

Vuokko Häkkinen

**KATIONIMENETELMIEN VALIDOINTI**

**DIONEX ICS 5000 -IONIKROMATOGRAFILLE**

**KATIONIMENETELMIEN VALIDOINTI**

**DIONEX ICS 5000 -IONIKROMATOGRAFILLE**

Vuokko Häkkinen  
Opinnäytetyö  
Kevät 2016  
Energiatekniikan koulutusohjelma  
Oulun ammattikorkeakoulu

## TIIVISTELMÄ

Oulun ammattikorkeakoulu  
Energiatekniikan koulutusohjelma, laboratorio- ja ympäristötekniikka

---

Tekijä: Vuokko Häkkinen  
Opinnäytetyön nimi: Kationimenetelmien validointi ICS 5000 -ionikromatografille  
Työn ohjaaja: Eija Hakala  
Työn valmistumislukukausi ja -vuosi: Kevät 2016 Sivumäärä: 47 + 12 liitettä

---

Työn tavoitteena oli validoida kationimenetelmät ICS 5000 -ionikromatografille. Pääpaino oli ammoniumionin määrittämisessä ja sen virhelähteiden selvittämisessä. Tarkoituksena oli saada luotettavat menetelmät kationimäärittämiselle ja siirtää ammoniumin määrittäminen kokonaan ionikromatografille.

Työ tehtiin pääosin Oulun Vesi liikelaitoksen Hintan käyttölaboratoriossa ionikromatografi DIONEX ICS 5000:lla. Ionikromatografisen menetelmän laitteiden välisiä vertailumittauksia yritettiin suorittaa Oulun ammattikorkeakoulun Kotkan tien kampuksella, jossa käytettiin Methrom 881 Compact IC pro -laitetta. Oulun Vesi liikelaitoksen ammoniumin määrittämiseen käytetyn spektrofotometrisen menetelmän tuloksia verrattiin saatuihin ionikromatografisen menetelmän tuloksiin, millä varmistettiin tulosten jatkuvuus. Validointimittausten perusteella arvioitiin menetelmän soveltuvuus käyttötarkoitukseensa. Menetelmän oikeellisuutta testattiin ja arvioitiin validointimittauksilla, joiden perusteella määritettiin ioneille selektiivisyys, tarkkuus, toistettavuus, uusittavuus, toteamis- ja määrittämissrajat, häiriöalttius ja stabiilisuus.

Validointimittauksia tehtiin työn aikana paljon. Osa tuloksista oli oletusten ja aikaisemman kokemuksen mukaisia. Tulosten perusteella ammoniummäärittäminen voi siirtää ionikromatografille. Laitteen ja menetelmän toimintaa tulee kuitenkin seurata tarkasti kontrollinäyttein ja laite pitää kalibroida riittävän usein.

---

Asiasanat: Ammonium, kationi, ionikromatografi, Oulun Vesi, Dionex, validointi

# SISÄLLYS

TIIVISTELMÄ	3
SISÄLLYS	4
1 JOHDANTO	6
2 OULUN VESI LIIKELAITOS	7
2.1 Talousveden puhdistusprosessi	7
2.2 Käyttölaboratorio	7
3 IONIKROMATOGRAFIA	9
3.1 Dionex ICS-5000	9
3.2 LaboStar PRO DI 2 -ultrapuhdasvesi	10
3.3 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -ionin määrittäminen ionikromatografilla	11
4 VALIDOINTI	14
4.1 Toteamis- ja määrittämissrajat	14
4.2 Selektiivisyys	15
4.3 Häiriöalttius	15
4.4 Tarkkuus	15
4.5 Toistotarkkuus	15
4.6 Stabiilisuus	16
5 SUUNNITTELU JA TYÖN VALMISTELU	17
5.1 Kantaliuokset	19
5.2 Kontrolliliuokset	20
6 VALIDOINTIAJOT	22
6.1 Toteamis- ja määrittämissrajat	23
6.2 Selektiivisyys	23
6.3 Tarkkuus, toistettavuus, uusittavuus	24
6.4 Stabiilisuus	24
6.5 Häiriöalttius	25
7 MENETELMÄVERTAILU	27
7.1 Ammoniumin määrittäminen spektrofotometrisesti SFS 3032 -menetelmällä	27
7.2 Methrom 881 Compact IC pro	27

8 TULOKSET	29
8.1 Toteamis- ja määritysrajat	29
8.2 Selektiivisyys	30
8.3 Tarkkuus	33
8.4 Toistettavuus ja uusittavuus	34
8.5 Häiriöalttius	35
8.6 Stabiilisuus	38
8.7 Menetelmävertailu	40
9 YHTEENVETO	41
LÄHTEET	44
LIITTEET	46

# 1 JOHDANTO

Opinnäytetyö toteutettiin projektityönä Oulun Vesi liikelaitokselle. Työ kuului osana opintoja Oulun ammattikorkeakoulu Oy:n energiatekniikan koulutusohjelmaan, jossa suuntautumisenä oli laboratorio- ja ympäristötekniikka.

Oulun Vesi liikelaitos tuottaa Oulun alueelle talousvettä sekä vastaa jätevesien puhdistamisesta ja viemäröinnistä. Talousvesi tuotetaan Oulujoen pintavedestä kahdella eri pintavesilaitoksella, jotka sijaitsevat Kurkelanrannassa ja Hintsassa. Lisäksi pohjavedenottamoita on useita. Käyttölaboratorio tarkkailee verkostoon lähtevän talousveden ja raakaveden laatua sekä puhdistusprosessin toimivuutta. Veden laatua tarkkaillaan myös kantakaupungin verkostosta, alavesisäiliöistä ja vesitorneista otettavilla näytteillä. (1, s.17.)

Projektin tarkoituksena on validoida kationimenetelmiä Oulun Vesi liikelaitoksen Dionex ICS 5000 -ionikromatografille. Työn pääpaino oli  $\text{NH}_4^+$  -ionissa, jonka häiriötekijöitä ja virhelähteitä arvioitiin ja testattiin työn aikana. Tarkoituksena oli korvata kokonaan aikaisemmin ammoniumin määrittämiseen käytetty spektrofotometrinen menetelmä, jonka kemikaalit ovat myrkyllisyytensä vuoksi riski työntekijöille. Työssä ei keskitytty laitetekniikkaan, koska laitteeseen liittyen oli tehty jo aikaisemmin kaksi opinnäytetyötä. Laitteen käyttöönottoon liittyvästä opinnäytetyöstä löytyy laiteteknistä tietoa, jota tässä opinnäytetyössä ei ole selvitetty.

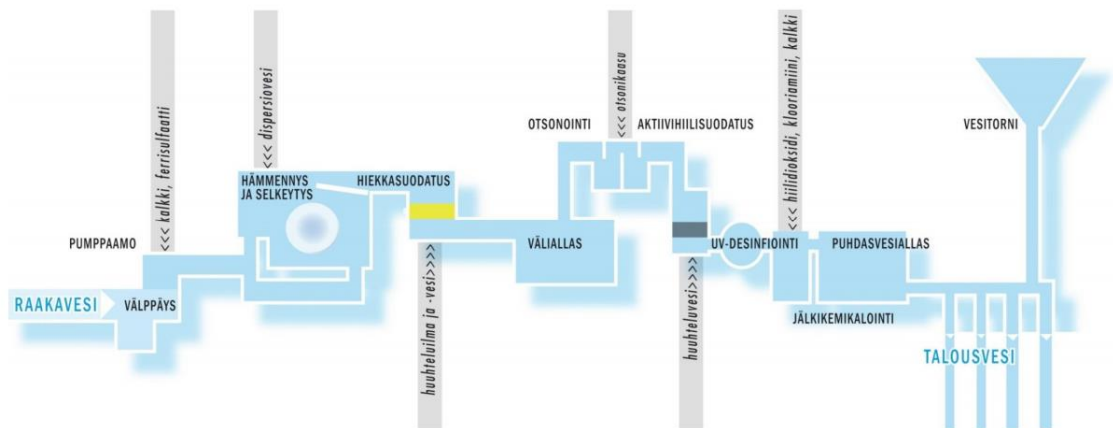
Työssä määritettiin mitattaville ioneille menetelmän selektiivisyys, tarkkuus, toistettavuus, uusittavuus, häiriöalttius, stabiilisuus ja toteamis- ja määrittämissrajat. Saatuja tuloksia verrattiin käytössä olevaan spektrofotometriseen menetelmään ja arvioitiin tulosten luotettavuutta. Vertailumittauksia suoritettiin myös Oulun ammattikorkeakoulu Oy:n Methrom 881 IC pro -ionikromatografilla laitteiden välistä vertailua varten.

## 2 OULUN VESI LIIKELAITOS

Oulun Vesi tuottaa talousvettä oululaisille kahdella pintavesilaitoksella ja usealla pohjavedenottamalla. Pintavesilaitokset sijaitsevan Hintassa ja Kurkelanrannassa, joissa valmistetaan talousvettä Oulujoen pintavedestä. Talousveden laatua seurataan säännöllisesti Oulun veden omassa käyttölaboratoriossa. Viranomaisvalvonta-analyysit tekee ulkopuolinen akkreditoitu laboratorio. (1. s. 17.)

### 2.1 Talousveden puhdistusprosessi

Raakavetenä käytettävä Oulujoen pintavesi pumpataan pintavesilaitokselle, jossa se käsitellään talousvedeksi. Puhdistusprosessissa veden epäpuhtaudet saostetaan. Saostettu vesi johdetaan flotaatioselkeytykseen ja hiekkasuodatukseen, joiden jälkeen vesi otsonoidaan, aktiivihiihliäsuodatetaan, jälkikemikalisoidaan ja desinfioidaan. Kurkelanrannassa vesi lisäksi UV-desinfioidaan. (Kuva 1.)



KUVA 1. Kurkelanrannan puhdistamon puhdistusprosessi (2, s.11)

### 2.2 Käyttölaboratorio

Oulun Veden omassa käyttölaboratoriossa tehdään talous- ja jätevesianalyysijä. Laboratoriossa analysoidaan päivittäin raakavesi- ja talousvesinäytteiden

lisäksi myös puhdistusprosessin vesinäytteitä. Talousveden laatua tutkitaan verkostoon johdettavasta vedestä, verkoston ääripäistä, uusien- ja saneerauslinjojen sekä vesitornien vesistä. Pohjavedenottamoiden vesien laatua seurataan kuukausittain. Ulkopuolinen akkreditoitu laboratorio analysoi näytteitä lakisääteisen talousveden valvontatutkimusohjelman mukaisesti, jota Oulun seudun ympäristötoimi valvoo. Myös jätevesien kuormitustarkkailuanalyysit suorittaa ulkopuolinen laboratorio. Oulun Veden käyttölaboratorio tekee jätevedestä omaa käyttötarkkailua. (1, s. 17.)



### 3 IONIKROMATOGRAFIA

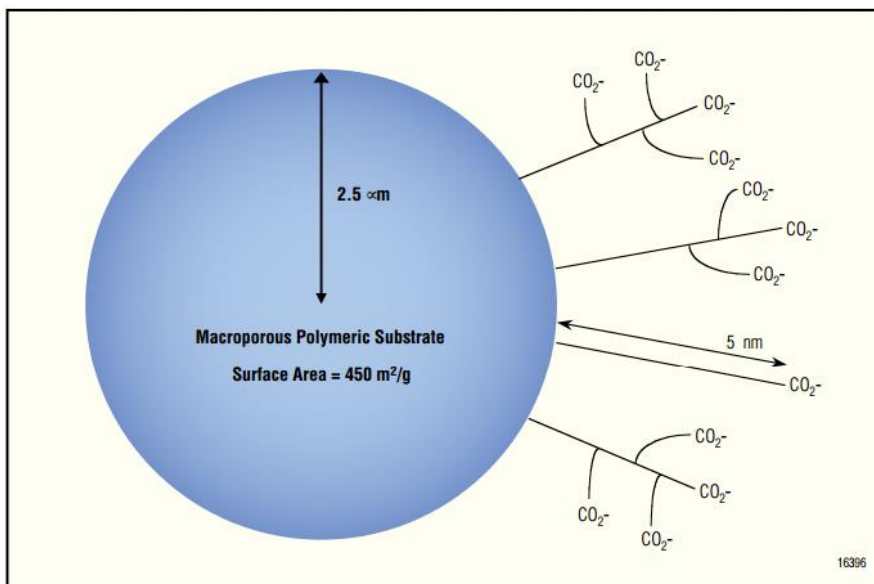
Ionikromatografia on nopea tapa määrittää näytteessä olevat ionit samalla kertaa. Monimutkaiset anioni- ja kationiseokset voidaan erottaa ja kvantitatiivisesti määrittää suhteellisen lyhyessä ajassa. Ionikromatografilla pystytään myös määrittämään hyvin pieniä pitoisuuksia. (3, s. 6.)

#### 3.1 Dionex ICS-5000

Dionex ICS-5000 on moduuleista koottu kaksikanavainen ionikromatografi, jolla voidaan määrittää veteen liuenneet anionit ja kationit samanaikaisesti. Laitteella on 50-paikkainen automaattinen näytteesyöttäjä, joka injektoidaan näytteen. Ennen injektoreita näytelinjassa on splittaus, joka jakaa näytteen anioni- ja kationikanaville. Pumput pumppaavat ultrapuhdasta vettä laitteiston vesisäilöistä eluentin valmistusmoduulille, jossa valmistetaan oikean vahvuiset eluentit. Esi- ja erotuskolonit, suppressorit ja detektorit ovat omassa moduulissaan. Kaikkia moduuleita ohjataan ja tuloksia analysoidaan Dionexin Chromeleon 7.2 -ohjelmistolla (4, s. 12–23.)

IonPac® CS16 -kolonni on suunniteltu erityisesti määrityksiin, joissa esiintyy natriumia ja ammoniumia suurilla pitoisuuksilla. CS16-kolonnin kanssa käytetään IonPac CG16 -esikolonnia. CS16-kolonni kestää matalia pH-arvoja, joten happamissa näytteissä pH:n säätämistä ei tarvita. Alkoholien pääsyä kolonniin tulee välttää. IonPac CS16 -kolonni on uniikki, hydrofiilinen, korkeakapasitettinen, karboksylaattiryhmällä päällystetty kationin vaihtaja, jolla saavutetaan tarkat piikit alkali- ja maa-alkalimetalleille sekä amiineille. IonPac CS16 -kolonni on pakattu huokoisilla, halkaisijaltaan 5 µm:n partikkeleilla, jotka koostuvat etyyli-

nyylibentseeni ja divinyylibentseenistä (kuva 2). Partikkelin pinnalla on hydrofiilinen karboksyylihappokerros. (5, s. 1–7.)



KUVA 2. Kolonnin täyttöpattikkeen läpileikkaus (5, s. 2)

ERS 500 -suppressori poistaa eluutin ja näytteen vastaionit ja korvaa ne regeneroiduilla ioneilla muuttaen eluutin heikosti dissosioimattomaan muotoon. Ionit voidaan siten helpommin detektoida matalasta taustan signaalista. Analysoitavat ionit liittyvät paremmin sähköä johtavaan happoon tai emäkseen, mikä parantaa signaalia. Suppressointi alentaa toteamis- ja määrittäysrajoja. (6, s. 8.)

### 3.2 LaboStar PRO DI 2 -ultrapuhdas vesi

LaboStar PRO DI 2 -laitteisto tuottaa ultrapuhdasta vettä 3-luokan laboratoriovedestä. Laitteistossa oleva jatkuva vedenkierto varmistaa veden korkean laadun. Johtokyky ja lämpötila mitataan jatkuvatoimisesti, ja arvoja voi seurata laitteen näytöltä. Laitteen annostelijassa käytetään positiivisesti varautunutta 0,2 μm:n steriiliä filteriä, joka sähkövarauksensa ansiosta suodattaa myös pienempiä negatiivisesti varautuneita hiukkasia. (7, s. 6.)

### 3.3 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-ionin määrittäminen ionikromatografiassa

Ammoniumilla on monia kontaminaatiolähteitä, ja hankalaksi pienien pitoisuuksien määrittämisen tekee se, että jopa huoneilmassa on mitattavia pitoisuuksia ammoniakkia. Huoneilmaan ammoniakkia pääsee pesuaineista, rakenteiden maaleista ja huoneessa oleskelevista ihmisistä. Pieniä pitoisuuksia määrittäessä ionikromatografi tulisi sijoittaa erilliseen omaan tilaansa kontaminaation välttämiseksi.

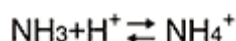
Kromatografiassa yleisesti tunnettu resoluutio-ongelma hankaloittaa ammoniumin määrittämistä tietyillä kolonneilla. Natrium ja ammonium eluoituvat lähekkäin, jolloin suuri natriumpitoisuus saattaa häiritä ammoniumin eluotumista. Suurille ammoniumin ja natriumin pitoisuuksille on suunniteltu erityisiä kolonneja, joiden erotuskyky riittää erottamaan pienetkin pitoisuudet riippumatta lähekkäin eluoituvasta ionista. (8.)

Ionikromatografiassa käytetään joko suppressioita tai suppressoitua detektointia. Suppressoinnin puolesta ja vastaan on keskusteltu jo pitkään. Suppressioimattomalla detektoinnilla voidaan käyttää lineaarista kalibrointikäyrän sovitusta, mutta suppressioimalla saadaan poistettua eluentin aiheuttamat mitattavat vasteet. Suppressioimalla päästään mittaamaan pienempiä pitoisuuksia, koska taustan häiriöitä ei ole. (9.)

Ammonium ei ole suppressoinnin jälkeen täysin dissosioituneena, joten vasteen suhde konsentraatioon alenee, kun näytteen pitoisuus kasvaa. Kalibrointikäyrällä käytetään silloin ylemmän asteen sovitusta. Kalibrointikäyrän pitoisuuksiin pitää kiinnittää myös huomiota. Kalibrointia ei voi tehdä isolle konsentraatioalueelle, ja kalibrointipisteet täytyy olla tasaisin välein, siten ettei seuraava piste ole edellisen kerrannainen. (10.)

