



RAUDAN MÄÄRITYS

Menetelmän siirto ja validointi

Emmi Olsson

Opinnäytetyö
Toukokuu 2014
Laboratorioalan
koulutusohjelma

TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Laboratorioalan koulutusohjelma

EMMI OLSSON:
Raudan määrittäminen
Menetelmän siirto ja validointi

Opinnäytetyö 38 sivua, joista liitteitä 10 sivua
Toukokuu 2014

Opinnäytetyö tehtiin Kokemäenjoen vesistön vesiensuojeluyhdistykselle kevään 2014 aikana. Työn tarkoituksena oli siirtää raudan määritysmenetelmä Shimadzu UV-1700 -spektrofotometriltä Aquakem 250 -analysaattorille ja validoida menetelmän tärkeimmät parametrit.

Rauta voi esiintyä vesissä humukseen sitoutuneena kompleksiyhdisteenä, kolloidisena saostumana tai kiintoaineesena sitoutuneena. Hapettomissa tai hyvin happamissa vesissä rauta esiintyy ionimuotoisena. Veden korkea rautapitoisuus esiintyy usein veden sameutena ja punertavana värinä.

Validoinnissa määritettiin menetelmän lineaarisuus, toteamis- ja määritysrajat, laboratorion sisäinen uusittavuus, menetelmän ja laboratorion poikkeama sekä mittausepävarmuus. Tulosten oikeellisuutta ja luotettavuutta tarkasteltiin vertailukoearvojen avulla. Lisäksi menetelmiä verrattiin toisiinsa kaksisuuntaisen t-testin avulla.

Menetelmä validoitiin matriisikohtaisesti jätevesille, vesistövesille ja talousvesille. Jätevesimatriisissa tarkasteltiin kokonaisraudan ja liukoisen raudan pitoisuuksia, vesistömatriisissa lähinnä järvi-, joki- ja pohjavesiä sekä talousvesimatriisissa kaivo- ja verkostovesiä. Näytteiksi pyrittiin valitsemaan mahdollisimman erilaisia ja eri pitoisuuksia rautaa sisältäviä vesiä.

Tulosten perusteella menetelmän validointi todettiin onnistuneeksi ja menetelmä siirrettiin Aquakem 250 -analysaattorille. Aquakem-analysaattorin etuja vanhan menetelmän spektrofotometriin verrattuna ovat vähentynyt reagenssien kulutus ja jätteen määrä sekä nopeampi ja helpompi työskentely. Mittauksen lineaarisuutta aluetta jouduttiin kuitenkin pienentämään menetelmän siirron yhteydessä. Tämä tarkoittaa sitä, että näytteitä saattaa joutua tulevaisuudessa laimentamaan useammin.

Avainsanat: menetelmän validointi, raudan määrittäminen, spektrofotometri, vesianalytiikka

ABSTRACT

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

EMMI OLSSON:
Iron Analysis
Method Transfer and Validation

Bachelor's thesis 38 pages, appendices 10 pages
May 2014

This Bachelor's thesis was made for the laboratory of Water Protection Association of the River Kokemäenjoki and it was carried out during the spring 2014. The purpose of this thesis was to transfer iron analysis method from Shimadzu UV-1700 -spectrophotometer to Aquakem 250 -analyzer and to validate the most important parameters.

In waters iron can appear as a colloidal precipitate or adhered to solid material or to humus. In oxygen free or very acidic waters iron can appear in an ion form. Usually high concentration of iron in water contributes to increased water turbidity or reddish colour.

In validation the following parameters were determined: linearity, limit of detection and quantification, reproducibility within laboratory, method and laboratory bias and combined uncertainty. The reliability and the validity of the measurements were proved by comparison tests. Both methods were also compared with t-test.

The method was validated for each matrix separately. The chosen matrixes were waste water, water from natural sources and household water. In waste water matrix samples were both filtered and infiltrated wastewaters, waters from natural sources were river and lake waters and in household matrix samples were well and water supply system waters. The samples were chosen so that they would be as versatile as possible.

The validation results proved that the method was suitable for its use and the method was transferred to Aquakem 250 -analyzer. The advantages of Aquakem 250 -analyzer compared to Shimadzu UV 1700 -spectrometer were lower reagent consumption and waste amount as well as easier and faster working. However, the linearity of the method was reduced. This means that the samples must be diluted more in the future.

Key words: method validation, iron analysis, spectrophotometer, water analytics

SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	6
2	TAUSTA	7
	2.1 Veden rautapitoisuus.....	7
	2.2 Rautapitoisuuden määrittäminen.....	7
3	LAITTEISTO JA VÄLINEET	9
	3.1 Aquakem 250 -analysointilaitteisto	10
	3.1.1 Aquakem 250 –analysointilaitteen toimintaperiaate.....	10
	3.1.2 Aquakem 250 –analysointilaitteen käyttö.....	12
	3.2 Shimadzu UV-1700 -spektrofotometri	13
	3.3 Liuokset	14
4	VALIDOINTI.....	17
	4.1 Yleistä validoinnista	17
	4.2 Selektiivisyys ja spesifisyys.....	17
	4.3 Mittausalue ja lineaarisuus.....	18
	4.4 Toteamis- ja määrittämiss raja.....	19
	4.5 Häiriökestävyys ja toimintavarmuus	19
	4.6 Laboratorion sisäinen uusittavuus	20
	4.7 Menetelmän ja laboratorion poikkeama	20
	4.8 Mittausepävarmuus	21
	4.9 Tulosten luotettavuus ja oikeellisuus	22
	4.10 Menetelmien vertailu	22
5	TYÖN SUORITUS	24
	5.1 Kalibrointi.....	24
	5.1.1 Kalibrointiliuokset	24
	5.1.2 Kontrolliliuokset	25
	5.2 Näytteiden mittaaminen	26
6	TULOKSET	27
	6.1 Mittausalue ja lineaarisuus.....	27
	6.2 Toteamis- ja määrittämiss raja.....	27
	6.3 Laboratorion sisäinen uusittavuus	28
	6.4 Menetelmän ja laboratorion poikkeama	31
	6.5 Mittausepävarmuus	32
	6.6 Tulosten oikeellisuus ja luotettavuus	32
	6.7 Menetelmien vertailu	33
7	POHDINTA.....	36
	LÄHTEET.....	38

LIITTEET	39
Liite 1. Validointisuunnitelma.....	39
Liite 2. Kalibrointisuorat	41
Liite 3. Laboratorion sisäinen uusittavuus	43
Liite 4. Menetelmien vertailu	46

1 JOHDANTO

Työ tehtiin Kokemäenjoen vesistön vesiensuojeluyhdistykselle (KVVY) Tampereen laboratoriossa. Kokemäenjoen vesistön vesiensuojeluyhdistyksen tarkoituksena on parantaa vesiensuojelua ja sen toimialue kattaa Kokemäenjoen ja Karvianjoen vesistöalueet. Yhdistyksen tutkimuslaboratorio perustettiin 1960-luvulla ja se on tällä hetkellä analyysimäärältään Suomen suurin. Yhdistyksen palveluihin kuuluu tutkimusohjelmien laatiminen, näytteenotto, analysointi sekä raportointi. Lisäksi yhdistys tekee aatteellista työtä; neuvontaa, valistusta ja tiedottamista.(Kokemäenjoen vesistön vesiensuojeluyhdistys ry, 2013.)

Työn tarkoituksena oli siirtää raudan määritysmenetelmä Shimadzu UV-1700 -spektrofotometriltä Aquakem 250 -analysaattorille. Lisäksi menetelmän pätevyys todennettiin validoimalla tärkeimmät parametrit. Menetelmän siirto ja validointi tehtiin laitevalmistajan ohjeiden ja Kokemäenjoen vesistön vesiensuojeluyhdistyksen toimintaohjeiden mukaisesti. Raudan värjäysreaktio tapahtuu standardin SFS 3028 (1976) mukaisesti ja näytteiden hapetus manuaalisesti laboratorion menetelmäohjeen mukaisesti.

Validointiin valittiin näytteitä jätevesi-, vesistövesi- ja talousvesimatriiseista. Menetelmälle määritettiin toteamis- ja määritysrajat, laboratorion sisäinen uusittavuus, laboratorion ja menetelmän poikkeama sekä mittausepävarmuus. Menetelmien vertailu tehtiin kaksisuuntaisen t-testin avulla vertaamalla kummallakin menetelmällä saatuja tuloksia toisiinsa.

2 TAUSTA

2.1 Veden rautapitoisuus

Luonnonvesissä suurin osa raudasta esiintyy humukseen sitoutuneena kompleksiyhdisteenä, kolloidisena saostumana tai kiintoaineeseen sitoutuneena. Karuissa, kirkaissa luonnonvesissä rautapitoisuudet ovat pienimmillään, kun taas sameissa humusvesissä rautapitoisuus on korkea. Eroosio lisää rautapitoisuutta, koska maa-aineksessa oleva rauta näkyy analyysissa. Hapettomissa olosuhteissa tai hyvin happamissa vesissä rauta esiintyy ionimuodossa. (Kokemäenjoen vesistön vesiensuojeluyhdistys ry, Mattsson 2011b, 1.)

Veden korkea rautapitoisuus esiintyy usein veden sameutena ja punertavana värinä. Suurikaan rautapitoisuus ei ole terveydelle vaarallinen, mutta saattaa aiheuttaa veteen maku- ja hajuhaittoja tai värjäytyymiä pyykkiin ja vesikalusteisiin. Lisäksi rauta voi myös aiheuttaa ongelmia saostuessaan putkistoon. (Watman n.d., 5.)

2.2 Rautapitoisuuden määrittäminen

Veden rautapitoisuuden määrittämistä käytetään luonnonvesien sekä teollisuusvesien rautapitoisuuksien määrittämiseen. Ennen määrittämistä rauta on saatava reagoivaan muotoon hapettamalla se peroksidisulfaattilla. Hapetus tapahtuu keittämällä näytettä paineen alaisena suljetussa astiassa eli autoklavoimalla näyte. Hapettaminen poistaa yleensä näytteen värin ja myös hävittää määrittämistä häiritsevän orgaanisen aineen. (Mattsson 2011b, 1.)

Hapettamisen jälkeen rauta(III) pelkistetään rauta(II):ksi hydroksyyliammoniumkloridilla. Rauta(II) muodostaa 2,4,6-tri(2'-pyridyyli)-1,3,5-triaziinin (TPTZ) kanssa pH-alueella 3,4–5,8 violetin kompleksiyhdisteen $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{2+}$. Kompleksiyhdisteen absorptiossa voidaan mitata aallonpituudella 593 nm. (Mattsson 2011b, 2; Suomen standardisoimisliitto 2004, 2.)

Määrittystä voivat häiritä kupari, koboltti ja nikkeli, jotka muodostavat myös värillisiä kompleksiyhdisteitä 2,4,6-tri(2'-pyridylyl)-1,3,5-triaziinin kanssa. Alle 2,5 mg/l kuparipitoisuus, alle 2,4 mg/l kobolttipitoisuus tai alle 5,3 mg/l nikkelpitoisuus eivät häiritse määrittystä merkittävästi. Hopea, elohopea ja vismutti, kuten monet muutkin siirtymämetallit, muodostavat saostuvia kompleksiyhdisteitä TPTZ:n kanssa. Tämän vuoksi TPTZ:ia lisätään määrittelyyn ylimäärin. Lisäksi yli 2 mg/l sinkkipitoisuus ja molybdeeni molybdaattimuodossa voivat häiritä määrittystä. (Suomen standardisoimisliitto 2004, 1.)

3 LAITTEISTO JA VÄLINEET

Raudan määrittäminen siirrettiin Shimadzu UV-1700 -spektrofotometriltä Aquakem 250 -analysaattorille. Kumpikin analysaattori on toimintaperiaatteeltaan spektrofotometri eli laite, jota voidaan käyttää aineiden tunnistamiseen ja pitoisuuksien selvittämiseen spektrometrisesti. Spektrometria hyödyntää sähkömagneettisen säteilyn ja aineen vuorovaikutusta. Sähkömagneettinen säteily on aaltoliikettä, jonka aallonpituus on sitä suurempi, mitä pienempi sen energia on. Spektrometri pystyy erottelemaan aallonpituudet toisistaan ja mittaamaan aallonpituutta vastaavat intensiteetit. Aallonpituuksien erottamista kutsutaan dispersioksi ja se saadaan aikaan hilalla tai prismalla. (Jaarinen & Niiranen 2005, 46.)

Kun säteily osuu näytteeseen, sen intensiteetti pienenee. Intensiteetin pienentymiseen vaikuttaa tulevan säteilyn aallonpituus, näytteen konsentraatio sekä näytteen paksuus. Spektrofotometrit mittaavat näytteeseen tulevan ja näytteen läpäisseen säteilyn suhdetta. Tätä kutsutaan transmittanssiksi, joka voidaan laskea kaavan 1 mukaisesti. (Jaarinen & Niiranen 2005, 52.)

$$T(\lambda) = \frac{I(\lambda)}{I_0(\lambda)} \quad (1)$$

missä

$I(\lambda)$ = näytteen läpäissyt säteily

$I_0(\lambda)$ = näytteeseen tuleva säteily

Kvantitatiivisissa analyysissä käytetään usein absorbanssia $A(\lambda)$, koska absorbanssin arvo on suoraan verrannollinen näytteen konsentraatioon. Absorbanssi voidaan laskea Lambert-Beerin lain mukaisesti (kaava 2). (Jaarinen & Niiranen 2005, 52.)

$$A(\lambda) = \varepsilon(\lambda) \cdot C \cdot b \quad (2)$$

missä

$\varepsilon(\lambda)$ = aineelle ominainen molaarinen absorptiokerroin

C = konsentraatio, mol/l

b = säteilyn näytteessä kulkema matka, cm

Absorbanssin ja transmittanssin välillä on logaritminen yhteys (kaava 3) (Jaarinen & Niiranen 2005, 52).

