



ICP-OES-menetelmän verifiointi veden kovuuden määrittä- miseksi

Tiia Lammi

OPINNÄYTETYÖ
Toukokuu 2024

Laboratoriotekniikan tutkinto-ohjelma

TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Laboratoriotekniikan tutkinto-ohjelma

LAMMI, TIIA:
ICP-OES-menetelmän verifiointi veden kovuuden määrittämiseksi

Opinnäytetyö 49 sivua, joista liitteitä 7 sivua
Toukokuu 2024

Opinnäytetyö tehtiin Tampereen Vesi Oy:n Ruskon talousvesilaboratoriossa. Tampereen vesi toimittaa talousvettä Tampereelle ja sen lähikuntiin sekä puhdistaa jätevesiä. Tampereen Vedellä on neljä pintavesilaitosta ja viisi pohjavedenotantoa, joilla talousveden puhdistus tapahtuu. Kaikkien näiden laitosten vettä tutkitaan puhtasvesilaboratoriossa verkostonäytteiden ja muiden näytteiden ohella.

Opinnäytetyön tavoitteena oli siirtää veden kovuuden määrittäminen uudelle ICP-OES-laitteelle, joka on hankittu laboratorioon viime vuoden lopussa nopeuttamaan analytiikkaa. Veden kovuus on kalsium- ja magnesiumpitoisuuksien summa, joten opinnäytetyössä keskityttiin kalsiumin ja magnesiumin ICP-OES-tuloksiin.

Opinnäytetyön tarkoituksena oli verifioida uusi ICP-OES-menetelmä laitteelle, jotta menetelmä saataisiin käyttöön. Verifiointissa määritettiin menetelmän toteamis- ja määrittämissrajat, lineaarisuus, toistettavuus sekä oikeellisuus. Oikeellisuus pyrittiin todistamaan vertailemalla vanhaa EDTA-titrausmenetelmää uuteen menetelmään.

Opinnäytetyössä onnistuttiin verifioidaan toteamis- ja määrittämissrajat, lineaarisuus sekä toistettavuus laboratorion käyttötarkoituksen vaatimissa rajoissa. Oikeellisuuden eli kahden menetelmän vertailun tuloksissa oli osittain suurempia eroja. Laboratorion käyttötarkoitukseen uusi menetelmä kuitenkin soveltuu kaikkien verifiointien parametrien osalta, ja menetelmä voidaan ottaa käyttöön.

Asiasanat: ICP-OES, verifiointi, vesianalyysi, veden kovuus

ABSTRACT

Tampereen ammattikorkeakoulu
Tampere University of Applied Sciences
Degree Programme in Laboratory Engineering

LAMMI TIIA:
Verification of an ICP-OES Method for Determining Water Hardness

Bachelor's thesis 49 pages, appendices 7 pages
May 2024

The thesis was made for the laboratory of Tampereen Vesi Oy. The aim of this thesis was to transfer the water hardness analysis to a new ICP-OES instrument, which was purchased at the end of last year to speed up analysis. Water hardness is the sum of calcium and magnesium contents, so the thesis focuses on ICP-OES results for calcium and magnesium.

The purpose of this thesis was to verify the new ICP-OES method on the instrument to make the method operational. The verification determined the method's limit of performance and quantification, linearity, reproducibility, and accuracy. The aim was to prove the accuracy by comparing the old EDTA titration method with the new method.

The thesis was successful in verifying the detection and quantification limits, linearity and reproducibility within the limits required by the laboratory's intended use. There were some differences in the results of the comparison of the two methods, but the new method is suitable for the laboratory's purpose for all the parameters to be verified and can be implemented.

Key words: ICP-OES, verification, water analysis, water hardness

SISÄLLYS

1	JOHDANTO	6
2	VEDEN KOVUUDEN TEORIA.....	7
	2.1 Veden kovuus	7
	2.2 Veden kovuuden vaikutus verkostossa	7
3	EDTA-TITRAUSMENETELMÄ	9
	3.1 Menetelmän periaate	9
	3.2 Laitteisto.....	10
4	ICP-OES-MENETELMÄ.....	11
	4.1 ICP-OES-tekniikka	11
	4.2 ICP-OES-laite.....	12
	4.2.1 Näytteen syöttöjärjestelmä	12
	4.2.2 Plasma	15
	4.2.3 Optiikka ja detektorit.....	16
5	VERIFIOINNIN TEORIA	18
	5.1 Verifiointi	18
	5.2 Toteamis- ja määrittäysraja.....	19
	5.3 Lineaarisuus.....	19
	5.4 Toistettavuus.....	20
	5.5 Oikeellisuus.....	21
6	TYÖN SUORITUS	23
	6.1 Verifioitava menetelmä.....	23
	6.2 Toteamis- ja määrittäysrajan verifiointi.....	24
	6.3 Lineaarisuuden verifiointi	25
	6.4 Toistettavuuden verifiointi	25
	6.5 Oikeellisuuden verifiointi	26
7	TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU	28
	7.1 Toteamis- ja määrittäysrajan tulokset.....	28
	7.2 Lineaarisuuden tulokset	29
	7.3 Toistettavuuden tulokset	33
	7.4 Oikeellisuuden tulokset	35
8	POHDINTA	38
	LÄHTEET.....	41
	LIITTEET	43
	Liite 1. Verifiointisuunnitelma	43
	Liite 2. Toistettavuuden tulokset	45
	Liite 3. Oikeellisuuden tulokset	47

Liite 4. ICP-OES kontrollit	49
-----------------------------------	----

1 JOHDANTO

Tämä opinnäytetyö tehtiin Tampereen Vesi Oy:lle Ruskon talousvesilaboratoriossa. Tampereen vesi toimittaa talousvettä Tampereelle ja lähikuntiin sekä puhdistaa jätevesiä. Pintaveden osuus on 74 % ja pohjaveden osuus on 26 % toimitetusta vedestä. Veden puhdistus tapahtuu neljällä eri pintavesilaitoksella sekä viidellä pohjavedenottamalla. Ruskon puhdasvesi- ja viemärilaboratoriossa tutkitaan tuhansia näytteitä vuodessa, jotta voidaan varmistaa hanaveden turvallisuus sekä jätevesien puhdistuksen tehokkuus. (Tampereen vesi n.d.)

Tampereen veden puhdasvesilaboratorioon on vuoden 2023 loppupuolella investoitu uusi ICP-OES-laite, jolle on tarkoitus siirtää useita menetelmiä veden laadun seuraamiseksi. Tämän opinnäytetyön tavoitteena oli siirtää veden kovuuden määrittäminen uudelle laitteelle. Veden kovuuden määrittämiseen on käytetty aikaisemmin EDTA-titrausmenetelmää, joka perustuu SFS 3003 -standardiin. Titraukseen on käytetty Mettler Toledon T5 -automaattista titraattoria. Uusi ICP-OES-menetelmä perustuu SFS EN ISO 11885 -standardiin, jonka myötä veden kovuuden määrittäminen yksinkertaistuu ja nopeutuu.

ICP-OES-menetelmä soveltuu liuenneiden alkuaineiden, hiukkasiin sitoutuneiden alkuaineiden ja alkuaineiden kokonaispitoisuuden määrittämiseksi pohja-, pinta-, raaka-, juoma- ja jätevesistä. Näiden alkuaineiden joukkoon kuuluu kalsium ja magnesium. (SFS-EN ISO 11885 2009, 1). Veden kovuus on vedessä olevien kalsium- ja magnesiumpitoisuuksien summa (Valvira 2024, 45).

Opinnäytetyön tarkoituksena oli verifioida uusi menetelmä ICP-OES-laitteelle veden kovuuden määrittämiseksi. Verifiointissa määritettiin toteamis- ja määritysrajat, lineaarisuus, toistettavuus sekä oikeellisuus. Menetelmän oikeellisuus määritettiin vertailemalla vanhaa ja uutta menetelmää analysoimalla samat näytteet kummallakin menetelmällä.

2 VEDEN KOVUUDEN TEORIA

2.1 Veden kovuus

Veden kovuuden aiheuttaa kationien, yleisimmin kalsiumin ja magnesiumin, yhdistyminen anionien kanssa. Tällaisia anioneja on esimerkiksi bikarbonaatti, karbonaatti, sulfaatti, nitraatti tai kloridi. Kalsiumin ja magnesiumin lisäksi veden kovuutta voi aiheuttaa strontium, alumiini, barium, rauta, mangaani ja sinkki, mutta niitä ei usein ilmene vedessä tarpeeksi suurina pitoisuuksina, jotta vaikuttaisivat kokonaiskovuuteen. (Pizzi 2010, 293.)

Veden kokonaiskovuus on kalsium- ja magnesiumsuolojen summa ja ilmaistaan usein saksalaisina kovuusasteina (°dH) tai millimoolleina (mmol/l). Konsentraatioon perustuvan kokonaiskovuuden vastaavuus saksalaisen kovuusasteen yksiköön on $5,61 \text{ °dH} = 1 \text{ mmol/l}$. Veden kovuudelle ei ole asetettu ylärajaa tai tarkkoja rajoja, mutta veden kovuus voidaan luokitella taulukon 1 mukaan. (SFS 3003 n.d., 5; Valvira 2024, 45.)

TAULUKKO 1. Veden kovuuden luokittelu (Tampereen vesi n.d., muokattu)

mmol/l	°dH	
< 0,38	< 2,1	Hyvin pehmeä
0,38–0,88	2,1–4,9	Pehmeä
0,88–1,77	4,9–9,8	Keskikova
1,77–3,8	9,8–21	Kova
> 3,8	> 21	Hyvin kova

2.2 Veden kovuuden vaikutus verkostossa

Veden kovuus on yksi syy kalkin saostumiseen putkistoon. Jos pH on korkea, kalkin saostuminen lisääntyy. Tästä syystä veden pH:n tulisi olla sitä pienempi mitä suurempi veden kovuus on. Langelierin kylläisyysindeksiä käytetään arvioimassa sopivaa pH:ta kovalle vedelle. (Suomen ympäristökeskus 2021, n.d.; Valvira 2024, 45.)

Liian pehmeä ja hapan vesi puolestaan aiheuttaa putkistoihin korroosiota eli syövyttää metallisia putkia sekä irrottaa putkista haitallisia aineita. Tämän vuoksi raakaveden usein lisätään kalsiumkarbonaattia, joka vähentää veden happamuutta ja lisää sen kovuutta. (Suomen ympäristökeskus 2021, n.d.; Valvira 2024, 45.)

3 EDTA-TITRAUSMENETELMÄ

3.1 Menetelmän periaate

Veden kovuuden määrittämiseen voidaan käyttää kompleksometrista titrausta, jossa EDTA (etyleenidiamiinitetraetikkahappo) -liuos muodostaa kalsiumin ja magnesiumin kanssa kompleksiyhdisteen. Indikaattorina käytetään eriokromimusta T:tä ja titraus suoritetaan pH-arvossa 10, jossa muodostuu viininpunainen yhdiste, kun indikaattori sitoo kalsiumin ja magnesiumin. Titraus on valmis indikaattorin vapautuessa, jolloin liuoksen väri muuttuu siniseksi. (SFS 3003 1987, 1.)

Titrauksen lopuksi tuloksista lasketaan kalsiumin ja magnesiumin summa eli veden kovuus yksikössä mmol/l (SFS 3003 1987, 3). Muuntokertoimen avulla voidaan laskea veden kovuus myös yksikössä °dH (Valvira 2024, 45). Kalsiumin ja magnesiumin summa lasketaan kaavalla 1,

$$x = \frac{1000 \cdot c \cdot V_1}{V} \quad (1)$$

jossa x on kalsiumin ja magnesiumin summa, c on EDTA-liuoksen konsentraatio, V_1 titraukseen kulunut EDTA-liuoksen määrä, V näytteen tilavuus ja 1000 muuntokerroin. (SFS 3003 1987, 3.)