Suppressioimattomassa metodissa käytetään heikosta hapanta puskuria tai hapanta vesiliuosta liikkuvana faasina. Kun liikkuva faasi on valmistettu, sen koostumus ja pH pysyvät muuttumattomina erotuskolonnissa ja detektorissa. Liikkuvan faasin puskurointikykyyn ja pH:n vuoksi analysoitavat ionit voidaan erottaa ja

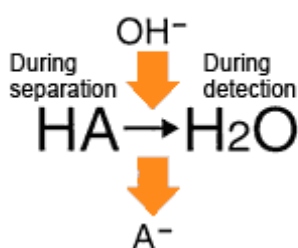
detektoida kokonaan dissosioituneena ja tuloksilla on lineaarinen korrelaatio konsentraation ja johtokyvyn välillä. Suppressoidulla metodilla eluentin koostumus muuttuu, koska siitä poistetaan taustaa häiritsevät ionit ennen detektointia. Eluentin koostumus muuttuu silloin erotuksen ja detektoinnin aikana. Suppressointi muuttaa eluentin pH:ta, ja pH:n muutos vaikuttaa amiinien dissosiaatioon. Ammoniumin tasapainotila voidaan esittää kaavalla (kuva 3).



KUVA 3. Ammoniumin tasapainotila

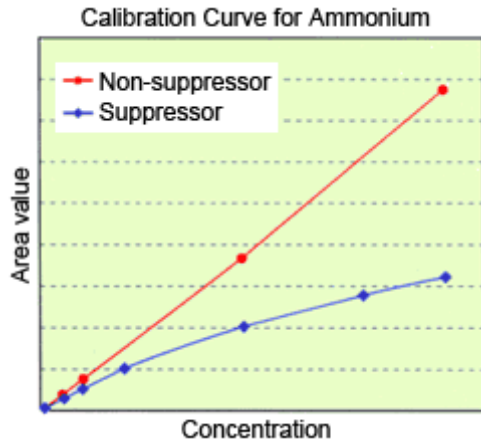
Tasapainotila muuttuu pH:n mukana. Happamissa olosuhteissa tasapaino siirtyy oikealle ja ammoniumin osuus kasvaa. Kun pH kasvaa, ammoniumpitoisuus pienenee. Liikkuvan faasin pH:n ollessa korkea dissosiaatio heikkenee ja ammoniumin suhteellinen osuus laskee vaikka näytteen konsentraatio kasvaa. Sen vuoksi suppressoitu metodi muuttaa konsentraation ja vasteen korrelaatiota ja tulokset käsitellään kaarevalla kalibrointikäyrällä. Suppressoidulla kationimenetelmällä käytetään liikkuvana faasina rikkihappoa tai metasulfonihappoa. Sulfaatti-ionit ja metasulfonaatti-ionit korvataan OH-ioneilla suppressorissa siten, että suppressoinnin jälkeen eluentti on vettä, jonka pH on 7. (Kuva 4.)(11.)

Principle of cation suppressor



KUVA 4. Suppressorin periaate (11)

Suppressoinnin vuoksi kalibrointikäyrästä tulee kaareva. Ilmiö on sitä voimakkaampi, mitä tehokkaampi suppressori on. Ilmiötä ei esiinny suppressoimattomalla menetelmällä, kun käytetään hapanta liikkuvaa faasia. (Kuva 5.)(11.)



KUVA 5. Kalibrointikäyrien sovitukset suppressoidulla ja suppressoimattomalla menetelmällä (11)

## 4 VALIDOINTI

Validoinnilla tarkoitetaan menetelmän kelvollisuuden osoittamista. Tarkoitus on testata, antaako menetelmä oikeita tuloksia niissä olosuhteissa, missä sitä käytetään. Tulokset kirjataan siten, että niiden perusteella voidaan todeta soveltuuko menetelmä aiottuun käyttöön. Validoinnin vaiheet ovat huolellinen suunnittelu, toistokokeet, tulosten käsittely ja raportointi. Validoinnissa tutkitaan erilaisia menetelmän ominaisuuksia, joiden perusteella voidaan todeta menetelmän mittausalue, lineaarisuus, herkkyys, toteamis- ja määrittämissrajat, selektiivisyys, spesifisyys, häiriöalttius, tarkkuus, toistotarkkuus ja mittausepävarmuus. Validointisuunnitelmassa tarkennetaan, mitä ominaisuuksia halutaan tutkia ja millä laajuudella. (12, s. 67; 13, s. 25.)

### 4.1 Toteamis- ja määrittämissrajat

Toteamisraja on määritettävän komponentin pienin pitoisuus, joka voidaan luotettavasti todeta, ja se eroaa kuitenkin nollanäytteen arvosta merkitsevästi. Määrittämissraja on se tutkittavan analyytin pienin pitoisuus, joka voidaan todeta riittävällä ja todetulla tarkkuudella. Toteamis- ja määrittämissrajat voidaan laskea samoista toistomittauksista. Yleisesti määrittämissrajan lasketaan olevan 5, 6 tai 10 kertaa nollanäytteen keskihajonta (kaava 1). Toteamisraja voidaan laskea olevan 3 kertaa nollanäytteen keskihajonta (kaava 2). (13, s. 29–30.) Kromatografiassa toteamis- ja määrittämissrajat voidaan laskea samoilla suhteilla taustan kohinnasta.

$$LOQ = \mu + 10s_0$$

KAAVA 1

$$LOD = \mu + 3s_0$$

KAAVA 2

$s_0$  = mittausarjan keskihajonta

$\mu_B$  = nollanäytteen tulosten keskiarvo

## 4.2 Selektiivisyys

Selektiivisyys tarkoittaa menetelmän kykyä mitata vain haluttua komponenttia matriisin vaikutuksesta huolimatta. Selektiivisyys on laite- ja komponenttikoh- taista. Selektiivisyys voidaan testata saanto-, laimennos- ja standardilisäysko- kein (kaava 3). (12, s. 96–97; 13, s. 27.)

$$\text{Saanto \%} = \frac{X}{\mu} * 100$$

KAAVA 3

$X$  = mitattu pitoisuus

$\mu$  = oikea arvo

## 4.3 Häiriöalttius

Häiriöalttius testataan tekemällä pieniä muutoksia menetelmään joko mittauk- sen aikana tai analysoinnin eri vaiheissa. Muutoksien pitää olla todellisia tilan- teita. (13, s. 33–34.)

## 4.4 Tarkkuus

Tarkkuudella tarkoitetaan mitatun tuloksen ja oikean arvon läheisyyttä. Se ku- vaa menetelmän systemaattista ja satunnaisvirhettä. Tarkkuus voidaan arvioida saantoprosentista (kaava 4) tai suoraan poikkeamana kun oikea arvo tunne- taan. (12, s. 113; 13, s. 35.)

$$\text{Tarkkuus \%} = \frac{100(X - \mu)}{\mu}$$

KAAVA 4

## 4.5 Toistotarkkuus

Toistotarkkuus ilmoitetaan suhteellisena keskihajontana, ja se voidaan jakaa toistettavuuteen ja uusittavuuteen. Toistettavuusmittaukset tehdään toistetta-

vissa olosuhteissa lyhyellä aikavälillä. Uusittavuus-käsite liittyy samalla menetelmällä tehtyyn analyysiin jossa muuttuu laite, analysoija tai laboratorio tai aika-väli on pidempi. (12, s. 108; 13, s. 37.)

#### **4.6 Stabiilisuus**

Stabiilisuus liitetään näytteiden, reagenssien ja laitteen ominaisuuksiin ja kykyyn pysyä muuttumattomana. Analyysiin käytettävän laitteen herkkyys saattaa muuttua, joten kalibroinnin pysyvyys tarkistetaan aika-ajoin mittaamalla vasteet jollekin kalibroitipisteelle. Herkkyyden muutos aiheuttaa systemaattista virhettä mittauksiin. Satunnaisvirhe aiheuttaa hajontaa mittaustuloksiin. (14, s. 9.)



## 5 SUUNNITTELU JA TYÖN VALMISTELU

Työ aloitettiin tekemällä validointisuunnitelma, johon kirjattiin ajosuunnitelmat, toistojen määrät, referenssi- ja standardiliuokset ja työn kesto. Ammoniumionin määrittämisessä perehdyttiin yleisesti tunnettuihin virhelähteisiin ja häiriötekijöihin, ja ne otettiin huomioon validointisuunnitelmaa laadittaessa. Työlle laskettiin myös budjetti projektityön luonteen vuoksi. Dionex teki laitteelle vuosihuollon ennen validointimittausten aloitusta. Huollossa kationipuolelle vaihdettiin uusi suppressori, pumppujen osat pestiin, kolonniin ja esikolonniin vaihdettiin suodattimet, injektoriin vaihdettiin uusi 25 µl:n näytesilmukka ja injektorin osat pestiin. Detektorin toimivuus tarkistettiin 1mM KCl-liuoksella. Liuoksen sähköjohtavuus mitattiin ensin käsikäyttöisellä johtokykyttarilla, minkä jälkeen liuos johdettiin detektorille. Detektorin antamaa lukemaa verrattiin edellä saatuun mittaustulokseen ja todettiin detektorin toimivan oikein.

Ajoissa käytettiin hyväksi havaittua vanhaa metodologiaa, joka oli Oulun Vedellä käytössä. Metodilla saatiin piikit erilleen kohtuullisessa ajassa, joten sitä ei lähdetty muuttamaan. Käytettävä metodi oli isokraattinen, virtaus oli 0,360 ml/min ja MSA-eluentin konsentraatio oli 38 mM. Kationikanavalla eluentti valmistettiin Dionex EGC III MSA, eluent generator cartridge methasulfonic acid -patruunasta. Erotukseen käytettiin Dionexin Ionpac CS61 -kolonnia ja esikolonniina Dionex Ionpac CG16, jotka oli suunniteltu ammoniumin ja natriumin erotukseen. Kolonnit pidettiin 40 °C:n lämpötilassa. Laitteiston painetta ja detektorin signaalin arvoja seurattiin päivittäin.

Näytteiksi valittiin Oulun Veden omia näytteitä, joista määritetään ammoniumipitoisuus kolme kertaa viikossa normaalilanteessa, eli Kurkelanrannan (JVK) ja Hintan (JVH) vedenkäsittelylaitosten verkostoon johdettavat talousvedet ja raakavesi (RVH), josta tuotetaan talousvettä. Näistä näytteistä käytettiin lyhenteitä RVH, JVH ja JVK. Kontrollinäytteiksi valittiin standardiliuoksen erivahvuisia laimennoksia ja referenssiluosten laimennoksia. Kontrolliliuosten laimennokset

valmistettiin joka päivä kantaliuoksista. Työn kaikissa vaiheissa käytettiin muovisia astioita ja liuosten valmistuksessa käytettiin muovisia Vitlab, A  $\pm$ 0,10 ml, 20 °C -mittapulloja. Pipetoinneissa käytettiin taulukossa 1 lueteltuja pipettejä.

*TAULUKKO 1. Käytetyt pipetit*

<b>Pipetti</b>	<b>Tiedot</b>	<b>Huolto ja kalibrointi</b>
Biohit	Proline XL, 0,1 – 25ml, LABH203	Pipette doctor, 12.11.2015
Finnpipette F1	Thermo scientific 0,5 – 5ml, JH47452	Pipette doctor, 2.11.2015
Finnpipette F1	Thermo scientific 100 - 1000 $\mu$ l, GH64549	Pipette doctor, 12.11.2015

Laimennoksissa ja astioiden huuhtelussa käytettiin ultrapuhdasta vettä, jonka sähkönjohtavuutta ja kationipitoisuuksia seurattiin päivittäin. Mittapullot pestiin käsin huuhtelemalla ne ultrapuhaalla vedellä. Pesuaineita ei käytetty, koska analysoitavat ammoniumpitoisuudet olivat pieniä ja pesuaineet ovat ammoniumin kontaminaatiolähde. Kyseinen pesutyö saattaa aiheuttaa muiden ionien kerääntymistä mittapulloihin. Mittapullot säilöttiin käytön jälkeen ultrapuhdasteeseen veteen ja pullot huuhdeltiin huolellisesti aina ennen käyttöä tuoreella ultrapuhaalla vedellä.

## 5.1 Kantaliuokset

Standardeina käytettiin taulukon 2 mukaisia liuoksia. Ammoniumin, magnesiumin ja kalsiumin standardien kantaliuoksina käytettiin valmiita kaupallisia liuoksia. Natriumin kantaliuos valmistettiin natriumkloridista, joka kuivattiin lämpökaapissa ennen punnitusta. Suolaa punnittiin 1,271 g, joka liuotettiin 500 ml:aan ultrapuhdasta vettä. Natriumin ja ammoniumin kantaliuoksista valmistettiin joka päivä uudet välilaimennokset, koska niiden säilyvyyttä ei ollut aikaisemmin tutkittu.

TAULUKKO 2. Standardiliuokset

Standardi	Valmistaja	Tiedot	mg/l	Laimennos	Laimennos, mg/l
Ammonium standard solution	Merck	Treaceable to SRM from NIST, NH <sub>4</sub> Cl in H <sub>2</sub> O. Exp. 2018/05/31	1000	1/100	10
Magnesium, Atomic absorption standard (AA)	Ac-custandard	2-5% Nitric acid, lot 213095039. Exp sep/2018. magnesium nitraheptahydrate, water, nitric acid	1000		
Natrium	VWR	Sodium chloride, analar normapur. Exp. 1/2017. Batch 12E250019	1000	10/100	100
Kalsium	VWR	AAS standard, AVS titrinorm. 1000 mg/l in nitric acid 2%. Exp 1/2017. Batch A70600	1000		

Mg<sup>2+</sup>-, Ca<sup>2+</sup>- ja Na<sup>+</sup>-ionien referenssiluosten kantaliuokset valmistettiin kiinteistä aineista, joita oli kuivattu eksikaattorissa usean päivän ajan. Ammoniumin referenssiluos oli valmis kaupallinen ampullista valmistettu liuos, jota käytettiin myös spektrofotometrisessä menetelmässä valvontaliuoksena. Natriumin referenssin kantaliuoksesta valmistettiin joka päivä uusi välilaimennos 10/100, jonka pitoisuus oli 100 mg/l. Referenssiluosten valmistus on esitetty taulukossa 3.

TAULUKKO 3. Referenssiluokset

Analyytti	Referenssiaine	Tiedot	Punnittu määrä, g/l	Pitoisuus, mg/l
Magneesium	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	246,48 g/mol	10,1413	1000
Kalsium	CaCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	40,078 g/mol	3,6686	1000
Natrium	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	105,99 g/mol	2,3038	1000
Ammonium	NH <sub>4</sub>	Certificate for QC WW2.1. Batch VKI-6-6-0113		12,7

## 5.2 Kontrolliliuokset

Edellisissä taulukoissa esitellyistä kantaliuoksista ja niiden välilaimennoksista valmistettiin päivittäin kontrolliliuokset, joiden avulla tehtiin validointimittauksia ja seurattiin kalibrointikäyrän stabiilisuutta. Stabiilisuuden tutkimiseksi valmistettiin standardiliuoksista jokaiseen ajoon kalibrointikäyrän alin ja ylin piste. Referenssiluoksista valmistettiin kaksi liuosta eri pitoisuuksilla (taulukko 4), joiden avulla voitiin arvioida tutkittavien parametrien konsentraatioriippuvuutta.

TAULUKKO 4. Referenssikäyttöliuosten pipetointi ja pitoisuudet

	Referenssi 1		Referenssi 2	
	mg/l	ml	mg/l	ml
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	0,0127	0,1	0,127	1
<b>Na<sup>+</sup></b>	0,1	0,1	0,4	0,4
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	1	0,1	7,5	0,75
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	1	0,1	50	5

## 6 VALIDOINTIAJOT

Validoinnin työosuus aloitettiin kalibrointikäyrien pitoisuuksien suunnittelulla ja käyrien teolla. Käyrien pisteiden pitoisuuksiksi valittiin samat, jotka olivat olleet jo aiemmin käytössä. Taulukossa 5 on esitelty kalibrointikäyrien teko. Ammoniumkäyrän pipetoinnit tehtiin 10 mg/l -välilaimennoksesta ja natriumin pipetoinnit 100 mg/l -välilaimennoksesta. Jokaisesta standardipisteestä ajettiin kolme rinnakkaismäärittystä, joista kalibrointikäyrän sovitukseen valittiin viimeinen määrittys. Näin varmistettiin, että laitteistoon ei jäänyt kontaminaatiota edellisestä liuoksesta ja koko systeemi oli huuhdeltu analysoitavalla liuoksella. Kalibrointikäyrien korrelaatiokertoimien perusteella kalibroinnit hyväksyttiin. (Liite 1.) Työssä saadut validointimittausten tulokset löytyvät liitteestä 2.

TAULUKKO 5. Kalibrointikäyrän pipetoinnit ja pitoisuudet

Std	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>		Mg <sup>2+</sup>		Ca <sup>2+</sup>		Na <sup>+</sup>	
	mg/l	ml	mg/l	ml	mg/l	ml	mg/l	ml
1	0,01	0,1	1	0,1	1	0,1	0,1	0,1
2	0,02	0,2	2,5	0,25	10	1	0,2	0,2
3	0,05	0,5	5	0,5	35	3,5	0,3	0,3
4	0,1	1	7,5	0,75	50	5	0,4	0,4
5	0,2	2	10	1	70	7	0,5	0,5

Näytteensyöttäjään mahtui 50 näytettä, ja sekvenssin pituuden vaikutusta tuloksiin haluttiin tutkia. Oulun Veden päivittäisten analyysien jatkoksi laitettiin liuos, joka sisälsi ammoniumia 0,1 mg/l ja natriumia 0,25 mg/l. Liuosta oli käytetty aiemmin Oulun Veden omaan ionikromatografian testaamiseen, joten liuoksen aiemmat tulokset olivat tiedossa. Liuokset lisättiin sekvenssiin loppuun, jolloin ne saivat paikat 30–45, eli viimeisen ajon alkaessa näyte oli joutunut odottamaan samplerissa huoneenlämmössä yli puoli vuorokautta. Tulosten perusteella päätettiin, että pitkiä sekvenssejä voidaan käyttää.