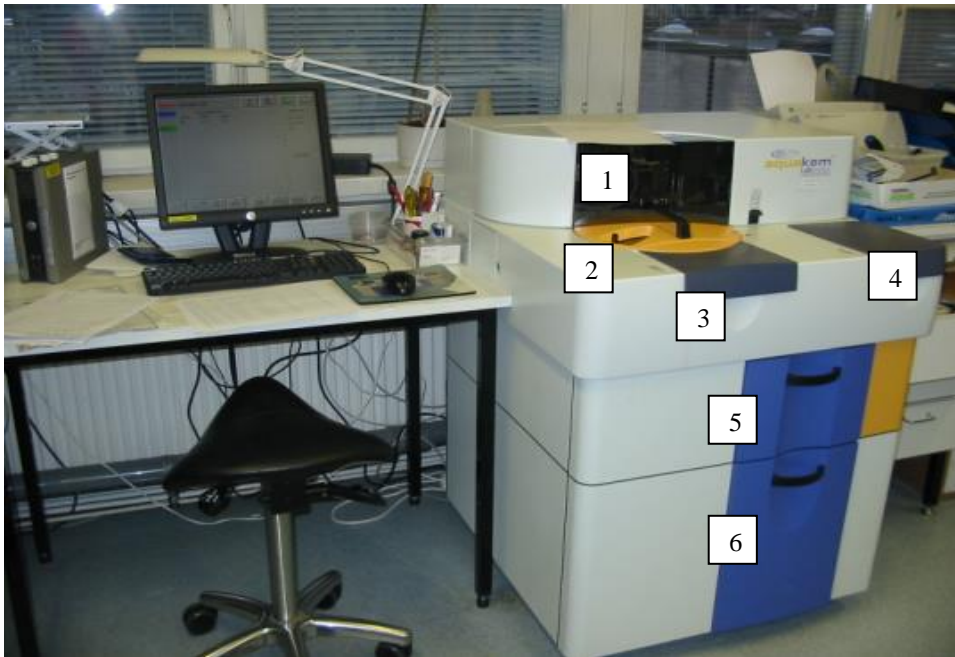
$$A(\lambda) = \log \left| \frac{I}{T(\lambda)} \right| = -\log T(\lambda) \quad (3)$$

3.1 Aquakem 250 -analysaattori

Aquakem 250 -analysaattori soveltuu mm. ammoniakin, kalsiumin, raudan, mangaanin, nitraatin ja fosfaatin määrittämiseen (Thermo scientific 2014.) Kokemäenjoen vesistön vesiensuojeluyhdistyksellä analysaattorilla määritetään veden fosfaatti- ja ammoniumtyypipitoisuuksia sekä jäte- ja vesistövesien kokonaisfosforipitoisuuksia. Lisäksi laitteelle on siirretty kuudenarvoisen kromin määritykset. Uusien laitehankintojen myötä vesistöveden ammoniumtypen, fosfaattifosforin ja kokonaisfosforin määritykset siirtyvät uudelle laitteelle ja raudan määrittäminen siirretään Shimadzu UV-1700 -spektrofotometriltä Aquakem-analysaattorille.

3.1.1 Aquakem 250 -analysaattorin toimintaperiaate

Aquakem 250 on diskreettialysaattori, jossa näytteiden värjäys tapahtuu automaattisesti ja näytteiden ja reagenssien pipetointi tapahtuu pipetointirobotin avulla. Laite inkuboi näytteitä menetelmässä määritellyn ajan, jonka jälkeen näytteet mitataan automaattisesti 600 nm aallonpituudella. Laitteen toimintaa ohjataan tietokoneen avulla, tietokoneohjelmalta löytyvät käytettävät menetelmät. (Mattsson 2011a, 1.) Kuvassa 1 on esitetty Aquakem 250 -analysaattorin pääkomponentit.



KUVA 1. Aquakem 250 -analysointilaitte. 1. Näytteen pipetointi. 2. Reagenssikotelo. 3. Kotelo näytetelineille. 4. Kyvettien lisäys. 5. Kyvettijätteen keräys. 6. Laimennusvesi- sekä jätesäiliöt.

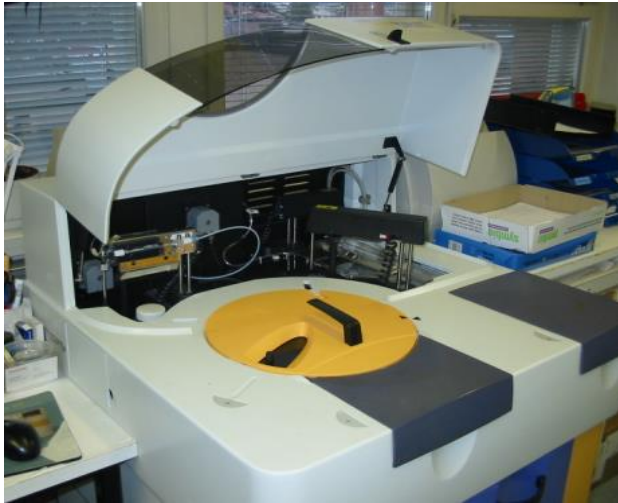
Aquakem 250 -analysointilaitteella voidaan määrittää jopa 250 näytettä tunnissa. Laitteeseen mahtuu kerrallaan kuusi näytetelinettä (kuva 2), joihin kuhunkin mahtuu 14 näytettä. Lisäksi laitteessa on paikat viidelle yksittäiselle näyttekupille. Laitteen reagenssikoteloon mahtuu kerrallaan 35 eri reagenssia, jotka laite pitää kylminä. (Thermo scientific 2009.)



KUVA 2. Rautanäytteitä näytetelineessä.

3.1.2 Aquakem 250 -analysointilaitteen käyttö

Analysointilaitteeseen kytketään päälle takana olevasta virtakytkimestä ja tietokone käynnistetään. Ennen mittauksia laitteelle suoritetaan Start up -toiminto ja laitteelle määritetään nollataso laimennusveden avulla. Ajoa varten laitteeseen asetetaan reagenssit sekä näytteet ja laite käynnistetään. Analysointilaitteeseen pipetoi automaattisesti näytteet ja reagenssit kvyetteihin (kuva 3), inkuboi niitä määritellyn ajan ja mittaa näytteet.



KUVA 3. Aquakemin pipetointirobotti suojakannen alla.

Mittausten jälkeen laitteelle tehdään Stand by -toiminto eli laite pestään natriumhypokloriittiliuoksella ja tämän jälkeen muutaman kerran vedellä.

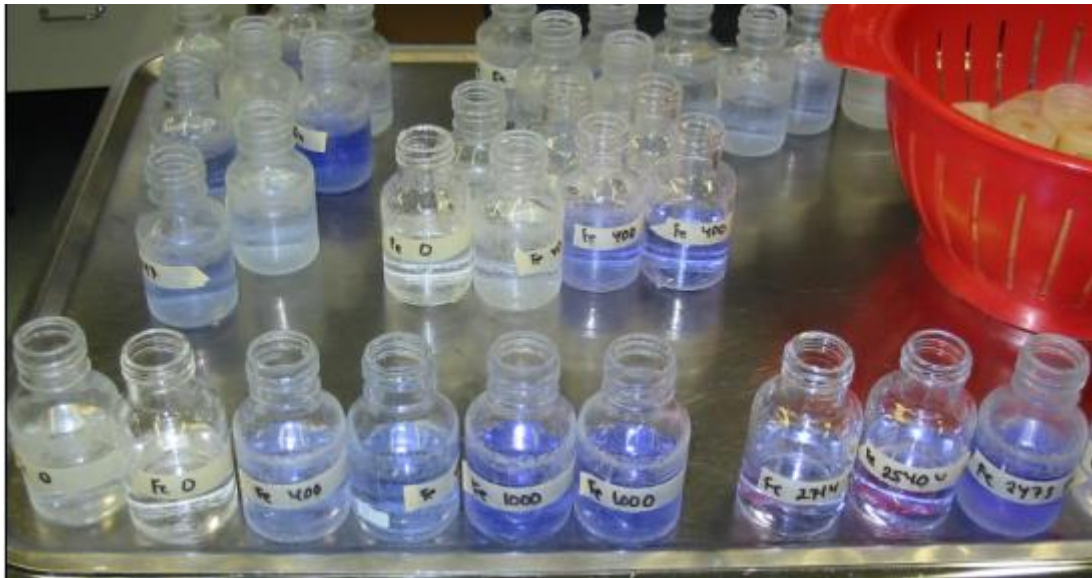
3.2 Shimadzu UV-1700 -spektrofotometri

Aiemmin rautanäytteet mitattiin Shimadzu UV-1700 -spektrofotometrillä (kuva 4). Menetelmässä rautanäytteet värjättiin manuaalisesti ja tämän jälkeen mitattiin yksi kerrallaan. Tietokoneelta löytyy raudanmääritykseen valmis pohja, jossa on valmiina kalibrointisuora sekä haluttu mittausaallonpituus.



KUVA 4. Shimadzu UV-1700 -spektrofotometri.

Laite käynnistetään hyvissä ajoin ennen mittausta, jotta se ehtii lämmetä. Autoklavointipulloissa oleviin näytteisiin lisätään annostelijalla 2 ml hydroksyyliammoniumkloridiliuosta, 2ml TPTZ-liuosta ja 2 ml natriumasetaattiliuosta. Reagenssilisäysten välissä näytteet sekoitetaan. Kuvassa 5 on värjättyjä rautanäytteitä.



KUVA 5. Värjätyt rautanäytteet Shimadzu UV-1700 -spektrofotometrille.

Näytteet voidaan mitata aikaisintaan 5 minuutin ja viimeistään 2 tunnin kuluttua värjäysliuosten lisäyksestä. Näytteisiin muodostuu violetti $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{2+}$ -kompleksiyhdiste, joka voidaan mitata 593 nm aallonpituudella. Näytteiden rautapitoisuutta voidaan arvioida silmämääräisesti jo ennen mittausta; mitä tummempi väri näytteellä on, sitä enemmän rautaa se sisältää.

3.3 Liuokset

Värjäysreagensseja valmistettiin kolme kummallekin menetelmälle. Shimadzu UV-1700 -spektrofotometrin ja Aquakem 250 -analysointorin värjäysreagenssit ovat hieman erilaiset.

Shimadzu UV-1700 -spektrofotometri

Vanhassa menetelmässä valmistetaan hydroksyyliammoniumkloridiliuos liuottamalla 100 g hydroksyyliammoniumkloridia (HONH_3Cl) veteen ja laimentamalla se 1000 ml vettä. Liuos säilyy 3 kuukautta. (Mattsson 2011b, 3.)

Toisena värjäysreagenssina käytetään 0,001 mol/l TPTZ-liuosta. Ennen liuoksen valmistusta käytettävä mittapullo huuhdotaan väkevällä suolahapolla ja sen jälkeen vedellä. Liuos valmistetaan liuottamalla 0,312 g 2,4,6-tri(2'-pyridyyli)-1,3,5-triatsiinia [$\text{C}_3\text{N}_3(\text{C}_5\text{H}_4\text{N})_3$] muutama tippaan väkevää suolahappoa (HCl) ja laimentamalla ve-

dellä 1000 millilitraksi. Liuos säilyy huoneenlämmössä ruskeassa pullossa useita kuukausia. (Mattsson 2011b, 3.)

Kolmantena värjäysreagenssina käytetään 3 mol/l natriumasetaattiliuosta. Liuos valmistetaan liuottamalla 408 g natriumasetatitrihydraattia ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) veteen ja laimentamalla 1000 millilitraksi. Liuos säilyy huoneenlämmössä ruskeassa pullossa useita kuukausia. (Mattsson 2011b, 3.)

Aquakem 250 -analysaattori

Uudessa menetelmässä valmistetaan myös kolme eri värjäysreagenssia. Asetaattipuskuriliuos valmistetaan liuottamalla 287 g kidevedetöntä natriumasetattia 300 ml vettä. Natriumasetatin liukeneminen vaatii lämmitystä. Liuokseen lisätään 115 ml jäätikkää ja tämän jälkeen liuos laimennetaan vedellä 1000 millilitraksi. Liuos säilyy lasipullossa 8 viikkoa. (Thermo Scientific 2013, 1.)

Toisena värjäysreagenssina käytetään 10 % hydroksyyliammoniumkloridia, joka valmistetaan liuottamalla 10 g hydroksyyliammoniumkloridia 100 ml vettä. Liuos säilyy lasipullossa 8 viikkoa. (Thermo Scientific 2013, 1.)

Kolmantena värjäysreagenssina käytetään 0,075 % (m/V) TPTZ-liuosta. Liuos valmistetaan liuottamalla 0,075 g 2,4,6-tri(2'-pyridyyli)-1,3,5-triatsiinia [$\text{C}_3\text{N}_3(\text{C}_5\text{H}_4\text{N})_3$] 4 millilitraan 5 mol/l suolahappoa (HCl) ja laimentamalla vedellä 100 millilitraksi. (Thermo Scientific 2013, 1.)