Menetelmän mahdollisia häiriötekijöitä ovat muut metallit kuten rauta, mangaani, kupari, alumiini, lyijy, tina ja sinkki, jotka muodostavat myös kompleksiyhdisteen EDTA:n kanssa. Lisäksi näytteen voimakas väri ja sameus ovat määrittämisen häiriötekijöitä. (SFS 3003 1987, 1.)

3.2 Laitteisto

Kompleksometrinen titraus voidaan suorittaa standardin mukaisesti byretillä, mutta myös automaattisella titraattorilla, jolloin titrauksen päätepiste on helpompi havainnoida. Automaattinen titraattori lisää titranttia, pysähtyy titrauksen päätepisteeseen sekä laskee analyytin pitoisuuden automaattisesti. (Hanna Instruments n.d.)

Automaattiseen titraukseen on valittava oikeanlainen elektrodi, jotta värimuutos havaitaan. Usein käytetään optista anturia, joka on tarkka värimuutoksille. Optinen anturi muuttaa signaaliaan sen mukaan, kuinka paljon valoa valodetektoriin kohdistuu. (Kalkman 2020.)

4 ICP-OES-MENETELMÄ

4.1 ICP-OES-tekniikka

Lyhenne ICP-OES muodostuu sanoista inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy, ja on suomennettuna induktiivisesti kytketty plasma optinen emissiospektroskopia. ICP-OES mahdollistaa usean alkuaineen määrittymisen samanaikaisesti. Vuonna 1974 otettiin käyttöön ensimmäinen kaupallinen ICP-OES-laite, ja kyseistä tekniikkaa on käytetty siitä asti laajalti rutiinianalyysissä. (Trevizan & Nobrega 2007.) Näytteen analysoimiseksi ICP-OES:llä on ensin selvitettävä, voidaanko näyte aerosolisoida. Nestemäiset näytteet aerosolisoidaan sumuttimen avulla, mutta esimerkiksi kiinteät aineet vaativat esikäsitteilyä nestemäiseen muotoon esimerkiksi liuottamalla sopivaan liuottimeen. (Levine 2021.)

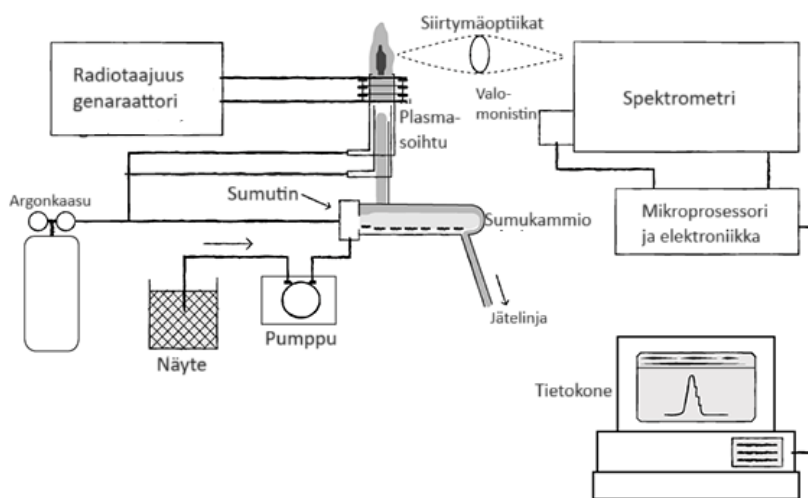
ICP-OES-tekniikka perustuu korkeaan lämpötilaan, jossa näytteet (yleensä nestemäisessä olomuodossa) analysoidaan johdattamalla ne argonvirtauksen mukana plasmasoihtuun (6000–10000 K). Soihdussa näytteestä haihtuu liuotin, itse näyte höyrystyy ja atomisoituu sekä osin ionisoituu. Kineettisen energiansa ansiosta atomit ja ionit virittyvät törmäysten kautta korkeassa lämpötilassa eli plasmassa. Plasman lämpötila määrittää atomien virittymisen eri energiatiloille; korkeammassa lämpötiloissa atomit ionisoituvat, kun taas alemmissa lämpötiloissa virittyvät lähellä perustilaa olevat energiatasot. Kun viritystila purkautuu, atomit ja ionit emittoivat tietylle alkuaineelle ominaista säteilyä, joka koostuu eri aallonpituuksista. (Jaarinen & Niiranen 2018, 83.)

Emittoituvien spektriviivojen aallonpituuksien perusteella näytteessä olevat alkuaineet voidaan tunnistaa optiikan ja detektorin avulla. Kvantitatiivinen analyysi perustuu alkuaineen emittoiman tietyn spektriviivan intensiteetin sekä tunnetun pitoisuuden samalla aallonpituudella emittoimaan intensiteetin vertaamiseen. (Jaarinen & Niiranen 2018, 83.)

4.2 ICP-OES-laite

Laitteisto koostuu näytteensyöttöjärjestelmästä (sumutinkammio, sumutin, soihtu, peristalttinen pumppu), plasmasta (RF-generaattori, kuormakela, plasma-televisio), optiikkajärjestelmästä sekä detektorista. (Thermo Scientific n.d., 2–3.)

Näyte kuljetetaan sumuttimeen peristalttisen pumpun avulla, jossa näyte aerosolisoidaan argonkaasun avulla. Sumuttimesta näyte kulkeutuu plamasoihtuun, jossa näyte atomisoituu ja osittain ionisoituu. Optiikkajärjestelmä tunnistaa ja kvantitoi näytteen emittoituvien spektriviivojen aallonpituuksien perusteella. Emittoituvien spektriviivojen intensiteetin sekä tunnetun pitoisuuden samalla aallonpituudella emittoiman intensiteetin vertailulla näyte pystytään kvantitoimaan. (Boss & Fredeen 2004, 3.2–3.8; Jaarinen & Niiranen 2018, 83.) Alla on esitetty tavallinen ICP-OES-prosessin periaate (kuvio 1).



KUVIO 1. ICP-OES-tekniikan periaate (Levine 2021, muokattu).

4.2.1 Näytteensyöttöjärjestelmä

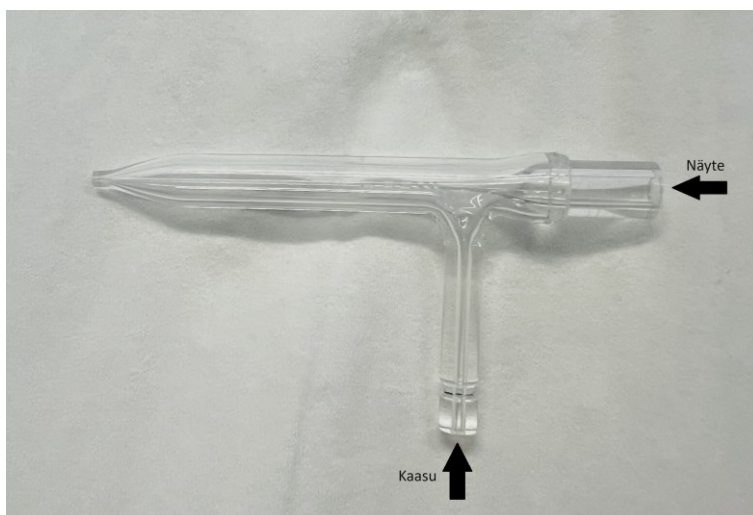
Peristalttinen pumppu (kuva 1) työntää näyteliuoksen putkiston läpi peristaltti-kaksi kutsutun prosessin avulla. Pumppu ei ole kosketuksissa liuoksen kanssa, vaan ainoastaan letkun kanssa, joka kuljettaa liuoksen näyteastiasta sumuttiin. Näin vältetään näyteliuoksen mahdollinen kontaminaatio, jota voi esiintyä

muun tyyppisissä pumpuissa. Peristalttisen pumpun letkut ovat ICP-järjestelmän ainoa osa, joka on yleensä vaihdettava usein, jotta laitteen suorituskyky ei heikkene ja näytevirta sumuttimeen pysyy tasaisena. (Boss & Fredeen 2004, 3.7–3.8.)



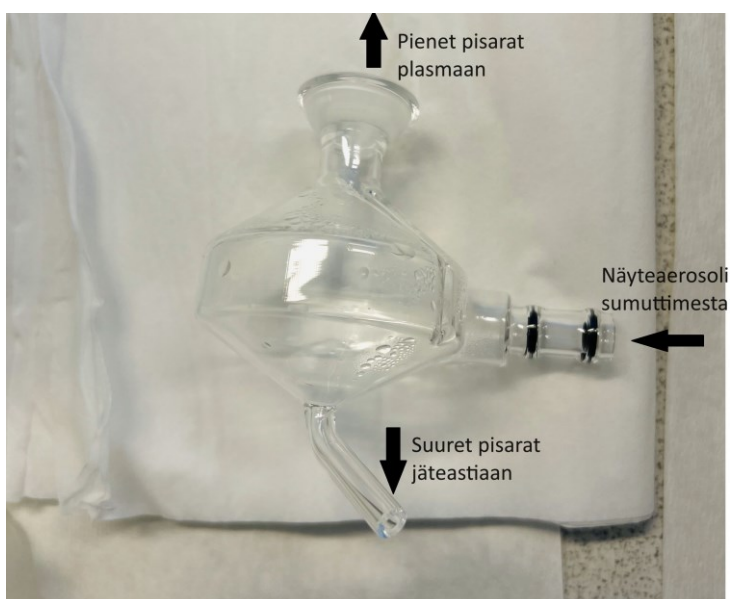
KUVA 1. Peristalttinen pumppu

Sumutin (kuva 2) muuttaa nesteen hienojakoiseksi aerosoliksi, joka kuljetetaan plasmaan. Tämä on yksi ICP-OES-prosessin kriittisistä vaiheista, sillä näytteen tulee olla sellaisessa muodossa, että plasma pystyy toistettavasti höyrystämään, atomisoimaan ja ionisoimaan näytteen. Useimmiten ICP-OES:ssä käytetään konzentrisia pneumaattisia sumuttimia, joissa hienojakoinen aerosoli muodostetaan nopeiden kaasuvirtauksien avulla siten, että näytevirta törmätessään kaasuun hajoaa pieniksi pisaroiksi. Pienten neste- ja kaasuaukkojen ansiosta voidaan saavuttaa erinomainen herkkyys ja staattisuus. (Boss & Fredeen 2004, 3.2–3.3.)



