisyys
- mittausalueen ja lineaarisuuden standardiliuokset
- toistettavuuden standardiliuokset ja nollanäytteet

Määrittämis- ja toteamisraja

Määrittämis- ja toteamisrajan määrittämisessä analyytin tulee olla matriisiltaan samanlainen kuin säännöllisesti analysoitavat näytteet. Määrittämisessä nollanäytteenä käytetään jokivesinäytettä, josta on hapettamalla poistettu valtaosa sulfideista. Tähän jokivesinäytteeeseen lisätään SAOB II-liuos hapettamisen jälkeen. Hapetetun jokivesinäytteen signaalin tulee olla suurempi, kuin mitä saadaan mitattaessa ultrapuhdasta kaasutonta vettä.

Määrittämis- ja toteamisrajan mittauksissa analysoidaan 10 rinnakkaisnäytettä ja mittauksiin jokivesinäytettä varataan 250 ml.

$$Toteamisraja = \mu_B + 3s$$

jossa

μ_B = nollanäytteen tulosten keskiarvo

s = nollanäytteen tulosten keskihajonta

Kaava 3. Kaava toteamisrajan laskemiseksi.

Määrittämisraja saadaan laskettua seuraavalla kaavalla.

$$Määrittämisraja = \mu_B + 10s$$

Kaava 4. Kaava määrittäjärajan laskemiseksi.

Mittausalue ja lineaarisuus

Mittausalue ja lineaarisuus määritetään aikaisempien esitestien mittaustulosten ja elektrodimanuaalin tietojen mukaan. Tuloksiin ja manuaaliin perustuen testialue on 0,05–3,0 ppm.

Ensimmäisessä vaiheessa testialueelta mitataan 10 standardia ja nollanäyte. Nollanäytteenä käytetään ultrapuhdasta kaasutonta vettä. Jokaisesta standardista analysoidaan 5 rinnakkaisnäytettä, joiden potentiaaleista lasketaan keskiarvot. Standardisuorista arvioidaan visuaalisesti lineaarinen alue ja mittausalueen alaraja.

Edellä arvioidulta lineaariselta alueelta mitataan toisessa vaiheessa 10 standardia tasajakoisesti ja nollanäyte. Jokaisesta standardista mitataan 5 rinnakkaisnäytettä. Tähän toiseen vaiheeseen standardiliuokset valmistetaan uudelleen. Toisen vaiheen tuloksista lasketaan standardisuoran lineaarinen regressio ja lineaarisuus arvioidaan residuaalien avulla.

Residuaalit lasketaan seuraavan yhtälön mukaan.

$$\varepsilon = y_i - \hat{y}_i$$

jossa

ε = residuaalin arvo

y_i = mitattu y-arvo

\hat{y}_i = regressiosuoralta laskettu y-arvo

Kaava 5. Kaava residuaalien laskemiseksi.

Standardisuoran lineaarisuuden osoituksena residuaalit jakautuvat nollatason molemmin puolin vuorotellen tai epäsäännöllisesti. Mikäli residuaalien jakaumassa on huomattavissa säännönmukaisuutta esim. kaari, tällöin kyseinen suoran osuus ei ole lineaarinen.

Outlierit arvioidaan visuaalisesti ja poistetaan sekä ensimmäisessä, että toisessa vaiheessa. Ennen outlierien poistoa ne ja niiden viereiset standardit mitataan uudestaan.

Toistettavuus

Varsinaisissa näytteissä määritettävä sulfidi ei ole pysyvä yhdiste. Tämän vuoksi toistettavuuden määrittäminen tehdään sekä tuoreilla jokivesinäytteillä että standardinlisäysnäytteillä saman päivän aikana.

Testisarjassa analysoidaan nollanäytteitä, standardiliuoksia, jokivesinäytteitä ja standardinlisäysnäytteitä. Nollanäytteenä käytetään ultrapuhdasta kaasutonta vettä. Näytteiden pitoisuuksien tulee kattaa menetelmän mittausalue.

Standardeja mitataan kolmessa pitoisuudessa, mittausalueen alusta, keskeltä ja lopusta. Tämä tarkoittaa 30 mittausta. Nollanäytteitä mitataan 10 rinnakkaisnäytettä, samoin jokivesinäytteitä. Standardi- ja standardinlisäysliuosten pitoisuudet saadaan selville, kun lineaarisuus- ja mittausalue on määritetty.