Näistä kolmesta värjäysreagenssista valmistetaan päivittäin värjäyksen työliuos. Työliuokseen sekoitetaan 4 ml hydroksyyliammoniumkloridiliuosta, 4 ml TPTZ-liuosta ja 10 ml asetaattipuskuriliuosta. (Thermo Scientific 2013, 1.)

Hapetusliuos

Näytteiden hapettamiseen käytetään kaliumperoksidisulfaattiliuosta. Liuos valmistetaan liuottamalla 94 g kaliumperoksidisulfaattia ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) veteen ja 22 millilitraan väkevää rikkihappoa (H_2SO_4 , tiheys 1,84 g/l) ja laimentamalla mittapullossa 2000 millilitraksi. Hapetusliuos säilyy ruskeassa lasipullossa huoneenlämmössä kolme viikkoa. (Mattsson 2011b, 3.)

Vertailunäytteiden hapettamiseen valmistettiin rikkihapoton hapetusliuos, koska vertailunäytteet oli säilötty rikkihapolla. Hapetusliuos valmistettiin liuottamalla 4,7 g kaliumperoksidisulfaattia 100 millilitraan vettä.

4 VALIDOINTI

4.1 Yleistä validoinnista

Validoinnin tarkoituksena on määritysmenetelmien ja laitteiden luotettavuuden toteaminen. Sen avulla myös arvioidaan mittausmenetelmän suorituskykyä sekä menetelmän sopivuutta käyttötarkoitukseensa. Menetelmän validointiin kuuluu koejärjestelyjen ja mittausten suorittaminen, saatujen tulosten arviointi sekä menetelmäohjeen tekeminen ja menetelmään liittyvän laadunvalvonnan suunnittelu. Validointi tehdään, kun otetaan käyttöön uusi menetelmä tai mittalaite tai käytössä olevaa menetelmää uudistetaan. Se tehdään myös, mikäli jo validoitua menetelmää käytetään toisessa laboratoriossa, eri mittalaitteella tai menetelmää käyttää uusi analyytikko. Lisäksi validointi on tarpeen, jos halutaan osoittaa kahden eri mittalaitteen tulosten yhtäläisyys. (Jaarinen & Niiranen 2005, 30; Mittatekniikakeskus 2005, 25–26; Myllylä, Virtanen & Väntsi 2013, 1.)

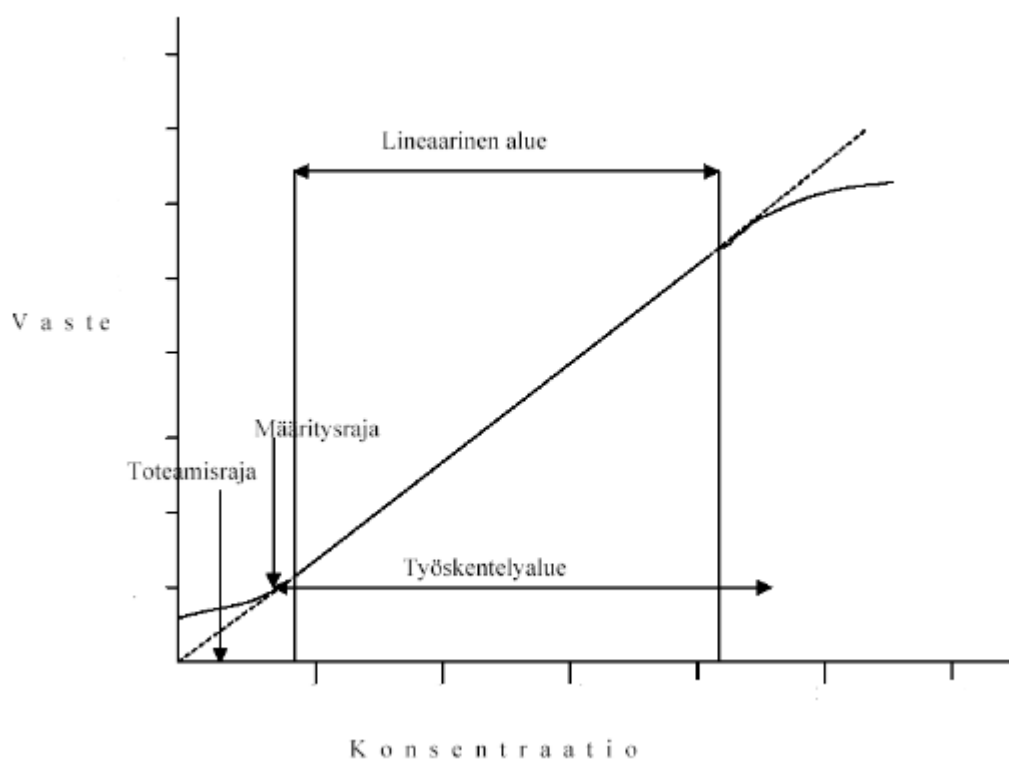
Ennen validointia laaditaan validointisuunnitelma (Liite 1). Suunnitelman laatii validoinnin ohjaaja. Suunnitelmassa kerrotaan miksi validointi tehdään, mitä laitteita käytetään sekä mitä ominaisuuksia mitataan. Validointisuunnitelmasta käy ilmi myös mittausten tekijä sekä laitteen käyttöohje ja määritysohje. Validoinnin aikana pidetään kirjaa validoinnin vaiheista. Lopuksi tuloksista ja havainnoista tehdään validointiraportti. (Myllylä ym. 2013, 2.)

4.2 Selektiivisyys ja spesifisyys

Näyte koostuu analysoitavasta yhdisteestä sekä matriisista eli näytetaustasta. Selektiivisyydellä tarkoitetaan menetelmän kykyä määrittää analysoitava aine siten, että näytteen muut komponentit eivät häiritse mittausta. Menetelmä on spesifinen, jos se on täysin selektiivinen tutkittavalle yhdisteelle. Menetelmän selektiivisyyttä ja spesifisyyttä voidaan tutkia määrittämällä erilaisia näytteitä puhtaista aineista monikomponenttisiin matriiseihin. Jokaisessa määrityksessä kartoitetaan häiritsevät tekijät ja määritetään analyysin saanto. Validoidaessa standardimenetelmää tai muuta yleisesti hyväksyttyä menetelmää, selektiivisyyttä ja spesifisyyttä ei tarvitse tarkastella. (Mittatekniikakeskus 2005, 27; Myllylä ym. 2013, 2.)

4.3 Mittausalue ja lineaarisuus

Mittausalue määritetään tutkimalla näytteitä, joissa on erilaisia pitoisuuksia tutkittavaa yhdistettä. Tulosten perusteella määritetään pitoisuusalue, jolla saavutetaan haluttu tarkkuus. Usein mittausalueella tarkoitetaan lineaarista mittausaluetta. Lineaarisuuden määrittämisessä tulisi olla vähintään viisi standardinäytettä ja niiden pitoisuuksien tulisi kattaa koko mittausalue. Jokaisella pitoisuudella tulisi suorittaa useita mittauksia. Tuloksien avulla laaditaan regressiosuora pienimmän neliösumman menetelmällä (kuvio 1). (Mittatekniikakeskus 2005, 28–29; Myllylä ym. 2013, 3.)



KUVIO 1: Mittausalueen ja lineaarisuuden määrittäminen (Mittatekniikakeskus 2005, 29, muokattu).

Regressiosuorasta voidaan silmämääräisesti määrittää lineaarinen alue sekä toteamis- ja määrittysrajat.

4.4 Toteamis- ja määritysraja

Toteamis- eli detektoriraja on analyytin pienin pitoisuus, joka voidaan todeta luotettavasti ja joka eroaa merkittävästi nollanäytteen arvosta. Toteamisraja voidaan määrittää analysoimalla nollanäytteitä toistuvasti. Nollanäytteiden tulosten perusteella taustalle lasketaan keskiarvo ja keskihajonta. Toteamisraja (95 % todennäköisyydellä) on nollanäytteiden keskiarvo lisättynä kolminkertaisella keskihajonnalla (kaava 4). (Jaarinen & Niiranen 2005, 13; Mittatekniikakeskus 2005, 29–30.)

$$\textit{Toteamisraja} = \mu_B + 3 \cdot s \quad (4)$$

missä

μ_B = nollanäytteiden keskiarvo

s = nollanäytteiden keskihajonta

Määritys- eli kvantitointiraja on analyytin pienin pitoisuus, jolle voidaan suorittaa luotettavasti kvantitatiivisia mittauksia. Määritysraja lasketaan kuten toteamisraja, mutta sen katsotaan usein olevan 5, 6 tai 10 kertaa nollanäytteen keskihajonta. Kokemäenjoen vesistön vesiensuojeluyhdistyksen käyttämä määritysraja on 9 kertaa nollanäytteen keskihajonta (kaava 5). Toteamisrajan ja määritysrajan väliin jäävällä alueella voidaan näytteen todeta sisältävän analyyttiä, mutta sen pitoisuutta ei voida luotettavasti määrittää. (Jaarinen & Niiranen 2005, 13; Mittatekniikakeskus 2005, 29–30.)

$$\textit{Määritysraja} = \mu_B + 9 \cdot s \quad (5)$$

4.5 Häiriökestävyys ja toimintavarmuus

Häiriökestävyydellä tarkoitetaan testiolosuhteissa tapahtuvien pienten muutosten vaikutusta tulosten oikeellisuuteen. Pieniä muutoksia voivat olla esimerkiksi analyysin suorittaminen eri laitteella tai eri erän kemikaaleilla. Mittausmenetelmän toimintavarmuudella tarkoitetaan menetelmän kykyä tuottaa luotettavia tuloksia pienistä muutoksista huolimatta. Häiriökestävyyttä ja toimintavarmuutta voidaan testata tekemällä pieniä muutoksia analyysitilanteeseen ja tutkia niiden vaikutusta tuloksiin. Muutoksien tulisi olla sellaisia, joita laboratoriossa ilmenee yleisesti. Tuloksiin huomattavasti vaikuttavat tekijät tulee ilmoittaa selkeästi menetelmäkuvauksessa. (Jaarinen & Niiranen 2005, 12; Mitta-

tekniikan keskus 2005, 34.) Häiriökestävyyttä ei tarkasteltu tarkemmin tämän työn yhteydessä.

4.6 Laboratorion sisäinen uusittavuus

Laboratorion sisäinen uusittavuus lasketaan kontrollinäytteiden ja varsinaisten rinnakkaisnäytteiden hajonnasta ja se vastaa satunnaisvirhettä. Luonnonnäytteiden rinnakkais-tulokset antavat realistisemmän kuvan sisäisestä uusittavuudesta kuin kontrollinäytteet, mikäli kontrollinäytteen matriisi eroaa huomattavasti luonnonnäytteiden matriisista. Sisäinen uusittavuus voidaan laskea kaavan 6 avulla. (Myllylä ym. 2013, 9.)

$$u(R_w) = \sqrt{s_{RW}^2 + s_r^2} \quad (6)$$

missä

s_{RW} = kontrollinäytteiden suhteellinen keskihajonta

s_r = luonnonnäytteiden toistettavuuskeskihajonta

Luonnonnäytteiden toistettavuuskeskihajonta voidaan laskea kaavalla 7 (Myllylä ym. 2013, 9).

$$s_r = \frac{\overline{d_{ri}} \%}{d_2} \quad (7)$$

missä

$\overline{d_{ri}} \%$ = rinnakkaismääritysten suhteellisen erotuksen keskiarvo %

d_2 = kerroin, 1,128

4.7 Menetelmän ja laboratorion poikkeama

Menetelmän ja laboratorion poikkeamalla tarkoitetaan systemaattista virhettä ($u(bias)$). Systemaattinen virhe voidaan määrittää sertifioidun referenssimateriaalin tuloksista kaavan 8 avulla. (Myllylä ym. 2013, 9.)

$$u(bias) = \sqrt{bias^2 + \left(\frac{s_{bias}}{\sqrt{n_1}}\right)^2 + u(c_{ref})^2} \quad (8)$$

missä

s_{bias} = mitatun pitoisuuden keskihajonta

$u(c_{ref})$ = varmennetun pitoisuuden standardiepävarmuus, tässä tapauksessa 5 %

n = mittausten lukumäärä

Kaavassa 8 esiintyvä *bias* voidaan laskea kaavan 9 avulla (Myllylä ym. 2013, 9).

$$bias = \frac{c_{mitattu} - c_{ref}}{c_{ref}} \cdot 100 \quad (9)$$

missä

$c_{mitattu}$ = referenssiaineen mitattu pitoisuus

c_{ref} = referenssiaineen ilmoitettu pitoisuus

4.8 Mittausepävarmuus

Mittausepävarmuudella ilmoitetaan rajat, joiden sisässä todellisen arvon tietyllä todennäköisyydellä oletetaan olevan. Mittausepävarmuus riippuu matriisista sekä pitoisuusalueesta. Mittausepävarmuudella saadaan myös käsitys tulosten laadusta ja sitä tarvitaan arvioitaessa tulosten luotettavuutta sekä tehtäessä johtopäätöksiä tuloksista. Mittausepävarmuudet koostuvat yksittäisistä epävarmuustekijöistä. Yhdistämällä nämä tekijät saadaan standardiepävarmuus (kaava 10). (Marjanen ym. 1996, 53–54.)

$$u = \sqrt{u(R_w)^2 + u(bias)^2} \quad (10)$$

Kokonaisepävarmuudesta voidaan laskea laajennettu epävarmuus (kaava 11). (Marjanen ym. 1996, 54.)

$$U = 2 \cdot u_c \quad (11)$$

missä

u_c = kokonaisepävarmuus

4.9 Tulosten luotettavuus ja oikeellisuus

Tulosten luotettavuus ja oikeellisuus varmistettiin käyttämällä standardisuoran ja kontrolliliuosten perusliuksina kaupallisia liuoksia. Kalibrintiliuksena käytettiin VWR Prolab 455522V liuosta ja kontrolliliuosten valmistuksessa Merckin 119781 liuosta.