## 6.1 Toteamis- ja määritysrajat

Toteamis- ja määritysrajan tutkimiseksi valmistettiin std1-liuksesta 1:10 laimennos, josta tehtiin 10 rinnakkaismääritystä. Ajon tuloksissa huomattiin poikkeavuuksia, minkä oletettiin johtuvan kontaminaatiosta. Laitteelle tehtiin pesu vahvemmallalla eluentilla. Eluentin konsentraatio säädettiin 38 mM:sta 50 mM:iin ja suppressorin virta 41 mA:sta 53 mA:iin. Vahvemman liuksen annettiin huuhdella linjastoa tunnin, jonka jälkeen eluentin konsentraatio ja suppressorin virta säädettiin normaaleiksi. Pesun jälkeen ajettiin varmuuden vuoksi pelkkää ultra-puhdasta vettä, jolla varmistettiin linjaston puhdistuminen. Toteamis- ja määritysrajojen ajot uusittiin ja todettiin tulosten parantuneen. Kontaminaatio oli poistunut ja validointiajoja voitiin jatkaa. Määritysten keskihajonnan perusteella laskettiin ioneille toteamis- ja määritysrajat.

Rajojen tarkistamiseksi kromatogrammeista yritettiin lasketa taustan kohinan suhteella toteamis- ja määritysrajat, mutta tehokkaan suppressorin vuoksi kohina oli olematonta. Toteamis- ja määritysrajat tarkistettiin vastaavan vahvuusilla liuksilla ajamalla niistä kuusi rinnakkaismääritystä ja tarkastelemalla tulosten oikeellisuutta.

## 6.2 Selektiivisyys

Selektiivisyyttä tutkittiin kahdeksan eri ajon aikana. Selektiivisyyden määrittämiseen käytettiin referenssiliuoksia, joista tehtiin rinnakkaismäärityksiä ja tuloksista laskettiin saanto. Selektiivisyyttä päästiin tarkastelemaan myös laimennos- ja lisäyskokein, joilla tutkittiin lisäksi näytteissä olevan matriisin vaikutusta tuloksiin. RVH:sta ei voitu tehdä laimennoskokeita, koska mitattavat ionikonsentraatiot olivat pieniä laimentamattomassa näytteessä. JVH:sta tehtiin laimennos-sarja. RVH- ja JVH-näytteiden matriisivaikutusta testattiin standardilisäysmenetelmän avulla. JVK jätettiin testistä pois koska sen matriisi ja pitoisuudet ovat hyvin samankaltaisia kuin JVH:n. Näytettä mitattiin 25 ml:a 100 ml:n mittapulloon, lisättiin tunnetut määrät standardiliuoksia ja pullo täytettiin ultrapuhtaalla

vedellä merkkiin asti. Tuloksista piirrettiin Excelin avulla kuvaajat, joiden korrelaatiokertoimia verrattiin kalibrointikäyrän korrelaatiokertoimiin.

Kromatografiassa yleisesti tunnettua selektiivisyyteen vaikuttavaa resoluutio-ongelmaa tutkittiin liuoksella, joka sisälsi ammoniumia ja natriumia suurilla pitoisuuksilla. Näiden ajojen perusteella tutkittiin kahden yleisesti tunnetun lähekkäin eluoituvan ionin erottumista ja laskettiin resoluutio.

### **6.3 Tarkkuus, toistettavuus, uusittavuus**

Referenssiluosten avulla tutkittiin tarkkuutta, toistettavuutta ja uusittavuutta. Toistettavuus määritettiin myös JVH- ja RVH-näytteiden avulla, jolloin mittauksissa oli läsnä näytteissä oleva matriisi. Tutkittavia parametrejä tarkasteltiin kahdella eri pitoisuusalueella. Tarkkuus laskettiin referenssiluosten saannon perusteella ja samalla verrattiin tulosten poikkeamaa todelliseen arvoon. Toistettavuus määritettiin tulosten keskihajonnan avulla peräkkäisinä päivinä tehdyistä mittauksista ja uusittavuus laskettiin pidemmän aikavälin tuloksista.

### **6.4 Stabiilisuus**

Näytteen stabiilisuutta tutkittiin JVH- ja RVH-näytteiden avulla. Näytteitä haettiin ensimmäisenä päivänä. Osa näytteistä säilöttiin jääkaappilämpötilassa, ja loput huoneenlämmössä. Huoneenlämmössä olevat näytteet jaettiin vielä avonaisessa ja suljetussa astiassa säilöttäviin. Jääkaappilämpötilan näytettä määritettiin useana päivänä peräkkäin ja seurattiin ionikonsentraatioiden muuttumista. Huoneenlämmössä säilötyt näytteet määritettiin viikon kuluttua ja tuloksia verrattiin tuoreen näytteen tuloksiin. Kalibrointisuoran stabiilisuutta seurattiin jokaisen ajon yhteydessä. Sekvenssiin lisättiin aina kalibrointisuoran pisteet std1 ja std5, myöhemmin lisättiin seurattavaksi myös std4. Näistä mittaustuloksista seurattiin ionien pitoisuuksia.



## 6.5 Häiriöalttius

Häiriöalttiutta tutkittiin useana päivänä, monella eri tavalla. Näytteinä käytettiin samoja liuoksia kuin muissakin testeissä. Häiriöalttiutta testattiin tekemällä määrityksiin pieniä, tosielämässä todennäköisesti vastaan tulevia muutoksia. Muutoksia tehtiin liuosten pH-arvoon, laimennuksissa käytettäviin astioihin ja laitteen käyttöön.

Liuosten pH:ta muutettiin typpihapolla, jonka matriisi tunnettiin. Liuosten pH tarkastettiin kalibroidulla pH-mittarilla, ja pH:n muutokseen tarvittava hapon määrä kirjattiin ylös. Ionikromatografiseen mittaukseen menevän näytteen pH säädettiin tuoreeseen liuokseen, jota ei ollut kontaminoitu pH-elektrodilla, joten mitattavan liuoksen pH oli summittainen, mutta pH:n muutos kuitenkin selkeä. Standardiliuosten pH:t olivat valmiiksi jo hyvin matalat, pH 1,5–3,1, mikä johtui magnesium- ja kalsiumstandardien kantaliuosten typpihappopitoisuudesta. Hapoilla estetään ionien saostuminen. Näytteiden pitoisuudet mitattiin pH-arvoilla 1,5 ja 3,0 ja sekvenssiin lisättiin vertailun vuoksi myös käsittelemättömät näytteet. Saatuja tuloksia verrattiin keskenään, ja pääteltiin pH:n muutoksen vaikutus ammoniumpitoisuuksiin.

Käytettävien astioiden materiaalin vaikutusta testattiin tekemällä liuokset lasiastioihin. Ionikromatografiassa käytetään yleisesti muovisia astioita, joilla estetään etenkin natriumtulosten vääristyminen. Referenssiluokset ja standardilaimenokset valmistettiin lasi- ja muovipulloihin, ja molemmilla tavoilla valmistetuista liuoksista ajettiin kaksi rinnakkaismääritystä samassa sekvenssissä. Tuloksien keskiarvoa ja hajontaa verrattiin keskenään, mistä pääteltiin materiaalien vaikutus tuloksiin.

Aikaisempi käyttökokemus kertoi, että laite on epästabiili monta tuntia uudelleenkäynnistämisen ja ilmauksen jälkeen, minkä vuoksi testattiin, kuinka kauan aikaa kuluu oikeiden tulosten saamiseen laitteen käynnistämisen ja ilmauksen jälkeen. Laitteen annettiin asentaa viikonlopun aikana päivitykset, minkä vuoksi

laite sammuttaa automaattisesti itsensä ja pistää pois päältä kaiken paitsi de-tektoirit. Laite oli ollut pois päältä noin 17 h kun ilmaukset aloitettiin. Ensimmäinen ajo aloitettiin 40 minuutin kuluttua ilmauksesta, minkä jälkeen tehtiin yksi ajo kerrallaan referenssi- ja standardiliuoksilla ja seurattiin laitteen stabilisoitumista. Kahden ajon jälkeen huomattiin, että kationipuolen primääripumppu vuotaa. Vuoto (kuva 6) ei kuitenkaan vaikuttanut paineisiin, ja työtä päätettiin jatkaa tekemällä lisää ajoja, joilla tutkittiin, vaikuttaako vuoto tuloksiin. Laite ajastettiin seuraavalle aamulle tekemään ajot referenssi- ja standardiliuoksista, joiden tulosten perusteella päätettiin laitteen toimintakunto. Primääripumppuun vaihdettiin uusi mäntä, minkä jälkeen vuotoa ei enää ollut.



*KUVA 6. Vuoto primääripumpussa*

## **7 MENETELMÄVERTAILU**

Vertailua suoritettiin käyttölaboratoriossa käytössä olevalla spektrofotometrisellä menetelmällä ja Oamkin laboratoriossa olevalla Methrom-ionikromatografilla. Menetelmävertailut suunniteltiin tehtäväksi yhtenä päivänä samoista liuoksista, mutta käytännössä se osoittautui mahdottomaksi mm. lämpökaapin tilan puutteen vuoksi. Methrom-ionikromatografian paineissa oli pieniä ongelmia, joten menetelmävertailu venyi senkin vuoksi useammalle päivällä.

### **7.1 Ammoniumin määrittäminen spektrofotometrisesti SFS 3032 -menetelmällä**

Spektrofotometrisen menetelmän vertailun työosuuteen osallistui Oulun Veden henkilökunta. Työ tehtiin SFS 3032, veden ammoniumtyypen määrittäminen -ohjeen mukaan. Vertailunäytteet sisällytettiin päivittäisiin määrittämiin, ja samoista näytteistä mitattiin pitoisuudet ionikromatografilla. Vertailunäytteiksi otettiin molemmat referenssi-liuokset ja Oulun Veden näytteet, RVH, JVH ja JVK. Oulun Vedellä oli ollut jo aikaisemmin referenssinäytteenä liuos, jonka pitoisuus oli 0,127 mg/l. Vertailuun otettiin lisäksi laimeampi referenssinäyte pitoisuudella 0,0127 mg/l. Kaikki liuokset valmistettiin muoviseen mittapulloon, josta näytteet jaettiin määrittäviksi spektrofotometrille ja ionikromatografille. Vertailumäärittämiä tehtiin yhdeksänä päivänä. Spektrofotometrisen ja ionikromatografisen menetelmien tulokset taulukoitiin, laskettiin tulosten erotuksen, erotusten keskihajonta. Tuloksia vertailtiin t-testillä.

### **7.2 Methrom 881 Compact IC pro**

Laitteiden välistä vertailua tehtiin Oamkin ionikromatografilla, Methrom 881 Compact IC pro, jossa oli näytteensyöttäjänä 858 Professional Sample processor. Laitteessa ei ollut suppressoria, joten oletuksena oli epätarkkoja tuloksia pienillä pitoisuuksilla ja taustan suurempi kohina kuin Dionexin laitteella.

Vertailuun käytettiin kaksi työpäivää. Tarvittavat liuokset valmistettiin kumpanakin päivänä Oulun Veden käyttölaboratoriossa samoilla pipeteilla, samoihin pulloihin kuin Dionex määrityksissä, jotta pipettien, mittapullojen ja ultrapuhtaanveden muutoksesta johtuvat tuloksien poikkeamat saatiin poistettua. Työn alussa täytettiin eluenttisäiliö pipetoimalla eluenttikonsentraattia 100 ml ja säiliö täytettiin kahteen kg:n asti ultrapuhtaalla vedellä. Laite käynnistettiin, ilmattiin ja annettiin tasapainottua. Käytettävä metodi testattiin liuksella, jossa oli 0,1 mg/l ammoniumia ja 1,5 mg/l natriumia. Nämä ionit ovat kromatogrammilla kriittisin kohta, joka haluttiin testata, onko resoluutio riittävä. Käytettävän metodin virtaus oli 0,9 ml/min, paine 1–8 MPa ja näytesilmukka 20 µl. Kolonniuuninlämmittäjä kytkettiin pois päältä, ja koko systeemi oli mittausten ajan huoneenlämmössä. Erotukseen käytettiin Methrom C 4 – 150/4,0 -kolonnia.

Ensimmäisenä päivänä tehtiin kalibrointikäyrä. Ensimmäinen sekvenssi epäonnistui, koska laitteen paineet nousivat liikaa, minkä vuoksi laite sammutti itse itsensä. Kalibrointikäyrä uusittiin ja näytteinä ajettiin RVH, JVH, JVK, ref1, ref2, std1, std4 ja std5. Tuloksia verrattiin samana päivänä Dionex-ionikromatografilla ajettuihin tuloksiin. Tulokset poikkesivat laitteiden välillä suuresti, ja Methrom-laitteen pohjaviiva oli epävakaata. Tulokset hylättiin ja todettiin, että pienien pitoisuuksien määrittämiseen tarvitaan laite, jossa on suppressori taustan häiriötä pienentämään.

## 8 TULOKSET

### 8.1 Toteamis- ja määrittämissrajat

Tulokset laskettiin alimman kalibrointikäyräliuoksen 1:10 laimennoksen, kymmenen rinnakkaismäärittämissrajituksen perusteella (taulukko 6.)

TAULUKKO 6. Laskennalliset toteamis- ja määrittämissrajat

	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>
$\bar{x}$	0,003	n.a.	0,14	0,26
s	0,001	n.a.	0,00	0,00
LOD	0,002	n.a.	0,00	0,01
LOQ	0,006	n.a.	0,00	0,02

Tulokset olivat todella pieniä, koska laite oli juuri huollettu ja pesty ja liuos oli todella laimea. Ammoniumin tulokset ovat oikeita. Natriumin tulokset olivat niin matalia, ettei piikkien pinta-aloja mitattu. Magnesiumtuloksille ei saatu hajontaa joten toteamis- ja määrittämissrajoja ei pystytty laskemaan. Kalsiumin hajonta oli pientä ja pelkästään ultrapuhtaasta vedestä mitattiin kalsiumia n. 0,18 mg/l, joten määrittämissrajan tulisi olla reilusti korkeampi kalsiumin osalta.

Lasketut rajat olivat todella matalat, joten rajoja yritettiin määrittää myös taustan kohinan suhteilla. Kohinaa ei tällä tavalla tarkasteltaessa havaittu. Määrittämissrajat tarkistettiin standardiliuoksella, jonka pitoisuudet olivat natriumin, magnesiumin ja kalsiumin alimmat kalibrointikäyrän pisteet ja ammoniumin 0,006 mg/l. Taulukossa 7 on esitetty määrittämissrajojen tarkistusarvojen tulosten keskiarvot, keskihajonnat ja poikkeamat laskennallisesta arvosta.

TAULUKKO 7. Tarkistettujen määritys- ja toteamisrajojen tulokset, mg/l

	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>
$\bar{x}$	0,007	0,09	0,98	1,09
s	0,001	0,00	0,00	0,00
s%	7,7	1,9	0,5	0,2
poikkeama	0,001	-0,01	-0,02	0,09
poikkeama%	11,1	-8,5	-2,2	9,0

Tulosten perusteella voidaan päätellä, että määritysrajat ovat kohdallaan. Vaikka ammoniumin kalibrintikäyrän tarkkuus oli kahdella desimaalilla ja pienimmän kalibrintipisteen pitoisuus oli 0,01 mg/l, saatiin kuitenkin tarkkoja tuloksia vaikka ammoniumin tulokset olivat alle alimman standardin ja kolmella desimaalilla. Todelliseksi ja tarkistetuksi määritysrajaksi saatiin ammoniumille 0,01mg/l. Natriumin määritysrajaksi saatiin 0,1 mg/l, magnesiumin ja kalsiumin määritysrajoiksi 1,0 mg/l.

## 8.2 Selektiivisyys

Selektiivisyyttä tutkittiin eri tavoin referenssinäytteistä. Ajoja tehtiin kolmen viikon ajalla, jakson alussa ja lopussa. Tuloksissa pitää huomioida pumpun vuotaminen, ja siitä aiheutuneet huoltotoimet. Selektiivisyydsmääritysten viimeinen ajo tehtiin pumpun männän vaihtamisen jälkeen. Taulukoissa 8 ja 9 on esitetty referenssinäytteiden saannot.

TAULUKKO 8. Referenssi 1 -liuoksen tulokset

	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>
$\bar{x}$	0,012	0,1	1,1	1,1
s	0,001	0,0	0,0	0,0
Saanto max	110,2	98,0	112,7	115,8
Saanto min	78,7	92,0	108,1	108,8

TAULUKKO 9. Referenssi 2 -liuoksen tulokset

	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>
$\bar{x}$	0,119	0,4	7,9	49,2
s	0,003	0,0	0,1	0,3
Saanto max	97,6	99,0	106,7	99,3
Saanto min	90,6	94,3	104,3	97,4

Taustan matriisiin vaikutusta tutkittiin tekemällä RVH- ja JVH-näytteisiin tunnetut standardilisäykset. Tuloksista piirrettiin kuvaajat ja verrattiin saatuja korrelaatiokertoimia kalibrointikäyrän korrelaatiokertoimiin (taulukko 10). Ammoniumin ja natriumin tulokset olivat hyvät, mutta magnesiumin ja kalsiumin tulokset olivat odotettua huonommat. Käyrät kaartuivat tietyillä pitoisuuksilla odottamattomasti. (Liite 3.)