Jokivesinäytteitä standardinlisäyksellä mitataan 2 · 10 rinnakkaisnäytettä kahdessa pitoisuudessa. Näytteiden pitoisuudet riippuvat lisättävästä standardiliuksesta. Ensimmäisen standardiliuksen vahvuus on mittausalueen keskivaiheelta ja toisen standardiliuksen vahvuus on mittausalueen lopusta.

Jokivesinäytteet standardinlisäyksellä valmistetaan lisäämällä jokivesinäytteisiin 1:1 suhteella SAOB II-liuosta. Tämän jälkeen jokivesinäytteisiin lisätään 1:1 suhteella standardiliuosta. Tämä tulee ottaa huomioon valmistettaessa kyseisiä standardiliuoksia, koska niillä suoritetaan myös pelkkä standardinmittaus

Jokaisesta rinnakkaismäärityssarjasta lasketaan keskiarvo, keskihajonta ja suhteellinen keskihajonta (RSD). Tuloksista saadaan tietoa tarkkuuden ja analyttien konsentraation suhteesta toisiinsa. Vaatimuksena on $RSD < 1\%$. Toistettavuuden määrittämiseen jokivesinäytettä varataan 600 ml.

Satunnaisvirhe

Satunnaisvirhe mitataan, koska se antaa tietoa mittaustulosten epätarkkuudesta tai satunnaisvaihtelusta. Satunnaisvirhe kuvaa sarjan sisäistä ja sarjojen välistä hajontaa. Näytteiden kontaminoituminen on yleensä merkittävä tekijä sarjan sisäisessä

hajonnassa. Satunnaisvirhe arvioidaan rinnakkaistulosten kautta. Tuloksista lasketaan keskiarvo, keskihajonta ja suhteellinen keskihajonta.

$$U_{\text{satunnaisvirhe}} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum (s^2)}$$

jossa

n = rinnakkaisnäytteiden lukumäärä

s = suhteellinen keskihajonta (RSD) % tai yksittäisen mittauksen varianssi (mittausyksikköä)

Kaava 6. Kaava satunnaisvirheen laskemiseksi.

Satunnaisvirheen arvioinnissa käytetään jokivesinäytteiden toistettavuusmittauksen tuloksia.

Systemaattinen virhe

Systemaattisen virheen arvioinnilla todetaan, eroaako tulos todellisesta arvosta. Systemaattiseen virheeseen vaikuttavat mm. näytteen muuttuminen ennen analyysia (kontaminaatio, konsentraation muuttuminen), analyysiolosuhteet, kalibrointivirheet, virheet nollanäytteen analysoinnissa ja puutteet kaikkien analyytin muotojen analysoimisessa. Systemaattisen virheen tulee olla riippumaton mittauskertojen lukumäärästä.

Systemaattinen virhe määritetään standardinlisäysmenetelmän avulla. Menettelyllä selvitetään häiritsevät yhdisteet näytematriisissa. Tunnettu määrä standardia lisätään analysoitavaan näytteeseen. Määrityksessä analysoidaan kymmenen näytettä. Tiedot saadaan toistettavuuden määrittämisestä standardinlisäysnäytteiden mittauksista.

Tuloksista saatua keskiarvoa verrataan saantoon. Saannon keskiarvon tavoite asetetaan ennakolta välille 95–105 %. Saanto lasketaan seuraavalla tavalla.

$$R = \frac{(S-U)100\%}{C}$$

jossa

R = saanto

S = lisäyksen sisältävän näytteen pitoisuus (mitattu)

U = alkuperäisen näytteen pitoisuus (mitattu)

C = lisätyn standardin pitoisuus (tunnettu)

Kaava 7. Kaava saantoprosentin laskemiseksi.

Mittausepävarmuus

Mittausepävarmuus lasketaan jokivesinäytteiden tuloksista. Mittausepävarmuuden määrittämisellä saadaan selville raja-arvot, joiden väliin varsinainen arvo tietyllä todennäköisyydellä sijoittuu. Mittausepävarmuus tuo esille tulosten laadun ja on riippuvainen näyttematriisista sekä analyytin konsentraatiosta.