Tulosten oikeellisuutta ja luotettavuutta selvitettiin myös mittaamalla uudestaan Suomen ympäristökeskuksen vanhojen vertailukokeiden näytteitä Aquakem-analysointilaboratoriossa. Näytteet oli mitattu Kokemäenjoen vesistön vesiensuojeluyhdistyksellä pätevyyskokeessa 25.10.2013. Tavallisista näytteistä poiketen vertailukoenäytteet oli säilötty rikkihapolla.

Vertailunäytteitä oli kaksi, joista toinen oli synteettinen näyte ja toinen pohjavesinäyte. Vertailunäytteiden tuloksia käsiteltiin z-arvon avulla. Arvo kertoo mitatun tuloksen ja referenssiarvon eron ja se voidaan laskea kaavan 12 avulla. (Ilmakunnas, Korhonen-Ylönen, Lanteri, Leivuori, Näykki, Sara-Aho, Sarkkinen, Tervonen & Väisänen 2014, 6, 27.)

$$z = \frac{x_i - X}{s_p} \quad (12)$$

missä

x_i = mitattu arvo

X = referenssi arvo

s_p = sallittu keskihajonta, tässä tapauksessa 5 %

Jotta tulokset ovat luotettavia, z-arvon tulisi olla välillä $-2 \leq z \leq 2$ (Ilmakunnas ym. 2014, 27).

4.10 Menetelmien vertailu

Menetelmien vertailu tehtiin mittaamalla näytteitä uudella ja vanhalla menetelmällä sekä vertaamalla tuloksia kaksisuuntaisen t-testin avulla (kaava 13).

$$t = \frac{\bar{d}}{\sqrt{s_d^2 / n}} = \frac{\bar{d}\sqrt{n}}{s_d} \quad (13)$$

missä

\bar{d} = tulosparien erotuksen keskiarvo

s_d = varianssi

n = tulosparien lukumäärä.

Testin tuloksia verrataan kaksisuuntaisen t-testitaulukon 5 % merkittävyytasolla ilmoitettuun arvoon. Mikäli mitattu arvo on pienempi kuin t-testitaulukossa ilmoitettu arvo, menetelmien tulokset eivät eroa toisistaan 95 % varmuudella. (Marjanen ym. 1996, 62–64.)

5 TYÖN SUORITUS

Validointi tehtiin vesistövesille, jätevesille ja talousvesille. Vesistövesinäytteinä oli järvi- ja jokivesien lisäksi pohjavesiä. Jätevesinäytteistä määritettiin kokonaisraudan ja liukoisen raudan pitoisuuksia. Liukoiset rautanäytteet suodatettiin Whatman 589/3-suodatinpaperilla. Talousvesinäytteet koostuivat lähinnä verkosto- ja kaivovesistä.

5.1 Kalibrointi

Aluksi validoinnin ohjaaja loi Aquakem 250 -analysointilaitteelle raudan määritysmenetelmän laitevalmistajan ohjeiden mukaan. Tämän jälkeen valmistettiin kalibrointiliuokset. Liuoksia mitattiin 25 millilitraa täyspipetillä autoklavointipulloon ja ne kestävoitiin 5 millilitralla kaliumperoksidisulfaattiliuosta. Tämän jälkeen kalibrointiliuokset autoklavoitiin 120 °C lämpötilassa 40 minuuttia. Pullojen jäähtyttyä suorat mitattiin rautamääritysmenetelmällä eli menetelmälle valmistettiin kalibrointisuorat.

5.1.1 Kalibrointiliuokset

Aquakem-analysointilaitteelle valmistettiin kalibrointiliuokset kahta eri kalibrointisuoraa varten. Pienemmän suoran (0-100 µg/l) pitoisuudet olivat 10, 20, 40, 60, 80 ja 100 µg/l. Isomman kalibrointisuoran (100–1500 µg/l) pitoisuudet olivat 100, 200, 500, 800, 1000 ja 1500 µg/l. Kalibrointiliuokset valmistettiin VWR:n raudan standardiliuoksesta, jonka rautapitoisuus oli 1000 µg/l. Tästä liuoksesta valmistettiin 100 ml mittapulloon 100 mg/l sisältävä liuos pipetoimalla standardiliuosta 10 ml ja laimentamalla se vedellä 100 millilitraksi. Tästä 100 mg/l sisältävästä liuoksesta tehtiin edelleen 2 mg/l rautaa sisältävä työliuos pipetoimalla 10 ml liuosta 500 ml mittapulloon ja laimentamalla vedellä. Työliuoksesta (2 mg/l) valmistettiin vielä 0,2 mg/l rautaa sisältävä liuos pipetoimalla liuosta 25 ml 250 ml mittapulloon ja laimentamalla vedellä. (Suomen standardisoimisliitto 2004, 3.)

Isomman kalibrointisuoran liuokset (100–1500 µg/l) valmistettiin 2 mg/l rautaa sisältävästä työliuoksesta ja pienemmän suoran liuokset (10–80 µg/l) 0,2 mg/l rautaa sisältävästä liuoksesta taulukon 1 mukaisesti.

TAULUKKO 1. Kalibrointiliuoksien pipetointimäärät.

Liuoksen pitoisuus (µg/l)	Pipetoitava määrä (ml)
10	5
20	10
40	20
60	30
80	40
100	5
200	10
500	25
800	40
1000	50
1500	75

Kalibrointisuorista huomattiin, että pitoisuus 1500 µg/l oli liian iso määritettäväksi, koska suora alkoi kaartua. Lisäksi pitoisuus 10 µg/l oli liian pieni määritettäväksi. Tämän vuoksi valmistettiin uudet kalibrointisuorat. Pienemmän suoran pitoisuuksiksi valittiin 0, 20, 40, 60, 80 ja 100 µg/l ja suuremman suoran pitoisuuksiksi 100, 200, 500, 800 ja 1000 µg/l. Suurimmaksi laimentamattomasta näytteestä määritettäväksi rautapitoisuudeksi saatiin siis 1000 µg/l.

Shimadzu UV-1700 -spektrofotometrillä suurin määritettävä rautapitoisuus oli 2000 µg/l. Suurinta menetelmällä mitattavaa pitoisuutta olisi haluttu kasvattaa vanhaan 2000 µg/l pitoisuuteen. Tätä kokeiltiin tekemällä kalibrointisuorat pipetoimalla kalibrointiliuoksia hapetuspulloihin vain 10 ml ja käsittelemällä ne samalla tavalla kuin aiempi kalibrointisuora. Tulosten hajonta oli kuitenkin todella suuri. Pääteltiin, että hapetusliuos muuttaa liuosten pH:ta liian paljon, joten määrittäminen pienemmällä liuosmäärällä ei ollut mahdollinen.

5.1.2 Kontrolliliuokset

Kontrolliliuosten tarkoituksena on varmistaa, että näytteiden hapetus- ja autoklavointi on onnistunut. Kontrolliliuokset mitataan näytteiden kanssa ja ne käsitellään (säilötään ja autoklavoidaan) samalla tavalla kuin näytteet. Kontrolliliuokset ovat samat vanhassa

ja uudessa menetelmässä. Kontrolliliuoksia on kolme ja ne sisältävät 40, 400 ja 1000 µg/l rautaa.

Kontrolliliuokset valmistetaan kaupallisesta rautakontrollin perusliuoksesta (Merck), jonka rautapitoisuus on 1000 mg/l. Aluksi perusliuoksesta valmistetaan 10 mg/l rautaa sisältävä työliuos pipetoimalla 5,0 millilitraa perusliuosta 500 ml mittapulloon. Mittapulloon lisätään 5 millilitraa 4 mol/l rikkihappoa ja täytetään vedellä merkkiin. Perusliuos säilyy huoneenlämmössä kolme kuukautta. (Mattsson 2011b, 4.)

Kontrollinäytteet valmistetaan pipetoimalla täyspipetillä 2, 20 ja 50 ml raudan työliuosta 500 ml mittapulloihin ja laimentamalla vedellä merkkiin. Liuokset säilyvät huoneenlämmössä viikon. (Mattsson 2011b, 4.)

5.2 Näytteiden mittaaminen

Tutkittaviksi matriiseiksi valittiin vesistö-, jäte- ja talousvedet. Jokaisesta matriisista tehtiin vähintään 20 näytteen sarja. Jätevesimatriisissa tehtiin omat näytesarjat suodatamattomista sekä suodatetuista jätevesistä. Jokaisesta näytteestä tehtiin kolme rinnakkaisnäytettä, joista kaksi mitattiin Aquakem-analysaattorilla ja yksi näyte Shimadzun spektrofotometrillä. Näytesarjoihin tehtiin lisäksi useita nollanäytteitä sekä 40, 400 ja 1000 µg/l rautaa sisältävät kontrollinäytteet. Näytteitä ja kontrolliliuoksia mitattiin 25 millilitraa mittalasilla autoklavointipulloon. Tämän jälkeen liuoksiin lisättiin 5 millilitraa kaliumperoksidisulfaattiliuosta ja näytteet autoklavoitiin. Näytteet mitattiin niiden jäähtyttyä huoneenlämpöiseksi.

6 TULOKSET

6.1 Mittausalue ja lineaarisuus

Mittausaluetta ja lineaarisuutta tutkittiin standardi- eli kalibrintinäytteiden avulla, jotka sisälsivät eri määriä rautaa. Lineaarisuutta tutkittiin kahden eri suoran avulla. Pienemmällä suoralla mitattiin näytteitä, jotka sisälsivät rautaa 0, 20, 40, 60, 80 ja 100 µg/l. Suuremmalla suoralla mitattiin aluksi näytteitä, jotka sisälsivät rautaa 100, 200, 500, 800, 1000 ja 1500 µg/l. Näistä mittauksista Aquakem-analysaattori piirsi automaattisesti kalibrintisuorat pienimmän neliösumman menetelmällä. Suuremmasta suorasta huomattiin, että suora alkoi kaartua yli 1000 µg/l pitoisuuden jälkeen. Tämän vuoksi pitoisuus 1500 µg/l jätettiin pois ja tehtiin uusi suora pitoisuuksilla 100–1000 µg/l. Kalibrintisuorat löytyvät liitteestä 2.

Pienemmän suoran korrelaatioksi saatiin 0,995914 ja suuremman suoran korrelaatioksi 0,999766 (liite 2). Suorien todettiin olevan lineaarisia koko mittausalueella. Suorien korrelaatiot eivät olleet täydellisiä, mutta tulokset olivat silti käytettäviä. Suorien korrelaatiota ja onnistumista vaikeuttaa näytteiden hapetus ja autoklavointi, joka lisää virheiden mahdollisuutta.

6.2 Toteamis- ja määrittäysraja

Toteamis- ja määrittäysrajat laskettiin nollanäytteistä ja tulos varmennettiin 40 µg/l kontrollien hajonnalla. Taulukossa 2 löytyvät nollanäytteiden ja 40 µg/l kontrollien tulokset.

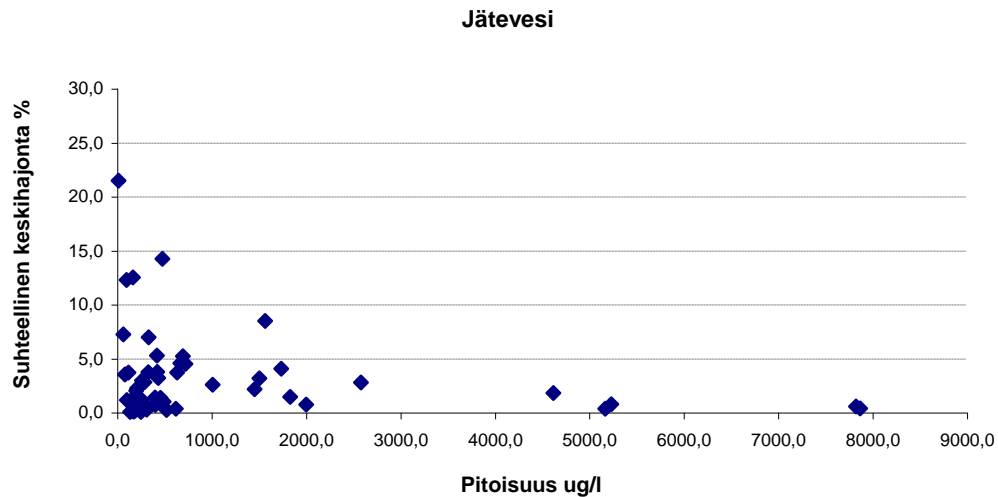
TAULUKKO 2. Nollanäytteiden ja 40 µg/l kontrollin tulokset.

