



TURUN AMMATTIKORKEAKOULU
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Opinnäytetyö

**AUTOMAATTISEN pH- JA
JOHTOLUKUMITTAUSLAITTEISTON
KÄYTTÖÖNOTTO JA VALIDOINTI**

Elina Jaakkola

Laboratorioala

2009

Laboratorioala	
Tekijä: Elina Jaakkola	
Työn nimi: Automaattisen pH- ja johtolukumittauslaitteiston käyttöönotto ja validointi	
	Ohjaaja: Hanna Hänninen
Opinnäytetyön valmistumisajankohta: Syksy 2009	Sivumäärä: 51 s.
<p>Tämä opinnäytetyö tehtiin Oy Hortilab Ab:n toimeksiannosta. Työn tavoitteena oli automaattisen pH- ja johtolukumittauslaitteiston käyttöönotto sekä menetelmän validointi ja käyttöohjeiden laatiminen. Automaattinen mittauslaitteisto on tarkoitus ottaa rutiinikäyttöön syksyn 2009 aikana.</p> <p>pH määritetään mittaamalla liuoksen vetyionien aktiivisuutta. pH voidaan mitata tarkasti potentiometrisellä elektrodilla, jolloin elektrodi mittaa jännitteen muutosta, joka aiheutuu vetyionien aktiivisuuden muutoksesta. Peltoviljelyssä pH:lla on suuri merkitys kasvien ravinteiden saantiin. Kasvien viljelyssä sopii parhaiten pH 6,0 – 6,5, koska silloin ravinteet ovat hyvin kasvien käytettävissä.</p> <p>Johtokyky kuvaa liuoksen sähkönjohtokykyä. Viljavuusanalyysissä maanäytteen johtokyky mitataan yleensä sähkönjohtokyknä mS/cm ja se ilmoitetaan johtolukuna kertomalla saatu mittaustulos kymmenellä. Johtoluku kuvaa maassa olevien vesiliukoisten suolojen pitoisuutta. Tavallisesti johtoluku on alle 2,5. Mitä korkeampi johtoluku maassa on, sitä vaikeampaa on kasvin ravinteiden ja veden saanti.</p> <p>Automaattisen mittauslaitteiston validoinnissa määritettiin tarkkuutta ja toistettavuutta, lineaarisuutta, selektiivisyyttä sekä näytteen häiriökestävyyttä. Lisäksi suoritettiin veden annosteluun liittyviä testejä, tutkittiin lämpötilan vaikutusta laitteiston virittämiseen sekä tarkasteltiin tulosten paikkansapitävyyttä vertaamalla automatiikalla saatuja tuloksia manuaalisella mittauksella saatuihin tuloksiin.</p> <p>Automaattisen mittauslaitteiston validoinnissa saadut tulokset olivat tarkkoja ja toistettavia. Validoinnin tulosten perusteella kirjoitetaan pH- ja johtolukumittausmenetelmälle menetelmäohje. Menetelmä tullaan myös akkreditoimaan tulevaisuudessa.</p>	
Hakusanat: validointi, pH-mittaus, johtoluku, elektrodi	
Säilytyspaikka: Turun ammattikorkeakoulun kirjasto	

Laboratory Technology	
Author: Elina Jaakkola	
Title: Implementation and validation of an automatic pH and conductivity analyzer	
	Instructor: Hanna Hänninen, Lecturer
Date: Autumn 2009	Total number of pages: 51
<p>This thesis was carried out for Oy Hortilab Ab. The purpose of this thesis was to introduce and validate an automatic pH and conductivity analyzer. The aim was also to compile a user manual. The automatic pH and conductivity analyzer will be introduced to routine analysis in autumn 2009.</p> <p>The pH is determined by measuring the activity of the hydrogen ions in a solution. One accurate way to measure pH is with a potentiometric electrode attached to a voltmeter. The potentiometric electrode monitors the changes in voltage caused by differing concentration of hydrogen ions.</p> <p>Conductivity describes the ability of soil to conduct electricity. Usually, the conductivity value in arable land is below 2.5. The higher the conductivity value, the more difficult it is for plants to get nutrient substances and water. Correspondingly, too low or too high a soil pH value has the same effect. In arable land, the ideal soil pH for plants is pH 6.0 - 6.5.</p> <p>The automatic pH and conductivity analyzer was validated by examining specific validation parameters. The validation parameters were accuracy, repeatability, linearity selectivity and robustness. Also the effect of the temperature and the reliability of the results were examined.</p> <p>The validation process succeeded very well. The results were accurate and repeatable. On the grounds of the validation results, method instructions will be written. The method will also be accredited in the future.</p>	
Keywords: validation, pH measurement, conductivity	
Deposit at: Turku university of Applied sciences	

SISÄLTÖ

1	Johdanto	7
2	pH ja johtokyky	9
2.1	pH	9
2.2	Johtokyky ja johtoluku	9
2.3	pH:n ja johtoluvun merkitys maassa	11
3	Analyysimenetelmän validointi	13
3.1	Validoinnin tarkoitus	13
3.2	Validoinnissa tutkittavat ominaisuudet	14
3.2.1	Toistettavuus	14
3.2.2	Uusittavuus	14
3.2.3	Spesifisyys ja selektiivisyys	15
3.2.4	Tarkkuus	16
3.2.5	Mittausalue ja lineaarisuus	17
3.2.6	Toteamis- ja määrittäysraja	18
3.2.7	Häiriökestävyys	19
4	Automaattinen mittauslaitteisto	21
4.1	Laitteiston osat	21
4.2	Elektrodit	24
4.3	Mittauksen suorittaminen automaattisella laitteistolla	25
4.4	Laitteiston edut ja haitat	27
5	Kokeellinen osuus	29
5.1	Työn tarkoitus	29
5.2	Käytetyt menetelmät	29
5.3	pH- ja johtolukumittausten validoinnissa käytetyt parametrit	29
5.3.1	Veden annostelun oikeellisuuden tarkistaminen	29

5.3.2	Lineaarisuus	31
5.3.3	Tulosten vertailu	34
5.3.4	Toistettavuus	37
5.3.5	Selektiivisyys	38
5.3.6	Lämpötilan vaikutus	38
5.3.7	Nollanäytteen rajat	43
5.3.8	Toteamis- ja määrittäysraja	43
5.3.9	Näytteen häiriökestävyys	44
5.3.10	Rinnakkaiset määrittäykset	46

6 Pohdinta ja loppupäätelmät 48

LÄHTEET 51

TAULUKOT

Taulukko 1.	Veden annostelun oikeellisuuden tarkistaminen.	30
Taulukko 2.	Viritys liuoksilla, joiden johtoluku on 1,47 ja 27,6 mS/cm sekä 0,1494 ja 27,6 mS/cm.	32
Taulukko 3.	Viritys liuoksilla, joiden johtoluku on 1,47 ja 27,6 mS/cm sekä 0,2972 ja 27,6 mS/cm.	33
Taulukko 4.	Viritys liuoksilla, joiden johtoluku on 1,47 ja 27,6 mS/cm sekä 0,739 ja 27,6 mS/cm.	34
Taulukko 5.	Tunnetun maan (TMA 150408) toistettavuus.	37
Taulukko 6.	Natriumin vaikutus pH-arvoon.	38
Taulukko 7.	Kylmien, huoneenlämpöisten ja lämpöisten standardiliuosten pH-mittaustulosten ja huoneenlämmössä tehdyn virityksen tulosten vertailu.	39
Taulukko 8.	Kylmien, huoneenlämpöisten ja lämpöisten standardiliuosten johtoluvun mittaustulosten ja huoneenlämmössä tehdyn virityksen tulosten vertailu.	40
Taulukko 9.	pH-elektrodien viritykset eri lämpötiloissa (17,9 °C ja 25,4 °C) ja näiden tulosten vertailu huoneenlämpötilassa (21,6 °C) tehtyyn viritykseen.	41
Taulukko 10.	Johtokykyelektrodien viritykset eri lämpötiloissa (17,9 °C ja 25,4 °C) ja näiden tulosten vertailu huoneenlämpötilassa (21,6 °C) tehtyyn viritykseen.	42
Taulukko 11.	Nollanäytteiden rajat.	43
Taulukko 12.	Johtoluvun nollanäytteiden keskiarvot ja keskihajonnat.	44
Taulukko 13.	Rinnakkaiset johtolukumittaukset, mittausepävarmuus	46
Taulukko 14.	Rinnakkaiset pH-mittaukset, mittausepävarmuus	46

KUVIOT

Kuvio 1.	Johtoluvun mittauksen tulosten vertailu (Autom. mittaus vs. man. mittaus.	36
Kuvio 2.	pH:n mittauksen tulosten vertailu (Autom. mittaus vs. man. mittaus.	36
Kuvio 3.	Näytteen häiriökestävyys. Johtoluvun mittaus, mittaus 1 (JL auto 1) vs mittaus 2 (jL auto2).	45
Kuvio 4.	Näytteen häiriökestävyys. pH:n mittaus, mittaus 1 (pH auto 1) vs mittaus 2 (pH auto 2)	45

KUVAT

Kuva 1.	pH-laitteiston osat.	21
Kuva 2.	Standardiliuosten ja kontrollinäytteiden näytelaatikko.	22
Kuva 3.	Standardiliuosten näytelaatikko.	23
Kuva 4.	Näytteensyöttö.	23
Kuva 5.	pH- ja johtokykyelektrodihissit.	24
Kuva 6.	Jenwayn pH-elektrodi.	24
Kuva 7.	Johtokykyelektrodin rakenne.	25
Kuva 8.	Johtokykyelektrodit mittaamassa näytteitä.	25

1 Johdanto

Opinnäytetyön tavoitteena oli pH:n ja johtoluvun mittaamiseen tarkoitettun automaattisen mittauslaitteen käyttöönotto viljavuuslaboratoriossa. Työn tavoitteena oli myös suorittaa kyseiselle mittauslaitteistolle validointitestejä sekä kirjoittaa käyttöohje laitteelle.

Kemiallisten analyysien automatisoinnilla voidaan vähentää työntekijästä aiheutuvia virheitä. Automaattinen mittauslaitteisto mittaa aina samalla tavalla sille asetettujen parametrien mukaan. Sen takia on tärkeää, että laitteen antamat tulokset on todistettu olevan oikeita ja luotettavia. Tulosten luotettavuus ja oikeellisuus voidaan varmistaa validoinnin avulla. Validoinnissa suoritetaan testejä, joiden tulosten perusteella todetaan onko menetelmä validi eli antaako se luotettavia ja oikeita tuloksia vaadituissa rajoissa.

Opinnäytetyön toimeksiantajana oli närpiöläinen yritys Oy Hortilab Ab, joka on erikoistunut maa-, vesi- ja kasvi-analyysien tekoon. Hortilab on yksityisessä omistuksessa oleva osakeyhtiö, joka suorittaa analyysejä maatalous- ja puutarhayrittäjille, tutkimuslaitoksille, testauslaboratorioille, teollisuudelle sekä julkiselle sektorille. Useimmat käytetyt analyysimenetelmät ovat FINAS:in (Finnish Accreditation Service) akkreditoimia, mikä takaa asiakkaille analyysejä tuloksia, joiden oikeellisuus on eurooppalaisen, laboratorioille tarkoitettun standardin SFS-EN ISO/IEC 17025:2005 mukaista.

Työssä käytetyn automaattisen mittauslaitteiston on valmistanut ruotsalainen yritys, Analys Modul Sweden Ab (AMAB). Samankaltainen laitteisto, mutta ilman automaattista johtolukumittausta, on käytössä myös useissa ruotsalaisissa viljavuuslaboratorioissa. Automaattinen pH- ja johtolukumittauslaite on tarkoitus ottaa rutiinikäyttöön syksyn 2009 aikana.

Opinnäytetyössä selvitetään aluksi pH:n ja johtoluvun teoriaa, pH:n ja johtoluvun merkitystä peltoviljelyssä sekä yleisesti validointiin liittyviä parametrejä. Lisäksi

luvussa 4 esitellään työssä käytetty mittauslaitteisto sekä pH- ja johtolukumittauksen suorittaminen automaattisella mittauslaitteistolla. Luvussa 5 esitellään laitteistolle tehdyt validointitestit sekä niiden antamat tulokset.