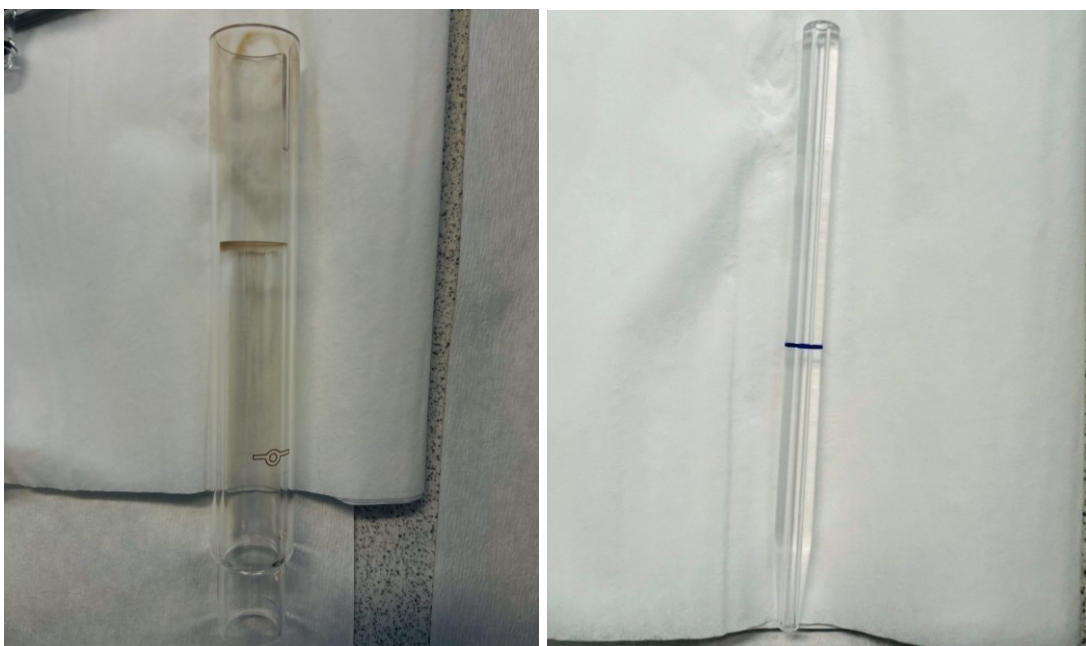
KUVA 2. Sumutin

Vain hyvin pienet pisarat aerosolista soveltuvat injektoitavaksi plasmaan, siksi sumuttimen ja soihdun välissä on sumutinkammio (kuva 3). Sumutinkammion ensisijaisena tehtävä on erotella suuret pisarat aerosolista pois ja toissijaisena tarkoituksena on tasoittaa niin kutsuttuja pulsseja, joita syntyy sumutuksen aikana liuoksen pumppaamisen vuoksi. Sumutinkammio päästää plasmaan halkaisijaltaan noin $10\ \mu\text{m}$:n tai sitä pienemmät pisarat plasmaan, jotka ovat 1–5 % näytteestä. Loput 95–99 % näytteestä valutetaan sumutinkammion jätetastiaan. (Boss & Fredeen 2004, 3.8.)



KUVA 3. Sumutinkammio

Soihdu koostuu kolmesta samankeskeisestä putkesta, jotka ovat argonvirtausta sekä aerosoli-injektiota varten. Kahden uloimman putken väli on kapea, jotta niiden väliin johdettava kaasu pääsee ulos suurella nopeudella ja tämä väli on suunniteltu siten, että kaasu kiertää kammion ympäri tangentiaalisesti ylöspäin edetessään samalla viilentäen soihdun seinämiä. Keskiputken kautta näyte ruiskutetaan plasmaan ja sen pään pienen halkaisijan vuoksi jopa sumutuksessa käytetty 1 l/min virtaus voi lävistää plasman. (Boss & Fredeen 2004, 3.13–3.14.) Soihdun osat esitetty kuvissa 4a ja 4b.

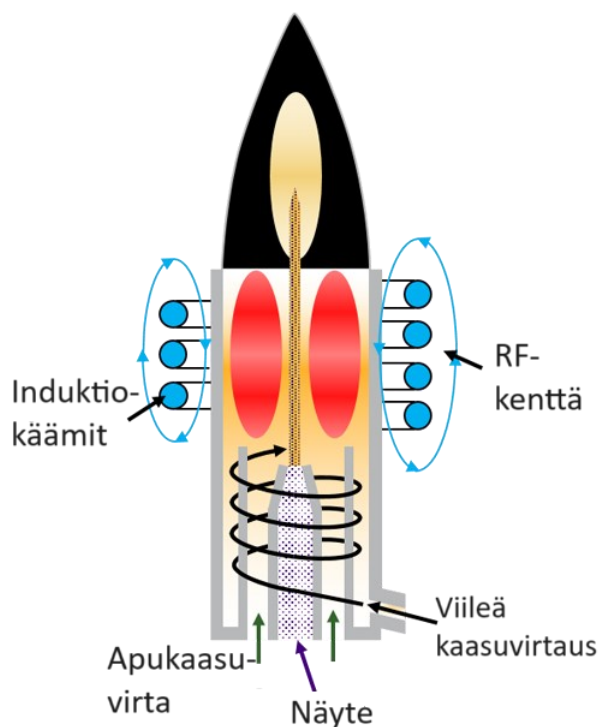


KUVA 4a. Soihdun uloimmat putket KUVA 4b. Soihdun keskiputki

4.2.2 Plasma

Plasman tuottamiseen ja ylläpitämiseen tarvitaan RF-generaattoria eli radiotaajuuksista generaattoria. Plasma, joka pystyy dissosioimaan täydellisesti lähes minkä tahansa näytematriisin, muodostetaan radiotaajuksisen magneettikentän avulla. RF-generaattori tuottaa virtaa, jonka teho on tyypillisesti 700–1500 wattia ja se siirretään plasmakaasuun soihdun yläosaa ympäröivän kuormakelan avulla. (Boss & Fredeen 2004, 3.16; Jaarinen & Niiranen 2018, 84; Thermo Fisher Scientific n.d.)

Plasman lämpötila on korkein (jopa 10 000 °C) käämien kohdalla, soihdun yläosassa. Plasman eri lämpötiloissa näytteessä tapahtuu erilaisia prosesseja sen mukaan, missä kohdassa näyte on soihdussa. Korkeammissa lämpötiloissa atomit ionisoituvat, kun taas alemmissa lämpötiloissa lähellä perustilaa olevat energiatasot virittyvät. (Boss & Fredeen 2004, 3.16; Jaarinen & Niiranen 2018, 84.) Plasman tuottaminen plasmasoihdussa on kuvattu kuviossa 2.

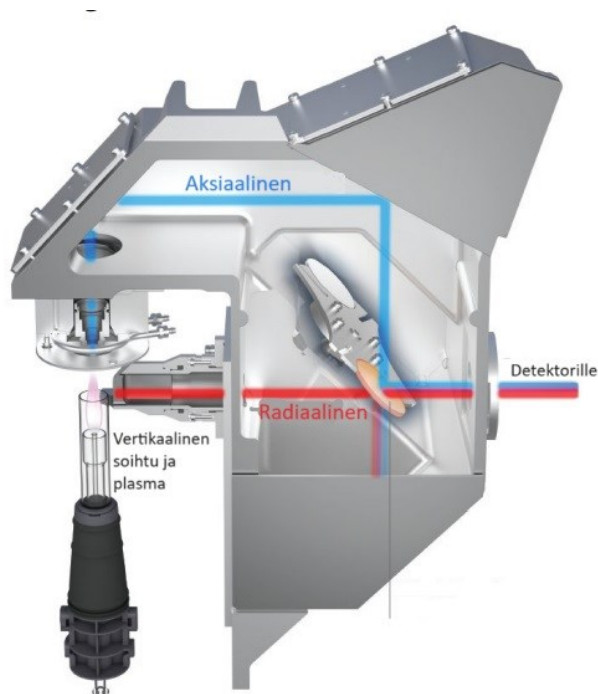


KUVIO 2. Plasman tuottaminen soihdussa (Thermo Fisher Scientific n.d., muokattu).

4.2.3 Optiikka ja detektorit

Optiikka käyttää aallonpituuden valitsemiseen polykromaattoria, jonka avulla pystytään mittaamaan samanaikaisesti useita aallonpituuksia. Emissiosäteily tunnistetaan joko vaakasuorasti (radiaalisesti) tai pystysuorasti (akσιαalisesti). Aksiaalisesti säteilyn tunnistaminen on herkempää kuin radiaalisesti, mutta matriisin aiheuttamien häiriöittenkin havaitseminen on herkempää aksiaalisesti. On olemassa myös laitteita, jotka mittaavat radiaalisen ja aksiaalisen yhtäaikaaisesti ku-

vion 3 mukaisesti. Tästä tekniikasta käytetään lyhennettä SVDV (Synchronous Vertical Dual View). (Agilent Technologies n.d., 2; Jaarinen & Niiranen 2018, 87; Boss & Fredeen 1999, 3.18.)



KUVIO 3. Aksiaalinen ja radiaalinen tekniikka (Agilent Technologies n.d., muokattu).

Optisten osien optiset akselit saatetaan samalle suoralle kollimoivan (puoliläpäisevän) peilin avulla, josta plasmalta tuleva emissiosäteily ohjataan echelle-hilalle. Echelle-hilan tarkoitus on hajottaa säteily eri aallonpituuksiksi. Korkeiden kertalukujen emissioviivoja hyödynnetään, kun säteily osuu hilauran lyhyempään reunaan. Prismän avulla nämä kertaluvut erotetaan toisistaan, jonka jälkeen peili ohjaa emissiosäteilyn detektorille. (Agilent Technologies n.d., 2; Jaarinen & Niiranen 2018, 87; Boss & Fredeen 2004, 3.18.)

ICP-OES:n detektoreina käytetään CTD (charge transfer devices) detektoreita, joita on kahta tyyppiä; CID (charge injection devices) ja CCD (charge coupled devices). Detektorit mittaavat emissiosäteilyn intensiteettiä, joka on suoraan verrannollinen alkuaineen pitoisuuteen. (Boss & Fredeen 2004, 3.22; Thermo Fisher Scientific n.d.)

5 VERIFIOINNIN TEORIA

5.1 Verifiointi

Verifiointi on tarpeen tehdä silloin, kun laboratoriossa otetaan käyttöön standardisoitu menetelmä, joka on validoitu aikaisemmin. Laboratorion on verifiointissa vahvistettava, että se pystyy käyttämään standardimenetelmää haluttuun käyttötarkoitukseen. Verifiointia vaaditaan myös esimerkiksi silloin, kun laboratoriossa uusitaan laite, päivitetään uusi ohjelmisto tai laadunvalvonta osoittaa, että vakiintuneen menetelmän suorituskyky on heikentynyt. (Magnusson & Örnemark 2014, 11.)

Verifiointi, jota voidaan myös joissain tapauksissa sanoa uudelleenvalidoinniksi, on siis pienimuotoisempi ja suppeampi kuin validointi. Verifiointia ja validointia termeinä käytetään monesti ristiin, koska niiden ero on usein epäselvä. Epäselvän asiasta tekee verifiointin samanlaiset toimintatavat validoinnin kanssa. Validoinnilla tuotetaan parametreja, jotka kuvaavat menetelmän luotettavuutta. Parametrit sekä validoinnin tai verifiointin laajuus valitaan tapauskohtaisesti, sillä vaatimukset vaihtelevat menetelmän ja sen käyttötarkoituksen mukaan. (Hägg 2016, 7–8.)

Ennen verifiointin aloittamista täytyy laatia suunnitelma, joka hyväksytään ennen työn aloittamista. Suunnitelmaan sisällytetään esimerkiksi verifiointin kohde ja tavoite, näyteaineisto, aikataulu, laitteet sekä verifiointin laajuus ja määritettävät parametrit. Muutokset ja lisäykset työn edetessä ovat mahdollisia, mutta ne on kuitenkin dokumentoitava. Hyvällä suunnitelmalla voidaan yhdellä järjestelyllä määrittää useita parametreja ja niille myös annetaan mahdollisuuksien mukaan tulosvaatimukset esimerkiksi viranomaisvaatimusten mukaisia määräyksiä tai laboratorion itse määrittämiä vaatimuksia. Tehtäviä verifiointiparametreja voi esimerkiksi olla määritys- ja toteamisraja, lineaarisuus, mittausalue, toistettavuus, oikeellisuus, selektiivisyys sekä mittausepävarmuus. (Hägg 2016, 9–14.)

5.2 Toteamis- ja määritysraja

Toteamisraja kertoo määritettävän komponentin pienimmän pitoisuuden, joka voidaan luotettavasti määrittää menetelmällä eroten kuitenkin nollanäytteen arvosta huomattavasti. Toteamisrajan määrittäminen perustuu taustan hajonnan tutkimiseen, ja rajan täytyykin olla tarpeeksi suuri, jotta määritetyn arvon ei voida katsoa johtuvan taustan satunnaisvaihtelusta. (Ehder 2005, 29–30.)