Mittaus	nolla	40 µg/l
1	-2,31	37,32
2	-0,90	39,47
3	-2,30	37,54
4	3,69	38,76
5	1,40	38,86
6	0,71	41,79
7	-3,27	38,25
8	-1,17	41,70
9	-1,12	41,68
10	-1,58	42,01
11	-0,44	42,99
12	-1,18	39,77
13	1,44	40,82
14	3,30	40,60
15	-1,01	38,71
16	-2,23	39,16
17	0,40	40,81
18	-1,10	39,91
19	0,95	39,05
20	-0,26	39,91
21	-1,69	43,10
22	-2,09	43,30
keskiarvo	-0,49	40,25
keskihajonta	1,80	1,77
3*STD	5,41	5,30
9*STD	16,22	15,89

Taulukon 2 sekä kaavojen 4 ja 5 avulla voidaan laskea menetelmän toteamis- ja määritysrajat. Toteamisrajaksi saatiin 5 µg/l ja määritysrajaksi 16 µg/l. Tulokset pystyttiin varmistamaan kontrollin 40 µg/l tuloksista.

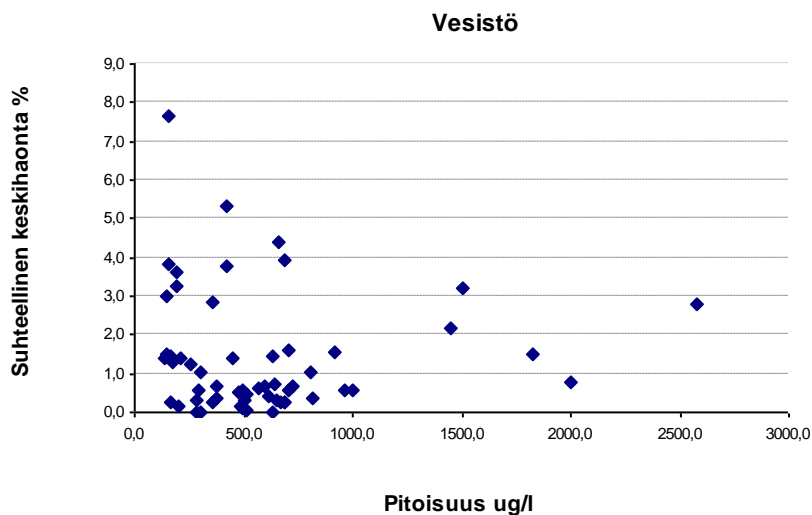
6.3 Laboratorion sisäinen uusittavuus

Laboratorion sisäinen uusittavuus laskettiin erikseen jokaiselle matriisille kontrolliliuos-ten ja näytteiden rinnakkaismääritysten perusteella. Näytteistä mitattujen tulosten perusteella huomattiin, että laboratorion sisäinen uusittavuus oli riippuvainen konsentraatiosta. Matriisit jaettiin pitoisuusalueisiin ja pitoisuusalueille laskettiin luonnonnäytteiden toistettavuuskeskihajonta (s_r) yhtälön 7 avulla. Kuviossa 2 on esitetty jätevesimatriisin näytteiden suhteellisen keskihajonnan riippuvuus konsentraatiosta.



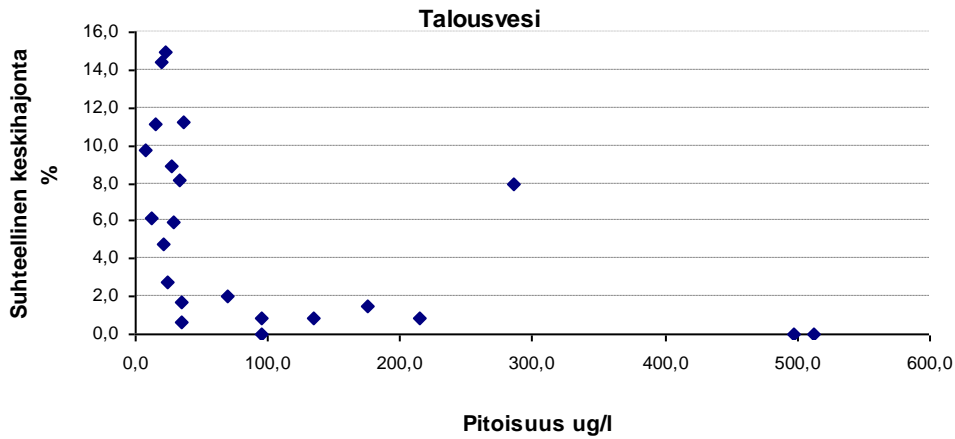
KUVIO 2. Jätevesimatriisin suhteellisen keskihajonnan riippuvuus konsentraatiosta.

Jätevesimatriisi jaettiin kahteen pitoisuusalueeseen kuvion 2 avulla. Pitoisuusalueet olivat 50–500 $\mu\text{g/l}$ ja yli 500 $\mu\text{g/l}$. Luonnonnäytteiden toistettavuuskeskihajonta pitoisuusalueelle 50–500 $\mu\text{g/l}$ oli 4,99 % ja pitoisuusalueelle yli 500 $\mu\text{g/l}$ 3,20 %. Kuviossa 3 on vesistömatriisin näytteiden suhteellisen keskihajonnan riippuvuus konsentraatiosta.



KUVIO 3. Vesistömatriisin suhteellisen keskihajonnan riippuvuus konsentraatiosta.

Kuvion 3 perusteella vesistömatriisi jaettiin pitoisuusalueisiin 50–500 $\mu\text{g/l}$ ja yli 500 $\mu\text{g/l}$. Luonnonnäytteiden toistettavuuskeskihajonta pitoisuusalueelle 50–500 $\mu\text{g/l}$ oli 2,04 % ja pitoisuusalueelle yli 500 $\mu\text{g/l}$ 1,42 %. Kuviossa 4 on talousvesimatriisin näytteiden suhteellisen keskihajonnan riippuvuus konsentraatiosta.



KUVIO 4. Talousvesimatriisin suhteellisen keskihajonnan riippuvuus konsentraatiosta.

Kuvion 4 avulla talousvesimatriisi jaettiin kolmeen pitoisuusalueeseen, jotka olivat 0–50 µg/l, 50–500 µg/l ja yli 500 µg/l. Luonnonnäytteiden toistettavuuskeskihajonta pitoisuusalueelle 0–50 µg/l oli 9,68 %, pitoisuusalueelle 50–500 µg/l 2,21 % ja pitoisuusalueelle yli 500 µg/l 0,05 %.

Kaikissa matriiseissa pitoisuusalueella 0–50 µg/l käytettiin 40 µg/l kontrolliliuosta, 50–500 µg/l pitoisuusalueella käytettiin 400 µg/l kontrolliliuosta ja pitoisuusalueella yli 500 µg/l käytettiin 1000 µg/l kontrolliliuosta. Kontrolliliuosten suhteelliset keskihajonnat (s_{RW}) löytyvät taulukosta 3.

TAULUKKO 3. Kontrollinäytteiden suhteellinen keskihajonta.

kontrollinäyte µg/l	keskiarvo µg/l	keskihajonta µg/l	suhteellinen keskihajonta %
40	40,25	1,77	4,39
400	429,62	3,95	0,92
1000	1023,34	5,24	0,51

Jokaiselle matriisille ja pitoisuusalueelle määritettiin laboratorion sisäinen uusittavuus $u(R_w)$ yhtälön 6 avulla. Sisäisen uusittavuuden tulokset ovat taulukossa 4.

TAULUKKO 4. Laboratorion sisäinen uusittavuus matriisi- ja pitoisuusalueittain.

Matriisi	Pitoisuusalue	s_{RW}	s_r	$u(R_w)$
Jätevesi	50–500 µg/l	0,92	4,99	5,07
	yli 500 µg/l	0,51	3,20	3,24
Vesistö	50–500 µg/l	0,92	2,04	2,24
	yli 500 µg/l	0,51	1,42	1,51
Talousvesi	0–50 µg/l	4,39	9,68	10,63
	50–500 µg/l	0,92	2,21	2,39
	yli 500 µg/l	0,51	0,05	0,51

Taulukosta 4 huomataan, että laboratorion sisäinen uusittavuus oli pienintä vesistömatrississa. Talousvesimatriisiin 0–50 µg/l pitoisuusalueella sisäinen uusittavuus oli huonointa, mutta tämä johtuu pienistä pitoisuuksista, jolloin suhteellinen hajonta on suuri. Kaikissa matriiseissa laboratorion sisäinen uusittavuus on sitä parempi, mitä suurempi pitoisuusalue on. Näytteiden tarkemmat tulokset löytyvät liitteestä 3.

6.4 Menetelmän ja laboratorion poikkeama

Kuten laboratorion sisäinen uusittavuus, myös menetelmän ja laboratorion poikkeama laskettiin jokaiselle matriisille ja pitoisuusalueelle erikseen. Menetelmän ja laboratorion poikkeama $u(\text{bias})$ laskettiin yhtälön 8 avulla. Tulokset on koottu taulukkoon 5.

TAULUKKO 5. Menetelmän ja laboratorion poikkeama matriisi- ja pitoisuusalueittain.

pitoisuusalue	jätevesi		vesistö		talousvesi		
	µg/l		µg/l		µg/l		
bias	50–500	yli 500	50–500	yli 500	0-50	50–500	yli 500
s_{bias}	7,40	2,33	7,40	2,33	0,63	7,40	2,33
n	0,92	0,51	0,92	0,51	4,39	0,92	0,51
$u(\text{bias})$	30	19	29	29	13	8	1
	8,93	5,52	8,93	5,52	5,18	8,94	5,54

Taulukosta 5 nähdään, että menetelmän ja laboratorion poikkeamat ovat enemmän riippuvaisia pitoisuusalueesta kuin matriisista. Tämä johtuu siitä, että menetelmän ja laboratorion poikkeamassa painotetaan enemmän kontrolliliuosten tuloksia kuin varsinaisten näytteiden tuloksia.

6.5 Mittausepävarmuus

Laboratorion sisäisen uusittavuuden sekä menetelmän ja laboratorion poikkeaman avulla määritettiin menetelmän kokonaisepävarmuus yhtälön 10 mukaisesti. Laajennettu mittausepävarmuus laskettiin kaavan 11 avulla. Laskutoimituksessa käytettiin kerrointa 2, mikä vastaa 95 % luottamusväliä. Tulokset ovat taulukossa 6.

TAULUKKO 6. Mittausepävarmuus ja laajennettu epävarmuus.

Matriisi	Pitoisuusalue	mittausepävarmuus	laajennettu epävarmuus
		u %	U %
Jätevesi	50-500 ug/l	10,27	21
	yli 500 ug/l	6,40	13
Vesistö	50-500 ug/l	9,21	18
	yli 500 ug/l	5,72	11
Talousvesi	0-50 ug/l	11,83	24
	50-500 ug/l	9,25	19
	yli 500 ug/l	5,56	11

Vesistöveden ja jäteveden alle 500 µg/l pitoisuuksille arvioitiin mittausepävarmuudeksi 10 µg/l talousveden rinnakkaismääritysten ja 40 µg/l kontrollin avulla.

6.6 Tulosten oikeellisuus ja luotettavuus

Tulosten oikeellisuutta arvioitiin mittaamalla uudestaan vanhoja vertailukoenäytteitä. Vertailukoenäytteiden tuloksia arvioitiin z-arvon avulla (kaava 12). Vertailukoenäytteiden tulokset löytyvät taulukosta 7.

TAULUKKO 7. Vertailukoenäytteiden tulokset.

Pätevyyskokeet	tulos	tavoite	z-arvo
Syke 7/2013 A1Fe	1323	1250	1,17
Syke 7/2013 G3Fe	836	800	0,90

Taulukosta 7 huomataan, että z-arvot ovat välillä $-2 \leq z \leq 2$, joten tulokset ovat luotettavia.

6.7 Menetelmien vertailu

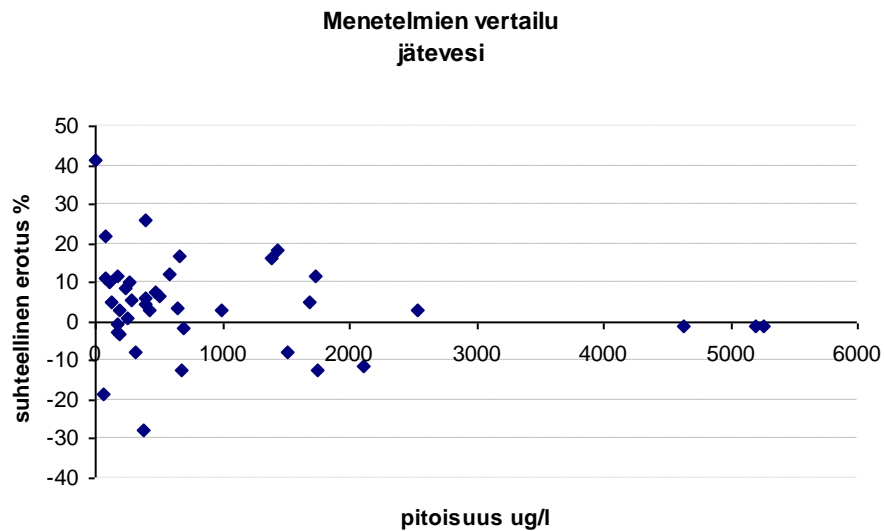
Näytteitä mitattiin sekä uudella että vanhalla menetelmällä ja tuloksia verrattiin toisiinsa t-testin avulla. Aquakem-analysaattorin rinnakkaismääritysten keskiarvoa verrattiin Shimadzu UV 1700 -spektrometrilla saatuihin tuloksiin. Tuloksista laskettiin menetelmien keskiarvo, tulosparien erotus d_i , varianssi sekä näiden avulla t-arvo (kaava 13). Testin arvoa verrattiin t-testitaulukon 5 % merkitsevyystasolla ilmoitettuun arvoon. Taulukkoon 8 on koottu osa tuloksista ja loput löytyvät liitteestä 4.