2 pH ja johtokyky

2.1 pH

pH-käsitteen kehitti tanskalainen kemisti Søren Peder Lauritz Sørensen vuonna 1909. pH:lla mitataan liuoksen vetyionien H^+ -määrää. Yleisesti pH määritellään vetyionien aktiivisena logaritmina:

$$pH = -\lg a_{H^+}$$

missä suure $[a_{H^+}]$ tarkoittaa vetyionien aktiivisuutta. Vesiliuksissa vetyionit sitoutuvat vesimolekyyleihin ja muodostavat oksoniumioneja $[H_3O^+]$. (Carter 1996, [viitattu 4.10.2009]; Chan 2004, 229-230).

pH:n muutosta mitataan potentiometrisellä elektrodilla, joka on kiinnitetty jännitemittariin (pH-mittariin). Elektrodi tarkkailee jännitteen muutosta, joka johtuu vetyionikonsentraation muutoksista. Kun ionien aktiivisuus muuttuu yhden yksikön verran, se tarkoittaa 59,16 mV:n muutosta 25 °C:n lämpötilassa. Mittauselementti koostuu referenssielektrodista ja indikoivasta elektrodista. Ideaalitapauksessa mittauselektrodi on herkkä ainoastaan vetyioneille. (Chan 2004, 230 – 231)

2.2 Johtokyky ja johtoluku

Johtokykymittauksessa ionit kuljettavat sähkövirtaa liuokseen upotettujen, jännitelähteeseen kytkettyjen elektrodien välillä. Liuoksen sähkönjohtavuus määritetään mittaamalla joko sen vastus eli resistanssi (R) tai johtokyky eli konduktanssi (G). Johtokyky on vastuksen käänteisarvo eli

$$G = 1/R$$

Liuoksen sähkönjohtavuus eli ominaisjohtokyky (γ) voidaan laskea mitatusta vastuksesta tai johtokyvystä joko kaavalla

$$\gamma = k \cdot 1/R$$

tai kaavalla

$$\gamma = k \cdot G$$

jossa k on elektrodikennon kenno- eli astiavakio. (Laukkanen ym. 1987, 106)

Lämpötila vaikuttaa johtokykyyn. Lämpötilan kasvaessa ionien johtokyky kasvaa. Tällöin johtokyvyn kasvu on riippumaton liuoksen konsentraatiosta. Lämpötilan kohoaminen vaikuttaa vähiten vahvojen happojen ja emästen johtokyvyn kasvuun. Näillä sekä muilla vahvoilla elektrolyyteillä johtokyvyn kasvu on noin 2 % jokaista yhden lämpötila-asteen nousua kohden. Heikoilla elektrolyyteillä johtokyky kasvaa enemmän muun muassa ionisoitumisasteen kasvun takia. Jotta mittauksessa lämpötilan aiheuttama virhe olisi mahdollisimman pieni, lämpötila olisi pidettävä vakiona $\pm 0,5$ °C:n tarkkuudella. (Laukkanen ym. 1987, 107)

Kun elektrolyytin konsentraatio liuoksessa kasvaa, liuoksen sisältämien elektrolyytti-ionien lukumäärä kasvaa liuoksen tilavuusyksikköä kohti, jolloin liuoksen sähkönjohtavuus paranee. Konsentraation kasvaessa ionien väliset vetovoimat kasvavat, jolloin sähkönjohtavuus pienenee. Yleensä sähkönjohtokyky kasvaa lineaarisesti konsentraation kasvaessa 10 – 20 massaprosenttiin asti, jolloin sähkönjohtavuus saavuttaa maksiminsa. Vahvoilla elektrolyyteillä kasvu on lineaarisinta. (Laukkanen ym. 1987, 108)

Liuoksen viskositeetin kasvaessa johtokyky pienenee. Myös vähäinen dissosioituminen pienentää elektrolyyttiliuoksen johtokykyä. Vahvoilla elektrolyyteillä dissosioituminen on lähes täydellistä, kun taas heikoilla elektrolyyteillä se on epätäydellistä. Tämän takia vahvalla elektrolyytillä, esimerkiksi typpihapolla, liuoksen johtokyky on suurempi kuin vastaavan väkevyyisen heikon elektrolyytin, esimerkiksi etikkahapon, johtokyky. (Laukkanen ym. 1987, 108)

Maanäytteen johtokyky mitataan yleensä maa-vesi-suspensiosta (1:2,5 v/v) sähkönjohtokykynä mS/cm ja se ilmoitetaan johtolukuna kertomalla mittaustulos kymmenellä. Tällöin johtoluvun yksiköksi saadaan $0,1 \cdot mS/cm$. (Viljavuuspalvelu 2008, [viitattu 28.10.2009])

2.3 pH:n ja johtoluvun merkitys maassa

Suomessa maaperä on luontaisesti hapan. Happamuutta lisäävät myös happamat sateet ja eräät viljelytoimet. Peltomaassa liiallinen happamuus vaikeuttaa kasvien kasvua ja alentaa satoja. Maan happamuutta voidaan poistaa kalkituksella. (Hyytiäinen & Hiltunen 1999, 29)

Maan happamuus johtuu aktiivisten vetyionien (H^+) määrästä. Niiden pitoisuus mitataan yleensä maa-vesi-suspensiosta, jossa maanäyte on sekoitettu 2,5 kertaa suurempaan vesimäärään. Suomessa viljeltyjen maiden happamuus on yleensä 4,7 – 7,0, mutta parhaiten kasvit menestyvät pH-arvon ollessa 6 - 7. Eri kasveilla optimaalinen pH-arvo vaihtelee. (Hyytiäinen & Hiltunen 1999, 29; Viljavuuspalvelu 2008, [viitattu 5.11.2009].

Kun maan pH-arvo on alhaisempi, kalsiumia, magnesiumia ja kaliumia on myös vähemmän. Myös joidenkin haitallisten aineiden, esimerkiksi alumiinin, liukoisuus lisääntyy happamuuden kasvaessa. Happamassa maassa kasvin ravinteidenotto heikkenee ja fosforin saanti vaikeutuu. Lisäksi maan mururakenne heikkenee eli maatiivistyy, jolloin sen ilmanvaihto ja vesitalous kärsivät. Happamuus vaikuttaa myös eräiden kasvitautien esiintymiseen. Esimerkiksi ristikukkaisissa kasveissa esiintyvää möhöjuurta aiheuttavan sienien itiöt itävät parhaiten happamassa maassa. (Hyytiäinen & Hiltunen 1999, 32)

Maan vesiliukoisten suolojen määrä vaikuttaa maan sähkönjohtokykyyn. Mitä korkeampi johtoluku on, sitä korkeampi on maan suolapitoisuus. Tavallisesti peltomaissa maan johtoluku on alle 2,5, ja johtoluvun ollessa yli 10, suolapitoisuus on

arveluttavan korkea. (Hyytiäinen & Hiltunen 1999, 28; Viljavuuspalvelu 2008, [viitattu 5.11.2009])

Liian korkea suolapitoisuus vaikeuttaa kasvien vedensaintia ja myös jossain määrin ravinteidenottoa. Tehokkaassa puutarhaviljelyssä käytetään paljon teollisesti valmistettuja vesiliukoisia ravinnesuoloja, jotka kohottavat kasvualustan suolapitoisuutta sitä enemmän mitä runsaampaa lannoitus on. Sen takia ravinnesuolojen määrän säätely ja seuranta on onnistuneen viljelyn edellytys. (Hyytiäinen & Hiltunen 1999, 28)

Kasveilla suolan kestävyys vaihtelee. Suolaa hyvin kestäviä kasveja ovat esimerkiksi sokerijuurikas, punajuuri ja pinaatti. Sen sijaan esimerkiksi herne, kevätöljykasvit ja kurkku ovat arkoja korkealle suolapitoisuudelle. Itämisvaiheessa kasvit ovat erityisen herkkiä korkealle suolapitoisuudelle. (Hyytiäinen & Hiltunen 1999, 228)

3 Analyysimenetelmän validointi

3.1 Validoinnin tarkoitus

Analyysimenetelmän validoinnilla osoitetaan, että analyysimenetelmä on käyttötarkoitukseen sopiva ja että menetelmällä saadaan luotettavia tuloksia sille asetetuissa rajoissa. Validoinnin avulla voidaan varmistaa, että työn suorittaja on ymmärtänyt menetelmän suorittamistavan ja että sen pätevyys on osoitettu niissä olosuhteissa, joissa sitä käytetään. (Eurachem 1998, 5-6; Mikes 2005, 25 [viitattu 13.10.2009])

Kemiallisen mittausmenetelmän validointi on tarpeellista silloin, kun halutaan todentaa, että menetelmä on tarpeeksi luotettava ja tarkka analyttisen ongelman ratkaisemiseen. Validointi on tarpeen silloin, kun kehitetään uutta menetelmää tiettyyn tarkoitukseen tai uudistetaan tai muokataan jo olemassa olevaa menetelmää tai sen käyttötarkoitusta. Validointi tehdään myös kun menetelmän käyttöpaikka (laboratorio) tai suorittaja muuttuu tai menetelmän suorittamiseen käytetään uutta mittalaitetta. Lisäksi jos halutaan selvittää kahden eri mittausmenetelmän tulosten yhteenpitävyys, esimerkiksi uuden menetelmän ja standardimenetelmän välillä, on validoinnin suorittaminen tarpeen. Validoinnin laajuus riippuu siitä, millaisia muutoksia mittausmenetelmään on tehty käyttötarkoituksen, laitteiston, henkilökunnan tai olosuhteiden takia (Mikes 2005, 26; Eurachem 1998, 6 [viitattu 13.10.2009])

Validointiraportissa on oltava tiedot työn tavoitteesta, toteutuksesta sekä mittauksiin käytetystä laitteistosta, välineistöstä ja materiaaleista. Raportin laajuus riippuu validoinnin laajuudesta. Raporttiin kirjataan validointisuunnitelman mukaiset toimenpiteet ja niiden tulokset. Materiaalien dokumentoinnissa on tärkeää kirjata muun muassa vertailumateriaalien ja kriittisten reagenssien tunnistetiedot ja niiden testausmenettelyt. Lisäksi raportista ilmenee määritettyjen parametrien tulokset, miten tuloksia on tarkasteltu sekä mittausepävarmuudet ja mahdolliset häiriötekijät. Raportin yhteenvedossa todetaan, täyttääkö menetelmä sille asetetut vaatimukset ja soveltuuko se käyttötarkoitukseen. (Mikes 2005, 38; Eurachem 1998, 37 - 40 [viitattu 13.10.2009])

3.2 Validoinnissa tutkittavat ominaisuudet

Menetelmän validoinnissa valitaan kullekin menetelmälle sopivat validointiparametrit. Tässä opinnäytetyössä määritettiin menetelmän toistettavuutta, uusittavuutta, selektiivisyyttä ja spesifisyyttä, tarkkuutta, lineaarisuutta, mittausaluetta, määritys- ja toteamisrajat sekä häiriökestävyyttä.

3.2.1 Toistettavuus

Toistettavuus kuvaa sitä kuinka hyvin analyysimenetelmällä saadaan samanlaisia tuloksia eri toistokerroilla, kun määrittäminen tehdään toistettavissa olosuhteissa (samat tekijät, laitteet ja reagenssit) lyhyellä aikavälillä samassa laboratorioissa. (MIKES 2005, 37 [viitattu 4.10.2009])

Menetelmän toistettavuus määritetään yleensä tekemällä useita rinnakkaismäärittäksiä eri pitoisuuksista. Näytesarjojen välillä vaihtelu on suurempaa kuin näytesarjojen sisäinen vaihtelu. Mikäli sarjojen välillä oleva hajonta on selvästi suurempaa kuin sarjojen sisäinen hajonta, sarjojen välillä esiintyy todellista vaihtelua. Tällöin syy vaihteluun on selvitetävä. Mahdollisia ongelmakohtia voivat olla esimerkiksi analyysitekijät, jotka pysyvät muuttumattomina sarjan sisällä, mutta saattavat vaihdella eri sarjojen välillä. Tällaisia ovat esimerkiksi lämpötila, uuttoaika, säilyvyys ja homogeenisuus. (Mikes 2005, 37 [viitattu 15.10.2009])

3.2.2 Uusittavuus

Menetelmän uusittavuudella tarkoitetaan sitä täsmällisyyttä, joka saavutetaan, kun mittaukset tehdään samasta näytteestä ja samalla menetelmällä eri laboratorioissa ja eri laitteilla. Uusittavuutta tutkitaan erityisesti tietyn analyysimenetelmän standardisoinnin yhteydessä laboratorioden välisin vertailukokein. Laboratorioden välisissä vertailukokeissa laboratoriot ilmoittavat mittaustulokset. Tulosten perusteella voidaan laskea kunkin laboratorion sisäinen hajonta, hajonta eri laboratorioden välillä sekä

kokonaishajonta. Kokonaishajonta kuvaa menetelmän uusittavuutta. (Mikes 2005, 37; Teräsahde & Manninen 1997, 8 [viitattu 16.10.2009])

Laboratorion sisäinen menetelmän uusittavuus voidaan testata tekemällä analyysi samasta, hyvin säilyvästä näytteestä pitkällä aikavälillä. Mahdollisuuksien mukaan uusittavuus tulisi testata myös teettämällä sama analyysi eri työntekijöillä ja eri laitteistolla. Jos laboratorion sisäinen uusittavuus on merkittävästi heikompi kuin laboratorioden välinen uusittavuus vertailutestissä, on laboratorion syytä tarkastella omaa menetelmäänsä ja selvittää tulosten hajontaan vaikuttavien tekijöiden syyt. (Teräsahde & Manninen 1997, 8 [viitattu 16.10.2009])