Toteamisrajaa määritettäessä, olisi hyvä mitata ainakin 10 rinnakkaismäärittystä nollanäytteistä, josta voidaan laskea keskiarvo x_0 ja keskihajonta s_0 . Toteamisraja voidaan laskea kaavalla 2. (Ehder 2005, 29–30.)

$$LOD = x_0 + 3 \cdot s_0 \quad (2)$$

Määritysraja eli kvantitointiraja kertoo määritettävän komponentin pienimmän pitoisuuden, joka voidaan luotettavasti määrittää näytteestä hyväksytyllä tarkkuudella. Yleensä voidaan katsoa standardisuoran pienimmän pitoisuuden olevan määritysraja, mutta on otettava kuitenkin huomioon toistettavuuden ja oikeellisuuden pysyminen rajoissa. (Ehder 2005, 30.)

Määritysrajan määrittämiseksi käytetään toteamisrajan määrittämisen mukaisesti myös nollanäytteiden mittaustuloksista laskettua keskiarvoa x_0 sekä keskihajontaa s_0 . Määritysraja lasketaan kaavan 3 mukaisesti, mutta kertoimen 10 tilalla voidaan käyttää myös kerrointa 5 tai 6 tilanteen mukaan. (Mäkinen ym. 1996, 30.)

$$LOQ = x_0 + 10 \cdot s_0 \quad (3)$$

5.3 Lineaarisuus

Lineaarisuuden avulla tutkitaan analyttisen menetelmän kykyä antaa tietyllä mitausalueella hyväksyttävä lineaarinen korrelaatio tulosten ja tutkittavan aineen

pitoisuuksien välille. Yleensä analyttisessä kemiassa menetelmän mittausalueena on nimenomaan lineaarinen mittausalue, vaikka mittausalue on yleensä laajempi kuin lineaarinen alue. (Ehder 2005, 28–29.) Lineaarisen alueen pienimpänä pitoisuutena on luotettava määräysraja, jonka menetelmä saavuttaa (Hägg 2016, 23).

Menetelmän lineaarisuus määritetään vähintään viidellä eripitoisella standardilla, jotka kattavat koko mittausalueen. Jokaisesta standardista tehdään ainakin kolme rinnakkaista, jotka määritetään. Standardien tuloksista laaditaan kalibrointisuora käyttäen pienimmän neliösumman menetelmää eli laaditaan regressioanalyysi, jonka avulla määritetään suoralle korrelaatiokerroin r . Korrelaatiokerroin kuvaa sovituksen hyvyyttä. Selitysasteen r^2 tulisi olla mahdollisimman lähellä lukua 1, jotta menetelmä olisi lineaarinen. (Hägg 2016, 23; Jaarinen & Niiranen 2018, 25.)

Lineaarisuutta arvioidaan myös tarkastelemalla residuaaleja, jotka ovat mitatun arvon ja regressiosuoran avulla lasketun arvon ero. Residuaaleista piirretään kuvaaja x :n funktiona. Jos residuaalit jakautuvat nollan molemmin puolin tasaisesti, eikä muodosta mitään selkeää käyrää, suora on lineaarinen. Residuaalien muodostaessa selkeän käyrän, kannattaisi esimerkiksi suoran sovituksessa käyttää toisen asteen yhtälöä, pienentää tutkittavaa pitoisuusaluetta tai korvata vaste logaritmisella asteikolla. (Hägg 2016, 23; Mäkinen ym. 1996, 18.)

5.4 Toistettavuus

Toistettavuus ilmaisee täsmällisyyden, joka menetelmälle saavutetaan samoissa mittausolosuhteissa. Tällöin mittauksissa tulisi olla samat tekijät, laitteet, reagenssit ja lämpötilat. Toistettavuus määritetään mittaamalla useita rinnakkaisnäytteitä eri näytteistä lyhyellä aikavälillä. Onnistuneissa mittauksissa näytesarjojen sisäinen vaihtelu on pienempää kuin näytesarjojen välinen vaihtelu. (Ehder 2005, 37.)

Toistettavuutta kuvataan usein suhteellisen keskihajonnan (RSD) avulla, joka ilmoitetaan prosentteina. RSD tunnetaan usein myös variaatiokertoimena CV, ja

voidaan laskea kaavalla 4, jossa s on mittaustulosten keskihajonta ja x on tulosten keskiarvo. (Ellison & Williams 2012, 54, 100.)

$$RSD = \frac{s}{x} \cdot 100\% \quad (4)$$

5.5 Oikeellisuus

Oikeellisuus kuvastaa menetelmästä saatujen tulosten keskiarvon yhtäpitävyyttä mitattavan suureen tosiarvon kanssa. Oikeellisuus määritetään käytännössä vertaamalla menetelmällä saatuja tuloksia tiettyyn referenssiarvoon, joka on saatu toisen tunnetun menetelmän avulla tai tunnetusta vertailumateriaalista. (Ehder 2005, 35.) Myös vertaamalla menetelmää yleisesti hyväksytyyn vertailumenetelmään, voidaan arvioida validoitavan menetelmän oikeellisuutta (Hägg 2016, 27).

Uutta menetelmää voidaan verrata vanhaan menetelmään esimerkiksi tilanteessa, jossa uuden menetelmän validointiin ei ole saatavilla sopivia vertailumateriaaleja. Kahden menetelmän vertailussa voidaan käyttää useita koejärjestytyitä ja tilastollisia testejä. Tilastollisista testeistä yksi on t-testi. (Mäkinen ym. 1996, 61–62.)

Kun kahta eri menetelmää verrataan t-testillä, täytyy saatujen tulosten lukumäärä olla yhtä suuri. Kummallakin menetelmällä saaduista tuloksista (tulosparien lukumäärä n) lasketaan tulosparien x_1 ja x_2 erotusten d_i keskiarvo \bar{d} kaavalla 5 ja varianssi s_d^2 kaavalla 6. (Mäkinen ym. 1996, 63.)

$$\bar{d} = \frac{\sum d_i}{n} \quad (5)$$

$$s_d^2 = \frac{\sum d_i^2 - (\sum d_i)^2 / n}{n - 1} \quad (6)$$

Kun tutkitaan, onko molemmilla menetelmillä saadut tulokset yhtä suuria vai eroavatko ne tilastollisesti keskenään, tehdään se t-testillä. T-testin kaava esitetty alla (kaava 7). (Mäkinen ym. 1996, 63.)

$$t = \frac{\bar{d}}{\sqrt{s_d^2/n}} = \frac{\bar{d}\sqrt{n}}{s_d} \quad (7)$$

T-testistä saatua arvoa verrataan taulukosta 2 saatuun teoreettiseen $t_{(n-1)}$ -arvoon (5 % merkitsevyystasolla). Saatua arvoa täytyy olla teoreettista arvoa pienempi, jotta menetelmillä ei katsota olevan eroa 5 % merkitsevyystasolla. (Mäkinen ym. 1996, 64.)

TAULUKKO 2. T-testin teoreettiset t-arvot (Mäkinen ym. 1996, 80, muokattu)

	2-suuntainen testi merkitsevyystasolla		
	5 %	1 %	0.1 %
40	2,021	2,704	3,551
41	2,020	2,701	3,544
42	2,018	2,698	3,538
43	2,017	2,695	3,532
44	2,015	2,692	3,526
45	2,014	2,690	3,520
46	2,013	2,687	3,515
47	2,012	2,685	3,510
48	2,011	2,682	3,505
49	2,010	2,680	3,500

6 TYÖN SUORITUS

6.1 Verifioitava menetelmä

Menetelmä perustuu SFS-EN ISO 11885 standardiin. Näytteinä toimi talousvesinäytteet, joista mitattiin kalsium- ja magnesiumpitoisuudet. Näytteet esikäsiteltiin lisäämällä 1 ml väkevää typpihappoa 50 ml:aan näytettä. Lisäksi valmistettiin nollanäytteet, standardit ja kontrolliliuokset, joiden tiedot ovat taulukossa 3. Nollanäytteenä toimi 2 % typpihappoliuos, ja kaikki liuokset tehtiin tähän.

TAULUKKO 3. Käytetyt standardit, kontrollit ja nollanäytteet

Liuos	Kalsium mg/l	Magnesium mg/l
STD 1	0,5	0,2
STD 3	25	10
STD 5	50	20
QC	0,5	0,5
nolla	0	0

Standardien ja kontrollien valmistamiseen käytetyt liuokset löytyvät taulukosta 4.

TAULUKKO 4. Liuoksien valmistamiseen käytetyt liuokset

Liuoksen nimi	Kalsium mg/l	Magnesium mg/l	Valmistaja
Calcium 1000 ppm element reference solution	1000	0	Romil pure chemistry
Magnesium 1000 ppm element reference solution	0	1000	Romil pure chemistry

Laitteena työssä käytettiin Thermo Scientificin iCAP PRO ICP-OES:ää (kuva 5), jolla mitattiin kalsiumia aallonpituudella 317,933 nm sekä magnesiumia aallonpituudella 279,553 nm. Kumpaankin alkuaineeseen käytettiin radiaalista mittaus tekniikkaa. Automaattisena näytteesyöttäjänä käytettiin Thermo Scientificin iSC-65 autosampleria.



KUVA 5. ICP-OES-laite

ICP-OES-laitteella käytetyt parametrit kalsium- ja magnesiumpitoisuuksien mittaamiseen on esitetty taulukossa 5.

TAULUKKO 5. Käytetyt parametrit

Sumuttimen kaasuvirta	0,50 l/min
Apukaasuvirta	0,50 l/min
Viilentävä kaasuvirta	12,5 l/min
RF:n teho	1150 W
Pumpun nopeus	45 rpm
Radiaalinen katselukorkeus	10,0 mm

6.2 Toteamis- ja määrittysrajan verifiointi

Toteamis- ja määrittysrajan määrittämistä varten ICP-OES-laitteella mitattiin verifiointisuunnitelman (liite 1) mukaisesti kymmenen toistoa nollanäytteestä. Nollanäytteenä toimi liuos, joka oli 2 % typpihappoa. Nollanäytteiden tuloksista laskettiin keskiarvo, keskihajonta sekä toteamis- ja määrittysraja.

6.3 Lineaarisuuden verifiointi

Lineaarisuuden mittauksia varten tehtiin kaksi standardia lisää taulukossa 3 esitettyjen standardien lisäksi, jotta saatiin mittausalueelle useampi piste luotettavuuden vuoksi. Mittausalue on kummallekin alkuaineelle päätetty laboratorion tarpeisiin. Verifiointisuunnitelman (liite 1) mukaisesti viisi standardia mitattiin viisi kertaa ICP-OES-laitteella. Standardien valmistus on esitetty taulukossa 6, jossa pipetointimääräsarakeessa standardi 5:n kohdalla näkyy, kuinka paljon kumpaakin alkuainetta pipetoidaan niiden kantaliuoksista (taulukko 4). Pienemmät standardit pipetoidaan standardi 5:sta, jossa on jo kumpaakin alkuainetta.

TAULUKKO 6. Standardien valmistaminen

	pitoisuus (mg/l)		mitä pipetoidaan?	pipetointimäärä (ml)		Mittapullo
	Ca	Mg		Ca	Mg	
STD 5	50	20	1000 mg/l kantaliuoksia (taulukko 4)	50	20	1000 ml:ksi nollalla
STD 4	37,5	15	std 5	75		100 ml:ksi nollalla
STD 3	25	10	std 5	100		200 ml:ksi nollalla
STD 2	12,5	5	std 5	25		100 ml:ksi nollalla
STD 1	0,5	0,2	std 5	2,5		250 ml:ksi nollalla

Tuloksista muodostettiin lineaarisuus- ja regressiokuvaajat Excelin avulla.