TAULUKKO 10. Standardilisäysmenetelmän korrelaatiokertoimet

	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>
JVH	0,9955	0,9989	0,9873	0,9576
RVH	0,9936	0,9999	0,9727	0,9767

Mitattuja tuloksia verrattiin laskennallisiin tuloksiin, joiden perusteella nähtiin absoluuttinen ja suhteellinen erotus, ja pystyttiin arvioimaan, saatiinko kaikki lisätty standardiliuos mitattua. (Taulukot 11 ja 12.)

TAULUKKO 11. RVH-näytteen laskennalliset ja mitatut tulokset

Laskennalliset	RVH	1:1	1:4	Lisäys 1	Lisäys 2	Lisäys 3	Lisäys 4	Lisäys 5
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,010	0,003	0,013	0,028	0,053	0,078	0,103
	Na <sup>+</sup>	1,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8
	Mg <sup>2+</sup>	1,0	0,3	1,3	2,8	5,3	7,3	8,3
	Ca <sup>2+</sup>	3,0	0,7	1,7	10,7	35,7	50,7	60,7
Mitatut	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,010		0,013	0,025	0,049	0,072	0,097
	Na <sup>+</sup>	1,2		0,5	0,6	0,6	0,7	0,8
	Mg <sup>2+</sup>	1,0		1,3	2,3	5,3	7,3	8,4
	Ca <sup>2+</sup>	3,0		1,8	10,6	35,9	50,9	61,0

TAULUKKO 12. JVH-näytteen laskennalliset ja mitatut tulokset

Laskennalliset	JVH	1:1	1:4	Lisäys 1	Lisäys 2	Lisäys 3	Lisäys 4	Lisäys 5
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,017	0,004	0,014	0,029	0,054	0,079	0,104
	Na <sup>+</sup>	0,5	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6
	Mg <sup>2+</sup>	0,3	0,1	1,1	2,6	5,1	7,1	8,1
	Ca <sup>2+</sup>	8,9	2,2	3,2	7,2	22,2	27,2	32,2
Mitatut	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,017		0,027	0,039	0,063	0,088	0,111
	Na <sup>+</sup>	0,5		0,6	0,6	0,7	0,8	0,8
	Mg <sup>2+</sup>	0,3		1,3	2,8	5,4	7,3	8,3
	Ca <sup>2+</sup>	8,9		10,0	13,8	29,2	34,4	39,4

Matriisivaikutusta testattiin myös laimennoskokeella. Laimennokset tehtiin JVH-näytteelle, jonka tulosten perusteella piirretyn kuvaajan (liite 4) korrelaatiokertoimet on esitetty taulukossa 13. Laimennoskokeen tulokset olivat hyviä, ja niiden perusteella voidaan todeta, että pienillä pitoisuuksilla ei matriisivaikutusta esiinny.



TAULUKKO 13. JVH-näytteen laimennoskokeen korrelaatiokertoimet

JVH	$r^2$
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,9998
Na <sup>+</sup>	1
Mg <sup>2+</sup>	0,9999
Ca <sup>2+</sup>	1

### 8.3 Tarkkuus

Tarkkuus määritettiin referenssiluoksilla käyttäen samoja tuloksia kuin toistettavuuden ja uusittavuuden määrittämiseen. Tarkkuuksien keskiarvot, maksimi- ja minimiarvot on esitetty taulukossa 14. Tulosten perusteella ammoniumin tarkkuus on parempi pienemmillä pitoisuuksilla. Muiden ionien osalta tarkkuus on parempi suuremmilla pitoisuuksilla, mikä johtuu todennäköisesti siitä, että natriumia, magnesiumia ja kalsiumia esiintyy herkästi epäpuhtautena laimennusvedessä, jolloin pienillä pitoisuuksilla suhteellinen tarkkuus kärsii. Kalsiumin osalta ultrapuhdasta vettä ei saada puhdistettua kokonaan, ja sitä esiintyi koko validointimittausten ajan n. 0,18 mg/l.

TAULUKKO 14. Tarkkuustestin tulokset referenssi 1 -liuokselle

	Tarkkuus%					
	ref1			ref2		
	$\bar{x}$	max	min	$\bar{x}$	max	min
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	-1,8	10,2	-21,3	-6,4	-2,4	-9,4
Na <sup>+</sup>	-5,9	-2,0	-8,0	-3,6	-1,0	-5,8
Mg <sup>2+</sup>	10,9	12,7	8,1	5,4	6,7	4,3
Ca <sup>2+</sup>	12,9	15,8	8,8	-1,6	-0,7	-2,6

Koska ammoniumin tarkkuustulokset olivat isolla vaihteluvälillä, päätettiin laskea tuloksille vielä poikkeamat todellisista arvoista, joista nähdään, että ammoniumtulosten todelliset poikkeamat olivat kuitenkin pieniä. (Taulukko 15.)

TAULUKKO 15. Poikkeamat todellisista arvoista, mg/l

	Poikkeama					
	ref1			ref2		
	$\bar{x}$	max	min	$\bar{x}$	max	min
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,000	0,001	-0,003	-0,008	-0,003	-0,012
Na <sup>+</sup>	0,0	0,0	0,0	0,3	1,6	0,0
Mg <sup>2+</sup>	0,1	0,1	0,1	0,4	0,5	0,3
Ca <sup>2+</sup>	0	0	0	-1	0	-1

#### 8.4 Toistettavuus ja uusittavuus

Toistettavuuden ja uusittavuuden määrittämiseen käytettiin referenssiliuoksien tuloksia, joita oli analysoitu viitenä päivänä. Tulokset käsiteltiin Excel-ohjelman ANOVA-analyysin avulla. Tulokset löytyvät liitteistä 5–8. Tulokset on esitetty tiivistetysti taulukoissa 16 ja 17, joissa on päivien sisäinen hajonta ( $S_w$ ), päivien välinen hajonta ( $S_b$ ), kokonaishajonta sekä systemaattisen virheen läsnäolosta kertovat F-arvo ja F-kriittinen.

TAULUKKO 16. Referenssi 1 -liuoksen ANOVA-analyysin tulokset

Ref1	$\bar{x}$	min	maks	$S_w$	$S_w\%$	$S_b$	$S_b\%$	$S_t$	$S_t\%$	F	F <sub>kriittinen</sub>
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,012	0,010	0,014	0,001	5,07	0,001	9,81	0,001	0,1	23,417	2,759
Na <sup>+</sup>	0,094	0,092	0,098	0,001	1,35	0,001	1,04	0,002	0,0	4,538	3,098
Mg <sup>2+</sup>	1,109	1,081	1,127	0,004	0,33	0,015	1,34	0,015	0,0	100,911	2,759
Ca <sup>2+</sup>	1,129	1,088	1,158	0,005	0,47	0,021	1,88	0,022	0,0	96,549	2,759

TAULUKKO 17. Referenssi 2 -liuoksen ANOVA-analyysin tulokset

Ref2	$\bar{x}$	min	maks	$S_w$	$S_w\%$	$S_b$	$S_b\%$	$S_t$	$S_t\%$	F	$F_{\text{kriittinen}}$
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	0,119	0,115	0,124	0,002	1,63	0,002	1,70	0,003	2,4	7,522	2,759
<b>Na<sup>+</sup></b>	0,385	0,377	0,396	0,002	0,52	0,006	1,50	0,006	1,6	51,191	3,098
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	7,903	7,822	7,999	0,012	0,15	0,060	0,76	0,061	0,8	159,608	2,759
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	49,220	48,696	49,650	0,072	0,15	0,340	0,69	0,347	0,7	135,915	2,759

Jokaisella ionilla F-laskettu > F-kriittinen, joten erot päivien välillä ovat tilastollisesti merkittäviä. Todellinen hajonta ammoniumilla oli 0,001–0,003mg/l, joten on syytä pohtia, onko hajonnalla oleellista merkitystä, vaikka tilastollinen testi kertoo muuta. Voi myös olla että kalibroinnilla oli vaikutusta. Kalibrointi tehtiin heti suppressorin vaihdon jälkeen, joten jos suppressori ei ollut siinä vaiheessa täydessä toimintatehossa, sen toiminta vaikutti kalibroitikäyrän kaartumiseen.

### 8.5 Häiriöalttius

Kromatografiassa yleisesti tunnettua resoluutio-ongelmaa tutkittiin tekemällä liuos, joka vastaa mahdollisimman realistisesti todellista tilannetta. Liuos sisälsi ammoniumia 0,01 mg/l ja natriumia 3 mg/l. Piikkien resoluutioksi saatiin 2,6 (kaava 5). Resoluutiossa ei ole siis ongelmaa, koska arvo oli yli 1,5. Kolonnin erotuskyky on hyvä.

$$R_s = \frac{t_{r2} - t_{r1}}{\frac{1}{2}(w_1 + w_2)}$$

KAAVA 5

$R_s$ = resoluutio

$t_{r2}$ = tutkittavan aineen 2 retentioaika

$t_{r1}$ =tutkittavan aineen 1 retentioaika

$W_2$ =tutkittavan aineen 2 piikin leveys

$W_1$ =tutkittavan aineen 1 piikin leveys

Lasiastioiden vaikutusta tuloksiin tutkittiin referenssi- ja standardiliuosten avulla. Ammoniumin keskihajonta oli 0,001–0,002 mg/l (taulukko 18), joten ammoniumin määritykseen lasiastiat eivät tämän testin perusteella aiheuttaneet häiriötä. Muiden ionien hajonnat olivat samansuuruisia tai suurempia kuin toistettavuustestin tulosten keskihajonnat. Natriumin, magnesiumin ja kalsiumin määritykseen lasiastiat aiheuttivat häiriötä.

TAULUKKO 18. Lasi- ja muoviasioiden väliset hajonnat, mg/l

	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>
std1	0,001	0,003	0,007	0,008
ref1	0,002	0,002	0,008	0,055
std4	0,001	0,009	0,003	0,099
ref2	0,002	0,002	0,008	0,055
std5	0,002	0,004	0,008	0,026

Laite käytettiin pois päältä, koska haluttiin tietää kuinka kauan laitteella kestää tasapainottua. Tulosten oikeellisuutta testattiin std1-liuoksella, jonka tuloksia verrattiin kalibroinnin arvoihin. Std1-liuosta ajettiin 20 min, 80 min, 110 min kulluttua laitteen käynnistämisen jälkeisestä ilmauksesta sekä seuraavana aamuna. Retentioajoissa ei tapahtunut merkittävää muutosta. Laite tunnisti kaikki

piikit oikein kalibroinnissa määritetyn window-aikaikkunan puitteissa, mikä määrittää aika-alueen, jolla piikin pitäisi esiintyä. Ammoniumin pitoisuustuloksen poikkeama oikeasta arvosta oli testin aikana  $-0,003 - 0,002\text{mg/l}$ , natriumin  $-0,001 - 0,015\text{mg/l}$ , magnesiumin  $-0,005 - 0,006\text{mg/l}$  ja kalsiumin  $-0,008 - 0,007\text{mg/l}$ . Kalibroitikäyrien tarkkuudet huomioiden tulokset olisivat hyväksyttäviä. Noin kolmen tunnin kuluttua testin aloittamisesta tehtiin rinnakkaismääritykset näytteistä RVH, JVH ja JVK, joiden ammoniumtuloksia verrattiin samana päivänä spektrofotometrillä määritettyihin tuloksiin. Ionikromatografilla tehdyt rinnakkaismääritykset eivät poikenneet toisistaan. Spektrofotometrisen määrittämisen tuloksiin verrattuna poikkeamaa oli näytteessä RVH  $0,003-0,004\text{ mg/l}$ , JVH  $-0,010 - -0,005\text{ mg/l}$  ja JVK  $-0,009\text{ mg/l}$ , eli poikkeamat olivat hyvin samansuuntaisia kuin menetelmävertailun poikkeamat.

Testin tulosten perusteella laitteen tasapainottuminen kestää noin 2,5–3 h. Tasapainottumisen toteaminen edellyttää kontrolliliuoksen määrittämistä ja pohjaviivan seuraamista. Hyvänä mittarina tulevaisuudessa vastaavissa tilanteissa voisi pitää ultrapuhtaan veden ja standardipisteen tulosten ja kromatogrammien seuraamista. Testin aikana näytteinä ajettujen ultrapuhtaiden vesien kromatogrammit olivat alussa epävakaita ja tulokset epäilyttäviä. Koska validointiajojen perusteella tiedetään että ultrapuhdas vesi sisältää pienen mitattavan määrän kalsiumia, ja satunnaisena epäpuhtautena muita ioneja, voisi ultrapuhtaan veden tuloksia pitää yhtenä laitteen vakautta mittaavana indikaattorina.

pH:n aiheuttamaa ammoniumpitoisuuden muuttumista tutkittiin standardiliuosten, RVH, JVH ja JVK-näytteiden avulla. Näytteisiin tehtiin pH muutokset, jotka mitattiin ja tuloksia verrattiin käsittelemättömiin näytteisiin. Tulosten poikkeamat olivat  $-0,004 - 0,011\text{mg/l}$  välillä. Tasaisesti negatiiviset ja positiiviset poikkeamat viittaavat normaaliin tilastolliseen tulosten vaihteluväliin, ja testin perusteella on hyvin vaikea sanoa, johtuvatko pienet poikkeamat todellisuudessa pH:n muutoksesta, pH:n säätämisen aikana tapahtuneesta kontaminaatiosta vai tilastollisesta todennäköisyydestä. Tulosten pH-riippuvuuden toteamiseksi tulisi tehdä lisätestejä.

## 8.6 Stabiilisuus

Näytteiden stabiilisuutta testattiin tekemällä näytteiden säilytykseen muutosta. Kirjallisuuden mukaan ammoniumioni säilyy jääkaappilämpötilassa 7 vrk, joten näytteet analysoitiin, osa näytteestä säilytettiin jääkaapissa ja toinen osa huoneenlämmössä avonaisena ja suljettuna. Viikon säilytyksen jälkeen ammoniuminpitoisuus oli hieman laskenut näytteissä. Jääkaapissa säilytetyssä RVH-näytteessä laskua oli tapahtunut 0,005 mg/l ja huoneenlämmössä säilytetyissä 0,008–0,009 mg/l. Käytännössä huoneenlämmössä säilytetyissä oli ammoniumia jäljellä vain 0,002–0,003 mg/l, jota ei pystytty enää halutulla luottamustasolla riittävän luotettavasti mittaamaan. JVH-näytteen ammoniumpitoisuuden muutokset olivat 0,008–0,009 mg/l. Jääkaappi- ja huoneenlämpösäilytyksen välillä ei ollut eroa tässä tapauksessa. Natriumpitoisuuksien erotukset tuoreeseen näytteeseen olivat 0,015–0,021 mg/l, magnesiumin –0,032– –0,019 mg/l ja kalsiumin –0,86–0,108 mg/l. Poikkeamat olivat siis mitattavissa ja säilytyksellä oli merkitystä.

Kalibroitikäyrän stabiilisuutta seurattiin jokaisen ajon aikana std1-, std4- ja std5-pisteillä (taulukko 19). Tulosten perusteella mietittiin laitteen kalibroitotarvetta.

TAULUKKO 19. Kalibrointipisteiden seurannan tulokset

		NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>
Std1	$\bar{x}$	0,010	0,1	1,0	1
	s	0,002	0,0	0,0	0
	s%	17,6	11,7	1,1	3,5
	poikkeama	0,000	0,0	0,0	0
	poikkeama%	-0,4	0,1	1,1	13,0
	min	0,008	0,1	1,0	1
	maks	0,014	0,1	1,0	1
Std4	$\bar{x}$	0,092	0,4	7,6	50
	s	0,002	0,0	0,0	0
	s%	2,4	0,9	0,4	0,4
	poikkeama	-0,008	0,0	0,1	0
	poikkeama%	-8,5	-4,0	1,5	0,7
	min	0,087	0,4	7,6	50
	max	0,095	0,4	7,7	51
Std5	$\bar{x}$	0,186	0,5	10,2	71
	s	0,004	0,0	0,0	0
	s%	2,2	1,5	0,4	0,5
	poikkeama	-0,014	0,0	0,2	1
	poikkeama%	-7,2	-7,2	1,6	1,2
	min	0,178	0,5	10,0	70
	maks	0,192	0,5	10,2	72

Tulosten perusteella kalibrointikäyrä on stabiileimmillaan pienillä pitoisuuksilla. Keskihajonta ja poikkeama todellisesta arvosta kasvoivat konsentraation kasvaessa. Huomion arvoista on, että Std5-pisteen ammoniumtulokset lähtivät selkeästi laskusuuntaan menetelmävertailun aikana, jolloin liuokseen ei lisätty muita standardin ioneja. Tutkimatta jäi, johtuiko tulosten laskusuunta matriisin muutoksesta vai olisiko tulokset muutenkin lähteneet laskemaan, kun kalibroinnista oli kulunut noin 1,5 kk. Myös kalsiumin ja magnesiumin väkevimpien kalibrointiliuosten pitoisuudet lähtivät laskuun kahden viikon testijakson aikana. Natriumin tulokset olivat vakaimmat. (Liitteet 9–11.)

## 8.7 Menetelmävertailu

Menetelmävertailua suoritettiin kolmen viikon ajan. Vertailuun otettiin Oulun Vedden näytteet RVH, JVH ja JVK sekä ionikromatografian referenssinäytteet 1 ja 2. Tulosten erotusten keskiarvot, keskihajonnat ja testisuureet on esitetty taulukossa 20.