3.2.3 Spesifisyys ja selektiivisyys

Spesifisyyden ja selektiivisyyden määrittämisen tarkoituksena on selvittää kuinka hyvin analyysi voidaan suorittaa ilman, että näytteessä esiintyvät yhdisteet näytematriisi häiritsevät määrittystä. Spesifinen menetelmä antaa vasteen vain tutkitulle analyyttille eivätkä muut komponentit häiritse määrittystä. Selektiivinen menetelmä tuottaa vasteen mahdollisesti useammalle yhdisteelle, mutta tutkittavan yhdisteen aiheuttama vaste pystytään erottamaan muista vasteista. (Teräsahde & Manninen 1997, 1-3; Mikes 2005, 27 [viitattu 16.10.2009])

Parhaimmassa tapauksessa saatava vaste on näytematriisista riippumatta peräisin vain tutkittavasta analyytistä. Kuitenkin käytännössä analyytin mittaus saattaa häiriintyä, mikäli näytematriisi tai näytteessä esiintyvät muut yhdisteet muuttavat mittalaitteen herkkyyttä analyytin suhteen tai vaikuttavat suoraan detektorin antamaan vasteeseen. Selektiivisyyden puute voi olla systemaattisen virheen lähde, jos analysoitavassa näytteessä on mukana analyysiä häiritseviä komponentteja, eikä niitä voida korjata esimerkiksi laskennallisesti tai laiteteknisin keinoin. Tämän perusteella on ilmeistä, että riittävä selektiivisyys on ehdoton edellytys luotettavien tulosten saamiseksi, erityisesti silloin, kun analyytin pitoisuus on pieni verrattuna häiriötä aiheuttavien komponenttien pitoisuuksiin. (Teräsahde & Manninen 1997, 3 [viitattu 16.10.2009])

pH-mittauksessa tyypillinen virhelähde on alkalimetallien aiheuttama virhe. Esimerkiksi natriumin pitoisuus voi aiheuttaa virhettä näytteissä, joiden pH on korkea, suurempi kuin 10. Natriumista aiheutuva virhe selvitetään lisäämällä näytteeseen tunnettu määrä natriumkloridia eri pitoisuuksilla ja tarkastelemalla mahdollista pH-arvon muutosta natriumlisäyksen jälkeen. (Teräsahde & Manninen 1997, 3 [viitattu 16.10.2009])

3.2.4 Tarkkuus

Validoinnissa pyritään määrittämään tulosten tarkkuus arvioimalla systemaattisia ja satunnaisia virheitä. Näiden virheiden neliösummana saadaan tulokselle laskettua kokonaisvirhe eli yhdistetty mittausepävarmuus, johon tulosten tarkkuus voidaan rinnastaa. Mittausepävarmuus voidaan laskea kaavalla

$$u_c = \sqrt{u(R_w)^2 + u(bias)^2}$$

jossa u_c on kokonaisvirhe, $u(R_w)$ on satunnaisvirheprosentti ja $u(bias)$ systemaattinen virheprosentti. (Mikes 2005, 23 – 24 [viitattu 26.10.2009])

Satunnaisten virheiden vaikutusta voidaan vähentää toistamalla määrittäminen monta kertaa. Menetelmän validoinnissa systemaattisten virheiden paljastamisella on keskeinen osa. Systemaattista virhettä voi aiheuttaa muun muassa menetelmän epäspesifisyydestä, vääristä virityksistä, anayyttien puutteellisesta uuttumisesta tai kontaminaatiosta. Tuloksissa ei saisi esiintyä systemaattista virhettä ja myös satunnaisvirheen tulisi olla mahdollisimman pieni. Tarkkuutta määritettäessä tulisi käyttää riittävästi toistoja ja mittauksia olisi suoritettava riittävän pitkällä aikavälillä, jotta saataisiin selville erilaisten ympäristötekijöiden mahdollinen vaikutus. (Eurachem 1998, 22; Mikes 2005, 35; Teräsahde & Manninen 1997, 4 [viitattu 26.10.2009])

Menetelmän validoinnissa tarkkuus voidaan määrittää varmennettujen vertailumateriaalien avulla, mikäli sellaisia on käytettävissä. Tällöin vertailumateriaali analysoidaan samalla tavalla kuin mikä tahansa näyte ja tuloksena tulisi saada yhtä suuri

pitoisuus kuin vertailumateriaalille on ilmoitettu. Mikäli kaupallisia vertailumateriaaleja ei ole käytettävissä, tarkkuus voidaan määrittää esimerkiksi lisäyskokeiden avulla. Lisäys tehdään näytteeseen, joka ei sisällä tutkittavaa yhdistettä. Jos tällaista ei ole saatavilla, valitaan näytteeksi mahdollisimman pienen pitoisuuden yhdistettä sisältävä näyte. Tässäkin tapauksessa valitaan näytematriisi validoitavan menetelmän käyttötarkoituksen mukaisesti. (Teräsahde & Manninen 1997, 4 [viitattu 26.10.2009])

Menetelmän tarkkuutta voidaan arvioida myös vertaamalla tuloksia toisella, jo validoidulla ja hyväksytyllä menetelmällä (referenssimenetelmä) saatuihin tuloksiin. Tällöin määrittämiä tuloksia tulisi myös tehdä eri pitoisuuksilla, jotta tarkkuuden riippuvuus pitoisuudesta selviää. Eri menetelmillä saatuja tuloksien eroja voidaan testata tilastollisesti. Tarkkuutta voidaan arvioida myös osallistamalla eri laboratorioiden välisiin vertailumittauksiin. (Mikes 2005, 35; Teräsahde & Manninen 1997, 4 [viitattu 27.10.2009])

3.2.5 Mittausalue ja lineaarisuus

Analyttisessä kemiassa menetelmän mittausalueella tarkoitetaan yleensä lineaarista mittausaluetta, laimennusrajaa tai analyttistä toiminta-aluetta. Mittausalue määritetään tutkimalla näytesarja, jossa analysoitavan yhdisteen pitoisuus vaihtelee. Tulosten perusteella määritetään se pitoisuusalue, jossa saavutetaan hyväksyttävä tarkkuus ja täsmällisyys. Tämä alue on menetelmän suurin käytettävissä oleva mittausalue. Linearisella mittausalueella tarkoitetaan puolestaan sitä aluetta, jossa analysoitavan yhdisteen vaste käyttäytyy lineaarisesti suhteessa konsentraatioon. Tavallisesti mittausalueeksi valitaan standardidiluosten avulla määritelty lineaarinen alue, jossa pienimpänä pitoisuutena on menetelmän määrittämissä raja. Mittausalue voi olla laajempikin kuin lineaarinen alue, jos alueen tarkkuus ja täsmällisyys voidaan saavuttaa myös epälinearisella osalla. (Teräsahde & Manninen 1997, 8; Mikes 2005, 28 [viitattu 26.10.2009])

Menetelmän lineaarisuudella tarkoitetaan menetelmän kykyä antaa tietyllä alueella hyväksyttävä lineaarinen korrelaatio tulosten ja tutkittavan aineen pitoisuuden välillä.

Tämä tarkoittaa sitä, että analyttisellä menetelmällä saatu tulos on suoraan verrannollinen analyytin pitoisuuteen tunnetulla alueella (Mikes 2005, 17 [viitattu 20.10.2009]).

Lineaarisen alueen määrittäminen suoritetaan mittaamalla standardinäytteitä, joissa tutkittavan yhdisteen pitoisuus vaihtelee. Mittaukset tulisi suorittaa vähintään viidellä eri pitoisuudella. Lisäksi jokaisella pitoisuudella olisi hyvä suorittaa useita rinnakkaisia mittauksia, jotta vasteista saataisiin luotettavampi arvio. Saatujen tulosten perusteella piirretään standardisuora, jossa tuloksena saatu vaste esitetään konsentraation funktiona. Standardisuoraa voidaan silmämääräisyyden lisäksi tarkastella tilastollisen menetelmän, regressioanalyysin avulla, jossa suoralle voidaan laskea pistejoukkoa mahdollisimman hyvin kuvaavan käyrän yhtälö ja regressiokerroin R^2 , joka tulisi olla mahdollisimman lähellä ykköstä. Standardisuoran arvot voidaan laskea mittaustuloksista käyttämällä pienimmän neliösumman menetelmää, jonka tuloksena saadaan kuvaajan suoralle yhtälö

$$y = ax + b$$

jossa x on näytteen pitoisuus, y on mittalaitteen antama vaste, b on suoran kulmakerroin ja a on y -akselin leikkauspiste. (Mikes 2005, 28 - 29; Teräsahde & Manninen 1997, 8 - 9 [viitattu 20.10.2009])

3.2.6 Toteamis- ja määrittäysraja

Toteamisrajalla (limit of detection, LOD) tarkoitetaan pienintä pitoisuutta, jolla voidaan luotettavasti todeta, sisältääkö näyte tutkittavaa yhdistettä ja joka eroaa nollanäytteen arvosta merkittävästi. Toteamisrajan määrittämisessä nollanäytteelle suoritettujen rinnakkaismääritysten perusteella lasketaan taustalle keskiarvo ja keskihajonta. Toteamisrajana pidetään sitä analysoitavan aineen pitoisuutta, jonka näyte vastaa nollanäytteen vasteiden keskiarvoa lisättynä kolminkertaisella keskihajonnalla. Tämä lasketaan kaavalla

$$LOD = \bar{X} + 3 \cdot s$$

jossa LOD on toteamisraja, \bar{X} on nollanäytteen keskiarvo ja s nollanäytteen keskihajonta. Toteamisrajalla mitatun vasteen tai pitoisuuden tulee olla niin suuri, että sen ei enää voida katsoa johtuvan taustan satunnaisvaihteluista. (Mikes 2005, 29 – 30; Teräsahde & Manninen 1997, 9 – 11; Eurachem 1998, 17 - 18 [viitattu 26.10.2009])

Määrittämisrajalla (limit of quantitation, LOQ) tarkoitetaan pienintä analysoitavan aineen pitoisuutta, joka voidaan määrittää hyväksyttävällä tarkkuudella. Määrittämisraja voidaan määrittää samoista nollanäytteelle mitatuista keskiarvoista ja keskihajonnan arvoista kuin toteamisraja:

$$LOQ = \bar{X} + k \cdot s$$

jossa LOQ on määrittämisraja, \bar{X} on nollanäytteiden keskiarvo, k keskihajonnan kerroin ja s nollanäytteen keskihajonta. Kaavassa keskihajonnan kertoimena (k) käytetään arvoa, joka on välillä 6 – 14. Arvo valitaan menetelmälle asetettavan tarkkuusvaatimuksen mukaan. Esimerkiksi k :n arvoa 10 vastaavalla pitoisuudella suhteellinen standardipoikkeama on 10 %. Määrittämisraja on asetettava niin, että kyseinen pitoisuus antaa luotettavia ja toistettavia tuloksia. Tällöin on otettava huomioon myös erilaiset systemaattiset virheet, joita voi aiheutua esimerkiksi matriisin vaikutuksesta. (Eurachem 1998, 18 – 19; Teräsahde & Manninen 1997, 11; Mikes 2005, 30 [viitattu 26.10.2009])

3.2.7 Häiriökestävyys

Häiriökestävyydellä tarkoitetaan menetelmän antamien tulosten herkkyyttä pienille muutoksille, joita voi tapahtua mittauksen suorituksen eri vaiheissa, laboratoriossa tai henkilökunnassa. Eri laboratorioilla voi olla käytössä sama menetelmä, mutta niiden menettelytavat poikkeavat toisistaan. Tällaiset poikkeavuudet joko vaikuttavat tai eivät vaikuta, tapauksesta riippuen, merkittävästi menetelmän toimintavarmuuteen. (Teräsahde & Manninen 1997, 13 [viitattu 27.10.2009])

Menetelmän häiriökestävyyttä voidaan testata aiheuttamalla pieniä, todellisissa tilanteissa esiintyviä muutoksia ja tarkkailemalla niiden vaikutusta tulokseen. Muutoksia voidaan tehdä esimerkiksi näytteen esikäsittelyssä, lämpötiloissa tai pH:ssa. Lisäksi voidaan määrittää reagenssien, liuottimien, vertailumateriaalien sekä näyteliuosten käyttökelpoisuutta. Analyysin voi suorittaa joku muu henkilö tai voidaan muuttaa laitteen asetuksia. Edellä mainittuja muutoksia on muunneltava siten, että ne vastaisivat laboratoriossa yleensä esiintyviä poikkeamia. (Mikes 2005, 34 [viitattu 27.10.2009])

4 Automaattinen mittauslaitteisto

4.1 Laitteiston osat



Kuva 1. pH-laitteiston osat. 1. Moduilit (4 kappaletta) 2. Vesiletkut 3. pH- ja johtokykyelektrodien hissit 4. Lämpötilan mittaus 5. Näytelaatikoiden syöttö.