6.4 Toistettavuuden verifiointi

Toistettavuuden verifiointi suoritettiin kuudella vesinäytteellä, joissa mukana oli raakavetenä pintavettä, puhdistettua vettä sekä verkostovesinäytteitä. Kaikki kuusi näytettä mitattiin rinnakkaisina neljänä päivänä peräkkäin ICP-OES-lait-

teella. Mittausolosuhteet pyrittiin pitämään mahdollisimman samoina sekä mitausjärjestys pysyi samana joka päivänä. Tuloksista laskettiin sekä näytesarjojen sisäinen että sarjojen välinen vaihtelu. Lisäksi laskettiin suhteellinen keskihajonta RSD.

6.5 Oikeellisuuden verifiointi

Oikeellisuuden verifiointissa mitattiin viiden viikon ajan laboratorioon tulleista näytteistä veden kovuus vanhalla EDTA-titrausmenetelmällä sekä ICP-OES-menetelmällä. Näytteisiin lukeutui talousvettä, raakavettä (pintavettä) sekä verkostovesinäytteitä.

EDTA-titrausmenetelmässä laitteena käytettiin Mettler Toledo T5 -titraattoria, jossa on liitettyä Mettler Toledon InMotion Flex autosampleri (kuva 6). Jokaista mittauskertaa varten valmistettiin kontrolliliuos (0,329 mmol/l; 1,85 °dH). Näytteitä ja kontrolliliuoksia mitattiin 50 ml astioihin, jotka asetettiin autosampleriin. Ennen titrauksen aloittamista kahteen ensimmäiseen näytteeseen lisättiin 1 ml indikaattoria (eriokromimusta T) ja 10 ml 5 % ammoniakkiliuosta, jotta titrattavan näytteen pH olisi 10. Titrauksen edetessä kyseiset liuokset lisättiin näytteeseen vasta juuri ennen titrausta, jottei haihtumista tapahdu.



KUVA 6. Mettler Toledo T5 -titraattori

ICP-OES-menetelmällä näytteet mitattiin samalla tavalla ja samoilla laitteen asetuksilla kuin muissakin verifioitavissa parametreissa. Tuloksista laskettiin kahden menetelmän prosentuaalinen ero sekä verrattiin menetelmiä t-testin avulla.

7 TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELO

7.1 Toteamis- ja määrittäysrajan tulokset

Toteamis- ja määrittäysrajan laskemista varten kymmenen nollanäytteen pitoisuudet taulukoitiin ja niistä laskettiin keskiarvo ja keskihajonta Excelin avulla (taulukko 7).

TAULUKKO 7. Nollanäytteiden pitoisuudet, keskiarvot ja keskihajonnat

Nolla	Ca 317,933 nm (mg/l)	Mg 279,553 nm (mg/l)
1	0,00387	0,00020
2	0,00128	0,00015
3	0,00230	-0,00010
4	0,00210	-0,00003
5	0,00234	-0,00007
6	0,00245	-0,00008
7	0,00190	-0,00005
8	0,00185	-0,00011
9	0,00278	-0,00009
10	0,00264	-0,00010
Keskiarvo x_0	0,002349923	-0,000028235
Keskihajonta s_0	0,000686405	0,000110399

Laskettujen keskiarvojen ja keskihajonnan avulla laskettiin kalsiumille ja magnesiumille toteamisrajat kaavan 2 mukaisesti. Alla esimerkkinä kalsiumin aallonpituudelle laskettu toteamisraja.

$$\text{LOD} = 0,002349923 \frac{\text{mg}}{\text{l}} + 3 \cdot 0,000686405 \frac{\text{mg}}{\text{l}} = 0,004409 \frac{\text{mg}}{\text{l}} \approx 0,004 \frac{\text{mg}}{\text{l}}$$

Laskettujen keskiarvojen ja keskihajonnan avulla laskettiin molemmille alkuaineille myös määrittärajat kaavan 3 mukaisesti. Alla esimerkkinä kalsiumin aallonpituudelle laskettu määrittäraja.

$$LOQ = 0,002349923 \frac{\text{mg}}{\text{l}} + 10 \cdot 0,000686405 \frac{\text{mg}}{\text{l}} = 0,00921 \frac{\text{mg}}{\text{l}} \approx 0,009 \frac{\text{mg}}{\text{l}}$$

Lasketut toteamis- ja määrittärajat kalsiumille ja magnesiumille on esitetty taulukossa 8.

TAULUKKO 8. Toteamis- ja määrittärajat

	Kalsium 317,933 nm	Magnesium 279,553 nm
Toteamisraja <i>LOD</i>	0,004 mg/l	0,0003 mg/l
Määrittäraja <i>LOQ</i>	0,009 mg/l	0,001 mg/l

Saadut toteamis- ja määrittärajat ovat molemmille alkuaineille tarpeeksi matalia, sillä laboratorio analysoi vain talousveden tuotantoprosessiin liittyviä näytteitä, jonka vuoksi laboratoriossa on päätetty tavoitella mittausaluetta kalsiumille 0,5–50 mg/l ja magnesiumille 0,2–20 mg/l.

7.2 Lineaarisuuden tulokset

Lineaarisuuden mittauksista saadut tulokset on taulukoitu (taulukko 9) ja tuloksista muodostettiin molemmille alkuaineelle lineaarisuus- ja regressiokuvaajat Excelin avulla.

TAULUKKO 9. Linearisuuden mittaustulokset

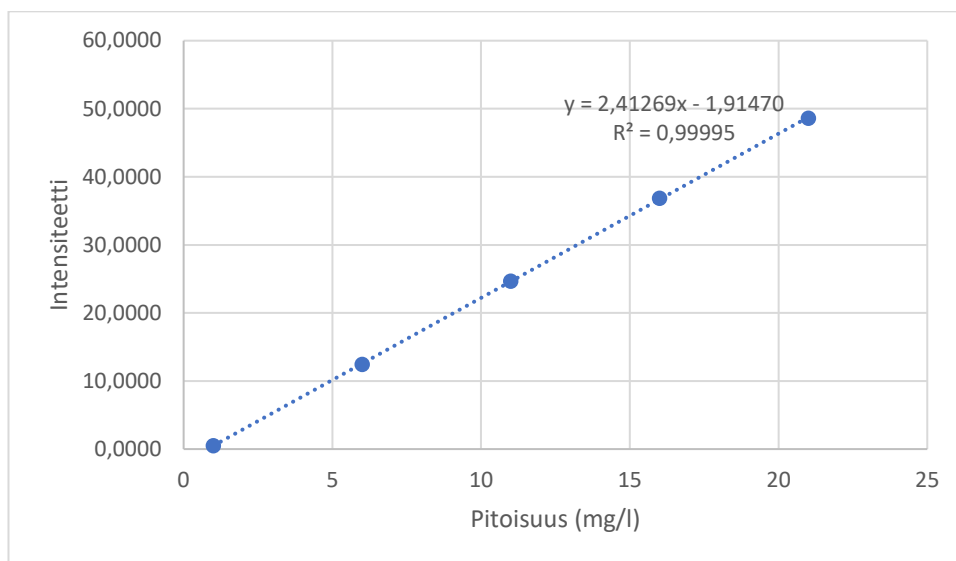
STD	Ca (mg/l)	Mg (mg/l)
1	0,5094	0,2058
1	0,5078	0,2054
1	0,5088	0,2045
1	0,5090	0,2048
1	0,5050	0,2031
2	12,4842	4,9837
2	12,4529	4,9587
2	12,4378	4,9632
2	12,4797	4,9403
2	12,4010	4,9315
3	24,6540	9,8291
3	24,6839	9,8058
3	24,7815	9,8400
3	24,7201	9,8094
3	24,5603	9,7616
4	37,0254	14,7240
4	36,9331	14,6698
4	36,6789	14,5866
4	36,8532	14,6357
4	36,8539	14,6694
5	48,4016	19,2890
5	48,7763	19,4897
5	48,7784	19,5629
5	48,3583	19,3684
5	48,7667	19,4861

Saaduista tuloksista sovitettiin suorat molemmille alkuaineille Excel-ohjelmalla sekä laadittiin regressioanalyysi, jolla saatiin jokaiselle suoralle ja mittaukselle korrelaatiokerroin r sekä selitysaste r^2 (taulukko 10). Myös residuaalit piirrettiin regressioanalyysin avulla.

TAULUKKO 10. Korrelaatiokerroimet ja selitysasteet

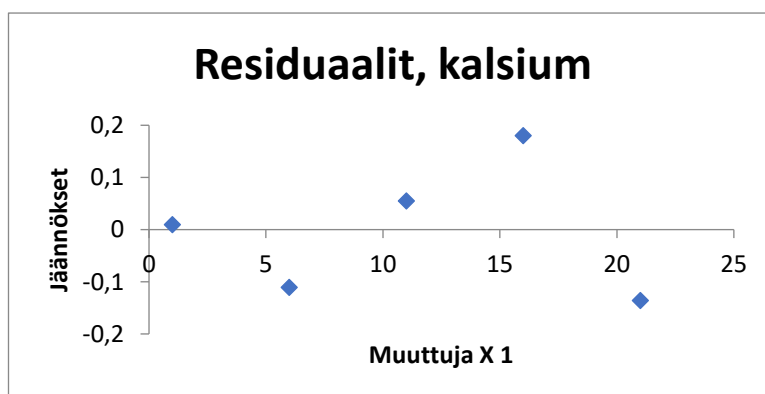
Alkuaine	Korrelaatiokerroin r	Selitysaste r^2
Kalsium	0,99998	0,99995
Magnesium	0,99999	0,99999

Kalsiumin lineaarisuussuora näkyy kuviossa 4, jossa suora on muodostettu mitattujen standardien tuloksista.



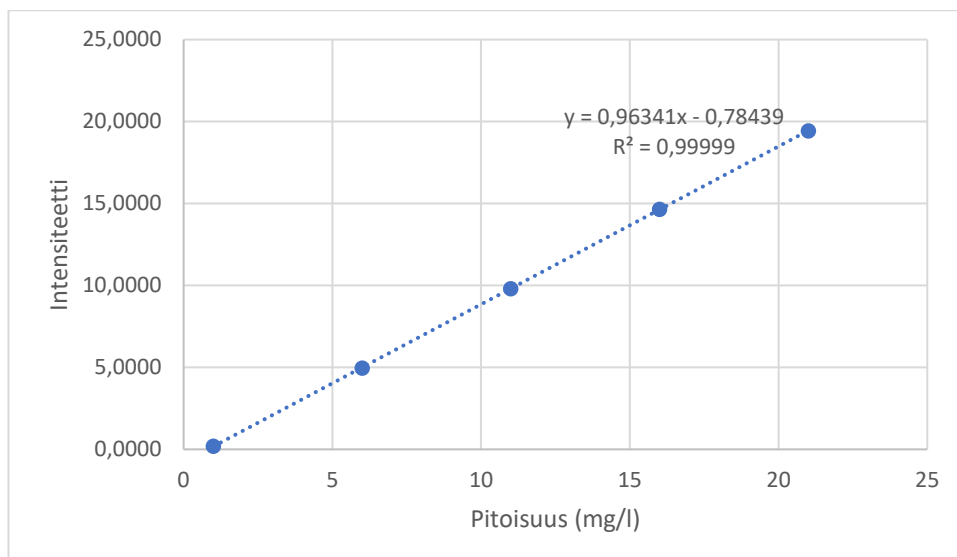
KUVIO 4. Kalsiumin lineaarisuussuora

Kuviossa 5 on kalsiumin suoran residuaalikuvaaja, joka muodostettiin regressioanalyysin avulla.