TAULUKKO 8. Menetelmien t-arvot matriiseittain.

Matriisi	Tulosparien määrä	Teoreettinen t-arvo	Laskettu t-arvo
Jätevesi	40	2,021	0,84
Vesistö	51	2,008	0,046
Talousvesi	22	2,074	1,37

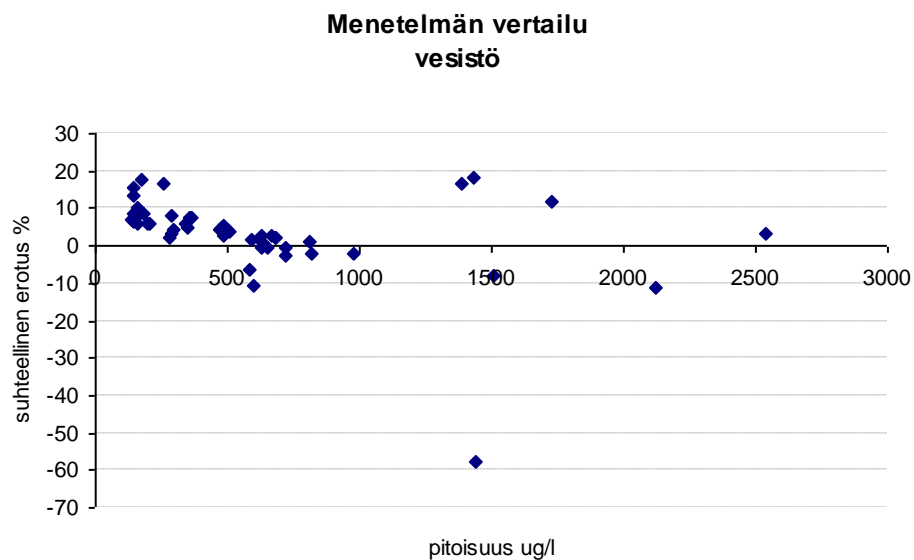
Taulukosta 8 huomataan, että lasketut t-arvot ovat pienempiä kuin teoreettiset taulukkoarvot. Tämä tarkoittaa, että tulokset eivät 95 % todennäköisyydellä eroa toisistaan. Tulospareja on vähemmän kuin menetelmän ja laboratorion poikkeamassa, koska joitakin tuloksia jouduttiin hylkäämään. Tämä johtui siitä, että kaikista tuloksista ei ollut tehty mittauksia Shimadzu UV 1700 -spektrometrilla ja muutamien tuloksien kohdalla epäiltiin olevan kontaminaatiota hapetuspullosta.

Menetelmiä vertailtiin myös suhteellisen erotuksen avulla. Kuviossa 5 on esitetty Aquakem-analysaattorilla ja Shimadzu-spektrometrilla mitattujen jätevesimatriisin tulosten suhteelliset erotukset pitoisuuden funktiona.



KUVIO 5. Jätevesimatriisin tuloksien vertailu.

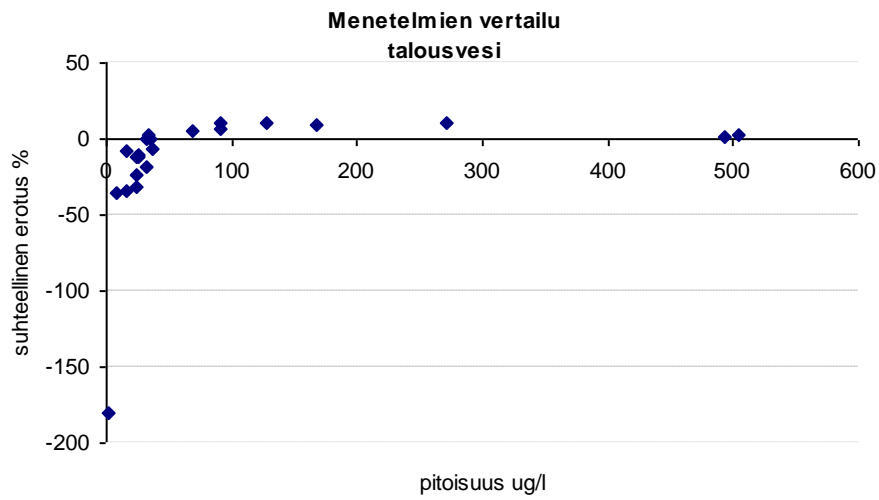
Kuvion 5 mukaan menetelmien välinen suhteellinen erotus vaihtelee lähes koko pitoisuusalueella. Syynä suuriin vaihteluihin voi olla hankala matriisi: jätevesinäytteet saattavat sisältää häiritseviä aineita, niiden pH-erot ovat suuria ja ne sisältävät usein paljon kiintoaineita. Vesistöveden suhteelliset erotukset löytyvät kuvioista 6.



KUVIO 6. Vesistövesimatriisin tuloksien vertailu

Kuvion 6 perusteella voidaan todeta, että myös vesistövesimatriisissa suhteellinen erotus vaihtelee paljon. Pienintä vaihtelu on pitoisuuksilla 500–1000 $\mu\text{g/l}$. Todella suurilla pitoisuuksilla näytteitä on jouduttu laimentamaan paljon, mikä lisää hajontaa sekä inhi-

millisten virheiden määrää. Kuviossa 7 on talousvesimatriisin suhteelliset erotukset pitoisuuden funktiona.



KUVIO 7. Talousvesimatriisin tuloksien vertailu.

Kuviosta 7 nähdään, että talousvesimatriisin suhteellinen erotus on suurin pienillä pitoisuuksilla. Suurin suhteellinen erotus on noin 180 %, mutta tämä johtuu siitä, että näytteen pitoisuus on huomattavasti alle toteamisrajan.

7 POHDINTA

Työn tarkoituksena oli validoida raudan määrittymenetelmä ja siirtää se Shimadzu UV 1700 -spektrometrilta Aquakem 250 -analysaattorille. Validointi tehtiin jätevesi-, vesistövesi- ja talousvesimatriiseille. Validoinnissa määritettiin menetelmän lineaarisuus, toteamis- ja määrittäysrajat, laboratorion sisäinen uusittavuus, laboratorion ja menetelmän poikkeama sekä mittausepävarmuus.

Menetelmän lineaarisuutta tarkasteltiin kalibrointinäytteiden avulla. Menetelmän todettiin olevan lineaarinen 1000 µg/l asti. Käytännössä siis yli 1000 µg/l rautaa sisältävät näytteet tulee laimentaa ennen määrittämistä. Vanha menetelmä oli lineaarinen 2000 µg/l asti. Aluksi luultiin, että pienemmän lineaarisen alueen vuoksi näytteitä joudutaan esikäsittelemään enemmän kuin aikaisemmin. Varsinaisia näytteitä mitattaessa huomattiin kuitenkin, että suurin osa näytteistä voidaan edelleen määrittää laimentamattomina. Jätevesinäytteistä tehtiin aiemmin yleensä 1- ja 5-kertaiset laimennokset ja huomattiin, että suurin osa näytteistä voidaan ajaa näillä laimennoksilla myös uudella menetelmällä. Pienempi lineaarinen alue ei siis lisää merkittävästi esikäsitteilyn määrää.

Menetelmälle laskettiin toteamis- ja määrittäysrajat nollanäytteiden hajonnasta ja tulokset varmistettiin 40 µg/l rautaa sisältävien kontrollinäytteiden tuloksista. Menetelmän toteamisrajaksi saatiin 5 µg/l ja määrittäysrajaksi 16 µg/l.

Laboratorion sisäistä uusittavuutta tarkasteltaessa huomattiin, että se on riippuvainen näytteiden konsentraatiosta. Tämän vuoksi matriisit jaettiin vielä pitoisuusalueisiin. Jätevesimatriisi ja vesistövesimatriisi jaettiin kahteen ja talousvesimatriisi kolmeen pitoisuusalueeseen. Jätevesimatriisin pitoisuusalueelle 50–500 µg/l saatiin laajennetuksi mittausepävarmuudeksi 21 % ja pitoisuusalueen yli 500 µg/l laajennetuksi mittausepävarmuudeksi 13 %. Vesistövesimatriisin laajennetuksi mittausepävarmuudeksi pitoisuusalueella 50–500 µg/l saatiin 18 % ja pitoisuusalueella yli 500 µg/l 11 %. Talousvesimatriisin laajennetuksi mittausepävarmuudeksi pitoisuusalueella 0–50 µg/l saatiin 24 %, pitoisuusalueella 50–500 µg/l 19 % ja pitoisuusalueella yli 500 µg/l 11 %.

Uutta ja vanhaa menetelmää verrattiin toisiinsa kaksisuuntaisen t-testi avulla 95 % luotamusvälillä. Käytännössä siis mitattiin varsinaisia näytteitä kummallakin menetelmällä

ja rinnakkaismääritysten tuloksia verrattiin toisiinsa. Tuloksista huomattiin, että menetelmät eivät 95 % todennäköisyydellä eroa toisistaan.

Aquakem-analysaattorin etuja Shimadzu-spektrometriin verrattuna on se, että näytteitä ei tarvitse värjätä ja mitata manuaalisesti. Aikaa säästyy, kun näytteiden värjäys ja mitaus tapahtuvat automaattisesti. Aquakem-analysaattoriin mahtuu kerrallaan tarvittaessa 84 näytettä ja mittausta ei tarvitse valvoa, joten mittauksen aikana pystyy tekemään myös muita työtehtäviä. Lisäksi reagenssikulutus laskee huomattavasti, sillä Aquakem-analysaattori käyttää huomattavasti pienempiä näyte- ja reagenssimääriä. Tämä näkyy myös jätteen määrässä.

Uusi menetelmä mahdollistaa lisäksi näytteiden säilyttämisen uusintamittauksia varten. Aiemmin Shimadzu-spektrometrillä värjättiin koko hapetuspullollinen näytettä ja näyte täytyi hävittää mittaamisen jälkeen. Aquakem-analysaattorin näytekuppiin mitataan näytettä vain pieni määrä, joten koko näytettä ei värjätä. Automaattinen näytteiden värjäys myös vähentää mahdollisia inhimillisiä virheitä värjäyksen yhteydessä. Aiemmin näytteet täytyi valmistaa alusta asti uudelleen, mikäli jokin värjäysreagensseista unohtui lisätä tai värjäysreagenssit lisättiin väärässä järjestyksessä.

Työn tulosten perusteella validointi todettiin onnistuneeksi ja menetelmien todettiin vastaavan toisiaan. Validoitu menetelmä otettiin käyttöön Kokemäenjoen vesistön vesiensuojeluyhdistyksellä maaliskuussa 2014.

LÄHTEET

Jaarinen, S. & Niiranen, J. 2005. Laboratorion analyysitekniikka. 5. painos. Helsinki: Edita Prima Oy.

Kokemäenjoen vesistön vesiensuojeluyhdistys ry. 2013. Luettu 30.12.2013.
<http://www.kvvy.fi>

Mattsson, R. 2011a. Käyttöohje: Aquakem 250. Kokemäenjoenvesistön vesiensuojeluyhdistys ry. Tampere.

Mattsson, R. 2011b. Menetelmäohje: Veden raudan määrittäminen. Fotometrinen menetelmä. Kokemäenjoen vesistön vesiensuojeluyhdistys ry. Tampere.

Mattsson, R., Myllylä, M., Virtanen, J. & Väntsi, S. 2013. Toimintaohje: Tulosten jäljitettävyyden, laadunohjauksen ja mittausepävarmuuden. Kokemäenjoen vesistön vesiensuojeluyhdistys ry. Tampere.

Marjanen J.(toim.), Mäkinen, I., Niemi R., Saares, R. & Suortti A. 1996. Ohjeita ympäristönäytteiden kemiallisten analyysimenetelmien validointiin. Suomen ympäristökeskus.

Myllylä, M., Virtanen, J. & Väntsi, S. 2013. Toimintaohje: Laboratoriolaitteiden ja menetelmien validointi. Kokemäenjoen vesistön vesiensuojeluyhdistys ry. Tampere.

Mittatekniikkakeskus 2005. Kemian metrologian opas. Julkaisu J6/2005. [pdf]. Luettu 31.1.2014. http://www.mikes.fi/documents/upload/j6_05_b5_nettiin.pdf

Suomen standardisoimisliitto 2004. SFS 3028: Veden raudan määrittäminen. Fotometrinen menetelmä.

Ilmakunnas, M., Korhonen-Ylönen, K., Lanteri, S., Leivuori, M., Näykki, T., Sara-Aho, T., Sarkkinen, M., Tervonen, K. & Väisänen, R. 2014. Suomen ympäristökeskuksen raportteja 3/2014: Laboratorioiden välinen pätevyyskoe 7/2013. Suomen ympäristökeskus.

Thermo Scientific 2009. Aquakem 250. Technical specifications. [pdf]. Luettu 17.2.2014.
http://www.thermo.com/eThermo/CMA/PDFs/Product/productPDF_4046.pdf

Thermo Scientific, 2013. Total iron TPTZ. Non-validated application for Thermo Scientific Gallery and Aquakem analyzers. Version 01 – 11/2013.