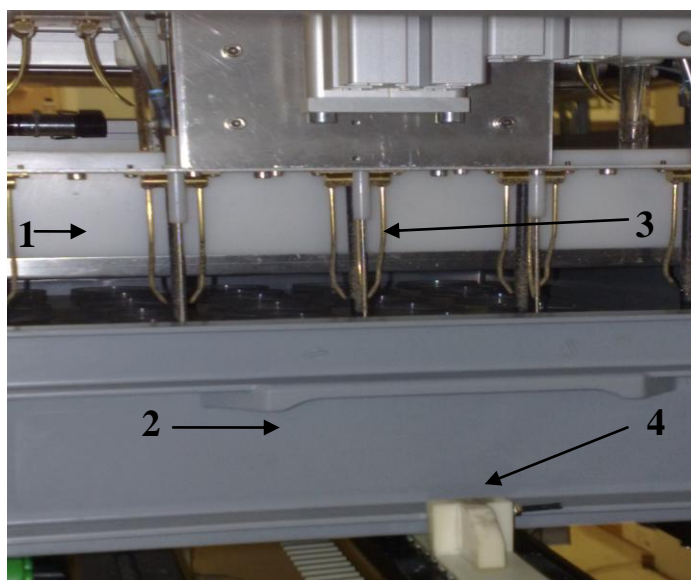
Automaattisen pH- ja johtokykymittauslaitteiston osia ovat moduilit (kuvassa numero 1), joiden avulla järjestelmä on automatisoitu. Moduleiden ja koko laitteiston toimintaa ohjataan tietokoneella olevalla ohjelmistolla.

Maanäytteiden kastelu tapahtuu johtokykyelektrodihissiin kiinnitetyillä vesilinjoilla (kuvassa numero 2). Johtokykyhissiin on kiinnitetty myös sekoittimet, joilla näytteet sekoitetaan vettä annosteltaessa ja ennen näytteiden mittausta. Myös pH-elektrodihissiin menee vesilinja elektrodien pesua varten. Elektrodien pesuallas on samassa näytelaatikossa standardiliuosten kanssa (Kuvat 2 ja 3). Elektrodit pestään ennen

viritystä, eri liuoksiin vaihdettaessa ja virityksen jälkeen sekä näytteen mittauksen aikana aina 40 näytteen (yhden näytelaatikon) välein. Pesussa vettä kuluu 25 ml elektrodia kohden. Maanäytteiden kastelussa vettä annostellaan 62,5 ml.

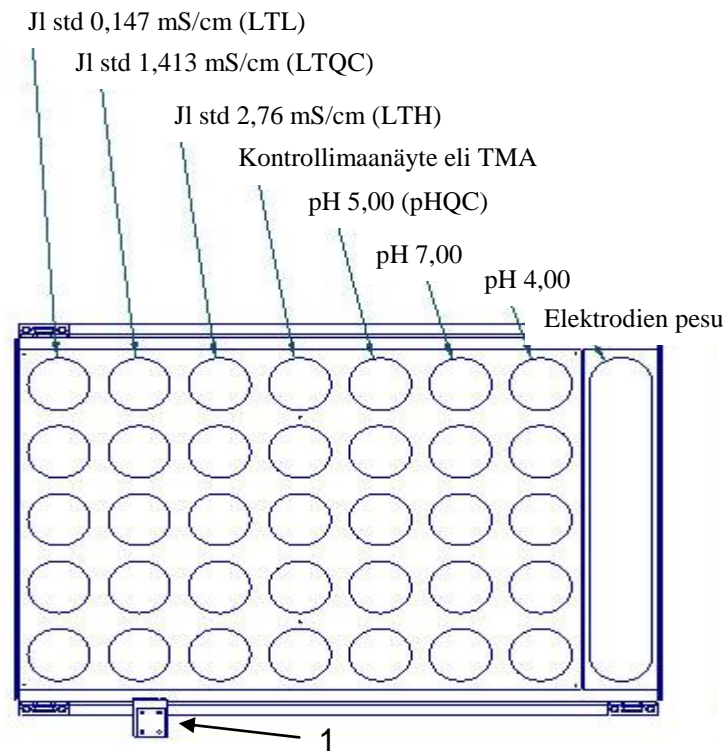
Lämpötila mitataan laitteistoon kiinnitetyllä anturilla. Lämpötilaa mitataan huoneenlämpötilana. Laite mittaa lämpötilan automaattisesti aina ennen viritystä ja näytteen mittausta.

Näytelaatikat asetetaan rullien päälle. Laatikkoa asetettaessa tulee varmistaa, että laatikko on suorassa ja että laatikko kulkee kevyesti rullien päällä.



Kuva 2. Standardiliuosten ja kontrollinäytteen näytelaatikko (1), näytelaatikko (2), johtokykyelektrodirivistö (3), näytelaatikon työntöhihna (4).

Laitteistoa viritettäessä elektrodihissit nousevat ylös, jolloin näytelinjan yläpuolella oleva standardiliuosten laatikko (kuvassa numero 1) pääsee liikkumaan omalla linjallaan. Laitteisto virittää ensin johtolukuelektrodit ja sen jälkeen pH-elektrodit. Virityksen suorittamiseen laitteella kuluu aikaa noin 30 minuuttia. Kuvassa 3 on esitetty standardilaatikon sisältö. Hihnan avulla standardilaatikkoo saadaan kuljetettua aina tarvittavaan kohtaan, jonka jälkeen elektrodit laskeutuvat näytekuppeihin.

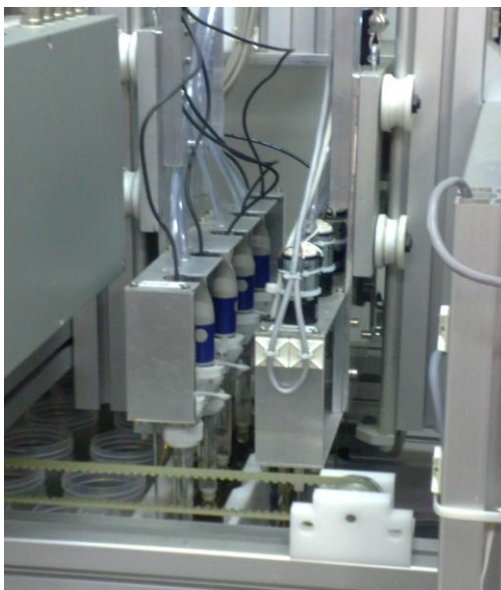


Kuva 3. Standardiliuosten näytelaatikko. Näytelaatikko kiinnitetään laatikkoa liikuttavaan hihnaan ruuvilla (1).



Kuva 4. Näytelaatikat asetetaan koneeseen oikealta vihreiden rullien (1) päälle. Valkoinen työntöhihna (2) työntää näytelaatikkaa eteenpäin. Koko järjestelmää käytetään tietokoneella (3).

4.2 Elektrodit



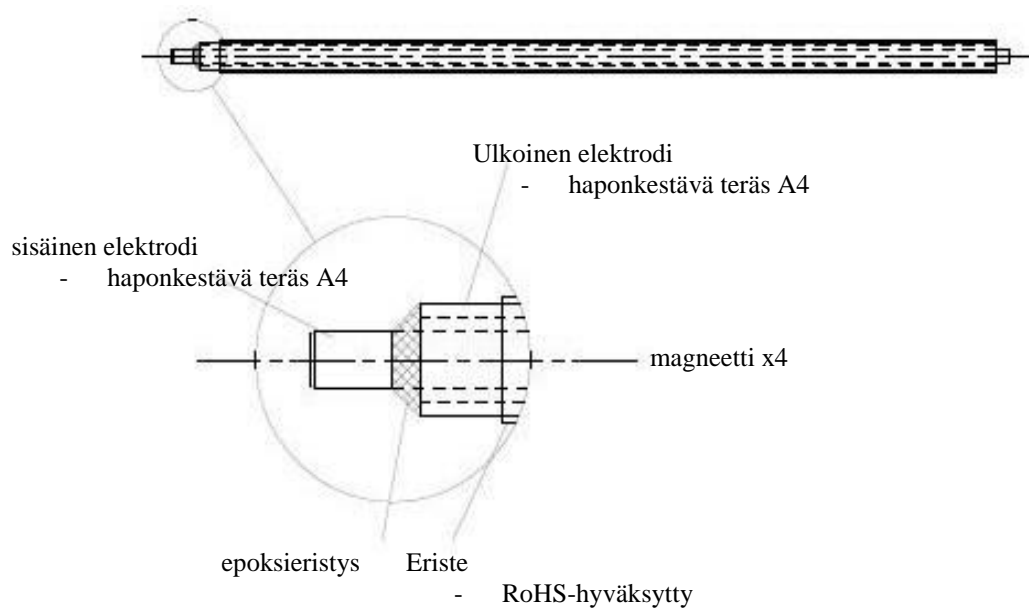
Kuva 5. pH- ja johtokykyelektrodihissit. Vasemmalla puolella Jenwayn pH-elektrodit (sininen kuori) ja oikealla puolella AMAB:n valmistamat johtokykyelektrodit. Kuvassa pH-elektrodit ovat juuri nousemassa pesualtaasta.



Kuva 6. Jenwayn pH-elektrodi, malli 924 005. (Lähde: Jenway 2009)

pH-elektrodi on Jenwayn yhdistelmäelektrodi, mallinumero 924 005. Elektrodi on lasielektrodi ja se on tarkoitettu normaaleihin pH-mittauksiin. (Jenway 2009, 57 [viitattu 27.10.2009]).

Johtokykyelektrodin on valmistanut AMAB, sama yritys, joka on suunnitellut ja rakentanut mittauslaitteiston. Kuvassa 7 on esitelty johtokykyelektrodin rakenne ja kuvassa 8 elektrodit ovat juuri mittaamassa näytteitä.



Kuva 7. Johtokykyelektrodin rakenne. (Mukaiillen piirrosta AMAB, 2009)



Kuva 8. Johtokykyelektrodit mittaamassa näytteitä.

4.3 Mittauksen suorittaminen automaattisella laitteistolla

Mittaus alkaa näytteen esikäsittelystä. Maanäytteen tultua laboratorioon se ilmakeivataan mahdollisimman kuivaksi. Sen jälkeen näyte jauhetaan myllyllä, jossa käytetään 2 mm seulaa. Jauhatuksen jälkeen näytettä annostellaan pH- ja johtolukumittausta varten 25 ml.

Näyte uutetaan 62,5 ml:aan ionivaihdettua vettä ja sekoitetaan hyvin. Vesi annostellaan automaattisella mittauslaitteistolla, joka myös sekoittaa näytteet annostelun aikana. Näytteen pH ja johtoluku mitataan seuraavana päivänä. Veden annostelun jälkeen luodaan näytelistä. Näytelistään kirjataan näytteen tilaus- tai laudakkonumero, jonka avulla näytteet voidaan tunnistaa.

Laitteisto viritetään aina ennen käyttöä. Johtolukuelektrodien viritys tapahtuu liuoksilla 1,47 mS/cm ja 27,6 mS/cm. Kontrollinäytteenä käytetään liuosta, jonka pitoisuus 14,13 mS/cm (LTQC). Johtolukustandardit ja kontrollinäyte valmistetaan eri raaka-aineista. pH-elektrodien virityksessä liuoksina on pH 4,00 ja pH 7,00 sekä kontrollinäytteenä pH 5,00 (pHQC). Lisäkontrollina on nollanäyte ja tunnettu maanäyte eli TMA, jonka johtoluku ja pH tunnetaan. TMA-näyte on vertailumaanäyte, jonka pH ja johtoluku on määritetty eri laboratorioissa ja oikeina arvoina käytetään tulosten keskiarvoja. TMA-näytteiden pitoisuudet vaihtuvat aina kun uusi erä TMA-näytettä otetaan käyttöön. Tällöin määritetään uudet arvot eri laboratorioiden keskiarvona.

Virityksen jälkeen mitataan näytteet. Tässä vaiheessa tarkistetaan vielä kerran, että näytelistä on oikein ja että virityksen tulokset ovat hyväksyttäviä. Virityksen tulokset kirjataan Excel-taulukkoon, jossa seurataan kontrollinäytteiden pitoisuuksia sekä elektrodien slope-arvoja. Johtolukukontrollinäytteen vaihteluvälinä on $14,13 \text{ mS/cm} \pm 5 \%$. Myös pH-kontrollinäytteellä (pH 5,00) sallittu vaihteluväli on $\pm 5 \%$. Slope-arvojen avulla seurataan elektrodien kuntoa. Johtokykyelektrodilla slope on normaalisti $2,47 \pm 5 \%$. pH-elektrodeilla slope on $59,16 \text{ mV} \pm 5 \%$.