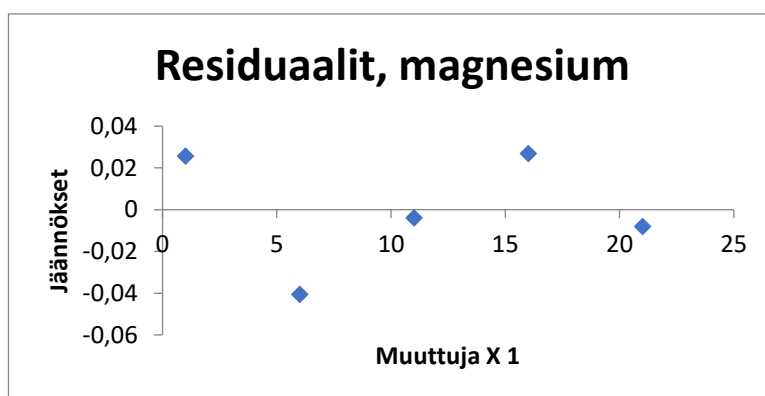
KUVIO 5. Kalsiumin residuaalikuvaaja

Magnesiumin lineaarisuussuora on esitetty kuviossa 6, jossa suora on muodostettu taulukon 9 tuloksista.



KUVIO 6. Magnesiumin lineaarisuussuora

Magnesiumin residuaalikuvaaja (kuvio 7) muodostettiin käyttäen Excelin regressioanalyysia.



KUVIO 7. Magnesiumin residuaalikuvaaja

Laaditun regressioanalyysin perusteella menetelmää voidaan kuvata lineaarisiksi kummankin alkuaineen kohdalla, koska sekä kalsiumille että magnesiumille korrelaatiokerroin ja selitysaste ovat todella lähellä lukua 1 (Hägg 2016, 23; Jaarinen & Niiranen 2018, 25).

Tarkasteltaessa myös residuaalikuvaajia voidaan menetelmän todeta olevan lineaarinen sekä kalsiumille että magnesiumille, sillä residuaalit ovat jakautuneet x-akselin molemmin puolin tasaisesti, eikä muodosta mitään selkeää käyrää (Hägg 2016, 23; Mäkinen ym. 1996, 18).

7.3 Toistettavuuden tulokset

Toistettavuuden mittauksista saadut tulokset ovat nähtävillä liitteessä 2. ICP-OES-laite mittaa intensiteetin, josta se laskee pitoisuudet yksikössä mg/l. Kovuuden laskukaava on syötetty laitteiston ohjelmaan, joten tulokset saadaan myös yksikössä mmol/l. Näytteiden kovuus laskettiin myös saksalaisina kovuusasteina (°dH) Excelillä muuntokertoimen avulla. Tulokset saatiin laskettua yksikössä mmol/l seuraavanlaisesti

$$kovuus = 0,02495 \cdot Ca \left(\frac{\text{mg}}{\text{l}} \right) + 0,04114 \cdot Mg \left(\frac{\text{mg}}{\text{l}} \right)$$

Kertoimet kummallekin alkuaineelle saatiin molekyylipainojen avulla. Kalsiumin kerroin laskettiin seuraavanlaisesti

$$\frac{1 \frac{\text{mg}}{\text{l}}}{40,078 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} \approx 0,02495 \frac{\text{mmol}}{\text{l}}$$

Magnesiumin kerroin taas puolestaan laskettiin seuraavanlaisesti käyttäen myös molekyylipainoa

$$\frac{1 \frac{\text{mg}}{\text{l}}}{24,305 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} \approx 0,04114 \frac{\text{mmol}}{\text{l}}$$

Tuloksista laskettiin jokaiselle näytteelle Excelissä mittauksien sisäinen ja välinen keskihajonta. Mittauksien sisäinen keskiarvo ja -hajonta laskettiin näytteen rinnakkaisista tuloksista ja mittauksien välinen keskiarvo ja -hajonta laskettiin kaikkien saman näytteen tuloksista. Suhteellinen keskihajonta laskettiin kaavan 4 mukaisesti, alla esimerkkinä ensimmäisen näytteen suhteellisen keskihajonnan laskeminen.

$$RSD = \frac{0,00497}{0,895} \cdot 100 \% \approx 0,555 \%$$

Kaikki toistettavuuden mittauksista lasketut tulokset on taulukoitu (taulukko 11).

TAULUKKO 11. Keskihajonnat ja suhteelliset keskihajonnat

Näyte	Mittauskerta	keskiarvo x	keskihajonta s	RSD (%)
1	1. mittauksen sisäinen	0,886	0,00212	0,5602
	2. mittauksen sisäinen	0,892	0,00354	
	3. mittauksen sisäinen	0,889	0,00495	
	4. mittauksen sisäinen	0,883	0,00707	
	Mittauksien välinen	0,887	0,00497	
2	1. mittauksen sisäinen	0,676	0,00141	0,9402
	2. mittauksen sisäinen	0,685	0,00636	
	3. mittauksen sisäinen	0,688	0,00071	
	4. mittauksen sisäinen	0,676	0,00495	
	Mittauksien välinen	0,681	0,00640	
3	1. mittauksen sisäinen	0,147	0,00000	1,1258
	2. mittauksen sisäinen	0,150	0,00000	
	3. mittauksen sisäinen	0,150	0,00071	
	4. mittauksen sisäinen	0,147	0,00071	
	Mittauksien välinen	0,148	0,00167	
4	1. mittauksen sisäinen	0,147	0,00000	1,2511
	2. mittauksen sisäinen	0,151	0,00071	
	3. mittauksen sisäinen	0,149	0,00071	
	4. mittauksen sisäinen	0,146	0,00000	
	Mittauksien välinen	0,148	0,00185	
5	1. mittauksen sisäinen	0,153	0,00000	1,1944
	2. mittauksen sisäinen	0,157	0,00071	
	3. mittauksen sisäinen	0,156	0,00141	
	4. mittauksen sisäinen	0,153	0,00000	
	Mittauksien välinen	0,155	0,00185	
6	1. mittauksen sisäinen	0,689	0,00495	1,4224
	2. mittauksen sisäinen	0,708	0,00071	
	3. mittauksen sisäinen	0,694	0,00000	
	4. mittauksen sisäinen	0,684	0,00212	
	Mittauksien välinen	0,689	0,00980	

Tuloksista huomataan, että melkein kaikkien näytteiden kohdalla mittauksien välinen keskihajonta on suurempaa kuin mittauksien sisäinen keskihajonta. Ainoastaan ensimmäisen näytteen kohdalla neljännessä mittauksessa sisäinen keskihajonta on suurempi verrattessa sitä mittauksien väliseen keskihajontaan. Jotta menetelmä on toistettava, sisäisen vaihtelun on oltava pienempää kuin mittauksien välinen vaihtelu (Ehder 2005, 37).

Kaikkien näytteiden kohdalla suhteellinen keskihajonta RSD on <2 %. Tärkeimpien analyyttien osalta RSD:n olisi hyvä olla ≤ 2 % (Nagar 2021,8). Tämän perusteella käytetty menetelmä on toistettava.

7.4 Oikeellisuuden tulokset

Kaikki oikeellisuuden mittauksissa saadut tulokset (liite 3) taulukoitiin sekä laskettiin Excelillä eroprocentti kovuuden yksikön mmol/l suhteen, vaikka tuloksissa on nähtävillä myös veden kovuus yksikössä °dH. Kovuuden arvot laskettiin ICP-OES-tuloksista samalla tavalla kuin kappaleessa 7.3. Tuloksia verrattiin myös t-testin avulla (taulukko 12). T-testin laskut suoritettiin Excelissä, käyttäen kaavoja 5, 6 ja 7. Alla on esitetty, kuinka t-arvo laskettiin käyttäen kaavaa 7.

$$t = \frac{0,014 \dots}{\sqrt{\frac{0,000226 \dots}{45}}} = 6,191 \dots$$

TAULUKKO 12. t-testin tulokset

	Näyte	x ₁ (EDTA tulos mmol/l)	x ₂ (ICP-OES tulos mmol/l)	d _i =x ₁ -x ₂	d _i ²
Vko 10	1	0,315	0,335	0,020	0,000400
	2	0,837	0,902	0,065	0,004277
	3	0,657	0,691	0,034	0,001156
	4	0,134	0,152	0,018	0,000324
	5	0,140	0,150	0,010	0,000100
	6	0,145	0,155	0,010	0,000100
	7	0,135	0,146	0,011	0,000121
	8	0,122	0,137	0,015	0,000225

	Näyte	x ₁ (EDTA tulos mmol/l)	x ₂ (ICP-OES tulos mmol/l)	d _i =x ₁ -x ₂	d _i ²
	9	0,665	0,699	0,034	0,001156
	10	0,570	0,610	0,040	0,001600
	11	0,193	0,207	0,014	0,000196
	12	0,740	0,792	0,052	0,002704
Vko 11	1	0,630	0,629	0,001	0,000001
	2	0,680	0,694	0,014	0,000196
	3	0,139	0,146	0,007	0,000049
	4	0,980	1,024	0,044	0,001936
	5	0,661	0,697	0,036	0,001296
	6	0,586	0,614	0,028	0,000784
	7	0,202	0,209	0,007	0,000049
vko 12	1	0,694	0,706	0,012	0,000144
	2	0,158	0,149	0,009	0,000081
	3	0,151	0,142	0,009	0,000081
	4	0,626	0,636	0,010	0,000100
	5	0,667	0,686	0,019	0,000361
	6	0,150	0,150	0,000	0,000000
	7	0,628	0,635	0,007	0,000049
	8	0,209	0,213	0,004	0,000016
	9	0,678	0,687	0,009	0,000081
	10	0,671	0,685	0,014	0,000196
Vko 13	1	0,631	0,638	0,007	0,000049
	2	0,213	0,214	0,001	0,000001
	3	0,671	0,694	0,023	0,000529
	4	0,151	0,150	0,001	0,000001
	5	0,650	0,647	0,003	0,000009
Vko 14	6	0,890	0,891	0,001	0,000001
	7	0,666	0,673	0,007	0,000049
	8	0,152	0,152	0,000	0,000000
	9	0,157	0,151	0,006	0,000036
	10	0,153	0,155	0,002	0,000004
	11	0,149	0,138	0,011	0,000121
	12	0,134	0,135	0,001	0,000001
	13	0,611	0,611	0,000	0,000000
	14	0,611	0,613	0,002	0,000004

	Näyte	x_1 (EDTA tulos mmol/l)	x_2 (ICP-OES tulos mmol/l)	$d_i=x_1-x_2$	d_i^2
	15	0,613	0,618	0,005	0,000025
	16	0,210	0,209	0,001	0,000001
n	45	$\sum d_i=0,624$ $\sum d_i^2=0,019$			
d	0,014				
s_d^2	0,000226				
s_d	0,015035				
t-arvo	6,190889				

Taulukon 2 teoreettinen arvo $t_{0,05(44)}$ -arvo on 2,015 (df = n-1= 44; 2-suuntainen testi 5 % merkitsevyystasolla). Laskettu t-arvo 6,191 on suurempi kuin teoreettinen arvo, joten kahdella eri menetelmällä saadut tulokset samoista näytteistä eroavat toisistaan yli 5 % merkitsevyystasolla. (Mäkinen ym. 1996, 64.)

Eroprosentti kahden menetelmän välillä on suurimmaksi osaksi reilusti <10 %, mutta muutaman näytteen kohdalla prosenttimäärä on 10–12 % (liite 3). Laboratorio asetti hyväksymiskriteeriksi oikeellisuudelle 15 %, eli prosentuaalisen eron tulisi olla alle sen. Kaikkien näytteiden kohdalla tämä toteutui, joten verifiointi hyväksyttiin oikeellisuuden osalta tämän perusteella.