Thermo scientific 2014. Luettu 17.2.2014.
<http://www.thermoscientific.com/en/product/aquakem-250-photometric-analyzer.html>

Watman n.d. Vesitutkimustulosten tulkinta. [pdf]. Luettu 3.1.2014.
<http://www.watman.fi/pdf/vedenlaatu.pdf>

LIITTEET

Liite 1. Validointisuunnitelma

1(2)



KOKEMÄENJOEN VESISTÖN
VESIENSUOJELUYHDISTYS ry
Laboratorio
Riikka Mattsson

VALIDOINTISUUNNITELMA
1 (2)

3.1.2014

VALIDOINTISUUNNITELMA VEDEN RAUTAPITOISUUDEN MÄÄRITYKSESTÄ AQUAKEM-DISKREETTIANALYSAATTORILLA

1. Validoitavat menetelmät

Validoitavana menetelmänä on veden raudan määrittäminen. Validointi suoritetaan siirrettävissä mittaus suoritettavaksi spektrofotometrillä diskreettisanalysointilaitteilla. Mittaukset suoritetaan laitevalmistajan ohjeen mukaisesti. Ohje perustuu kirjaan HMSO Blue Book Methods for the Examination of Waters and Associated materials, Iron in Raw and Potable Waters by Spectrophotometry (using 2,4,6-tripyridyl-1,3,5-triazine) 1977. ISBN 011751327 X. Raudan värjäysreaktio on sama kuin standardissa SFS 3028 (1976). Näytteiden hapetus tapahtuu manuaalisesti menetelmän LA09 mukaisesti.

2. Laitteisto

- Aquakem diskreettilaitteisto (laitenro 173)
- Autoklaavi (laitenro 240)

3. Validoitavat ominaisuudet

3.1 Mittausalue ja lineaarisuus

Lineaarisuustarkastelu tehdään kahdelle eri pitoisuusalueelle. Pienemmän alueen pitoisuusalue on 10–100 µg/l ja suuremman 100–1500 µg/l. Kalibrointisuora laimennetaan valmiista kaupallisesta referenssiluoksesta.

3.2 Toteamis- ja määrittämiss raja

Toteamis- ja määrittämiss rajan määrittämistä varten mitataan nollanäytteen pitoisuus. Yhteensä rinnakkaismittauspareja on 20 kpl. Mittaukset suoritetaan pienemmällä mittausalueella. Määrittämiss raja varmennetaan käyttäen 40 µg/l kontrollinäytettä.

3.3 Tarkkuus

Tarkkuuden määrittämistä varten mitataan kontrolliluoksia 40, 400 ja 1000 µg/l. Yhteensä kontrollin määrittämissä on 20 kpl. Kontrollit laimennetaan valmiista kaupallisesta referenssimateriaalista.

3.4 Menetelmän ja laboratorion poikkeama eli systemaattinen virhe

Toistettavuus lasketaan kontrolliluosten mittaustuloksista.

3.5 Laboratorion sisäinen uusittavuus

Sisäinen uusittavuus määritetään todellisten näytteiden rinnakkaismäärittämissä ja kontrollinäytteiden tuloksista. Näytteet mitataan rinnakkaisina hapetuksesta alkaen kahtena ottona analysointilaitteilla.

3.6 Mittausepävarmuus

Mittausepävarmuus lasketaan yksittäisistä epävarmuustekijöistä. Laajennettu mittausepävarmuus lasketaan käyttämällä kerrointa 2 (95 % luottamusväli).



KOKEMÄENJOEN VESISTÖN
VESIENSUOJELUYHDISTYS ry
Laboratorio
Riikka Mattsson

VALIDOINTISUUNNITELMA
2 (2)

3.1.2014

3.7 Tulosten luotettavuus ja oikeellisuus

Tulosten oikeellisuus varmistetaan käyttämällä standardisuoran ja kontrolliliuosten perusliuoksena kaupallista liuosta. Lisäksi mitataan vanhojen vertailukokeiden näytteet uudella menetelmällä.

3.8 Vertailu menetelmien välillä

Varsinaiset näytteet mitataan sekä vanhalla menetelmällä LA09 että uudella diskreettianalysaattorimenetelmällä.

Liite 2. Kalibrointisuorat

1(2)

=====

Kalibraatiotulokset Aquakem 7.2AQ1 Sivu: 1

KVYV
Maarittaja:

12/02/2014 09:35

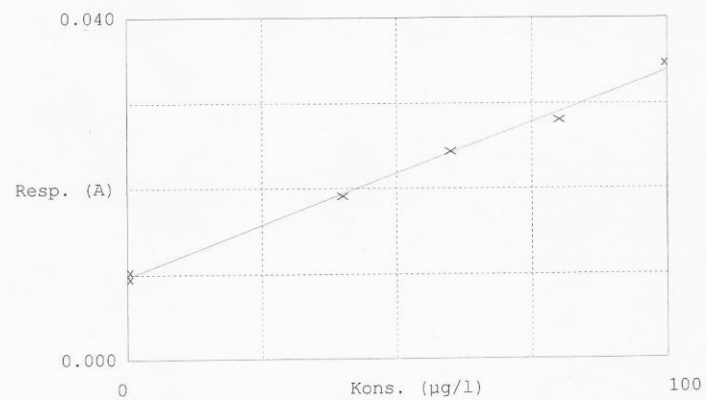
Testi Fe 0-100

Hyväksytty 21/01/2014 13:56

Factori 4141
Bias 0.010

Korrelaatio 0.995914

Virheet



	Standardi	Responssi	Laskettu	Kons.	Virheet
1	Fe 0	0.009	-1.054	0.000	
2	Fe 0	0.010	2.316	0.000	
3	Fe 40	0.019	38.830	40.000	
4	Fe 60	0.024	60.595	60.000	
5	Fe 80	0.028	76.011	80.000	
6	Fe 100	0.035	103.302	100.000	

Standardi	Informaatio
Fe 0	0
Fe 40	40 ug/l
Fe 60	60 ug/l
Fe 80	Fe 80 ug/l
Fe 100	100 ug/l

Liite 2. Kalibrointisuorat

2(2)

=====
 Kalibraatiotulokset Aquakem 7.2AQ1 Sivu: 1

KVVY
 Maarittaja:

12/02/2014 09:35

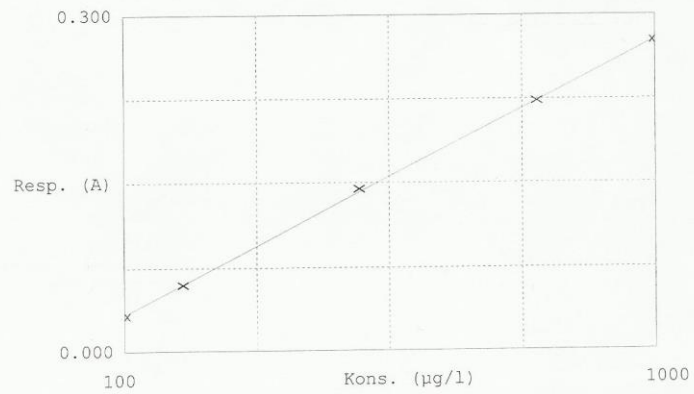
Testi Fe100-1000

Hyväksytty 17/01/2014 13:31

Factori 3674
 Bias 0.006

Korrelaatio 0.999766

Virheet



	Standardi	Responssi	Laskettu	Kons.	Virheet
1	Fe 100	0.032	96.463	100.000	
2	Fe 100	0.032	95.767	100.000	
3	Fe 200	0.060	199.497	200.000	
4	Fe 200	0.059	196.935	200.000	
5	Fe 500	0.144	509.043	500.000	
6	Fe 500	0.145	511.013	500.000	
7	Fe 800	0.223	799.137	800.000	
8	Fe 800	0.223	799.958	800.000	
9	Fe 1000	0.277	996.646	1000.000	
10	Fe 1000	0.277	995.541	1000.000	

Liite 3. Laboratorion sisäinen uusittavuus

1(3)

Jätevesimatriisi

näyte	x _{i1}	x _{i2}	keskiarvo	lerotusl	d _{ri} %	hajonta	hajonta%
1957liujv	168,46	168,76	168,61	0,30	0,18	0,21	0,13
1962liujv	310,18	308,87	309,52	1,31	0,42	0,93	0,30
s1756	176,26	147,51	161,89	28,75	17,76	20,33	12,56
s1780	316,62	333,90	325,26	17,28	5,31	12,22	3,76
sjv92	194,77	200,48	197,63	5,72	2,89	4,04	2,04
s1746	402,65	398,43	400,54	4,22	1,05	2,99	0,75
s1773	492,31	485,07	488,69	7,24	1,48	5,12	1,05
s1347	185,71	183,17	184,44	2,53	1,37	1,79	0,97
s1347x5	210,94	204,22	207,58	6,73	3,24	4,76	2,29
s1755x5	393,59	401,52	397,55	7,93	1,99	5,60	1,41
s17439	10,89	8,01	9,45	2,88	30,42	2,03	21,51
s1465	177,30	173,68	175,49	3,62	2,06	2,56	1,46
s2110	75,96	79,90	77,93	3,94	5,05	2,78	3,57
s2033	119,88	113,71	116,80	6,16	5,28	4,36	3,73
s1986	292,00	280,45	286,23	11,55	4,04	8,17	2,85
s1987	249,02	248,74	248,88	0,28	0,11	0,20	0,08
s1916	102,60	86,16	94,38	16,44	17,42	11,62	12,32
s1957	132,39	132,53	132,46	0,14	0,11	0,10	0,07
1756x5	433,85	402,40	418,13	31,45	7,52	22,24	5,32
1750x5	408,25	430,80	419,53	22,55	5,38	15,95	3,80
1957x5	449,23	458,10	453,67	8,88	1,96	6,28	1,38
1474x5	427,38	523,28	475,33	95,90	20,18	67,81	14,27
2033x5	253,40	257,85	255,63	4,45	1,74	3,15	1,23
2496x5jv	421,20	440,90	431,05	19,70	4,57	13,93	3,23
2493x5jv	96,58	98,23	97,40	1,65	1,69	1,17	1,20
2495x5jv	346,38	313,65	330,01	32,73	9,92	23,14	7,01
2476liujv	187,12	186,60	186,86	0,53	0,28	0,37	0,20
2478liujv	64,49	58,18	61,33	6,31	10,29	4,46	7,28
2497liujv	292,36	295,45	293,91	3,09	1,05	2,18	0,74
2496x5liujv	252,60	263,53	258,06	10,93	4,23	7,73	2,99
				ka d_{ri}%	5,63	s_r	4,99
s1772	642,45	685,59	664,02	43,14	6,50	30,50	4,59
s1772x5	696,39	742,57	719,48	46,18	6,42	32,65	4,54
s1810x5	7788,29	7852,74	7820,52	64,45	0,82	45,57	0,58
s1537	520,77	518,77	519,77	2,00	0,38	1,41	0,27
1810x5	7841,68	7886,70	7864,19	45,03	0,57	31,84	0,40
1772x5	2525,28	2627,63	2576,45	102,35	3,97	72,37	2,81
1773x5	1809,83	1848,30	1829,07	38,47	2,10	27,21	1,49
1780x5	619,25	615,83	617,54	3,42	0,55	2,42	0,39
2108x5	1986,48	2008,10	1997,29	21,62	1,08	15,29	0,77
1953x5	1429,05	1474,00	1451,53	44,95	3,10	31,78	2,19
1347x5	666,60	718,13	692,37	51,53	7,44	36,43	5,26
2158x5	1467,75	1655,83	1561,79	188,08	12,04	132,99	8,52
1986x5	1535,08	1467,18	1501,13	67,90	4,52	48,01	3,20
2478x5jv	1027,53	990,18	1008,85	37,35	3,70	26,41	2,62
2472x5jv	4553,73	4674,15	4613,94	120,42	2,61	85,15	1,85
2476x5jv	614,18	647,58	630,88	33,40	5,29	23,62	3,74
2473x5jv	5257,63	5198,65	5228,14	58,98	1,13	41,70	0,80
2493x5jv	5150,20	5178,20	5164,20	28,00	0,54	19,80	0,38
2693x5liujv	1681,30	1781,83	1731,56	100,53	5,81	71,08	4,11
				ka d_{ri}%	3,61	s_r	3,20

Liite 3. Laboratorion sisäinen uusittavuus

2(3)