TAULUKKO 20. Menetelmävertailun tulokset

	<b>RVH</b>	<b>JVH</b>	<b>JVK</b>	<b>ref1</b>	<b>ref2</b>
X	0,004	-0,008	-0,008	0,000	-0,012
s	0,002	0,004	0,006	0,004	0,007
testisuure	5,840	6,375	4,246	0,300	5,226
vapausasteet	8	8	8	8	8
t-kriittinen <sub>0,05</sub>	2,306	2,306	2,306	2,306	2,306

Tulosten perusteella referenssi1-liuoksen testisuure on pienempi kuin t-kriittinen arvo, joten referenssi1-liuoksella saadaan molemmilla menetelmillä samoja tuloksia. RVH-, JVH-, JVK- ja ref2 -näytteiden laskettu testisuure oli isompi kuin t-kriittinen arvo, joten näillä näytteillä saadaan 95 %:n luottamustasolla eri tuloksia menetelmien välillä. RVH-näytteen ruskehtava väri saattaa vääristää spektrofotometrisen menetelmän tulosta. Näytteiden tilavuuden mittaaminen spektrofotometrisessä menetelmässä on epätarkka, mikä osaltaan vaikuttaa tuloksiin. Spektrofotometrisestä menetelmästä ei ole validointitietoja, joiden avulla olisi voinut arvioida menetelmän luotettavuutta.



## 9 YHTEENVETO

Työn tarkoituksen oli saada toimivat kationimenetelmät ionikromatografille ja validoida ne. Työssä pääpaino pidettiin ammoniumin määrittämisessä ja määrittystä häiritsevissä tekijöissä. Työn aloitusta helpottivat valmiit toimivat metodit ja aikaisempi mittausdata näytteistä, jolloin työhön ja ongelmiin päästiin heti käsiksi.

Laskennalliset menetelmät ammoniumtulosten oikeellisuuden määrittämiseksi pienillä pitoisuuksilla antoivat harhaanjohtavia tuloksia. Pieni hajonta pienillä pitoisuuksilla on suhteellisesti suuri, mutta käytännön kannalta monissa tapauksissa merkityksetöntä, joten tulosten analysoinnissa käytettiin tervettä harkintaa. Myös mittauksen tarkkuus kolmella desimaalilla aiheutti mittauksissa hajontaa, jota kalibroinnin tarkkuus huomioon ottaen ei olisi ollut. Tulevaisuudessa voisi miettiä ammoniumin ilmoitustarkkuuden muuttamista kahdelle desimaalille.

Toteamisrajojen määrittäminen osoittautui haasteelliseksi liuosten pienten pitoisuuksien vuoksi. Kalsiumin määrittämisestä häiritsi laimennosveden matriisi. Pieniä pitoisuuksia pystyttiin mittaamaan, mutta laimennosveden sisältämä kalsium häiritsi laimeimpien liuosten mittaamista. Natriumin alin standardipiste oli jo valmiiksi niin matala, että sen pienempiä pitoisuuksia ei päästy mittaamaan. Ammoniumin laskennalliseksi toteamisrajaksi saatiin 0,003 mg/l. Ammoniumia esiintyi kuitenkin epäpuhtautena jokaisen sekvenssin jälkeen ultrapuhdassa vedessä 0,002–0,007 mg/l. En usko, että pitoisuus johtui näytteen putkituksesta aiheutuneesta tai huoneilmasta johtuvasta epäpuhtaudesta, vaan epäpuhtaus oli seurausta edellisestä näytteestä. Sekvenssit suunniteltiin siten, että ajot tehtiin laimeimmasta näytteestä väkevimpään. Sekvenssin seassa oli ultrapuhdaita vesiä, joilla seurattiin laitteen kontaminaatiota ja muistijälkeä. Viimeisenä näytteenä oli std5. Sen jälkeen ajettiin ultrapuhdas vesi, josta tavoitettiin useasti lähellä määrittämissä olevia pitoisuuksia ammoniumia. Myös muita ioneja oli epäpuhtautena väkevien näytteiden jälkeen. Kalibroitikäyrien tarkkuuksien ja pienten mitattavien epäpuhtauksien vuoksi ammoniumin määrittämisrajana on järkevää pitää 0,01 mg/l, natriumin 0,1 mg/l, magnesiumin 1 mg/l ja kalsiumin 1 mg/l.

Ammoniummenetelmä oli hyvin selektiivinen ja tarkka pienillä pitoisuuksilla. Muilla ioneilla tarkkuus oli parempi isommilla pitoisuuksilla. Standardilisäysmenetelmässä tapahtui magnesiumin ja kalsiumin käyrillä oletusten vastaisesti muutosta, joka kannattaa tutkia paremmin, jos magnesiumin ja kalsiumin määritykset otetaan käyttöön ionikromatografilla. JVH-näytteestä mitattiin standardilisäysmenetelmällä kaikkien ionien tuloksiksi laskennallisia tuloksia suurempia tuloksia. Uskon tämän johtuneen pipetointivirheestä. JVH-näytteen koe kannattaakin uusua, jotta matriisinvaikutus voidaan sulkea pois. Laimennoskokeen tulokset olivat hyviä. Ammoniumin selektiivisyydestien tulokset olivat hyvät, eikä niissä havaittu selektiivisyyteen vaikuttavaa ongelmaa.

Ammoniummenetelmä oli tarkka varsinkin pienillä pitoisuuksilla. Kalibrointikäyrän isommilla pitoisuuksilla epätarkkuus hieman lisääntyi, ja tätä kannattaa seurata uuden kalibroinnin jälkeen referenssi- ja standardiliuoksilla. Koko validoinnin ajan mitattiin ammoniumin std 5 -liuoksilla hieman liian pieniä tuloksia ja tulokset lähtivät laskusuuntaan validoinnin lopussa. Myös magnesiumin ja kalsiumin kalibroinnit lähtivät laskemaan validoinnin aikana. Validointimittausten perusteella näyttää siltä, että kalibrointikäyrän pysyvyyttä pitää jatkossa seurata standardiliuoksilla ja kalibrointi kannattaa uusua riittävän usein. Validoinnin aikana heräsi epäily, tehtiinkö kalibrointi liian nopeasti suppressorin vaihdon jälkeen. Jos suppressori saavutti täyden toimintatehonsa vasta kalibrointikäyrien teon jälkeen, aiheutti se suuremmille pitoisuuksille virhettä. Mitä tehokkaampi suppressori on, sen voimakkaampaa on kalibrointikäyrän kaartuminen.

Ammoniumtulokset olivat hyvin toistettavia. Uusittavuus kärsi hieman joka näkyy F-testin tuloksissa. Tästäkin tuloksesta voi päätellä kalibrointivälin tarvetta.

Natriumin ja ammoniumin piikkien kesken ei ollut resoluutio-ongelmaa. Piikit erottuivat hyvin, eikä häiriötä aiheudu päällekkäin eluoituvista ioneista. Lasi- ja muoviastioiden välisessä vertailussa ei aiheutunut poikkeamaa ammoniumtuloksiin. Muiden ionien tuloksissa oli poikkeamia, joten muoviastioita tulee käyttää, jos menetelmä otetaan käyttöön natriumin, magnesiumin ja kalsiumin määrittäisiin. Näytteen pH:n muutoksen vaikutusta tuloksiin ei pystytty luotettavasti

todentamaan validoinnin aikana. pH:n säätämisen vuoksi analyysin tuli uusia työvaiheita, jotka saattoivat osaltaan vaikuttaa tulokseen. Mittaustuloksiin ei tullut suurta vaihtelua pH vaihteluiden välillä.

Suurinta häiriötä laitteeseen aiheutti laitteen sammuttaminen ja uudelleen käynnistäminen. Tasapainottuminen kationipuolella vei aikaa noin 3 h, jonka aikana laite oli hyvin epävakaata. Ilmeisesti virtauksen- ja paineenvaihtelut saivat aikaan vuodon pumpussa, mikä ei kuitenkaan vaikuttanut oleellisesti tuloksiin. Laitteen käyttörotiineihin kannattaakin kiinnittää erityistä huomiota, jotta laite pysyy vakaina.

Menetelmävertailun t-testin mukaan menetelmien tulosten välillä on tilastollisesti eroavaisuutta. Ammoniumtulosten erotusten keskihajonta oli 0,002–0,007mg/l. Jos tuloksia tarkasteltaisiin kalibroitikäyrän tarkkuudella, ei poikkeamia useimmissa määrittelyissä olisi. Ionikromatografilla saatiin pienillä pitoisuuksilla tarkempia ja uusittavampia tuloksia kuin spektrofotometrillä. Spektrofotometrille ei ole tehty validointia, joten sen menetelmän oikeellisuutta ei pystytty arvioimaan. Mielestäni ammoniumin määrittelyä voisi siirtää ionikromatografille siten, että jokaisessa sekvenssissä kulkee mukana standardi- ja referenssinäytteet, joiden perusteella seurataan tulosten luotettavuutta ja kalibroinnin pysyvyyttä.

## LÄHTEET

1. Toimintakertomus 2014. Oulun Vesi.
2. Oulun vesihuollon kehittämissuunnitelma vuosille 2015–2030. WSP Finland Oy. Saatavissa: [http://www.ouka.fi/c/document\\_library/get\\_file?uuid=dd60a48f-5d90-4d1a-b50f-ebd1bf674e6a&groupId=52058](http://www.ouka.fi/c/document_library/get_file?uuid=dd60a48f-5d90-4d1a-b50f-ebd1bf674e6a&groupId=52058). Hakupäivä 10.4.2016.
3. Haddad, Paul R – Jackson, Peter E. 1990. Ion chromatography. Amsterdam: Elsevier Science Publisher B.V.
4. Kähkönen, Oskari. 2012. Dionex ICS-5000 -laitteen käyttöönotto ja validointi. Opinnäytetyö. Oulu: Oulun seudun ammattikorkeakoulu. Saatavissa: [http://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/49017/Kahkonen\\_Oskari.pdf?sequence=1](http://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/49017/Kahkonen_Oskari.pdf?sequence=1). Hakupäivä 8.5.2016.
5. IonPac CS16 Cation-Exchange Column. Dionex. Saatavissa: <http://www.dionex.com/en-us/webdocs/4237-DS-IonPac-CS16-Cation-Exchange-28Nov10-LPN1257-04-R2.pdf>. Hakupäivä 10.4.2016.
6. 2013. Thermo Scientific Dionex ERS 500 Suppressor, product manual. Dionex. Saatavissa: <http://www.dionex.com/en-us/webdocs/114493-Man-ERS-500-Suppressor-031956-09.pdf>. Hakupäivä 30.3.2016.
7. Labostar pro DI 2, ultrapure water system, manual. Evoqua.
8. High-Capacity Carboxylate-Functionalized Column for Disparate Sodium and Ammonium Concentrations. Dionex. Saatavilla: <http://www.dionex.com/en-us/products/columns/ic-rfic/cation-packed/ionpac-cs16/lp-73228.html>. Hakupäivä 30.3.2016.
9. Conductivity Detection in Cation Chromatography—Pros and Cons of Suppression. Dionex. Saatavilla: <http://www.dionex.com/en-us/markets/environmental/environmental-news/lp-110799.html>. Hakupäivä 30.3.2016.

10. Porkka, Veijo. 2016. Oulun Vesi IC. Sähköpostiviesti. Vastaanottaja: Vuokko Häkkinen. 2.2.2016.
11. Important Points about Ion Chromatography... pH is Tricky. Shimadzu. Saatavissa: <http://www.shimadzu.com/an/hplc/support/lib/lctalk/42lab.html>. Hakupäivä 31.3.2016.
12. Nevanperä, Tomi - Välimäki, Ilkka 2015. Laboratorion laatutoiminta, 4op. Luentomateriaali syksyllä 2015. Oulu: Oulun ammattikorkeakoulu Oy, tekniikan yksikkö.
13. Ehder, Tapio 2005. Kemian metrologian opas. Helsinki: MIKES.
14. Kemiallisten analyysimenetelmien validointiohje. Elintarvikevirasto. 1997. Helsinki: Elintarvikevirasto.

## **LIITTEET**

Liite 1 Kalibrointi

Liite 2 Validointiajot

Liite 3 Standardilisäysmenetelmän kuvaajat

Liite 4 Laimennoskokeen kuvaajat

Liite 5 ANOVA-analyysit, ammonium

Liite 6 ANOVA-analyysit, natrium

Liite 7 ANOVA-analyysi, magnesium

Liite 8 ANOVA-analyysi, kalsium

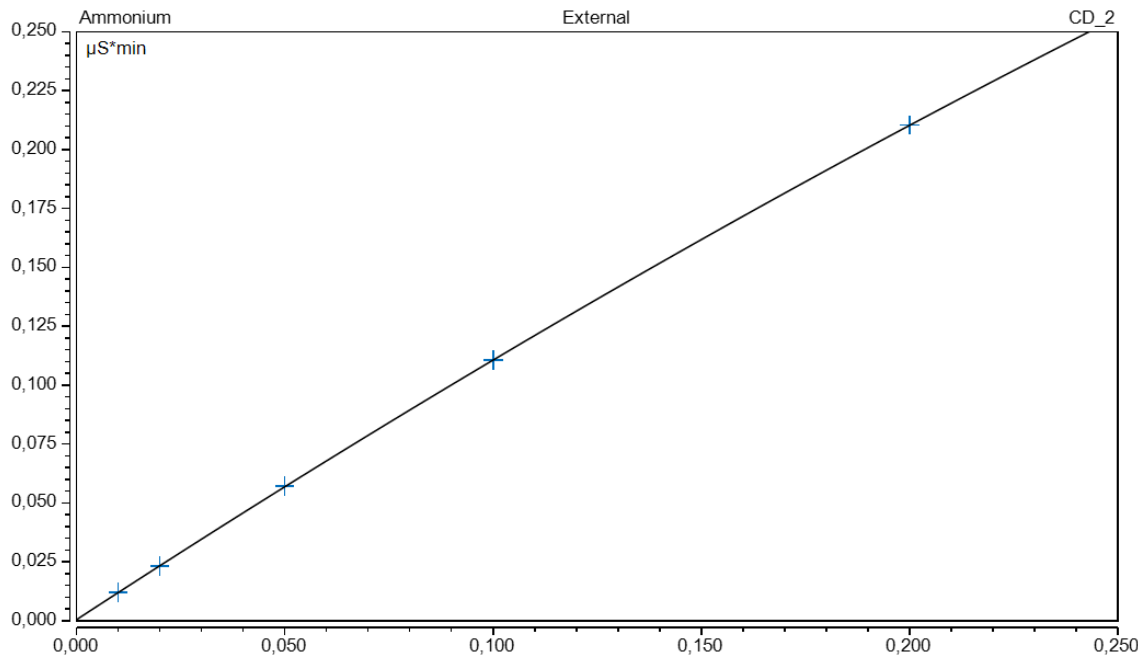
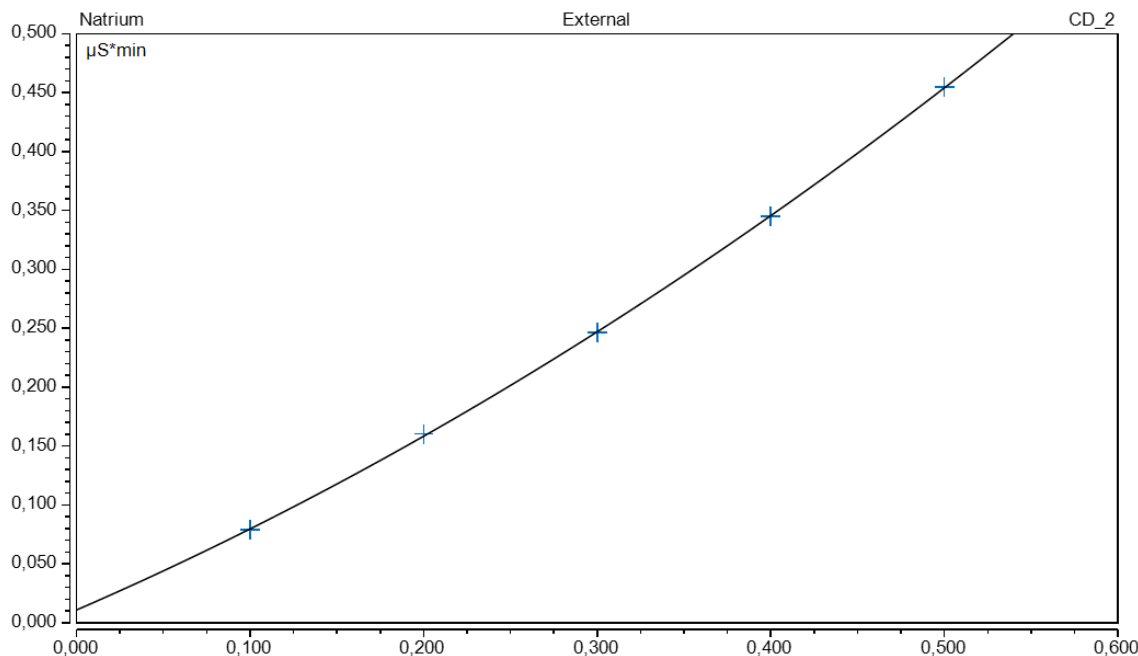
Liite 9 Kalibrointipiste std1 seurannan kuvaaja