Laitteisto mittaa näytteistä aina ensin johtoluvun ja sitten vasta pH:n, koska pH:n mittauksessa vuotaa aina hieman elektrodin sisäliuosta (KCl/AgCl-liuos) näytteeseen, mikä saattaa häiritä johtoluvun mittausta. Automaattisella laitteistolla yhden näytteen mittaamiseen kuluu aikaa 1 min 12 s, kun lasketaan yhteen pH:n ja johtoluvun mittaamiseen kulunut aika. Yhden näytelaatikon, jossa on 40 näytettä, mittaamiseen kuluu aikaa noin 50 minuuttia.

Mittausten jälkeen tarkistetaan, että jokaisen näytteen tulokset ovat tuloslomakkeessa ja siirretään ne ensin serverille ja sieltä edelleen Tilaus-ohjelmaan, jolla käsitellään kaikki maanäytteiden analysointiin liittyvät asiat.

4.4 Laitteiston edut ja haitat

Laitteiston suurimpana etuna on sen nopeus ja tarkkuus. Laite mittaa näytteet aina samalla tavalla, joten systemaattisen virheen lähteitä voidaan minimoida, mikäli laitteen asetukset ovat kohdallaan.

Toisena etuna on, se ettei automaattinen laitteisto sido työntekijää niin paljon kuin manuaalinen mittaus. Manuaalisessa mittauksessa 120 näytteen mittaamiseen kului aikaa noin 4 tuntia, joten työajan säästö on huomattava eikä pH- ja johtoluvun mittaamiseen tarvitse yhtä työntekijää lisää.

Laitteiston suuri haittapuoli on ohjelmisto ja nykyinen tietokoneen käyttöjärjestelmä. Ohjelmisto toimii MS-DOS-alustalla, joten ohjelmiston pyörittämiseen tarvitaan vanha tietokone, jossa käyttöjärjestelmä ei ole vielä niin kovin kehittynyt. Tällä hetkellä käytössä olevassa koneessa käyttöjärjestelmänä on Windows 98, jolla ohjelma toimii moitteettomasti. Ongelmia tulee siinä vaiheessa, jos tietokone menee rikki, jolloin voi olla vaikeaa löytää sopiva korvaava kone. Tähän ongelmaan on kuitenkin tulossa ratkaisu seuraavan vuoden sisällä, kun käyttöjärjestelmäksi hankitaan Linux-pohjainen versio.

Laitteistossa ongelmana on ollut stabiloitumisaika, jolla tarkoitetaan sitä aikaa, joka kuluu kun pH-elektrodit ovat upotettuna viritysluokseen ennen mittauksen suorittamista. pH-mittauksessa rivin ensimmäinen elektrodi antaa hieman korkeampia arvoja kuin muut elektrodit. Tähän syynä saattaa olla se, että elektrodit 2 - 5 ovat kauemmin liuoksessa, jolloin mittaus on tarkempaa. Tämä tarkoittaa sitä, että ensimmäisen elektrodin stabilointiaika on ollut liian lyhyt, jolloin esimerkiksi kontrolliliuokselle on saatu liian korkeita pitoisuuksia. Tämä ongelma on kuitenkin ratkaistu yksinkertaisesti pidentämällä stabilointiin kuluva aikaa.

Laitteiston ongelmana on myös se, että erityisesti pH-elektrodien pesu mittauksien aikana on vähäistä. Mittauksien aikana elektrodit pestään 40 näytteen välein eli kahden näytelaatikon välillä. Pesussa käytettävä vesimäärä on 25 ml pH-elektrodia kohden, joka on osoittautunut hieman liian vähäiseksi. Pesu ei kuitenkaan vaikuta analysointiin, joten sillä ei kuitenkaan ole analyttistä merkitystä. Tämä ongelma voidaan ratkaista lisäämällä pesuveden määrää 50 ml:aan.

5 Kokeellinen osuus

5.1 Työn tarkoitus

Työn tarkoituksena oli ottaa käyttöön automaattinen pH:n ja johtokyvyn mittaamiseen tarkoitettu laitteisto viljavuuslaboratoriossa sekä tehdä sille sopivia validointitestejä. Lisäksi kirjoitettiin käyttöohje. Automaattinen mittauslaitteisto on tarkoitettu ottaa rutiinikäyttöön syksyn 2009 aikana.

5.2 Käytetyt menetelmät

Maanäytteen pH:n ja johtoluvun mittaus aloitetaan näytteen kuivaamisesta. Näyte kuivataan ilmakeuhauksella. Näytteen tulee olla mahdollisimman kuivaa, jotta näytettä voidaan annostella tarkka määrä. Kuivauksen jälkeen näyte jauhetaan 2 mm seulan läpi. Näytettä annostellaan 25 ml näyteastiaan. Maan annostelussa käytetyt näytekauhat kalibroidaan vuosittain. Maanäyte uutetaan 62,5 ml:aan ionivaihdettua vettä ja sekoitetaan hyvin. Näytteet mitataan seuraavana päivänä. Ennen pH- ja johtolukumittauksista näytteet sekoitetaan uudelleen.

5.3 pH- ja johtolukumittauksien validoinnissa käytetyt parametrit

5.3.1 Veden annostelun oikeellisuuden tarkistaminen

Veden annostelu tarkistettiin punnitsemalla jokainen näyteastia yläkuppivaa'alla. Yhdessä näytelaatikossa on viisi riviä näyteastioita, joten yhteensä astioita oli neljäkymmentä. Punnituksen jälkeen näyteastioihin annosteltiin ionivaihdettu vesi ja astiat punnittiin uudelleen. Taulukossa 1 on laskettu punnitusten välinen erotus, annostelujen keskiarvot, keskihajonnat sekä suhteellinen keskihajonta. Veden lämpötila mitattiin lämpömittarilla ja selvitettiin lämpötilasta aiheutuva korjauskerroin z.

Taulukko 1. Veden annostelun oikeellisuuden tarkistaminen.

	z 1,0035	Tiheys 1,00 g/ml	V₀ 62,50 ml	A % max ± 7 %	
	I	II	III	IV	V
	Erotus (g)	Erotus (g)	Erotus (g)	Erotus (g)	Erotus (g)
1	59,86	59,85	59,85	59,85	59,95
2	59,85	59,77	59,74	59,86	59,83
3	59,85	59,74	59,76	59,74	59,83
4	59,76	59,73	59,74	59,81	59,78
5	59,81	59,7	59,7	59,79	59,77
6	59,70	59,19	59,73	59,7	59,75
7	59,74	59,54	59,66	59,75	59,76
8	59,77	59,68	59,66	59,78	59,68
KA	59,79 g	59,65 g	59,73 g	59,79 g	59,79 g
V _{ml}	60,00 ml	59,86 ml	59,94 ml	59,99 ml	60,00 ml
s	0,06	0,21	0,06	0,05	0,08
RSD %	0,10	0,34	0,10	0,09	0,13
A %	-3,66	-3,89	-3,76	-3,67	-3,66

Taulukosta 1 nähdään, että laitteisto annostelee vettä saman verran jokaisesta putkesta. Lopullisessa tilavuudessa on otettu huomioon veden lämpötila, joka mittaushetkellä oli 23 astetta ja sen kautta saatiin selville lämpötilakerroin z, joka oli 1,0035. Tuloksista nähdään, että laitteisto annostelee hieman pienemmän määrän vettä (V_{ml}) näytteisiin kuin mitä laitteistoon on asetettu. Tarkkuusprosentin (A %) maksimiarvo on ± 7 % ja suhteellisen keskijonnan (RSD %) maksimiarvo on 3 %, ja koska molemmissa kohdissa arvot olivat selvästi maksimiarvoja pienemmät, voidaan todeta, että annostelu on tarkkaa ja toistettavaa.

Veden annostelua voidaan säätää muuttamalla ohjelmistossa olevia parametrejä. Veden annostelun oikeellisuus tarkistetaan vuosittain.

5.3.2 Lineaarisuus

Lineaarisuustestissä selvitettiin lähinnä johtokykyelektrodien virityksessä käytettävien liuosten käyttökelpoisuutta virityksessä. Virityksessä käytetään kahta eri pitoisuutta, matalaa ja korkeaa pitoisuutta. Lineaarisuustestissä kokeiltiin erilaisia standardiliuoksia, ja tutkittiin niiden vaikutusta kontrollinäytteisiin (LTQC ja TMA).

Kontrollinäytteellä sallittu pitoisuus on $14,13 \pm 5$ % mS/cm. Tällöin vaihteluväli on 13,42 – 14,83 mS/cm. TMA-näytteen oikea pitoisuus tässä määrittäyksessä oli 0,8 – 0,9 mS/cm.

Testissä käytettiin seuraavanlaisia standardiliuoksia:

- 0,1494 ja 27,6 mS/cm (0,0001 M ja 0,02 M KCl)
- 0,2972 ja 27,6 mS/cm (0,002 M ja 0,02 M KCl)
- 0,739 ja 27,6 mS/cm (0,005 M ja 0,02 M KCl)

Edellä mainittujen viritysten tuloksia verrattiin jo aikaisemmin käytössä olleiden liuosten, 1,47 ja 27,6 mS/cm, avulla saatuihin tuloksiin. Taulukossa 2 on kuvattu virityksen antamat tulokset eri viritysluoksilla ja niiden poikkeavuus oikeasta arvosta.

Taulukko 2. Viritys liuksilla, joiden johtoluku on 1,47 ja 27,6 mS/cm sekä 0,1494 ja 27,6 mS/cm.

Viritys: 1,47 ja 27,6 mS/cm	QC	tma
el 1	1,387	0,902
el 2	1,400	0,958
el 3	1,403	0,881
el 4	1,413	0,933
el 5	1,396	0,921
x	1,400	0,919
oikea arvo	1,413	0,8 - 0,9

Viritys: 0,1494 ja 27,6 mS/cm	QC	tma
el 1	1,578	1,185
el 2	1,5924	1,281
el 3	1,589	1,130
el 4	1,587	1,179
el 5	1,582	1,148
X	1,586	1,185
oikea arvo	1,413	0,8 - 0,9

Taulukon 2 virityksen tuloksista nähdään, että standardiliuospari 0,1494 ja 27,6 mS/cm antoi huonompia tuloksia kontrollinäytteille kuin jo käytössä olleet liukset. QC:n ja TMA-näytteen pitoisuudet olivat huomattavasti korkeammat kuin oikea tulos.

Taulukko 3. Viritys liuoksilla, joiden johtoluku on 1,47 ja 27,6 mS/cm sekä 0,2972 ja 27,6 mS/cm.

Viritys 1,47 ja 27,6 mS/cm	QC	tma
el 1	1,387	0,902
el 2	1,400	0,958
el 3	1,403	0,881
el 4	1,413	0,933
el 5	1,396	0,921
X	1,400	0,919
oikea arvo	1,413	0,8 – 0,9

Viritys 0,2972 ja 27,6 mS/cm	QC
el 1	1,537
el 2	1,515
el 3	1,531
el 4	1,541
el 5	1,533
X	1,531
oikea arvo	1,413

Viritysluoksilla 0,2972 ja 27,6 mS/cm saatiin QC-näytteelle liian korkeita arvoja. TMA-näytettä ei mitattu ollenkaan.

Taulukossa 4 on kuvattu virityksen tulokset viritysluoksilla 0,739 ja 27,6 mS/cm.

Taulukko 4. Viritys liuoksilla, joiden johtoluku on 1,47 ja 27,6 mS/cm sekä 0,739 ja 27,6 mS/cm.

Viritys 1,47 ja 27,6 mS/cm	QC	tma
el 1	1,387	0,902
el 2	1,400	0,958
el 3	1,403	0,881
el 4	1,413	0,933
el 5	1,396	0,921
X	1,400	0,919
oikea arvo	1,413	0,8 – 0,9

Viritys 0,739 ja 27,6 mS/cm	QC	tma
el 1	1,4610	1,016
el 2	1,4462	1,008
el 3	1,4543	0,997
el 4	1,4539	1,021
el 5	1,4544	1,034
X	1,454	1,015
oikea arvo	1,413	0,8 – 0,9

Viritysluoksilla 0,739 ja 27,6 mS/cm saatiin QC- ja TMA-näytteille liian korkeita pitoisuuksia.

Yhteenvetona voidaan todeta, että aiemminkin käytössä olleet standardiliuokset 1,47 ja 27,6 mS/cm antavat QC- ja TMA-kontrolleille parhaat pitoisuudet. Pienemmillä pitoisuuksilla saadaan kontrollinäytteille liian korkeita arvoja. Testissä kokeiltujen liuosten pieni pitoisuus vaikuttaa liuosten säilyvyyteen ja ne kontaminoituvat helpommin, joten sen vuoksi matalamman pitoisuuden standardeja ei voida käyttää.