Vesistömatrissi

näyte	x ₁₁	x ₁₂	keskiarvo	lerotusl	d _r %	hajonta	hajonta%
1264	166,72	149,59	158,16	17,13	10,83	12,11	7,66
1265	153,01	146,63	149,82	6,38	4,26	4,51	3,01
1266	157,62	149,33	153,47	8,29	5,40	5,86	3,82
1267	151,39	148,16	149,77	3,23	2,16	2,28	1,52
1268	140,77	143,63	142,20	2,86	2,01	2,02	1,42
1271	165,66	169,09	167,37	3,43	2,05	2,43	1,45
1272	175,64	172,51	174,07	3,13	1,80	2,21	1,27
1274	195,95	186,15	191,05	9,79	5,13	6,93	3,63
1275	204,64	208,74	206,69	4,10	1,98	2,90	1,40
1276	163,13	162,53	162,83	0,60	0,37	0,43	0,26
1277	202,74	203,20	202,97	0,45	0,22	0,32	0,16
1391	359,43	358,17	358,80	1,26	0,35	0,89	0,25
1396	347,19	361,42	354,30	14,23	4,01	10,06	2,84
1615	289,64	291,90	290,77	2,26	0,78	1,60	0,55
1617	282,04	282,06	282,05	0,02	0,01	0,01	0,01
1619	475,81	479,33	477,57	3,52	0,74	2,49	0,52
1620	284,66	285,89	285,27	1,23	0,43	0,87	0,30
1622	301,01	305,44	303,23	4,43	1,46	3,13	1,03
2007	495,12	491,75	493,43	3,37	0,68	2,38	0,48
2017	486,17	484,95	485,56	1,23	0,25	0,87	0,18
2018	494,87	498,83	496,85	3,96	0,80	2,80	0,56
1910	196,16	187,36	191,76	8,80	4,59	6,22	3,24
1911	301,28	301,22	301,25	0,05	0,02	0,04	0,01
1912	373,43	369,81	371,62	3,62	0,97	2,56	0,69
1912r	374,41	372,55	373,48	1,86	0,50	1,31	0,35
1913	497,20	497,78	497,49	0,58	0,12	0,41	0,08
1756x5	433,85	402,40	418,13	31,45	7,52	22,24	5,32
1750x5	408,25	430,80	419,53	22,55	5,38	15,95	3,80
1957x5	449,23	458,10	453,67	8,88	1,96	6,28	1,38
				ka d_r%	2,30	s_r	2,04
1772x5	2525,28	2627,63	2576,45	102,35	3,97	72,37	2,81
1773x5	1809,83	1848,30	1829,07	38,47	2,10	27,21	1,49
1780x5	619,25	615,83	617,54	3,42	0,55	2,42	0,39
2108x5	1986,48	2008,10	1997,29	21,62	1,08	15,29	0,77
1953x5	1429,05	1474,00	1451,53	44,95	3,10	31,78	2,19
2033x5	253,40	257,85	255,63	4,45	1,74	3,15	1,23
1986x5	1535,08	1467,18	1501,13	67,90	4,52	48,01	3,20
1278	589,72	595,35	592,54	5,63	0,95	3,98	0,67
1279	622,38	635,37	628,88	12,99	2,07	9,19	1,46
1280	651,36	648,35	649,85	3,01	0,46	2,13	0,33
1281	713,05	707,14	710,09	5,91	0,83	4,18	0,59
1281r	717,38	724,38	720,88	7,00	0,97	4,95	0,69
1600	635,67	642,40	639,03	6,73	1,05	4,76	0,74
1603	671,17	673,55	672,36	2,38	0,35	1,68	0,25
1604	817,73	806,02	811,87	11,71	1,44	8,28	1,02
1606	969,17	961,30	965,23	7,87	0,81	5,56	0,58
1625	631,94	631,84	631,89	0,09	0,02	0,07	0,01
2003	570,82	565,71	568,27	5,12	0,90	3,62	0,64
2005	511,91	508,48	510,20	3,44	0,67	2,43	0,48
2020	821,05	817,10	819,08	3,95	0,48	2,79	0,34
2021	503,64	501,58	502,61	2,06	0,41	1,45	0,29
2022	517,40	517,92	517,66	0,52	0,10	0,37	0,07
2023	693,39	690,64	692,02	2,75	0,40	1,94	0,28
2023r	691,65	689,02	690,34	2,63	0,38	1,86	0,27
2253x10	636,36	677,36	656,86	41,00	6,24	28,99	4,41
2254x10	704,71	666,76	685,73	37,95	5,53	26,83	3,91
2255x10	712,41	696,36	704,38	16,05	2,28	11,35	1,61
2259x10	999,51	1007,46	1003,48	7,95	0,79	5,62	0,56
2260x10	931,91	911,71	921,81	20,20	2,19	14,28	1,55
				ka d_r%	1,60	s_r	1,42

Liite 3. Laboratorion sisäinen uusittavuus

3(3)

Talovesimatriisi

näyte	x_{i1}	x_{i2}	keskiarvo	lerotusl	$d_{ri}\%$	hajonta	hajonta%
2635v	14,54	17,02	15,78	2,48	15,69	1,75	11,09
2639v	6,59	7,57	7,08	0,98	13,78	0,69	9,74
2539v	32,99	38,70	35,84	5,71	15,93	4,04	11,27
2535v	34,50	34,80	34,65	0,31	0,88	0,22	0,62
2534v	34,78	35,63	35,20	0,86	2,43	0,60	1,72
2459k	31,40	35,26	33,33	3,86	11,57	2,73	8,18
2462k	13,23	12,13	12,68	1,11	8,72	0,78	6,16
2140v	24,21	25,16	24,68	0,96	3,87	0,68	2,74
2398v	22,10	20,66	21,38	1,44	6,74	1,02	4,76
2396v	25,28	20,46	22,87	4,82	21,08	3,41	14,91
2388v	27,28	29,67	28,47	2,39	8,38	1,69	5,92
2402v	29,54	26,06	27,80	3,48	12,52	2,46	8,85
2247k	22,45	18,29	20,37	4,16	20,43	2,94	14,44
				ka $d_{ri}\%$	10,92	s_r	9,68
2389k	177,87	174,17	176,02	3,70	2,10	2,61	1,48
2405k	496,71	497,04	496,87	0,33	0,07	0,23	0,05
2633v	95,20	95,24	95,22	0,04	0,04	0,03	0,03
2714k	216,60	213,94	215,27	2,66	1,24	1,88	0,87
2399v	68,70	70,65	69,67	1,95	2,80	1,38	1,98
2400v	302,27	270,29	286,28	31,99	11,17	22,62	7,90
2538v	93,90	95,08	94,49	1,18	1,25	0,83	0,88
2401v	134,88	133,21	134,04	1,66	1,24	1,18	0,88
				ka $d_{ri}\%$	2,49	s_r	2,21
2540v	513,12	512,85	512,98	0,26	0,05	0,19	0,04
				ka $d_{ri}\%$	0,05	s_r	0,05

Liite 4. Menetelmien vertailu

1(3)

Jätevesimatriisi

näyte	Aquakem	Shimadzu	keskiarvo	d_i	d_i^2
1957liujv	168,61	169,27	168,94	-0,66	0,44
1962liujv	309,52	335,08	322,30	-25,55	652,98
s1780	325,26	430,90	378,08	-105,64	11159,18
s1772	664,02	641,29	652,65	22,73	516,52
s1772x5	719,48	608,97	664,22	110,51	12213,01
sjv92	197,63	191,93	194,78	5,70	32,48
s1746	400,54	376,35	388,44	24,19	585,33
s1773	488,69	452,97	470,83	35,72	1275,56
s1347	184,44	164,22	174,33	20,22	408,91
s1537	519,77	486,74	503,25	33,03	1090,78
s1755x5	397,55	379,52	388,54	18,03	325,17
s17439	9,45	6,21	7,83	3,25	10,53
s1465	175,49	180,67	178,08	-5,18	26,85
s2110	77,93	69,84	73,89	8,09	65,41
s2033	116,80	105,34	111,07	11,45	131,16
s1986	286,23	258,16	272,20	28,07	787,70
s1987	248,88	228,29	238,58	20,59	423,87
s1916	94,38	75,90	85,14	18,48	341,47
s1957	132,46	126,12	129,29	6,34	40,14
1772x5	2576,45	2496,48	2536,47	79,98	6396,40
1773x5	1829,07	1628,48	1728,77	200,59	40234,34
1780x5	617,54	546,20	581,87	71,34	5090,11
1957x5	453,67	349,22	401,44	104,45	10909,80
2108x5	1997,29	2238,89	2118,09	-241,60	58370,56
1953x5	1451,53	1567,88	1509,70	-116,35	13536,74
1347x5	692,37	704,21	698,29	-11,84	140,30
2158x5	1561,79	1299,47	1430,63	262,33	68814,41
1986x5	1501,13	1273,49	1387,31	227,64	51818,83
1987x5	1643,13	1857,93	1750,53	-214,80	46137,97
2478x5jv	1008,85	977,31	993,08	31,54	994,93
2496x5jv	431,05	418,85	424,95	12,20	148,90
2472x5jv	4613,94	4654,92	4634,43	-40,99	1679,77
2476x5jv	630,88	713,23	672,05	-82,35	6781,93
2473x5jv	5228,14	5278,32	5253,23	-50,18	2518,03
2493x5jv	5164,20	5217,71	5190,96	-53,51	2863,59
2476liujv	186,86	192,65	189,75	-5,79	33,52
2478liujv	61,33	74,03	67,68	-12,70	161,24
2693x5liujv	1731,56	1645,08	1688,32	86,49	7480,09
2497liujv	293,91	278,80	286,35	15,11	228,25
2496x5liujv	258,06	255,42	256,74	2,64	6,98
summa				493,54	354434,19
keskiarvo d_i				12,34	
variassi s_d^2				8935,72	
s_d				94,53	
t-arvo				0,83	

Liite 4. Menetelmien vertailu

2(3)

Vesistömatrissi

näyte	Aquakem	Shimadzu	keskiarvo	d_i	d_i^2
1264	158,16	135,29	146,72	22,87	523,01
1265	149,82	137,45	143,63	12,37	152,94
1266	153,47	133,99	143,73	19,49	379,67
1267	149,77	140,05	144,91	9,72	94,53
1268	142,20	132,69	137,44	9,51	90,37
1271	167,37	150,87	159,12	16,50	272,23
1272	174,07	159,53	166,80	14,54	211,50
1274	191,05	175,11	183,08	15,93	253,86
1275	206,69	195,03	200,86	11,66	135,99
1276	162,83	153,04	157,93	9,79	95,88
1277	202,97	191,13	197,05	11,84	140,09
1278	592,54	583,79	588,16	8,75	76,55
1279	628,88	633,14	631,01	-4,26	18,18
1280	649,85	652,19	651,02	-2,34	5,46
1281	710,09	727,51	718,80	-17,42	303,49
1281r	720,88	724,48	722,68	-3,61	13,00
1391	358,80	340,92	349,86	17,88	319,59
1396	354,30	333,56	343,93	20,74	430,23
1398	567,22	630,11	598,66	-62,89	3954,84
1600	639,03	622,53	630,78	16,50	272,18
1603	672,36	655,43	663,89	16,92	286,35
1604	811,87	829,03	820,45	-17,16	294,45
1606	965,23	985,75	975,49	-20,52	420,89
1615	290,77	281,40	286,08	9,37	87,84
1617	282,05	238,54	260,29	43,51	1893,03
1619	477,57	456,29	466,93	21,27	452,60
1620	285,27	278,36	281,82	6,91	47,69
1622	303,23	289,62	296,42	13,61	185,10
1625	631,89	626,00	628,94	5,89	34,72
2003	568,27	605,65	586,96	-37,38	1397,53
2005	510,20	487,90	499,05	22,30	497,27
2007	493,43	479,67	486,55	13,76	189,39
2017	485,56	463,22	474,39	22,34	499,10
2018	496,85	469,71	483,28	27,14	736,44
2020	819,08	808,25	813,66	10,82	117,13
2021	502,61	481,40	492,01	21,21	449,80
2022	517,66	497,42	507,54	20,24	409,68
2023	692,02	675,35	683,68	16,67	277,81
2023r	690,34	673,62	681,98	16,72	279,54
1910	191,76	160,61	176,19	31,15	970,38
1911	301,25	278,36	289,81	22,89	523,75
1912	371,62	345,03	358,33	26,58	706,71
1912r	373,48	347,20	360,34	26,28	690,72
1913	497,49	479,67	488,58	17,82	317,62
1772x5	2576,45	2496,48	2536,47	79,98	6396,40
1773x5	1829,07	1628,48	1728,77	200,59	40234,34
2108x5	1997,29	2238,89	2118,09	-241,60	58370,56
1953x5	1451,53	1567,88	1509,70	-116,35	13536,74
2158x5	1561,79	1299,47	1430,63	262,33	68814,41
1986x5	1501,13	1273,49	1387,31	227,64	51818,83
1987x5	1024,72	1857,93	1441,32	-833,21	694238,90
summa				45,28	952919,33
keskiarvo d_i				0,89	
variassi s_d^2				19057,58	
s_d^2				138,05	
t-arvo				0,046	

Liite 4. Menetelmien vertailu

3(3)

Talousvesimatriisi

näyte	Aquakem	Shimadzu	keskiarvo	d_i	d_i^2
2637v	0,12	2,38	1,25	-2,26	5,11
2635v	15,78	17,10	16,44	-1,32	1,75
2633v	95,22	85,93	90,57	9,28	86,15
2639v	7,08	10,17	8,63	-3,10	9,59
2540v	512,98	496,77	504,88	16,21	262,83
2539v	32,70	32,69	32,69	0,02	0,00
2535v	34,65	34,85	34,75	-0,20	0,04
2534v	35,20	37,45	36,33	-2,25	5,04
2459k	33,33	32,25	32,79	1,08	1,16
2462k	12,68	17,97	15,32	-5,29	27,97
2140v	24,68	27,92	26,30	-3,24	10,50
2399v	69,67	66,02	67,84	3,65	13,33
2400v	286,28	256,50	271,39	29,78	886,55
2398v	21,38	27,06	24,22	-5,68	32,29
2396v	22,87	25,76	24,31	-2,89	8,37
2538v	94,49	88,53	91,51	5,95	35,44
2388v	28,47	34,42	31,45	-5,95	35,34
2402v	24,03	26,62	25,33	-2,59	6,72
2401v	134,04	121,43	127,74	12,61	158,99
2247k	20,37	27,92	24,14	-7,56	57,13
2389k	176,02	159,53	167,77	16,49	271,85
2405k	496,87	490,28	493,57	6,59	43,47
		summa		59,33	1959,63
		keskiarvo d_i		2,70	
		varianssi s_d^2		85,7	
		s_d		9,26	
		t-arvo		1,37	