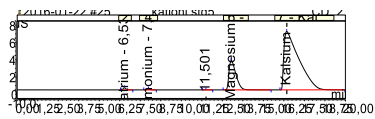
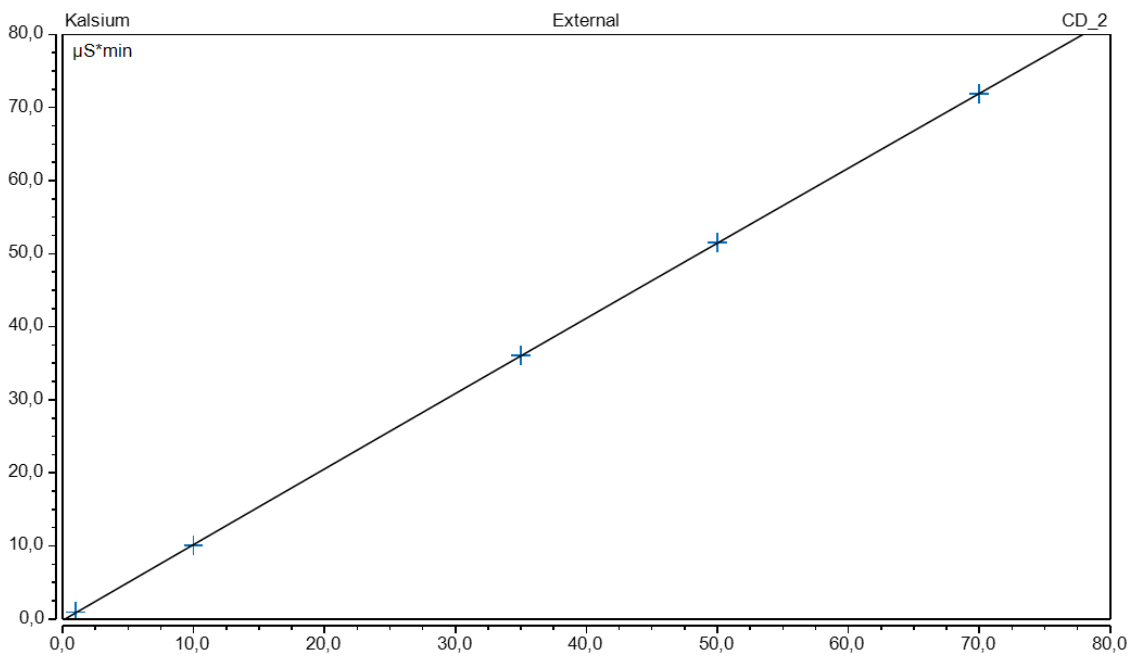
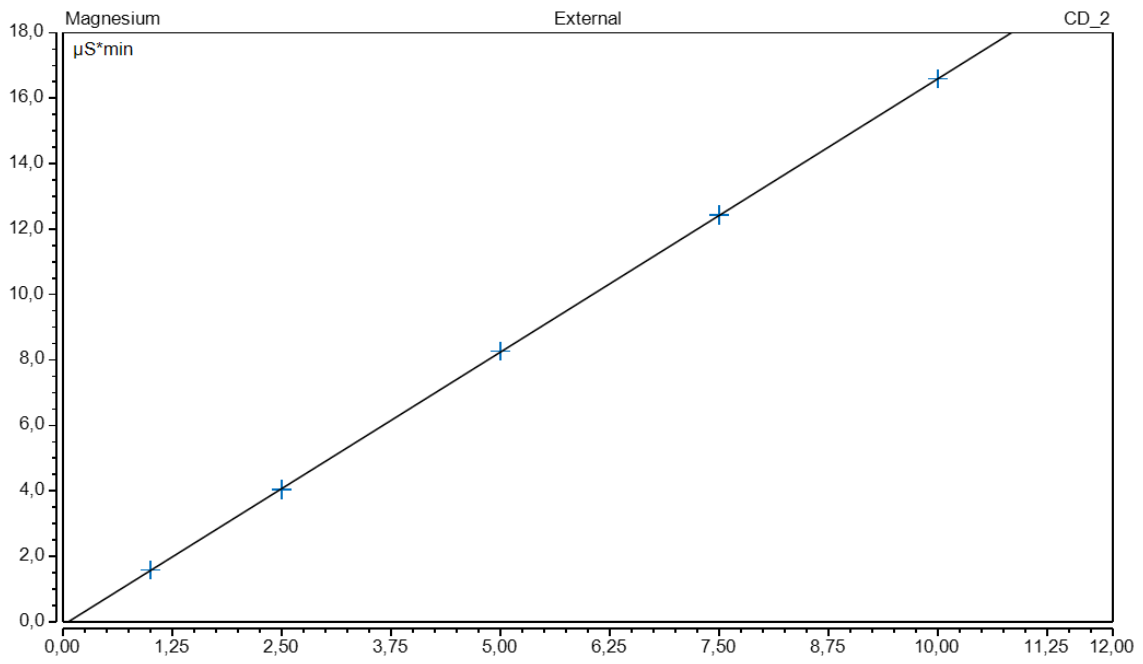
Liite 10 Kalibrointipiste std4 seurannan kuvaaja

Liite 11 Kalibrointipiste std5 seurannan kuvaaja

Liite 12 Menetelmävertailu

Peak No.	Peak Name	Ret. Time min	Cal. Type	Eval. Type	Number of Points	Rel. Std. Dev %	Coeff. of Determination	C0 (Offset)	C1 (Slope)	C2 (Curve)
CD 2	CD 2	CD 2	CD 2	CD 2	CD 2	CD 2	CD 2	CD 2	CD 2	CD 2
1	Natrium	6,554	Quad, WithOffset	Area	5	0,6014	0,99995	0,011	0,6383	0,4963
2	Ammonium	8,021	Quad, WithOffset	Area	5	0,3093	1	0,0005	1,1545	-0,527
4	Magnesium	13,271	Quad, WithOffset	Area	5	0,343	0,99999	-0,0984	1,6678	0,0002
5	Kalsium	16,964	Quad, WithOffset	Area	5	0,3889	0,99999	-0,1756	1,0391	-0,0001
Maximum						0,6014	1			
Minimum						0,3093	0,99995			







29.1.2016					
No.	Injection Name	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ	n.a.	n.a.	n.a.	0,176
2	mQ	0,001	n.a.	0,064	0,179
3	mQ	0,001	n.a.	n.a.	0,179
4	std1, 1:10	0,002	n.a.	0,143	0,253
5	std1, 1:10	0,003	n.a.	0,143	0,255
6	std1, 1:10	0,003	n.a.	0,143	0,256
7	std1, 1:10	0,003	n.a.	0,143	0,26
8	std1, 1:10	0,003	n.a.	0,143	0,255
9	std1, 1:10	0,003	n.a.	0,143	0,257
10	std1, 1:10	0,003	n.a.	0,143	0,258
11	std1, 1:10	0,004	n.a.	0,143	0,256
12	std1, 1:10	0,004	n.a.	0,143	0,255
13	std1, 1:10	0,004	n.a.	0,143	0,254
14	mQ	0,004	n.a.	n.a.	0,18
15	mQ	0,004	n.a.	n.a.	0,179
16	mQ	0,004	n.a.	n.a.	0,178

2.2.2016					
No.	Injection Name	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ	n.a.	n.a.	n.a.	0,178
2	mQ	0,001	n.a.	n.a.	0,178
3	mQ	0,001	n.a.	n.a.	0,181
4	std1	0,009	0,094	0,997	1,103
5	ref1	0,012	0,096	1,102	1,116
6	ref1	0,014	0,098	1,092	1,101
7	ref1	0,012	0,095	1,106	1,116
8	ref1	0,013	0,094	1,103	1,116
9	ref1	0,013	0,095	1,105	1,113
10	ref1	0,013	0,095	1,104	1,115
11	rv	0,011	1,155	1,021	2,841
12	rv	0,011	1,154	1,023	2,853
13	rv	0,011	1,158	1,027	2,867
14	rv	0,011	1,154	1,029	2,87
15	rv	0,011	1,155	1,028	2,874
16	rv	0,012	1,155	1,029	2,878
17	jvh	0,081	1,324	1,276	34,957
18	jvh	0,081	1,326	1,287	35,07
19	jvh	0,081	1,327	1,289	35,065
20	jvh	0,081	1,327	1,279	35,066
21	jvh	0,082	1,327	1,279	35,103
22	jvh	0,082	1,327	1,277	35,111
23	ref2	0,12	0,393	7,983	49,544
24	ref2	0,121	0,392	7,993	49,599
25	ref2	0,119	0,396	7,992	49,584
26	ref2	0,121	0,394	7,996	49,601
27	ref2	0,121	0,393	7,999	49,617
28	ref2	0,122	0,392	7,998	49,606
29	std5	0,192	0,466	10,119	70,687
30	mQ	0,006	n.a.	0,078	0,351
31	mQ	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
32	mQ	0,007	n.a.	0,061	0,198

3.2.2016					
No.	Injection	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammoniu	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ	0	n.a.	n.a.	0,183
2	mQ	0,001	n.a.	0,06	0,186
3	mQ	0,002	n.a.	0,061	0,182
4	std1	0,011	0,104	1,015	1,108
5	ref1	0,013	0,789	1,104	1,141
6	ref1	0,014	0,792	1,104	1,141
7	ref1	0,014	0,791	1,106	1,138
8	ref1	0,014	0,79	1,105	1,138
9	ref1	0,014	0,791	1,106	1,139
10	ref1	0,014	0,791	1,104	1,137
11	rv	0,012	1,155	1,026	2,869
12	rv	0,009	1,156	1,028	2,878
13	rv	0,009	1,155	1,029	2,881
14	rv	0,011	1,157	1,033	2,898
15	rv	0,009	1,158	1,032	2,894
16	rv	0,011	1,159	1,032	2,901
17	jvh	0,08	1,326	1,278	35,122
18	jvh	0,075	1,325	1,273	35,147
19	jvh	0,081	1,327	1,271	35,154
20	jvh	0,076	1,324	1,276	35,141
21	jvh	0,08	1,328	1,278	35,207
22	jvh	0,081	1,327	1,273	35,175
23	ref2	0,122	2,024	7,822	48,696
24	ref2	0,122	2,029	7,839	48,777
25	ref2	0,123	2,027	7,857	48,807
26	ref2	0,115	2,029	7,861	48,976
27	ref2	0,124	2,032	7,879	49,002
28	ref2	0,124	2,032	7,874	49,001
29	std5	0,191	0,476	10,155	70,726
30	mQ	0,006	n.a.	0,069	0,276
31	mQ	0,006	n.a.	0,06	0,193
32	mQ	0,006	n.a.	n.a.	0,19

4.2.2016					
No.	ection Nar	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ	0,001	n.a.	n.a.	0,182
2	mQ	0,001	n.a.	n.a.	0,181
3	mQ	0,002	n.a.	n.a.	0,183
4	std1	0,010	0,090	0,994	1,085
5	ref1	0,011	0,092	1,086	1,099
6	ref1	0,012	0,093	1,094	1,109
7	ref1	0,013	0,094	1,093	1,11
8	ref1	0,012	0,095	1,093	1,107
9	ref1	0,012	0,093	1,091	1,103
10	ref1	0,013	0,094	1,081	1,088
11	rv	0,01	1,159	1,032	2,883
12	rv	0,011	1,16	1,04	2,899
13	rv	0,011	1,16	1,036	2,905
14	rv	0,01	1,161	1,036	2,913
15	rv	0,01	1,159	1,037	2,913
16	rv	0,009	1,163	1,035	2,911
17	jvh	0,081	1,33	1,281	35,245
18	jvh	0,075	1,33	1,28	35,338
19	jvh	0,077	1,329	1,278	35,327
20	jvh	0,076	1,331	1,279	35,323
21	jvh	0,076	1,329	1,277	35,295
22	jvh	0,075	1,329	1,279	35,332
23	ref2	0,116	0,381	7,843	48,832
24	ref2	0,115	0,377	7,851	48,855
25	ref2	0,117	0,378	7,86	48,912
26	ref2	0,12	0,381	7,857	48,862
27	ref2	0,117	0,378	7,854	48,876
28	ref2	0,118	0,383	7,852	48,872
29	std5	0,192	0,461	10,177	70,588
30	mQ	0,006	n.a.	0,07	0,269
31	mQ	0,006	n.a.	n.a.	0,187
32	mQ	0,006	n.a.	n.a.	0,188

5.2.2016					
No.	Injection Name	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ	0,001	n.a.	n.a.	0,181
2	mQ	0,001	n.a.	n.a.	0,182
3	mQ	0,001	n.a.	n.a.	0,182
4	tarkistus	0,006	0,088	0,969	1,09
5	tarkistus	0,006	0,093	0,977	1,087
6	tarkistus	0,007	0,092	0,979	1,092
7	tarkistus	0,007	0,092	0,979	1,092
8	tarkistus	0,007	0,092	0,981	1,092
9	tarkistus	0,007	0,092	0,981	1,088
10	std1	0,011	0,103	1,012	1,119
11	ref1	0,012	0,093	1,119	1,134
12	ref1	0,013	0,094	1,124	1,137
13	ref1	0,013	0,097	1,124	1,139
14	ref1	0,013	0,094	1,124	1,139
15	ref1	0,013	0,094	1,117	1,129
16	ref1	0,014	0,095	1,126	1,146
17	rv	0,013	1,16	1,034	2,901
18	rv	0,009	1,16	1,034	2,91
19	rv	0,011	1,162	1,036	2,916
20	rv	0,009	1,161	1,034	2,917
21	rv	0,01	1,16	1,038	2,926
22	rv	0,011	1,162	1,044	2,927
23	jvh	0,075	1,329	1,278	35,306
24	jvh	0,075	1,33	1,279	35,33
25	jvh	0,076	1,329	1,276	35,365
26	jvh	0,081	1,333	1,277	35,362
27	jvh	0,082	1,332	1,276	35,335
28	jvh	0,076	1,33	1,279	35,387
29	ref2	0,118	0,383	7,92	49,212
30	ref2	0,118	0,384	7,926	49,224
31	ref2	0,121	0,386	7,932	49,201
32	ref2	0,118	0,382	7,938	49,307
33	ref2	0,118	0,382	7,936	49,29
34	ref2	0,118	0,381	7,953	49,272
35	std5	0,191	0,466	10,164	70,753
36	mQ	0,008	n.a.	0,065	0,278
37	mQ	0,007	n.a.	n.a.	0,18
38	mQ	0,007	n.a.	n.a.	0,189

8.2.2016					
No.	Injection Name	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ	n.a.	n.a.	n.a.	0,184
2	mQ	0,001	n.a.	0,061	0,193
3	mQ	0,001	n.a.	n.a.	0,192
4	std1	0,009	0,097	1,009	1,11
5	std5	0,182	0,456	10,138	70,644
6	mQ	0,002	n.a.	0,068	0,272
7	mQ	0,002	n.a.	n.a.	0,188
8	mQ	0,002	n.a.	0,062	0,195
9	laim 1:4	0,02	0,465	0,348	8,821
10	laim 1:4	0,02	0,467	0,347	8,844
11	laim 1:4	0,021	0,472	0,348	8,849
12	laim 2:4	0,036	0,804	0,649	17,499
13	laim 2:4	0,037	0,806	0,65	17,527
14	laim 2:4	0,04	0,808	0,653	17,517
15	laim 3:4	0,054	1,081	0,951	26,131
16	laim 3:4	0,057	1,081	0,954	26,162
17	laim 3:4	0,054	1,081	0,954	26,158
18	rh laimentamato	0,073	1,328	1,276	35,344
19	rh laimentamato	0,079	1,334	1,281	35,358
20	rh laimentamato	0,074	1,328	1,277	35,335
21	std1	0,013	0,103	1,027	1,19
22	std5	0,187	0,459	10,144	70,578
23	mQ	0,005	n.a.	0,067	0,254
24	mQ	0,005	n.a.	n.a.	0,193
25	mQ	0,005	n.a.	n.a.	0,193

9.2.2016					
No.	Injection Name	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ	n.a.	n.a.	n.a.	0,183
2	mQ	0,001	n.a.	0,06	0,184
3	mQ	0	n.a.	n.a.	0,184
4	std1	0,008	0,092	1,004	1,114
5	rv jääkaappi	0,008	1,166	1,04	2,933
6	rv jääkaappi	0,005	1,172	1,048	2,955
7	rv jääkaappi	0,007	1,173	1,047	2,953
8	rv hl suljettu	0,003	1,173	1,049	2,964
9	rv hl suljettu	0,004	1,177	1,051	2,976
10	rv hl suljettu	0,002	1,179	1,054	2,976
11	rv hl avoin	0,002	1,175	1,056	2,994
12	rv hl avoin	0,001	1,173	1,058	2,998
13	rv hl avoin	0,003	1,176	1,059	3,002
14	jvh jääkaappi	0,072	1,34	1,295	35,822
15	jvh jääkaappi	0,072	1,343	1,293	35,913
16	jvh jääkaappi	0,072	1,343	1,296	35,936
17	jvh suljettu	0,073	1,344	1,298	35,899
18	jvh suljettu	0,075	1,348	1,303	35,896
19	jvh suljettu	0,073	1,347	1,299	35,9
20	jvh avoinna	0,071	1,35	1,308	36,142
21	jvh avoinna	0,071	1,349	1,31	36,169
22	jvh avoinna	0,072	1,349	1,309	36,131
23	std5	0,189	0,471	10,234	71,529
24	mQ	0,004	n.a.	0,077	0,328
25	mQ	0,003	n.a.	0,06	0,197
26	mQ	0,003	n.a.	0,06	0,189

10.2.2016					
No.	Injection Name	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ	n.a.	n.a.	n.a.	0,179
2	mQ	n.a.	n.a.	n.a.	0,182
3	mQ	0	n.a.	n.a.	0,183
4	std. lis0	0,018	0,465	0,344	8,826
5	std. lis0	0,017	0,47	0,345	8,903
6	std. lis0	0,016	0,468	0,347	8,908
7	std. lis1	0,026	0,551	1,339	9,994
8	std. lis1	0,027	0,554	1,342	10
9	std. lis1	0,027	0,552	1,343	9,983
10	std. lis2	0,04	0,615	2,826	13,832
11	std. lis2	0,04	0,616	2,827	13,854
12	std. lis2	0,037	0,615	2,829	13,85
13	std. lis3	0,063	0,695	5,348	29,248
14	std. lis3	0,064	0,685	5,356	29,24
15	std. lis3	0,063	0,684	5,352	29,255
16	std. lis4	0,088	0,752	7,336	34,395
17	std. lis4	0,09	0,754	7,336	34,387
18	std. lis4	0,087	0,754	7,341	34,433
19	std. lis5	0,111	0,807	8,31	39,456
20	std. lis5	0,111	0,807	8,314	39,429
21	std. lis5	0,111	0,809	8,304	39,451
22	mQ	0,002	n.a.	0,063	0,208
23	std1	0,014	0,096	1,015	1,108
24	std5	0,187	0,458	10,168	70,942
25	mQ	0,003	n.a.	0,079	0,371
26	mQ	0,002	n.a.	0,061	0,216