5.3.3 Tulosten vertailu

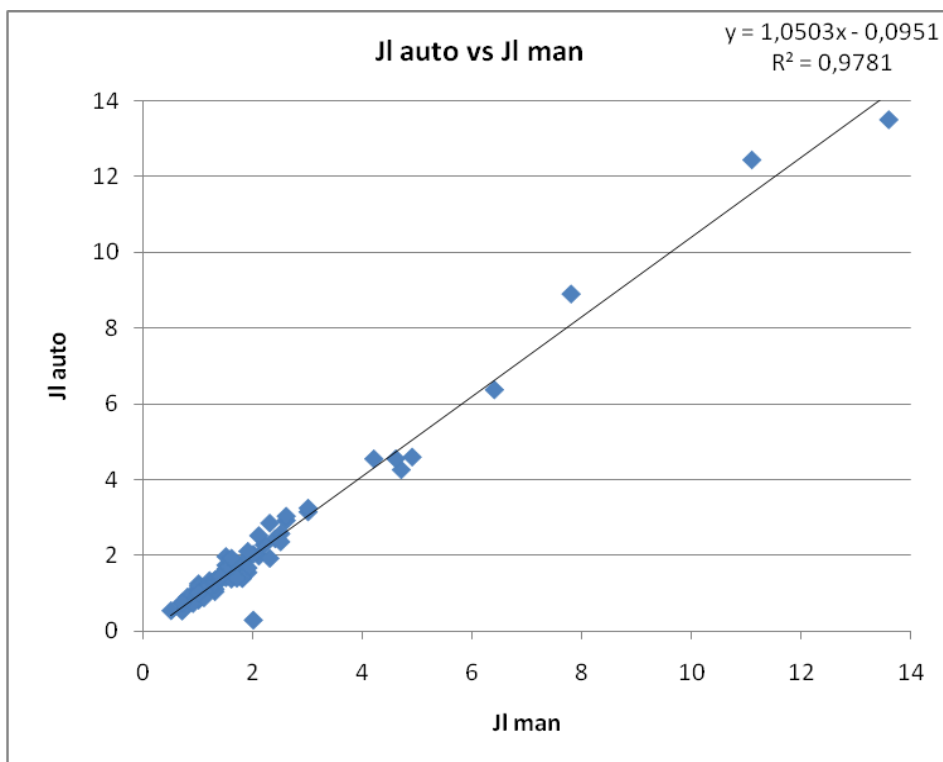
Tulosten vertailussa mitattiin samat näytteet sekä automaattisella mittauksella että manuaalisella mittauksella. Manuaalisessa mittauksessa käytettiin johtokykymittaria Orion sekä Orionin johtokykyelektrodia 0160. pH:n mittauksessa mittarina oli Orion

Model 720A ja elektrodina Orionin 9104SC-yhdistelmäelektrodi. Manuaalisessa mittauksessa johtokykymittarin kontrolliliuoksina käytettiin kaliumkloridiliuoksia, joiden pitoisuudet olivat 0,001 M KCl: 14,13 mS/cm ja 0,02 M KCl: 27,6 S/cm.

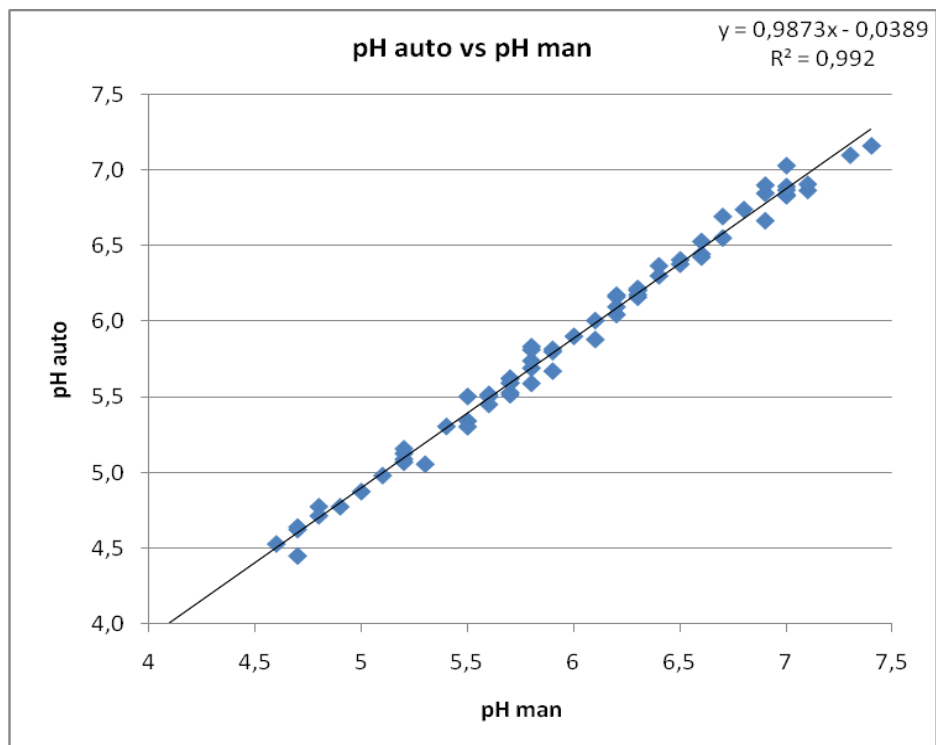
Manuaalisessa määrittämisessä pH-mittari viritettiin puskuriliuoksilla pH 4,00 ja pH 7,00. Tarkistusliuoksena oli pH 5,00. Lisäksi tarkistuksissa käytettiin TMA-näytettä eli tunnettua maanäytettä, jonka johtoluku ja pH on määritetty tarkasti.

Automaattisessa mittauksessa viritys tapahtui liuoksilla 0,001 M KCl: 1,47 mS/cm (LTL) ja 0,02 M KCl: 27,6 mS/cm (LTH). Tarkistusliuoksena käytettiin samaa liuosta kuin manuaalisessa mittauksessa, KCl-liuos 0,001 M: 14,13 mS/cm. pH-elektrodit viritettiin samoilla liuoksilla kuin manuaalisessa määrittämisessä, ja automaattimittauksessa mitattiin myös TMA-näytteen pitoisuudet.

Näytteitä mitattiin yhteensä 120. Mittaukset suoritettiin samasta näytelaatikosta siten, että ensin näytteet mitattiin automaattisella menetelmällä ja sitten manuaalisella menetelmällä. Saatuja tuloksia verrattiin toisiinsa ja laskettiin mittausmenetelmien välinen erotus. Kuvioissa 1 ja 2 on esitetty menetelmien välisen vertailun tulokset.



Kuvio 1. Johtoluvun mittauksen tulosten vertailu (Automaattinen mittaus vs. manuaalinen mittaus)



Kuvio 2. pH:n mittauksen tulosten vertailu (Automaattinen mittaus vs. manuaalinen mittaus)

Kuvioista 1 ja 2 voidaan nähdä, että automaattisen ja manuaalisen mittauksen tuloksissa ei ole suurta eroa. Johtoluvun mittauksessa menetelmien välinen erotus oli 0,014 mS/cm ja pH:n mittauksessa erotus oli 0,11 pH-yksikköä.

5.3.4 Toistettavuus

Toistettavuusmäärittelyn tarkoituksena oli selvittää kuinka toistettavia tuloksia automatiikalla saadaan.

Toistettavuusmäärittelyssä mitattiin 40 TMA- eli tunnettua maanäytettä, jonka pH ja johtoluku tunnettiin. Kuivaa TMA-näytettä annosteltiin 25 ml ja uutettiin 62,5 ml:aan vettä. Näytteet mitattiin seuraavana päivänä. Saadut tulokset ovat taulukossa 5.

Taulukko 5. Tunnetun maan (TMA 150408) toistettavuus.

	Johtoluku	pH
X	0,875	5,715
s	0,028	0,053
rsd	0,032	0,009
rsd %	3,201	0,936
median	0,880	5,733
min	0,808	5,550
max	0,920	5,770

TMA-näytteen oikea johtoluku on 0,8 – 0,9 ja pH 5,7 – 5,8, joten saadut tulokset ovat tarkkoja ja toistettavia. Tässä testissä ei ollut tarkkoja rajoja, joiden alle suhteellinen keskihajonta tulisi mennä, koska lopullinen suhteellinen keskihajonta määritetään pitkän ajan tma-tuloksista. Näissä tuloksissa johtoluvun rajoina voidaan pitää vaihteluväliä $0,8 \pm 20\%$ pH-arvolla $5,7 \pm 0,3$. Tulosten vaihteluväli oli pieni, johtoluvussa vaihtelua oli 0,1 mS/cm ja pH:ssa 0,2 pH-yksikköä, joten saadut tulokset ovat sallitulla vaihteluvälillä. Mahdollisena virhelähteenä voidaan pitää käsin tehtyä annostelua.

5.3.5 Selektiivisyys

Selektiivisyysmäärittämisessä tutkittiin näytteessä olevan natriumin määrän vaikutusta näytteen pH-arvoon. Määrittämisessä maanäytteestä valmistettiin edellisenä päivänä noin 5 litraa uutოსlientä. 500 millilitran mittapulloihin punnittiin eri määriä natriumkloridia ja täytettiin pullot uutოსliemellä merkkiin. Näytteiden pitoisuudet ja niiden sisältämän natriumin määrä näytteessä on kuvattu taulukossa 6.

Taulukko 6. Natriumin vaikutus pH-arvoon.

Pitoisuus (%)	Natriumin määrä näytteessä (mg/l)	Mitattu pH
0	0	6,9
0,01	0,4	7,2
0,1	3,9	7,2
0,5	19,7	7
1	39,3	7
2	78,7	6,9
4	157,3	6,8
	min	6,8
	max	7,2
	diff (max –min)	0,4

Taulukosta 6 voidaan todeta, että natriumilla ei ole merkittävää vaikutusta pH-arvoon. pH-arvoissa muutosta tapahtuu 0,4 pH-yksikköä, joka on hyvin vähän. Muutos ei kuitenkaan tapahdu natriumin määrän kasvaessa, vaan nollanäytteessä pH oli sama kuin näytteessä, jossa natriumin pitoisuus oli 4 %.

5.3.6 Lämpötilan vaikutus

Viritysluosten ja näytteiden välinen lämpötilaero saattaa aiheuttaa virhettä pH-mittauksessa. Lämpötila vaikuttaa pH-arvoon mitattavan liuoksen lämpötilakertoimen kautta. Eri lämpötiloissa piirrettyjen standardisuorien kulmakertoimien

isopotentialipiste (leikkauspiste) ei kulje pH 7:n kautta. Kulmakerroin riippuu lämpötilasta, samoin kuin elektrodin vasteaika.

Useimmissa pH-mittareissa on vakiona automaattinen lämpötilan kompensatio (automatic temperature compensation, ATC), jonka avulla voidaan pH-lukema muuttaa vastaamaan pH-arvoa tietyssä lämpötilassa, yleensä 25 °C:ssa. Mikäli lämpötiloissa on eroa yli 10 °C, se voi aiheuttaa virhettä 0,15 pH-yksikköä, jos käytössä ei ole automaattista lämpötilan kompensatiota. (Lehtonen 1998, 139; Chan 2004, 235).

Lämpötilan vaikutusta määrittämiseen testattiin tekemällä viritykset ja mittaukset eri lämpötiloissa. Viritys tehtiin ensin huoneenlämpötilassa. Puskuriliuoksina käytettiin pH 4,00 ja pH 7,00 sekä tarkistuspuskurina (QC) pH 5,00. pH:n mittaukset suoritettiin 13 °C:n ja 25,5 °C:n lämpötiloissa. Huoneenlämpötilassa olevan kontrolliliuoksen lämpötila oli 19,2 °C. Tulosten yhteenveto on taulukossa 7, jossa kylmien, huoneenlämpöisten ja lämpöisten standardiliuosten tuloksia on verrattu huoneenlämmössä tehdyn virityksen tuloksiin.

Taulukko 7. Kylmien, huoneenlämpöisten ja lämpöisten standardiliuosten pH-mittaustulosten ja huoneenlämmössä tehdyn virityksen tulosten vertailu.

Elektrodi	QC (pH 5,00)	13 °C		19,2 °C		25,5 °C	
		pH kylmä	diff (QC - pH kylmä)	pH huoneenl.	diff (QC - pH huoneenl.)	pH lämmin	diff (%)
el 1	5,08	5,22	0,14	5,07	-0,01	5,06	-0,03
el 2	5,08	5,18	0,09	5,03	-0,05	5,04	-0,04
el 3	5,03	5,17	0,14	5,04	0,01	5,01	-0,03
el 4	5,05	5,15	0,09	5,04	-0,01	4,99	-0,06
el 5	5,03	5,14	0,11	5,05	0,03	5,05	0,02
X	5,06	5,17	0,11	5,05	-0,01	5,03	-0,03

Taulukosta 7 nähdään, että kylmät standardiliuokset näyttävät korkeampia pH-arvoja kuin lämpöiset liuokset kun liuoksia verrattiin huoneenlämpötilassa tehdyn virityksen tuloksiin. Erot eri lämpötilojen välillä ovat kuitenkin pienet, alle $\pm 0,2$ pH-yksikköä.