Tuloksista (liite 3) on nähtävillä myös EDTA-titrausmenetelmässä saadut kontrollien arvot, jotka ovat matalampia kuin pitäisi (0,329 mmol/l; 1,85 °dH). ICP-OES-menetelmällä saadut kontrollien arvot (liite 4) ovat taas hieman suurempia kuin pitäisi, mutta parempia kuitenkin kuin titrausmenetelmässä saadut kontrollien arvot. Liian matalat (EDTA-titrausmenetelmä) ja liian suuret (ICP-OES-menetelmä) saadut kontrollien arvot selittävät osin menetelmien erot toisiinsa.

8 POHDINTA

Opinnäytetyön tarkoituksena oli verifioida uudelle ICP-OES-laitteelle menetelmä, jolla pystytään määrittämään veden kokonaiskovuus. Laboratoriossa oli aikaisemmin käytössä veden kovuuden määrittämiseksi EDTA-titrausmenetelmä, joka on melko hidas ja työläs analyysi. Uusi ICP-OES-menetelmä soveltuu usean alkuaineen yhtäaikaiseen määrittämiseen yhdestä ja samasta näytteestä. Veden kovuus on kalsium- ja magnesiumpitoisuuksien summa, joten verifiointissa keskityttiin näiden kahden alkuaineen tuloksiin. Samaan aikaan pystytään kuitenkin määrittämään useampaa alkuainetta, kuten rauta ja mangaani, joten uusi laite ja menetelmä nopeuttaa monia määrittämyksiä laboratoriossa. (Garbarino & Struzeski 1998, 3; Valvira 2024.)

Verifiointissa määritettiin toteamis- ja määrittäysraja, lineaarisuus, toistettavuus sekä oikeellisuus. Menetelmän oikeellisuuden verifiointi tehtiin vertailemalla ICP-OES-menetelmää tähän saakka käytössä olleeseen EDTA-titrausmenetelmään. Suurin osa verifioitavista parametreista onnistui hyvin laboratorion tarpeisiin nähden.

Verifiointissa toteamisrajaksi kalsiumille saatiin 0,004 mg/l ja magnesiumille 0,0003 mg/l. Määrittäysrajaksi taas kalsiumille saatiin 0,009 mg/l ja magnesiumille 0,001 mg/l. Laboratorioon on valittu kalsiumin mitta-alueeksi 0,5–50 mg/l ja magnesiumin mitta-alueeksi 0,2–20 mg/l. Toteamis- ja määrittäysrajat ovat molempien alkuaineiden kohdalla tarpeeksi matalat mitta-alueeseen nähden eli menetelmä pystyy luotettavasti mittaamaan alkuaineiden pitoisuudet halutuilla mitta-alueilla.

Verifiointi osoitti menetelmän olevan lineaarinen kummankin alkuaineen mitta-alueella. Kalsiumille korrelaatiokerroin oli 0,99998 ja selitysaste 0,99995. Magnesiumille puolestaan korrelaatiokertoimeksi saatiin 0,99999 ja selitysasteeksi myös 0,99999. Tulokset ovat erinomaisia sillä selitysasteen pitäisi olla mahdollisimman lähellä lukua 1, jotta menetelmä olisi lineaarinen (Hägg 2016, 23; Jaarinen & Niiranen 2018, 25). Myös residuaaleja tarkasteltaessa menetelmän voidaan todeta olevan lineaarinen mitta-alueella, sillä residuaalit ovat jakautuneet

nollatason molemmin puolin, eikä huomattavissa ole mitään selkeää käyrää (Hägg 2016, 23; Mäkinen ym. 1996, 18).

Verifioinnissa testattiin menetelmän toistettavuutta kuudella näytteellä, joita mitattiin rinnakkaisina neljänä peräkkäisenä päivänä mahdollisimman samoissa mittausolosuhteissa sekä samoilla ajoparametreilla. Toistettavuudessa suhteellisten keskihajontojen kaikki tulokset olivat <2 %, mikä kertoo menetelmän hyvästä toistettavuudesta (Nagar 2021,8). Lisäksi toistettavuutta analysoitiin mittauksien sisäisten ja mittauksien välisten keskihajontojen perusteella. Toistettavassa menetelmässä keskihajonnan pitäisi olla pienempää mittauksien sisällä kuin mittauksien välillä (Ehder 2005, 37). Yhden näytteen kohdalla kuitenkin yhden mittauksen sisäinen keskihajonta oli suurempi kuin mittauksien välinen, vaikka muilla näytteillä tämänkin perusteella menetelmä on toistettava.

Oikeellisuus pyrittiin osoittamaan vertailemalla vanhaa ja uutta menetelmää keskenään. Vertailussa mitattiin viiden viikon ajan kovuusnäytteistä kokonaiskovuus vanhalla EDTA-titrausmenetelmällä sekä uudella ICP-OES-menetelmällä. Menetelmiä verrattiin laskemalla tuloksien eroprosentit sekä tekemällä t-testi (kaksisuuntainen, 5 % merkitsevyystaso). T-testin tulokseksi saatiin 7,191 ja verratessa sitä teoreettiseen t-arvoon (2,015) se on suurempi, joten kahdella eri menetelmällä saadut tulokset eroavat toisistaan yli 5 % merkitsevyystasolla (Mäkinen ym. 1996, 64).

Tulosten eroprosentit pysyivät pääsääntöisesti alle 10 %:n, mutta muutaman näytteen ero ylittyi tästä muutamalla prosenttiyksiköllä, pysyen kuitenkin alle 15 %:n. EDTA-titrausmenetelmään häiriötä voivat tuoda muut alkuaineet, kuten rauta ja mangaani, sekä näytteen voimakas väri ja sameus (SFS 3003 1987, 1). Nämä on voinut tuoda virhettä EDTA-titrausmenetelmällä saatuihin tuloksiin. Laboratorio oli asettanut tavoitteeksi, että menetelmät voivat erota toisistaan maksimissaan 15 %, joten uusi menetelmä todettiin oikeelliseksi.

Menetelmän verifiointia voisi jatkaa oikeellisuuden osalta, jos halutaan, että kahden menetelmän tulokset poikkeavat toisistaan alle 5 % merkitsevyystasolla.

EDTA-titrausmenetelmällä saadut tulokset (liite 3) antoivat osin liian matalia tuloksia ja ICP-OES-menetelmällä saadut tulokset (liite 4) antoivat osin liian suuria tuloksia, kun tarkastellaan kontrolleista saatuja tuloksia.

Verifiointin perusteella menetelmä on kuitenkin soveltuva laboratorion käyttötarkoitukseen, sillä tulokset olivat laboratorion asettamien tavoitteiden sisällä, ja veden laatua ja sen muutoksia pystytään seuraamaan. ICP-OES-menetelmä voidaan ottaa laboratorioissa käyttöön ja korvata vanha menetelmä uudella.

LÄHTEET

Agilent Technologies. n.d. Synchronous Vertical Dual View (SVDV) for superior speed and performance. Technical Overview. PDF-tiedosto. Viitattu 2.4.2024. <https://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/public/5991-4853EN.pdf>

Boss, C. & Fredeen, K. 2004. Concepts, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. Third Edition. PerkinElmer Life and Analytical Sciences. PDF-tiedosto. Viitattu 25.3.2024. https://resources.perkinelmer.com/lab-solutions/resources/docs/gde_concepts-of-icp-oes-booklet.pdf

Ehder, T. 2005. Kemia metrologian opas. Kemia metrologian neuvottelukunta. PDF-tiedosto. Viitattu 6.3.2024. <https://publications.vtt.fi/pdf/MIKES/2005-J6.pdf>

Ellison, S. & Williams, A. 2012. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. Eurachem/Citac Guide CG 4. Third Edition. PDF-tiedosto. Viitattu 6.3.2024. https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/QUAM2012_P1.pdf

Garbarino, J. & Struzeski, T. 1998. Methods of Analysis by the U.S. Geological Survey National Water Quality Laboratory Determination of Elements in Whole-Water Digests Using Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry and Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. U.S. Geological Survey. PDF-tiedosto. Viitattu 22.4.2024. <https://pubs.usgs.gov/of/1998/0165/report.pdf>

Hanna Instruments. n.d. Titration Systems And Autosampler. PDF-tiedosto. Viitattu 19.4.2024. <https://lavallab.com/wp-content/uploads/2014/11/Automatic-Titration-Systems.pdf>

Hägg, M. 2016. Validoinnin suunnittelun opas. Teknologian tutkimuskeskus VTT Oy. Viitattu 4.3.2024. <https://publications.vtt.fi/pdf/technology/2016/T276.pdf>

Jaarinen, S. & Niiranen, J. 2018. Laboratorion analyysitekniikka. E-kirja. 5.–6. painos. Helsinki: Edita Publishing Oy. Viitattu 7.3.2023. Vaatii käyttöoikeuden.

Kalkman, I. 2020. Photometric complexometric titration. Methrom Article. Viitattu 17.4.2024. https://www.metrohm.com/fi_fi/discover/blog/20-21/photometric-complexometric-titration.html

Levine, M. 2021. ICP-OES – ICP Chemistry, ICP-OES Analysis, Strengths and Limitations. Analysis & Separations. Technology Networks. Viitattu 20.3.2024. <https://www.technologynetworks.com/analysis/articles/icp-oes-icp-chemistry-icp-oes-analysis-strengths-and-limitations-342265>

Magnusson, B. & Örnemark, U. 2014. Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. Second edition. ISBN 978-91-87461-59-0. Viitattu 4.3.2024. <http://www.eurachem.org>

Mäkinen, I. Suortti, A-M. Saares, R. Niemi, R. & Marjanen, J. 1996. Ohjeita ympäristönäytteiden kemiallisten analyysimenetelmien validointiin. Suomen ympäristökeskus. PDF-tiedosto. Viitattu 5.3.2024. [file:///C:/Users/K%C3%A4ytt%C3%A4j%C3%A4/Downloads/Suomen%20ymp%C3%A4rist%C3%B6keskuksen%20moniste%2059%20OCR%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/K%C3%A4ytt%C3%A4j%C3%A4/Downloads/Suomen%20ymp%C3%A4rist%C3%B6keskuksen%20moniste%2059%20OCR%20(2).pdf)

Nagar, R. 2021. Validation of Analytical Methods. Guidance Document. Indian Pharmacopoeia Commission. PDF-tiedosto. Viitattu 18.4.2024. https://www.ipc.gov.in/images/GD-04-Method_Validation.pdf

Pizzi, N. 2010. Water treatment. Fourth Edition. American Water Works Association. PDF-tiedosto. Viitattu 7.3.2024. https://www.space-elements.in/wp-content/uploads/2021/12/Principles_and_Practices_of_Water_Supply_Operations_Water_Treatment.pdf

SFS-EN ISO 11885. 2009. Water quality. Determination of selected elements by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). SFS Online. Viitattu 13.3.2024.

SFS 3003. 1987. Veden kalsiumin ja magnesiumin summan määrittäminen. Titrimetrinen menetelmä. SFS Online. Viitattu 12.3.2024.