11.2.2016					
No.	Injection Name	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ	n.a.	n.a.	n.a.	0,178
2	mQ	n.a.	n.a.	n.a.	0,182
3	mQ	0,001	n.a.	n.a.	0,18
4	std1	0,009	0,094	1,002	1,14
5	std4	0,089	0,383	7,625	50,55
6	std4	0,09	0,385	7,664	50,747
7	std4	0,091	0,386	7,665	50,719
8	std5	0,186	0,467	10,248	71,022
9	Na 3+NH4 0,01	0,014	1,724	0,068	0,262
10	Na 3+NH4 0,01	0,014	1,714	0,06	0,185
11	mQ	0,002	n.a.	n.a.	0,186
12	mQ	0,001	n.a.	n.a.	0,184

12.2.2016					
No.	Injection Name	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ	n.a.	n.a.	n.a.	0,179
2	rv	0,011	1,162	1,028	2,927
3	rv	0,014	1,175	1,043	2,962
4	rv	0,014	1,178	1,048	2,967
5	jvh	0,079	1,318	1,205	35,02
6	jvh	0,079	1,322	1,209	35,19
7	jvh	0,074	1,32	1,209	35,219
8	jvk	0,077	1,349	1,183	30,594
9	jvk	0,077	1,35	1,183	30,594
10	jvk	0,077	1,348	1,182	30,542
11	std1 muovi	0,009	0,1	1,037	1,226
12	std1 muovi	0,009	0,092	1,032	1,135
13	std1 lasi	0,01	0,098	1,02	1,121
14	std1 lasi	0,009	0,096	1,02	1,12
15	ref1 muovi	0,012	0,099	1,107	1,14
16	ref1 muovi	0,012	0,096	1,099	1,125
17	ref1 lasi	0,011	0,097	1,113	1,142
18	ref1 lasi	0,012	0,098	1,114	1,151
19	std4 muovi	0,091	0,381	7,611	50,233
20	std4 muovi	0,092	0,383	7,663	50,617
21	std4 lasi	0,093	0,399	7,658	50,45
22	std4 lasi	0,094	0,398	7,659	50,443
23	ref2 muovi	0,115	0,386	7,943	49,34
24	ref2 muovi	0,117	0,39	7,96	49,408
25	ref2 lasi	0,113	0,393	7,945	49,303
26	ref2 lasi	0,116	0,394	7,954	49,382
27	std5 muovi	0,185	0,464	10,226	70,966
28	std5 muovi	0,185	0,464	10,236	71,019
29	std5 lasi	0,188	0,47	10,25	71,068
30	std5 lasi	0,189	0,471	10,236	71,058
31	mQ	0,003	n.a.	0,066	0,237
32	mQ	0,003	n.a.	0,06	0,204

15.2.2016					
No.	Injection Name	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ 40 min	0,002	0,001	0,078	0,183
2	std1 40min	0,01	0,114	1,006	1,103
3	mq	0,004	n.a.	0,06	0,176
4	std1	0,007	0,1	1,016	1,089
5	std1 1h20min	0,007	0,098	1,016	1,088
6	std1 1h50min	0,007	0,098	1,016	1,088
7	mq	n.a.	n.a.	0,06	0,174
8	ref1	0,012	0,807	1,15	1,2
9	rv	0,012	1,154	1,029	2,913
10	rv	0,011	1,159	1,037	2,928
11	jvh	0,07	1,301	1,189	34,873
12	jvh	0,065	1,301	1,189	34,95
13	jvk	0,074	1,324	1,172	30,126
14	jvk	0,074	1,324	1,172	30,126
Aamulla olleet ajossa jotta näkee onko taso säilynyt					
No.	Injection Name	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	std1	0,012	0,1	1,009	1,089
2	ref1	0,018	0,811	1,15	1,198

16.2.2016					
No.	Injection Name	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ	0,002	n.a.	n.a.	0,184
2	rv	0,011	1,153	1,024	2,905
3	rv	0,01	1,157	1,034	2,918
4	jvh	0,069	1,298	1,189	34,988
5	jvh	0,07	1,302	1,192	35,117
6	jvk	0,075	1,318	1,158	30,442
7	jvk	0,075	1,318	1,158	30,431
8	std1	0,01	0,103	1,012	1,19
9	ref1	0,012	0,093	1,115	1,133
10	ref1	0,012	0,093	1,112	1,117
11	std2	0,019	0,198	2,498	9,969
12	std3	0,047	0,297	5,083	35,204
13	std4	0,093	0,379	7,601	50,245
14	std5	0,186	0,464	10,11	70,38
15	ref2	0,116	0,387	7,899	48,798
16	ref2	0,116	0,385	7,894	48,669
17	mQ	0,003	n.a.	0,065	0,255

17.2.2016					
No.	Injection Name	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ	n.a.	n.a.	n.a.	0,183
2	rv	0,009	1,158	1,029	2,921
3	rv	0,009	1,161	1,036	2,932
4	jvh	0,067	1,315	1,2	35,41
5	jvh	0,067	1,317	1,2	35,475
6	jvk	0,073	1,318	1,156	30,087
7	jvk	0,073	1,32	1,157	30,123
8	std1	0,009	0,105	1,01	1,184
9	ref1	0,012	0,11	1,102	1,144
10	ref2	0,111	0,385	7,89	48,194
11	std4	0,093	0,383	7,595	50,223
12	std4	0,092	0,384	7,6	50,209
13	std4	0,094	0,384	7,6	50,231
14	std5	0,186	0,467	10,098	70,404
15	mQ	0,003	n.a.	0,07	0,288

18.2.2016					
No.	Injection Name	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ	0,001	n.a.	n.a.	0,184
2	std1	0,008	0,093	1,002	1,114
3	rvh	0,009	1,157	1,029	2,913
4	jvh	0,071	1,301	1,195	35,528
5	jvk	0,071	1,316	1,159	30,37
6	ref1	0,012	0,101	1,103	1,188
7	std4	0,093	0,39	7,596	50,247
8	ref2	0,116	0,399	7,881	48,986
9	std5	0,187	0,481	10,165	70,524
10	mQ	0,002	n.a.	0,07	0,292
11	NH4, std1	0,011	n.a.	0,06	0,19
12	NH4, std4	0,09	n.a.	0,06	0,183
13	NH4, std5	0,181	n.a.	n.a.	0,184
14	mQ	0,003	n.a.	n.a.	0,183
15	ref1, 3	0,113	0,396	7,759	48,471
16	ref2, 3	0,015	0,104	1,088	1,245
17	rvh, 3	0,013	1,16	1,019	2,857
18	jvk, 3	0,07	1,316	1,157	30,118
19	jvk, 3	0,07	1,316	1,158	30,141
20	jvh, 3	0,072	1,305	1,197	35,383
21	jvh, 3	0,073	1,305	1,197	35,393
22	mQ	0,003	n.a.	0,06	0,267
23	rvh, 1,5	0,013	1,117	0,964	2,711
24	rvh, 1,5	0,013	1,119	0,97	2,716
25	jvk, 1,5	0,063	1,274	1,107	28,786
26	jvk, 1,5	0,065	1,275	1,109	28,808
27	jvh, 1,5	0,05	1,262	1,144	33,806
28	jvh, 1,5	0,07	1,267	1,146	33,857

19.2.2016					
No.	Injection Name	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ	0,001	n.a.	n.a.	0,198
2	ref1	0,011	0,095	1,134	1,175
3	std1	0,009	0,094	1,012	1,102
4	rvh	0,01	1,162	1,042	2,968
5	jvh	0,072	1,303	1,194	35,414
6	jvk	0,072	1,322	1,16	30,538
7	std4	0,093	0,384	7,595	50,31
8	ref spek	0,112	0,043	0,067	0,277
9	std spek	0,09	0,012	n.a.	0,204
10	ref2	0,114	0,388	7,941	48,567
11	std5	0,188	0,464	10,191	70,882
12	mQ	0,002	n.a.	0,076	0,322
13	mQ	0,002	n.a.	0,06	0,192
14	mQ	0,002	n.a.	n.a.	0,201

22.2.2016				
Injection Name	Amount	Na	magnesium	kalsium
	mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
	CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
	Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
std1	0,012	0,143	1,003	1,113
ref1	0,013	0,093	1,128	1,149
rvh	0,011	1,161	1,046	2,988
jvh	0,074	1,306	1,195	35,534
jvk	0,075	1,33	1,175	30,594
std4	0,095	0,39	7,609	50,272
ref2	0,113	0,392	7,927	49,162
std5	0,188	0,47	10,149	70,492
mQ	0,004	n.a.	0,077	0,343

23.2.2016					
No.	Injection Name	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ	n.a.	n.a.	n.a.	0,181
2	std1	0,008	0,099	1,003	1,116
3	ref1	0,01	0,092	1,124	1,154
4	ref1	0,01	0,093	1,127	1,157
5	ref1	0,01	0,092	1,125	1,155
6	ref1	0,011	0,095	1,126	1,158
7	ref1	0,011	0,094	1,126	1,156
8	ref1	0,011	0,092	1,126	1,153
9	rvh	0,01	1,161	1,043	2,98
10	rvh	0,01	1,164	1,045	2,988
11	jvh	0,072	1,304	1,194	35,159
12	jvh	0,071	1,305	1,194	35,236
13	jvk	0,074	1,331	1,181	30,515
14	jvk	0,073	1,329	1,182	30,494
15	rvh+std lis 1	0,013	0,486	1,266	1,868
16	rvh+std lis 1	0,012	0,482	1,262	1,817
17	rvh+std lis 2	0,025	0,554	2,274	10,629
18	rvh+std lis 2	0,025	0,555	2,282	10,65
19	rvh+std lis 3	0,049	0,628	5,303	35,849
20	rvh+std lis 3	0,049	0,624	5,305	35,867
21	rvh+std lis 4	0,072	0,69	7,332	50,911
22	rvh+std lis 4	0,072	0,693	7,328	50,952
23	rvh+std lis 5	0,096	0,755	8,355	61,034
24	rvh+std lis 5	0,097	0,756	8,346	60,997
25	ref2	0,115	0,385	7,888	49,65
26	ref2	0,115	0,384	7,876	49,497
27	ref2	0,117	0,386	7,88	49,473
28	ref2	0,118	0,39	7,883	49,486
29	ref2	0,117	0,384	7,882	49,483
30	ref2	0,118	0,386	7,88	49,479
31	std4	0,095	0,384	7,554	50,27
32	std5	0,185	0,463	10,035	70,188
33	mQ	0,004	n.a.	0,071	0,295

24.2.2016					
No.	Injection Name	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ	0,001	n.a.	n.a.	0,181
2	std1	0,009	n.a.	0,06	0,184
3	ref1	0,01	n.a.	n.a.	0,184
4	rvh	0,011	1,154	1,028	2,959
5	jvh	0,07	1,302	1,2	35,196
6	jvk	0,07	1,326	1,169	30,535
7	std4	0,09	n.a.	0,061	0,248
8	ref2	0,113	n.a.	n.a.	0,19
9	std5	0,183	n.a.	n.a.	0,191
10	mQ	0,002	n.a.	n.a.	0,189

25.2.2016					
No.	Injection Name	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ	n.a.	n.a.	0,06	0,18
6	mQ	0,001	n.a.	0,061	0,222
7	JVH	0,07	1,303	1,2	35,273
8	JVK	0,067	1,322	1,178	30,795
9	RVH	0,01	1,163	1,047	3,066
10	mQ	0,001	n.a.	0,061	0,211

26.2.2016					
No.	Injection Name	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ	0,002	n.a.	n.a.	0,186
2	std1	n.a.	n.a.	n.a.	0,182
3	ref1	0,013	n.a.	n.a.	0,181
4	rvh	0,011	1,156	1,025	2,949
5	jvh	0,071	1,307	1,184	34,555
6	jvk	0,071	1,331	1,189	31,22
7	std4	n.a.	n.a.	0,061	0,224
8	ref2	0,134	n.a.	n.a.	0,194
9	std5	n.a.	n.a.	0,061	0,186
10	mQ	0,031	n.a.	n.a.	0,183



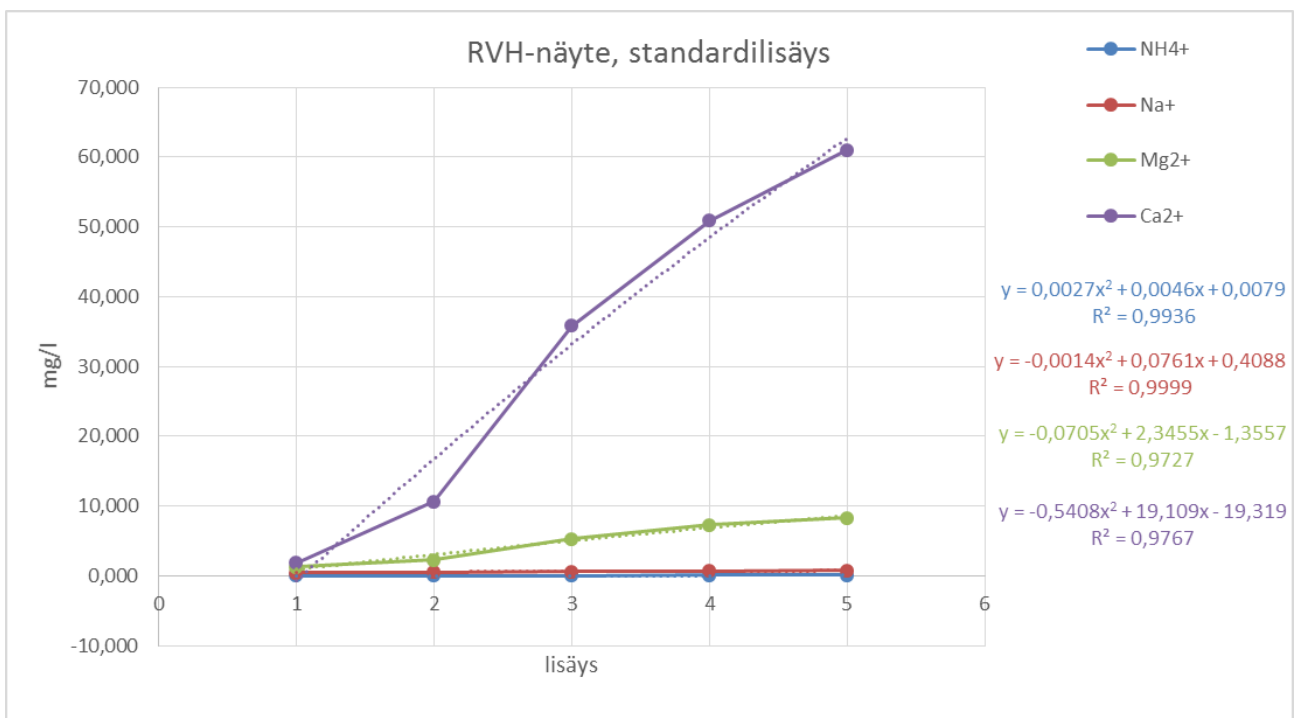
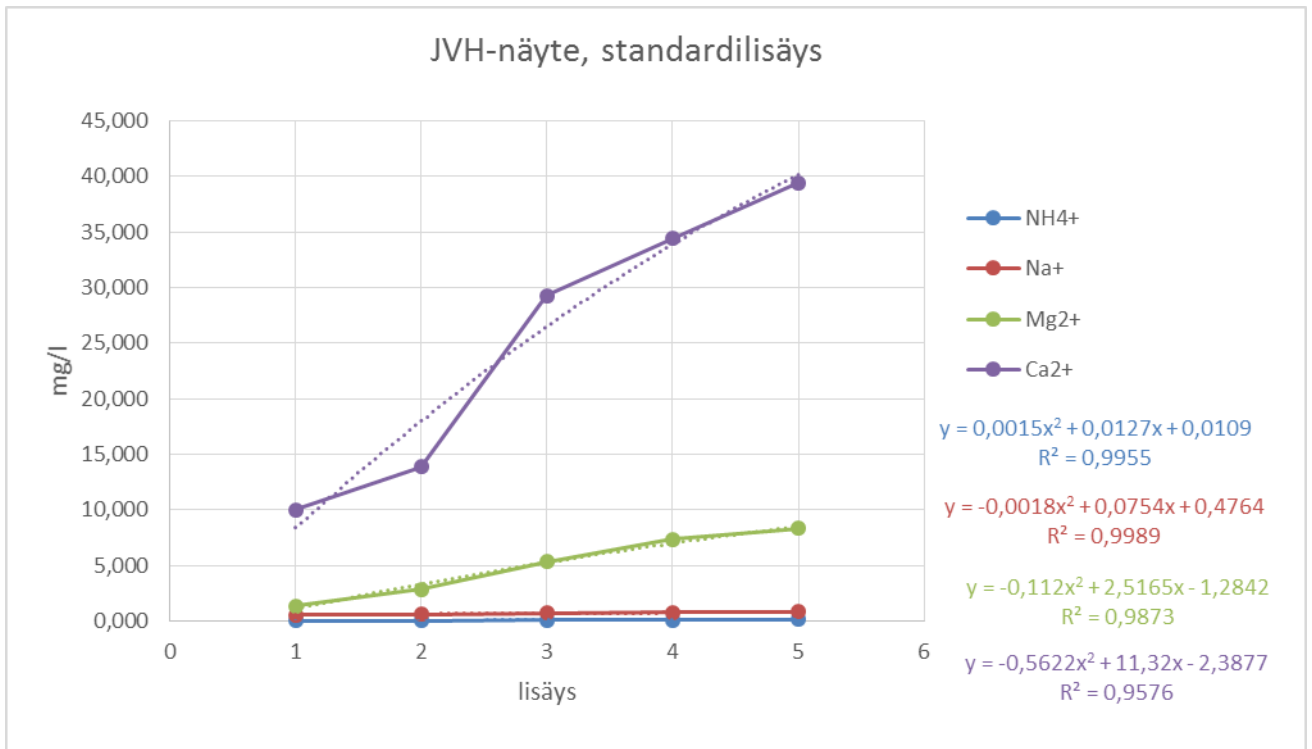
29.2.2016					
No.	Injection	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ	n.a.	n.a.	n.a.	0,179
2	std1	0,009	n.a.	n.a.	0,181
3	ref1	0,011	n.a.	n.a.	0,187
4	rvh	0,01	1,155	1,026	2,961
5	jvh	0,07	1,3	1,164	33,717
6	jvk	0,074	1,328	1,178	30,886
7	std4	0,089	n.a.	0,063	0,246
8	ref2	0,116	n.a.	0,06	0,197
9	std5	0,178	n.a.	n.a.	0,193
10	mQ	0,003	n.a.	n.a.	0,182