Johtolukumittaus on pH-mittausta herkempi lämpötilan vaihteluille. Laitteessa on käytössä automaattinen lämpötilan kompensoitio. Johtokykyelektrodien viritysluoksina käytettiin 1,47 ja 27,6 mS/cm. Tarkistusliuoksena (QC) käytettiin 14,13 mS/cm liuosta. Viritys tehtiin ensin huoneenlämpötilassa, jonka jälkeen suoritettiin kontrollinäytteen mittaukset lämpötiloissa 12,5 °C, 19,2 °C ja 26 °C. Taulukossa 8 on vertailtu kylmien, huoneenlämpöisten ja lämpöisten johtoluvun standardiliuosten tuloksia huoneenlämmössä tehdyn virityksen tuloksiin.

Taulukko 8. Kylmien, huoneenlämpöisten ja lämpöisten standardiliuosten johtoluvun mittaustulosten ja huoneenlämmössä tehdyn virityksen tulosten vertailu.

Elektrodi	QC (14,13 mS/cm)	13 °C		19,2 °C		25,5 °C	
		Jl kylmä QC	diff (QC - kylmä QC)	Jl huoneenl. QC	diff (QC - huoneenl. QC)	Jl lämmin kontrolli	diff (QC - Jl lämmin)
el 1	14,06	12,15	-1,91	13,85	-0,22	15,17	1,10
el 2	14,05	12,02	-2,03	13,84	-0,21	15,28	1,24
el 3	14,08	12,06	-2,02	13,78	-0,30	15,19	1,10
el 4	14,11	11,99	-2,11	13,80	-0,30	15,11	1,01
el 5	14,11	12,02	-2,09	13,76	-0,35	15,03	0,92
X	14,08	12,05	-2,03	13,81	-0,01	15,15	1,07

Taulukon 9 tuloksista voidaan todeta, että kylmät näytteet antavat kontrollinäytteelle liian matalia tuloksia ja lämpimät liian korkeita tuloksia. Erot olivat melko suuria, kylmällä yli 2 mS/cm ja lämpöisellä yli 1 mS/cm.

Lopuksi suoritettiin vielä viritykset eri lämpötiloissa, jolloin standardiliuosten lämpötilaa muutettiin ja kontrollinäytteet (QC pH 5,00 ja TMA-näyte) olivat huoneenlämpöisiä. Viritykset suoritettiin lämpötiloissa 17,86 °C, 21,55 °C ja 25,37 °C ja lämpötila mitattiin automaattisen mittauslaitteiston lämpömittarilla. Viritykset tulokset ovat taulukossa 9. Manuaalisesti mitattuna pH QC:n arvoksi saatiin 5,0 ja tma:n pH:ksi 5,8 – 5,9.

Taulukko 9. pH-elektrodien viritykset eri lämpötiloissa (17,9 °C ja 25,4 °C) ja viritystulosten vertailu huoneenlämmössä (21,6 °C) tehtyyn viritykseen.

	Viritys 17,9 °C		Viritys 21,6 °C		Viritys 25,4 °C	
	QC	tma	QC	tma	QC	tma
el 1	5,03	5,61	5,03	5,62	5,02	5,65
el 2	5,02	5,69	5,02	5,70	5,00	5,71
el 3	5,01	5,49	5,01	5,52	5,01	5,53
el 4	5,01	5,67	5,01	5,67	5,01	5,70
el 5	5,00	5,68	5,00	5,69	5,00	5,70

	diff (viritys 17,9 °C - viritys 21,6 °C)		diff (viritys 25,4 °C - viritys 21,6 °C)	
	QC	tma	QC	tma
el 1	0,000	-0,009	-0,003	0,031
el 2	-0,004	-0,012	-0,015	0,008
el 3	0,001	-0,027	-0,001	0,016
el 4	0,000	-0,004	-0,001	0,028
el 5	0,000	-0,016	0,002	0,008
X	-0,001	-0,014	-0,004	0,018

Taulukon 9 tuloksista voidaan todeta, että pH-elektrodien virityslämpötilalla ei ole merkitystä näytteen pH-arvoon. Erot ovat pieniä, vain $\pm 0,02$ pH-yksikköä.

Johtolukuelektrodien virityksessä standardiliuosten lämpötilat olivat samat kuin pH-elektrodien virityksessä. Kontrollinäytteet (14,13 mS/cm ja TMA) olivat huoneenlämpöisiä. Virityksen tulokset sekä kylmien ja lämpöisten poikkeavuusprosentti huoneenlämpöisistä näytteistä on kuvattu taulukossa 11.

Taulukko 10. Johtokykyelektrodienviritykset eri lämpötiloissa ((17,9 °C ja 25,4 °C) ja näiden tulosten vertailu huoneenlämmössä (21,6 °C) tehtyyn viritykseen.

	Viritys 17,9 °C		Viritys 21,6 °C		Viritys 25,4 °C	
	QC	tma	QC	tma	QC	tma
el 1	12,854	0,853	13,87	0,90	14,98	0,95
el 2	12,905	0,892	14,00	0,96	15,15	1,01
el 3	12,957	0,843	14,03	0,88	15,16	0,92
el 4	12,941	0,876	14,13	0,93	15,12	0,98
el 5	12,907	0,881	13,96	0,92	15,07	0,98

manuaalinen
mittaus 14,13 0,8 - 0,9

	diff (viritys 17,9 °C - viritys 21,6 °C)				diff (viritys 25,4 °C - viritys 21,6 °C)			
	QC	diff (%)	tma	diff (%)	QC	diff (%)	tma	diff (%)
el 1	-1,02	-7,4	-0,05	-5,4	1,108	8,0	0,045	5,0
el 2	-1,10	-7,8	-0,07	-6,9	1,146	8,2	0,056	5,8
el 3	-1,08	-7,7	-0,04	-4,4	1,123	8,0	0,037	4,2
el 4	-1,19	-8,4	-0,06	-6,1	0,992	7,0	0,043	4,6
el 5	-1,05	-7,5	-0,04	-4,3	1,111	8,0	0,054	5,9
X	-1,09	-7,8	-0,05	-5,4	1,096	7,8	0,047	5,1

Taulukon 10 tuloksista voidaan todeta, että kylmät viritysluokset antoivat kontrollinäytteille liian alhaisia johtolukuarvoja ja lämpöiset vastaavasti liian korkeita arvoja. Keskimäärin arvot vaihtelivat $\pm 6,5$ %.

Yhteenvetona tuloksista voidaan päätellä, että viritys ja näytteiden mittaukset tulisi johtolukumittauksessa suorittaa mahdollisimman saman lämpöisistä liuoksista. Huoneenlämpöisillä liuoksilla saadaan tasaisempia ja tarkempia tuloksia. Huoneenlämpö ei saisi muuttua merkittävästi virityksen ja näytteiden mittausten välillä.

5.3.7 Nollanäytteen rajat

Nollanäytteiden rajat määritettiin mittaamalla yksi näytelaatikko, johon oli annosteltu 62,5 ml ionivaihdettua vettä. Yhteensä näytteitä oli 40 kappaletta. Nollanäytteistä mitattiin johtoluku ja pH. Tulosten yhteenveto on taulukossa 11.

Taulukko 11. Nollanäytteiden rajat.

	Johtoluku (10*mS/cm)	pH
X	0,013	5,94
s	0,003	0,16
rsd %	19,60	2,76
median	0,014	5,93
min	0,007	5,65
max	0,017	6,23

Nollanäytteiden johtoluvun keskiarvoksi saatiin 0,013 mS/cm ja pH:n keskiarvoksi 5,94. Tulosten vaihteluväli oli pieni. Nollanäytteen ylärajana on tällä hetkellä 0,2 mS/cm, joten saadut tulokset ovat alle tämän rajan. Nollanäytteen pH tulisi olla välillä 5,8 – 8,8, joten myös pH:n osalta nollanäytteen tulokset ovat hyväksyttäviä.

5.3.8 Toteamis- ja määrittäysraja

Toteamisraja (LOD) laskettiin nollanäytteiden keskiarvojen ja keskihajontojen avulla kaavalla

$$LOD = \bar{X} + 3 \cdot s$$

Määrittäysraja laskettiin myös keskiarvojen ja keskihajontojen avulla kaavalla

$$LOQ = \bar{X} + k \cdot s$$

kertoimen k ollessa 10.

Toteamis- ja määrittäysraja määritettiin pelkästään johtoluvulle. pH-määrittäyksessä viritys tapahtuu liuoksilla pH 4,00 ja pH 7,00, joten nämä pitoisuudet toimivat myös toteamis- ja määrittäysrajoina. pH-pitoisuuksia on testattu myös pH 3,00 ja pH 9,00, jotka myös antoivat oikeita tuloksia (pH 3,00 ja pH 9,00 \pm 0,2).

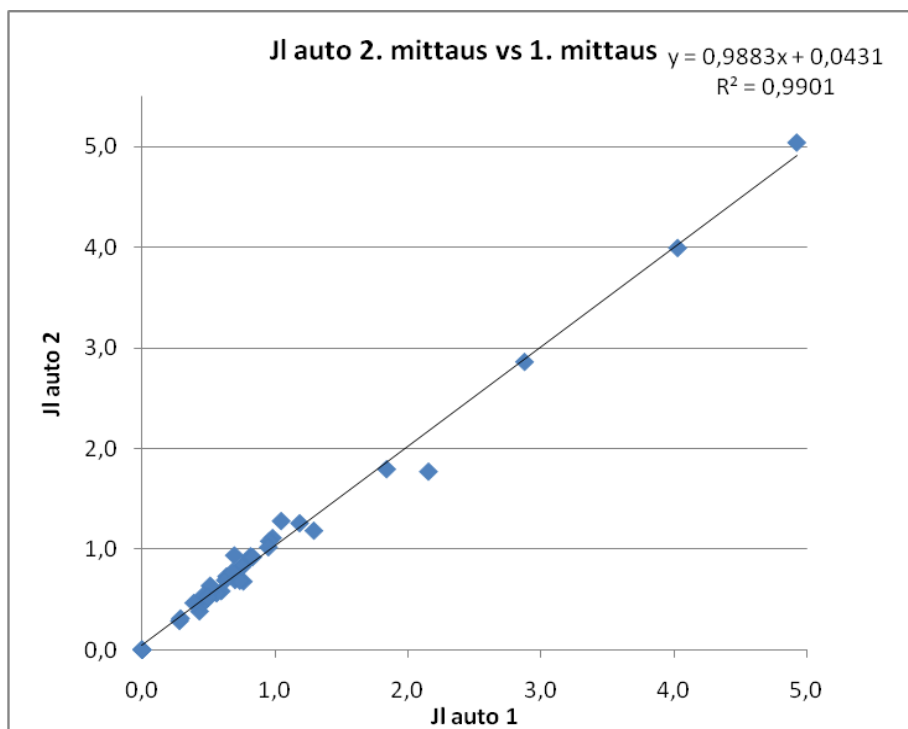
Taulukko 12. Johtoluvun nollanäytteiden keskiarvot ja keskihajonnat.

	Johtoluku (10*mS/cm)
X	0,013
s	0,003
rsd %	19,60

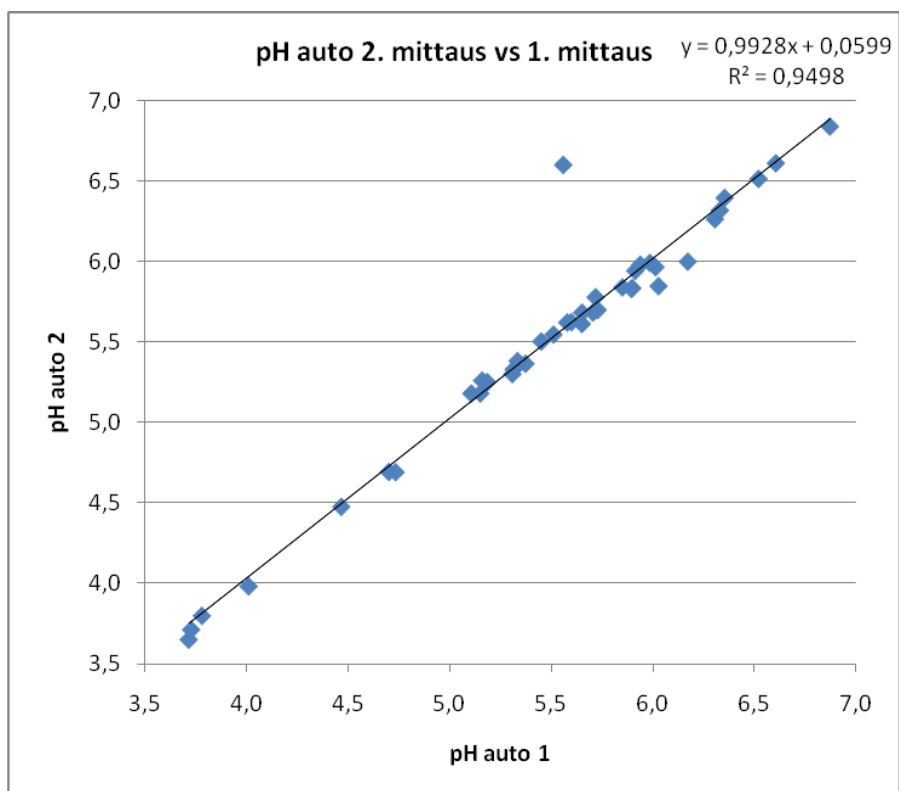
Johtoluvun toteamisrajaksi (LOD) saatiin 0,022 mS/cm ja määrittäysrajaksi (LOQ) 0,031 mS/cm.