Suomen ympäristökeskus. n.d. Kovaa vai pehmeää vettä. Vesi.fi. Viitattu 4.5.2024. <https://www.vesi.fi/vesitieto/kovaa-vai-pehmeaa-vetta/>

Trevizan, L. & Nobrega, J. 2007. Inductively coupled plasma optical emission spectrometry with axially viewed configuration: an overview of applications. Journal of the Brazilian Chemical Society. 18 (4). Viitattu 20.3.2024. <https://www.scielo.br/j/jbchs/a/y8HWQfq3gDXkCDTvC7sz7h/?lang=en>

Thermo Fisher Scientific. n.d. ICP-OES Systems and Technologies. Viitattu 28.3.2024. <https://www.thermofisher.com/fi/en/home/industrial/spectroscopy-elemental-isotope-analysis/spectroscopy-elemental-isotope-analysis-learning-center/trace-elemental-analysis-tea-information/icp-oes-information/icp-oes-system-technologies.html>

Thermo Scientific. n.d. iCAP PRO XP ICP-OES. Product specification 44432. PDF-tiedosto. Viitattu 21.3.2024. <https://hosmed.fi/wp-content/uploads/ps-44432-icap-pro-xp-icp-oes-ps44432-0420.pdf>

Valvira. 2024. Talousvesisäännösten soveltamisohje Osa II. Sosiaali- ja terveysalan lupa- ja valvontavirasto. PDF-tiedosto. Viitattu 9.3.2024. <https://valvira.fi/documents/152634019/172742999/Talousve- sis%C3%A4%C3%A4nn%C3%B6sten+SO+OSA+II+2024.pdf/ca6a4add-b39b-8546-9675-a9caa16c9b9d/Talousve- sis%C3%A4%C3%A4nn%C3%B6sten+SO+OSA+II+2024.pdf?t=1709730064568>

LIITTEET

Liite 1. Verifointisuunnitelma

1(2)

Verifointisuunnitelma

Tiia Lammi

ICP-OES-menetelmän verifointi veden kovuuden määrittämiseksi

Näytteiden käsittely

- Näytteisiin lisätään väkevää typpihappoa 2 ml/100 ml
- Näytteet säilytetään suljettuina pimeässä ja kylmässä

Nollanäytteiden, standardien ja kontrolliliuosten valmistus

- Nollanäytteet ovat 2 % typpihappoa
- Standardien valmistetaan taulukon 1 mukaan
- Kontrolliliuoksena (QC) 0,5 mg/l liuos (valmiina)

TAULUKKO 1. Standardien valmistus

	pitoisuus (mg/l)		mitä pipetoidaan?	pipetointimäärä (ml)		Mittapullo
	Ca	Mg		Ca	Mg	
STD 5	50	20	1000 mg/l kantaliuos	50	20	1000 ml:ksi nollalla
STD 4	37,5	15	std 5	75		100 ml:ksi nollalla
STD 3	25	10	std 5	100		200 ml:ksi nollalla
STD 2	12,5	5	std 5	25		100 ml:ksi nollalla
STD 1	0,5	0,2	std 5	2,5		250 ml:ksi nollalla

Käytettävä laite ja menetelmä

- Thermo Scientificin iCAP PRO ICP-OES -laite
- Menetelmä perustuu SFS EN ISO 11885 standardiin
- Kalsiumille käytetty aallonpituus: 317,933
- Magnesiumille käytetty aallonpituus: 279,553

Verifioitavat parametrit

Toteamis- ja määrittämissrajat

- Nollanäytteitä mitataan 10 kertaa
- Molempien alkuaineiden tuloksista lasketaan keskiarvo ja keskihajonta
- Keskiarvon ja keskihajonnan avulla lasketaan molemmat rajat

(jatkuu)

Lineaarisuus

- Valmistetaan viisi standardia
 - o Kalsiumille: 0,5; 12,5; 25; 37,5 ja 50 mg/l
 - o Magnesiumille: 0,2; 5, 10, 15, 20 mg/l
- Mitataan kaikki standardit 5 kertaa
- Tuloksista Excelin avulla muodostetaan regressiosuorat ja residuaalit

Toistettavuus

- Tehdään rinnakkaismäärittämiä 6 näytteestä 4 kertaa
- Lasketaan näytesarjojen sisäinen ja välinen vaihtelu
- Lasketaan suhteellinen keskihajonta RSD

Oikeellisuus/kahden menetelmän välinen vertailu

- 5 viikon kovuusnäytteistä tehdään määrittäykset sekä vanhalla että uudella menetelmällä
- Lasketaan menetelmien ero %
- Verrataan menetelmiä t-testillä

Liite 2. Toistettavuuden tulokset

1(2)

TAULUKKO 13. Toistettavuuden tulokset

Näyte	Ca	Mg	kovuus	
	mg/l	mg/l	°dH	mmol/l
25.3.				
1	22,066	8,174	4,976	0,887
	22,024	8,141	4,959	0,884
2	24,956	1,329	3,798	0,677
	24,865	1,324	3,787	0,675
3	3,809	1,252	0,825	0,147
	3,824	1,252	0,825	0,147
4	3,838	1,246	0,825	0,147
	3,851	1,246	0,825	0,147
5	3,976	1,311	0,858	0,153
	3,954	1,310	0,858	0,153
6	22,035	3,463	3,882	0,692
	21,765	3,451	3,843	0,685
26.3.				
1	22,4008	8,1391	5,015	0,894
	22,3112	8,0804	4,987	0,889
2	25,1007	1,3139	3,815	0,680
	25,4503	1,3175	3,865	0,689
3	3,8972	1,2577	0,842	0,150
	3,9176	1,2640	0,842	0,150
4	3,9345	1,2420	0,847	0,151
	3,9156	1,2396	0,842	0,150
5	4,0699	1,3210	0,881	0,157
	4,0483	1,3099	0,875	0,156
6	22,3363	3,4543	3,966	0,707
	22,3577	3,4672	3,972	0,708
27.3.				
1	22,3388	8,1332	5,004	0,892
	22,1536	8,0749	4,965	0,885
2	25,3470	1,3275	3,854	0,687
	25,3700	1,3276	3,860	0,688
3	3,8976	1,2589	0,836	0,149
	3,9141	1,2619	0,842	0,150
4	3,8841	1,2393	0,830	0,148
	3,9048	1,2417	0,836	0,149
5	4,0560	1,3132	0,870	0,155
	4,1015	1,3291	0,881	0,157
6	22,0978	3,4580	3,893	0,694
	22,1349	3,4367	3,893	0,694

(jatkuu)

2(2)

Näyte	Ca	Mg	kovuus	
			°dH	mmol/l
28.3.	mg/l	mg/l		
1	22,2752	8,0869	4,982	0,888
	22,0098	7,9943	4,926	0,878
2	24,7821	1,3021	3,770	0,672
	25,0757	1,3039	3,809	0,679
3	3,8410	1,2370	0,825	0,147
	3,8388	1,2328	0,819	0,146
4	3,8367	1,2199	0,819	0,146
	3,8526	1,2167	0,819	0,146
5	3,9949	1,2887	0,858	0,153
	3,9932	1,2919	0,858	0,153
6	21,7515	3,3779	3,826	0,682
	21,8798	3,3779	3,843	0,685

Liite 3. Oikeellisuuden tulokset

1(2)

TAULUKKO 14. Viikko 10, oikeellisuuden tulokset

Vko 10 näytteet	Kovuus				Ero %
	EDTA		ICP-OES		
Näyte	°dH	mmol/l	°dH	mmol/l	
1	1,770	0,315	1,879	0,335	5,97
2	4,730	0,837	5,060	0,902	7,25
3	3,691	0,657	3,877	0,691	4,92
4	0,753	0,134	0,853	0,152	11,84
5	0,787	0,140	0,842	0,15	6,67
6	0,815	0,145	0,870	0,155	6,45
7	0,758	0,135	0,819	0,146	7,53
8	0,685	0,122	0,769	0,137	10,95
9	3,736	0,665	3,921	0,699	4,86
10	3,202	0,570	3,422	0,61	6,56
11	1,082	0,193	1,161	0,207	6,76
12	4,158	0,740	4,449	0,792	6,57
Kontrolli (1,85 °dH)	1,781	0,317			

TAULUKKO 15. Viikko 11, oikeellisuuden tulokset

Vko 11 näytteet	Kovuus				Ero %
	EDTA		ICP-OES		
Näyte	°dH	mmol/l	°dH	mmol/l	
1	3,539	0,630	3,529	0,629	0,16
2	3,820	0,680	3,893	0,694	2,02
3	0,781	0,139	0,819	0,146	4,79
4	5,506	0,980	5,745	1,024	4,30
5	3,713	0,661	3,910	0,697	5,16
6	3,292	0,586	3,445	0,614	4,56
7	1,132	0,202	1,172	0,209	3,35
Kontrolli (1,85 °dH)	1,770	0,315			

(jatkuu)

2(2)

TAULUKKO 16. Viikko 12, oikeellisuuden tulokset

Vko 12 näytteet	Kovuus				Ero %
	EDTA		ICP-OES		
Näyte	°dH	mmol/l	°dH	mmol/l	
1	3,899	0,694	3,961	0,706	1,70
2	0,888	0,158	0,836	0,149	6,04
3	0,848	0,151	0,797	0,142	6,34
4	3,517	0,626	3,568	0,636	1,57
5	3,747	0,667	3,848	0,686	2,77
6	0,843	0,150	0,842	0,15	0,00
7	3,528	0,628	3,562	0,635	1,10
8	1,174	0,209	1,195	0,213	1,88
9	3,809	0,678	3,854	0,687	1,31
10	3,770	0,671	3,843	0,685	2,04
Kontrolli (1,85 °dH)	1,764	0,314			

TAULUKKO 17. Viikko 13, oikeellisuuden tulokset

Vko 13 näytteet	Kovuus				Ero %
	EDTA		ICP-OES		
Näyte	°dH	mmol/l	°dH	mmol/l	
1	3,545	0,631	3,579	0,638	1,10
2	1,197	0,213	1,201	0,214	0,47
3	3,770	0,671	3,893	0,694	3,31
4	0,848	0,151	0,842	0,15	0,67
5	3,652	0,650	3,630	0,647	0,46
Kontrolli (1,85 °dH)	1,865	0,332			

TAULUKKO 18. Viikko 14, oikeellisuuden tulokset

Vko 14 näytteet	Kovuus				Ero %
	EDTA		ICP-OES		
Näyte	°dH	mmol/l	°dH	mmol/l	
1	5,000	0,890	4,999	0,891	0,11
2	3,742	0,666	3,776	0,673	1,04
3	0,854	0,152	0,853	0,152	0,00
4	0,882	0,157	0,847	0,151	3,97
5	0,860	0,153	0,870	0,155	1,29
6	0,837	0,149	0,774	0,138	7,97
7	0,753	0,134	0,757	0,135	0,74
8	3,433	0,611	3,428	0,611	0,00
9	3,433	0,611	3,439	0,613	0,33
10	3,444	0,613	3,467	0,618	0,81
11	1,177	0,210	1,172	0,209	0,48
Kontrolli (1,85 °dH)	1,854	0,330			

Liite 4. ICP-OES kontrollit

TAULUKKO 19. ICP-OES-kontrollit (suluissa tavoite arvot)

Ca (0,5 mg/l)	Mg (0,5 mg/l)	kovuus (0,0330 mmol/l/; 0,1854 dH)	
Ca (mg/l)	Mg (mg/l)	mmol/l	°dH
0,5089	0,5198	0,0341	0,1912
0,5024	0,5115	0,0336	0,1884
0,5003	0,5123	0,0336	0,1883
0,5090	0,5106	0,0337	0,1891
0,4947	0,5124	0,0334	0,1875
0,5005	0,5010	0,0331	0,1857
0,5089	0,5124	0,0338	0,1895
0,5190	0,5183	0,0343	0,1923
0,5023	0,5181	0,0338	0,1899
0,4933	0,5082	0,0332	0,1863
0,5061	0,5143	0,0338	0,1895
0,5077	0,5123	0,0337	0,1893
0,5103	0,5119	0,0338	0,1896
0,5101	0,5092	0,0337	0,1889
0,5072	0,5004	0,0332	0,1865
0,5108	0,4968	0,0332	0,1862