Mittausepävarmuuden ilmoittaminen kvantitatiivisesti on tärkeä toimenpide tulosten arvioinnin kannalta. Sitä käytetään mm. tulosten vertailemisessa, johtopäätösten tekemisessä, tieteellisen työn arvioinnissa ja pääasiallisesti tulosten luotettavuuden tutkimisessa. Kokonaisepävarmuus lasketaan seuraavalla kaavalla.

$$U_c = \sqrt{\sum u_i^2} = \sqrt{u(\text{satunnaisvirhe})^2 + u(\text{systemaattinen virhe})^2}$$

jossa

u_c = mittausepävarmuus

$u(\text{satunnaisvirhe})$ = satunnaisvirhe

$u(\text{systemaattinen virhe})$ = systemaattinen virhe

Kaava 8. Kaava kokonaisepävarmuuden laskemiseksi.

Tästä lasketaan edelleen laajennettu mittausepävarmuus. Tällöin mittausepävarmuuden arvo kerrotaan kertoimella. Kerroin riippuu luottamustasosta mikä laajennetulle mittausepävarmuudelle annetaan. Luottamustasoksi valitaan 95 % tällöin kerroin (k) on 2. Laajennettu mittausepävarmuus lasketaan seuraavalla kaavalla.

$$U = k \cdot u_c$$

jossa

U = laajennettu mittausepävarmuus

k = luottamustasosta riippuvainen kerroin

u_c = mittausepävarmuus

Kaava 9. Kaava laajennetun mittausepävarmuuden laskemiseksi.

Mittausepävarmuuden laskentaan on saatavilla avuksi Mukit-mittausepävarmuusohjelma, joka perustuu standardiin SFS ISO 11352. Ohjelma voidaan ladata internetistä.

Selektiivisyys

Sulfidien hapettumisesta johtuen jokivesinäytteissä on läsnä myös sulfaattia. Aikaisemmissa näyteajoissa sulfaattipitoisuudet saattoivat olla yli 100 ppm. Samojen näytteiden korkea sulfidipitoisuus herätti epäilyjä tulosten luotettavuutta kohtaan. Tämän vuoksi sulfaatin häiritsevyys testataan.

Selektiivisyyden määrittämisessä analysoidaan jokivesinäytteitä, joihin lisätään sulfaattistandardia. Nollanäytteenä toimii jokivesinäyte. Sulfaattilisäysten vaikutus näytekonsentraatioihin testataan 10, 40, 70 ja 100 ppm:n lisäyksillä.

Jokivesinäytteisiin standardinlisäyksellä lisätään SAOB II-lisäys 1:1 suhteella ennen sulfaattistandardin lisäämistä. Nollanäytteisiin tulee myös SAOB II-lisäys 1:1 suhteella. Jokivesinäytteisiin lisättävän sulfaattistandardi työliuoksen sulfaattipitoisuus on 200 ppm. Työliuosta lisätään täyspipetillä 500 ml:n mittapulloon, joka täytetään merkkiin jokivesinäytteellä. Seuraavassa taulukossa on esitettyä työliuoksen lisäykset suhteutettuna tavoitepitoisuuteen.

Taulukko 2. Työliuoksen lisäykset vs. tavoitepitoisuus.

V(ml)	c(ppm)
0	0
25	10
100	40
175	70
250	100

Jokaisesta pitoisuudesta analysoidaan 10 rinnakkaisnäytettä. Rinnakkaisnäytteistä lasketaan keskiarvot ja tulokset käsitellään laskemalla saanto. Saannon keskiarvon tavoite asetetaan ennakoita välille 95–105 %. Mikäli saanto poikkeaa tavoitteesta, menetelmää

tulee kehittää edelleen. Saanto lasketaan kaavalla 7. Selektiivisyyteen liittyvät analyysit tulee suorittaa tuoreilla näytteillä saman päivän aikana. Selektiivisyyden määrittämiseen jokivesinäytettä tulee varata 2200 ml.