5.3.9 Näytteen häiriökestävyys

Näytteen häiriökestävyyssmittauksessa selvitettiin, onko mittausajankohdalla merkitystä tuloksiin. Näytteet mitattiin ensimmäisen kerran 4 tuntia veden annostelun jälkeen (autom. 1) ja toisen kerran normaalikäytännön mukaan seuraavana päivänä (autom. 2). Mittausten tuloksista laskettiin vertailu mittausten välillä (kuviot 3 ja 4).



Kuvio 3. Näytteen häiriökestävyys. Johtoluvun mittaus, mittaus 1 (Jl auto 1) vs mittaus 2 (Jl auto 2).



Kuvio 4. Näytteen häiriökestävyys. pH:n mittaus, mittaus 1 (pH auto 1) vs mittaus 2 (pH auto 2)

Kuvioista 3 ja 4 nähdään, että mittaustuloksissa ei ole suurta eroa. Eroa johtoluvun määrittelyssä oli 0,03 mS/cm ja pH:n määrittelyssä 0,02 pH-yksikköä, joten voidaan todeta että ero ei ollut merkittävä.

5.3.10 Rinnakkaiset määrittelykset

Testissä määritettiin 20 näytettä, joista tehtiin rinnakkaismäärittelykset. Tuloksista laskettiin satunnaisvirheprosentti sekä tunnetusta maanäytteestä aiheutuva systemaattinen virheprosentti.

Systemaattisella virheellä tarkoitetaan laitteistosta tai menetelmästä johtuvaa virhettä. Satunnaisvirheellä tarkoitetaan tilastollista virhettä, joka voi johtua esimerkiksi mittajaan virheistä tai näytteen valmistuksessa tapahtuneista virheistä.

Taulukko 13. Rinnakkaiset johtolukumittaukset ja mittausepävarmuus.

		Lkm	
RSD r	0,07456	20	
%	7,50 %	Satunnaisvirhe (epätarkkuus)	
RSD tma	0,032		
%	3,20 %	Systemaattinen virhe (poikkeama oikeasta arvosta)	
RSD tot	0,081137		
%	8,10 %	X2	16,20 %

Johtoluvulla satunnaisesti virheeksi saatiin 7,5 % ja tunnetulla maanäytteessä systemaattiseksi virheeksi 3,2 %. Kokonaisvirheeksi saatiin 8,10 %.

Taulukko 14. Rinnakkaiset pH-mittaukset ja mittausepävarmuus.

RSD r	0,0036962	Lkm 20	
%	0,40 %	Satunnaisvirhe	
		(epätarkkuus)	
RSD tma	0,0094		
%	0,90 %	Systemaattinen virhe	
		(poikkeama oikeasta arvosta)	
RSD tot	0,0101006		
%	1,00 %	X2	2,00 %

pH-mittauksessa satunnaisvirheeksi saatiin 0,40 % ja systemaattiseksi virheeksi 0,9 %. Kokonaisvirheeksi saatiin 1,00 %. Kokonaisvirhe laskettiin kaavalla

$$RSD_{tot} = \sqrt{RSD_r^2 + RSD_{tma}^2}$$

Johtoluvun mittauksessa satunnaisvirhettä ja systemaattista virhettä oli enemmän. Tämä saattaa johtua esimerkiksi lämpötilan muutoksista mittauksen aikana.

6 Pohdinta ja loppupäätelmät

Automaattisen mittauslaitteen käyttöönotto ja validointitestit sujuivat hyvin. Laitteen tarkkuus ja toistettavuus ovat hieman parempia kuin perinteinen manuaalinen mittausmenetelmä. Yleisesti voidaan todeta, että laitteisto on riittävän tarkka siihen tarkoitukseen johon se on hankittukin.

Elektrodien kuntoa seurataan mittaamalla niille slope-arvoja. Johtoluvun mittauksessa hyvä slope-arvo on $2,47 \text{ mV} \pm 5 \%$. pH-mittauksessa hyvä slope-arvo on $59,16 \text{ mV} \pm 5 \%$.

Veden annostelun tarkistamisessa annosteltu vesimäärä oli sallituissa rajoissa. Annostelun tarkkuusprosentiksi (A %) on asetettu $\pm 7 \%$ ja suhteelliseksi keskihajonnan poikkeamaksi $\pm 3 \%$. Tuloksissa tarkkuusprosentti oli $-3,7 \%$ ja suhteellinen keskihajonta $0,15 \%$. Tästä voidaan todeta, että veden annostelu on riittävän tarkka. Veden annostelun määrää voidaan muuttaa muuttamalla ohjelmistossa olevia parametrejä. Veden annostelu tarkistetaan vähintään kerran vuodessa.

Johtolukumittauksen lineaarisuustestissä todettiin, että pienillä viritysluosten pitoisuuksilla ei saatu kontrollinäytteille kovin hyviä tuloksia. Pitoisuudet olivat tällöin kontrolleissa korkeammat. Myös liuosten pieni pitoisuus vaikuttaa niiden säilyvyyteen. Liuokset ovat herkempiä kontaminoitumaan. Jatkossa viritysluoksina tullaan käyttämään liuoksia $1,47 \text{ mS/cm}$ ja $27,6 \text{ mS/cm}$ sekä tarkistusliuoksena $14,13 \text{ mS/cm}$.

Automaattisen ja manuaalisen mittauksen vertailussa ei ollut eroa. Johtolukumittauksissa eroa oli $0,014 \text{ mS/cm}$ ja pH-mittauksessa $0,11 \text{ pH-yksikköä}$. Eroavaisuudet ovat erittäin pienet, joten voidaan todeta, että automaatiikalla saadaan samanlaisia tuloksia (jollei jopa tarkempia) kuin manuaalisessa mittauksessa.

Toistettavuustestissä tma-näytteestä tehtyjen mittausten suhteellinen keskihajonta oli pieni. Johtoluvulla suhteellinen keskihajonta oli $3,2 \%$ ja pH-mittauksessa $0,94 \%$. Tästä

huomataan, että automaattimittauksessa johtolukumittaus on pH-mittausta paljon herkempää. Koska näytteet annostellaan käsin, satunnaisvirheiden mahdollisuus kasvaa. pH-mittauksen selektiivisyydestä tutkittiin natriumin vaikutusta pH-arvoon. Testissä todettiin, että natriumilla ei ollut vaikutusta mittaustuloksiin. Vaihtelua tuloksissa oli 0,4 pH-yksikköä.

Erityisesti johtoluvun mittauksessa lämpötilanvaihtelut vaikuttavat paljon tuloksiin. Mikäli viritysluokset ovat eri lämpötilassa kuin näytteet, vaikuttaa tämä merkittävästi saatuihin tuloksiin. Kylmät liuokset antoivat kontrollinäytteille liian matalia ja lämpöiset liian korkeita arvoja. Sen takia viritysluokset ja näytteet tulisi olla samassa lämpötilassa. Laboratoriossa on ollut käytäntönä, että näytteiden valmistelu tehdään edellisenä päivänä ja mittaus suoritetaan vasta seuraavana päivänä, jolloin lämpötilat ovat samat sekä viritysluoksissa että näytteissä. Virityksen ja näytteiden mittauksen välillä on varmistettava, että huoneenlämpötila pysyy mahdollisimman stabiilina. Lämpötila pysyy mittauspaikalla melko vakiona.

Nollanäytteiden keskiarvoksi saatiin 0,013 mS/cm ja pH-arvoksi 5,94. Nollanäytteiden perusteella laskettiin toteamis- ja määrittäysrajat. Johtoluvulla toteamisraja oli 0,022 mS/cm ja määrittäysraja oli 0,031 mS/cm. Käytännössä asiakkaalle ilmoitettava pienin johtoluvun pitoisuus on 0,3 mS/cm. pH-määrittäyksessä toteamis- ja määrittäysrajana käytetään viritysluoksia pH 4,00 ja pH 7,00.

Näytteiden häiriökestävyydestä näytteet mitattiin ensin neljä tuntia veden annostelun jälkeen ja toisen kerran normaaliin tapaan seuraavana päivänä. Testissä todettiin, että mittausajankohta ei vaikuttanut tuloksiin paljoakaan, joten periaatteessa näytteet voitaisiin mitata saman päivän aikana. Kuitenkin, työaika on rajallinen, joten töiden organisointia helpottaa, jos näytteiden veden annostelu ja mittaus suoritetaan eri päivinä. Lisäksi tähän vaikuttaa myös se, että näytteet ja viritysluokset stabiloituvat samaan lämpötilaan yön aikana.

Näytteiden mittaustuloksista laskettiin satunnaisvirhe ja systemaattinen virhe. Johtoluvun mittauksessa satunnaisvirhe oli 7,50 %, systemaattinen virhe 3,20 % ja

kokonaisvirhe 8,10 %. pH-mittauksessa satunnaisvirhe oli 0,40 %, systemaattinen virhe 0,90 % ja kokonaisvirhe 1,00 %. Johtoluvun mittauksessa virhemahdollisuudet ovat tulosten perusteella suuremmat. Johtoluku onkin pH-mittausta herkempi olosuhteiden muutoksille, erityisesti lämpötilan vaihteluille. Mittausepävarmuus tarkistetaan vuosittain ja muutetaan tarvittaessa käyttämällä todellisia näyterinnakkaisia ja tma-tuloksia.

Työn aikana automaattiselle pH- ja johtolukumittauslaitteistolle kirjoitettiin mahdollisimman kattava käyttöohje. Ohjeen vaatimuksena oli, että sen avulla kuka tahansa laboratorion työntekijöistä voi suorittaa pH- ja johtolukuanalyysin ohjeen mukaisesti.

Laitteella ajetaan MTT:n vertailunäytteitä 2 kertaa vuodessa. Tällöin vertaillaan eri laboratorioiden välisiä tuloksia. Lisäksi määritetään omia näytteitä rinnakkain vesimittausten kanssa noin kerran kuukaudessa. Tarvittaessa määritetään myös ylimääräisiä pH- ja johtolukukontrollinäytteitä.

LÄHTEET

Carter, J. Stein. 1996. Atoms, Molecules, Water, pH. [Viitattu 4.10.2009]. Saatavissa: <http://biology.clc.uc.edu/courses/Bio104/atom-h2o.htm>

Chan, Chung Chow. 2004. Analytical Method Validation and Instrument Performance Verification. Verkkokirja. Publisher: John Wiley & Sons, Incorporated.

Eurachem. 1998. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. [Viitattu 13.10.2009]. Saatavissa: <http://www.eurachem.org/guides/valid.pdf>

Haavisto, Anja, Nikkola, Jorma & Viljanmaa, Lauri. 1994. Kemia 1. Kokeellinen luonnontiede. KEMIA-sarjan uudistetun laitoksen (OPS-94) 1. painos. Rauma: Oy West Point.

Hyytiäinen, Teija & Hiltunen, Sari. 1999. Kasvintuotanto 1. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.

Jenway. 2008. Jenway Product Catalogue. [viitattu 27.10.2009]. Saatavissa: <http://www.jenway.com/product.asp?dsl=288>

Laukkanen, Raili, Nykänen Rauno & Vuokila, Olli. 1987. Laboratoriotekniikka. Helsinki: Valtion painatuskeskus.

Lehtonen, Pekka. 1998. Potentiometrinen analyysi. pH- ja ISE-mittaukset. Helsinki: Oy Edita Ab.

MIKES. 2005. Kemian ja mikrobiologian jaoston kemian työryhmä. Kemian metrologian opas. Helsinki: Metrologian neuvottelukunta. [Viitattu 4.10.2009]. Saatavissa: http://www.mikes.fi/documents/upload/j6_05_b5_nettiin.pdf

Teräsahde, Pertti & Manninen, Pentti. 1997. Kemiallisten analyysimenetelmien validointiohje. Helsinki: Elintarvikevirasto.

Viljavuuspalvelu. 2008. Viljavuustutkimuksen tulkinta peltoviljelyssä. [Viitattu 28.10.2009]. Saatavissa: http://www.viljavuuspalvelu.fi/viljavuuspalvelu/user_files/files/opaat/Viljavuustutkimuksen%20tulkinta%20peltoviljelyssa.pdf