Jäljitettävyys

Mittaustulosten paikasta ja ajasta riippumaton vertailukelpoisuus vaatimus edellyttää, että kaikki tulokset ovat jäljitettävissä tunnettuun mittanormaaliin tai referenssimateriaaliin. Jäljitettävyyden toteuduttua tulosten luotettavuuden arviointi toteutuu mittanormaalien tai referenssimateriaalin suhteen. Tällöin syntyy jäljitettävyysetketju mittausepävarmuus arvioineen. Laskennallisiin kaavoihin kuulumattomat arvot kuten aika, pH ja lämpötila vaikuttavat myös mittauksien tuloksiin. Nämäkin arvot tulee linkittää referenssimateriaaleihin tai mittanormaaleihin. Laboratorion todisteisiin jäljitettävyydestä kuuluvat:

- referenssimateriaalin konsentraatio: sertifioidun vertailumateriaalin todistus
- massa: vaa`an kalibroinnista kalibroitodistus
- mittapullon, täyspipetin ja byretin tilavuus: jäljitettävyys SI-mittayksiköihin valmistajan kalibroitodistuksen kautta
- automaattipipetin kalibroitodistus
- lämpötila

Raportointi

Validointiraportti kirjoitetaan validointiin liittyvistä mittauksista. Raportista tulee selvittää työn toteutus, tavoite sekä käytössä olleet materiaalit, laitteet ja välineet. Raportista tulee selvittää suunnitelman mukaiset tulokset ja toimenpiteet. Dokumentoinnin alaisia tietoja ovat mm. reagenssien ja referenssimateriaalien tunnistetiedot sekä niiden testausmenettelyt. Raportista tulee käydä ilmi määritetyt parametrit, saatujen tuloksien tarkastelutapa ja mahdollisten häiriötekijöiden arviointi.

Raportissa todetaan, soveltuuko menetelmä käyttötarkoitukseensa ja täyttääkö se sille asetetut vaatimukset. Vastuuhenkilöiden allekirjoittamassa validointiraportissa todetaan, tarvitaanko menetelmän käyttöönotossa uusia toimenpiteitä. Raportista käy myös ilmi käyttöönottoon liittyvä aikataulukko ja henkilökunnan mahdollisesti tarvitsema koulutus. Arkistoitavia asiakirjoja ovat validointiin liittyvä alkuperäinen tuloksiin liittyvä ai-neisto ja validointiraportti.

Dokumentoitavia asioita validoinnin yhteydessä ovat:

- aikataulu
- referenssimateriaalien varmennukset
- validointiin osallistuneet henkilöt
- tutkimustulokset ja niihin liittyvät johtopäätökset
- menetelmien ja niihin liittyvien parametrien soveltuvuus kyseessä olevaan tutkimukseen
- eri ajankohtina tapahtuneet vertailumittaukset (eri tutkijat)
- laitteiden kunto

Validoinnin yhteydessä tehdään menetelmään liittyvät laadunvarmistusmenettelyt. Nämä menettelyt kuvataan menetelmäohjeessa. Validointi tulee uusiksi, jos systemaattisia muutoksia havaitaan tulevaisuudessa laadunvarmistustulosten perusteella.

Virhekohtat

Yleisiä virhelähteitä tässä työssä ovat tilavuuteen liittyvät mittausvirheet. Nämä virheet käsittävät pipetoinnit ja liuosten valmistamisen. Pipetoinnit tulee suorittaa täyspipeteillä silloin kun se on tarkkuuden kannalta oleellista. Liuosten tulee antaa temperoitua samaan lämpötilaan välineiden kanssa.

Jokivesinäytteiden suodatuksessa suodatin tulee vaihtaa kyllin usein. Liikaa voimaa käytettäessä suodatin hajoaa ja suodatustulos on heikompi. Mikäli suodokseen joutuu suodattamatonta näytettä, tämä vaikuttaa mV-mittarin antamaan vasteeseen.

Määritettäessä viikkostandardin konsentraatiota titraamalla, titranttia voi päästä byrestistä liikaa analyytin sekaan. Tällöin titraus tulee suorittaa uudestaan. Viikkostandardia tuleekin valmistaa riittävästi mittauksia varten.

Kaikki laskut annetaan edelleen toiselle tarkastajalle tarkastettavaksi.