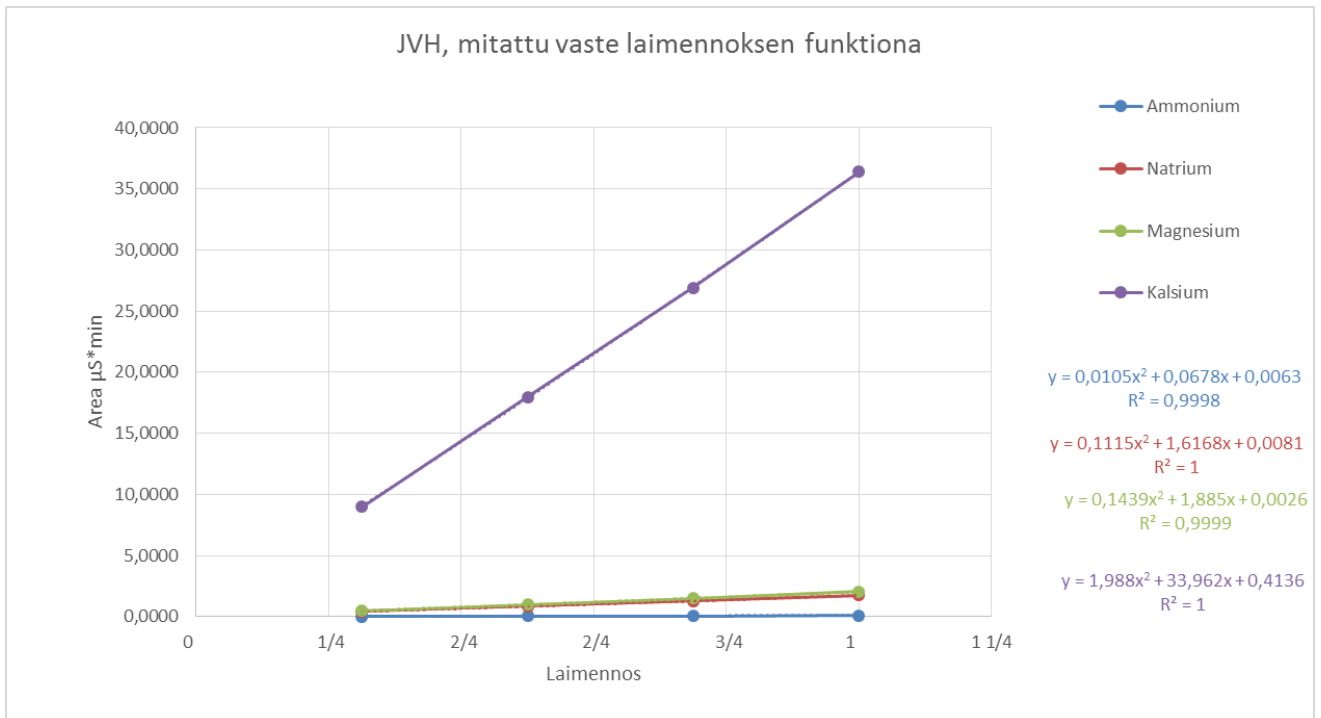
1.3.2016					
No.	Injection	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ	n.a.	n.a.	n.a.	0,181
6	up	0,002	n.a.	n.a.	0,185
7	jvk	0,075	1,314	1,137	30,269
8	jvh	0,064	1,301	1,157	33,655
9	rvh	0,009	1,165	1,043	3,05
21	UP	0,002	n.a.	0,061	0,197

2.3.2016					
No.	Injection Name	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ	n.a.	n.a.	n.a.	0,179
2	std1	0,009	n.a.	n.a.	0,181
3	ref1	0,011	n.a.	n.a.	0,182
4	rvh	0,01	1,153	1,02	2,947
5	jvh	0,07	1,308	1,176	34,08
6	jvk	0,067	1,326	1,175	30,585
7	std4	0,088	n.a.	0,062	0,251
8	ref2	0,115	n.a.	n.a.	0,193
9	std5	0,179	n.a.	n.a.	0,192
10	mQ	0,002	n.a.	n.a.	0,187

4.3.2016					
No.	Injection Name	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ	0,002	n.a.	n.a.	0,185
2	std1	0,01	n.a.	n.a.	0,193
3	ref1	0,013	n.a.	n.a.	0,187
4	rvh	0,01	1,168	1,04	2,999
5	jvh	0,072	1,311	1,154	32,916
6	jvk	0,072	1,341	1,188	30,994
7	std4	0,091	n.a.	0,061	0,232
8	ref2	0,114	n.a.	0,06	0,202
9	std5	0,182	n.a.	n.a.	0,2
10	happo 3	0,003	n.a.	n.a.	0,19
11	happo 3	0,004	n.a.	n.a.	0,184
12	mQ	0,003	n.a.	n.a.	0,198
13	mQ	0,003	n.a.	n.a.	0,199
14	std1	0,012	n.a.	n.a.	0,191
15	ref1	0,013	n.a.	n.a.	0,189
16	rvh	0,011	1,169	1,039	2,997
17	jvh	0,073	1,311	1,153	32,893
18	jvk	0,069	1,341	1,189	31,019
19	std4	0,092	n.a.	0,061	0,232
20	ref2	0,115	n.a.	n.a.	0,194
21	std5	0,183	n.a.	n.a.	0,196

7.3.2016					
No.	Injection Name	Amount	Na	magnesium	kalsium
		mg/L	mg/l	mg/L	mg/L
		CD_2	CD_2	CD_2	CD_2
		Ammonium	Natrium	Magnesium	Kalsium
1	mQ, heti pesun jälkeen	n.a.	n.a.	n.a.	0.176
2	mQ	0.002	n.a.	n.a.	0.186
3	std1	0.01	n.a.	n.a.	0.185
4	ref1	0.011	n.a.	n.a.	0.182
5	std4	0.087	n.a.	n.a.	0.189
6	ref2	0.112	n.a.	n.a.	0.183
7	std5	0.179	n.a.	n.a.	0.191
8	mQ	0.003	n.a.	n.a.	0.192





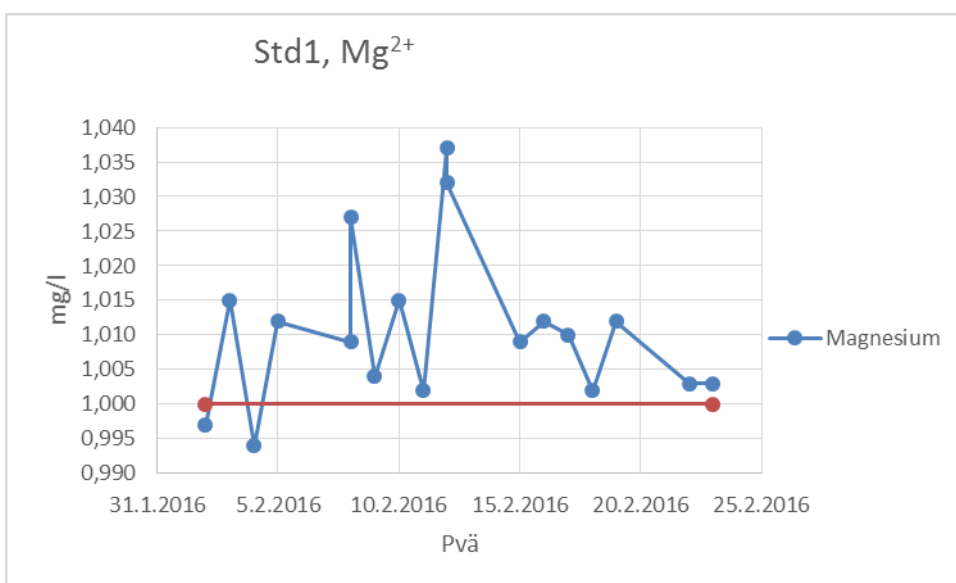
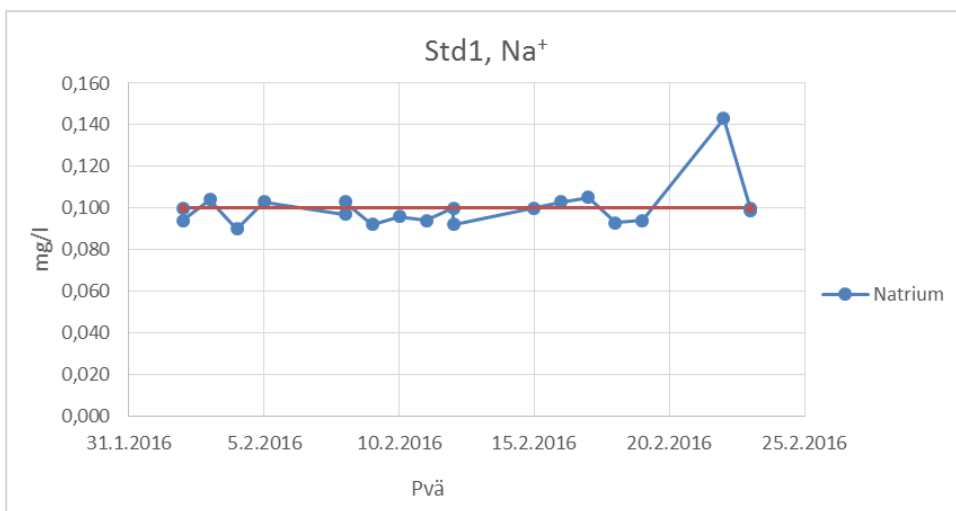
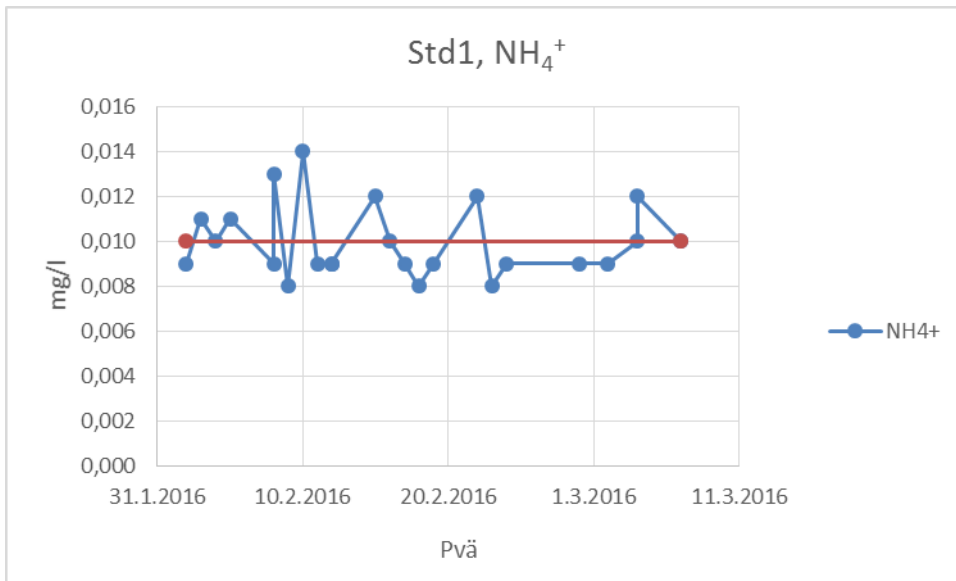
ref1-liuos						
Anova: yksisuuntainen						
<b>YHTEENVETO</b>						
<i>Ryhmät</i>	<i>Lukumäärä</i>	<i>Summa</i>	<i>Keskiarvo</i>	<i>Varianssi</i>		
2.2.2016	6	0,077	0,012833	5,6667E-07		
3.2.2016	6	0,083	0,013833	1,6667E-07		
4.2.2016	6	0,073	0,012167	5,6667E-07		
5.2.2016	6	0,078	0,013	0,0000004		
23.2.2016	6	0,063	0,0105	0,0000003		
<b>ANOVA</b>						
<i>Vaihtelun lähde</i>	<i>NS</i>	<i>va</i>	<i>KN</i>	<i>F</i>	<i>P-arvo</i>	<i>F-kriittinen</i>
Luokkien välissä	3,74667E-05	4	9,37E-06	23,4166667	3,81E-08	2,75871047
Ryhmissä	0,00001	25	4E-07			
Yhteensä	4,74667E-05	29				
ref2						
Anova: yksisuuntainen						
<b>YHTEENVETO</b>						
<i>Ryhmät</i>	<i>Lukumäärä</i>	<i>Summa</i>	<i>Keskiarvo</i>	<i>Varianssi</i>		
2.2.2016	6	0,724	0,120667	1,0667E-06		
3.2.2016	6	0,73	0,121667	1,1467E-05		
4.2.2016	6	0,703	0,117167	2,9667E-06		
5.2.2016	6	0,711	0,1185	0,0000015		
23.2.2016	6	0,7	0,116667	1,8667E-06		
<b>ANOVA</b>						
<i>Vaihtelun lähde</i>	<i>NS</i>	<i>va</i>	<i>KN</i>	<i>F</i>	<i>P-arvo</i>	<i>F-kriittinen</i>
Luokkien välissä	0,000113533	4	2,84E-05	7,52208481	0,000402	2,75871047
Ryhmissä	9,43333E-05	25	3,77E-06			

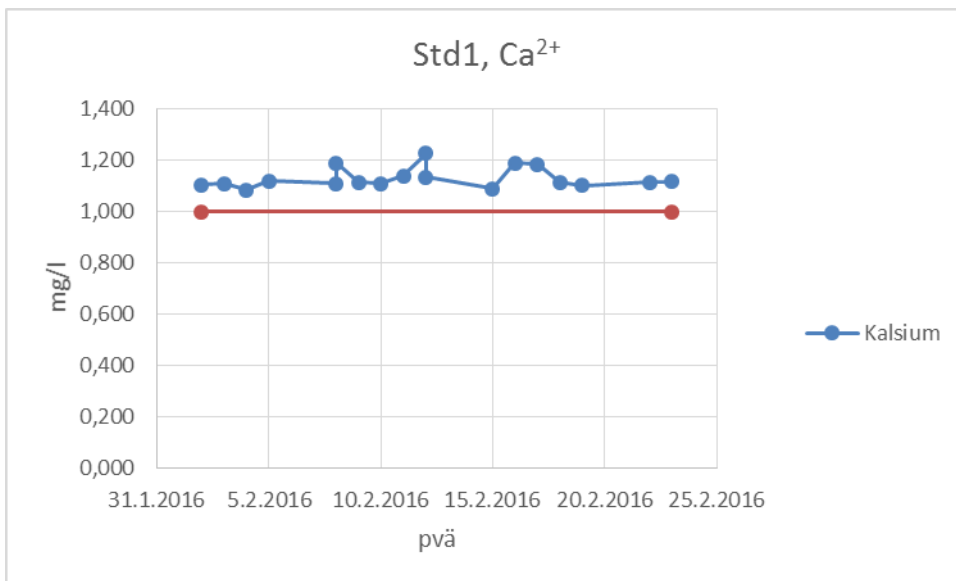
ref1-liuos						
Anova: yksisuuntainen						
YHTEENVETO						
<i>Ryhmät</i>	<i>Lukumäärä</i>	<i>Summa</i>	<i>Keskiarvo</i>	<i>Varianssi</i>		
2.2.2016	6	0,573	0,0955	1,9E-06		
4.2.2016	6	0,561	0,0935	1,1E-06		
5.2.2016	6	0,567	0,0945	1,9E-06		
23.2.2016	6	0,558	0,093	1,6E-06		
ANOVA						
<i>Vaihtelun lähde</i>	<i>NS</i>	<i>va</i>	<i>KN</i>	<i>F</i>	<i>P-arvo</i>	<i>F-kriittinen</i>
Luokkien välissä	2,2125E-05	3	7,38E-06	4,538462	0,013916	3,098391212
Ryhmissä	3,25E-05	20	1,63E-06			
Yhteensä	5,4625E-05	23				
ref2-liuos						
Anova: yksisuuntainen						
YHTEENVETO						
<i>Ryhmät</i>	<i>Lukumäärä</i>	<i>Summa</i>	<i>Keskiarvo</i>	<i>Varianssi</i>		
2.2.2016	6	2,36	0,393333	2,27E-06		
4.2.2016	6	2,278	0,379667	5,47E-06		
5.2.2016	6	2,298	0,383	3,2E-06		
23.2.2016	6	2,315	0,385833	4,97E-06		
ANOVA						
<i>Vaihtelun lähde</i>	<i>NS</i>	<i>va</i>	<i>KN</i>	<i>F</i>	<i>P-arvo</i>	<i>F-kriittinen</i>
Luokkien välissä	0,000610458	3	0,000203	51,19147	1,44E-09	3,098391212
Ryhmissä	7,95E-05	20	3,98E-06			
Yhteensä	0,000689958	23				

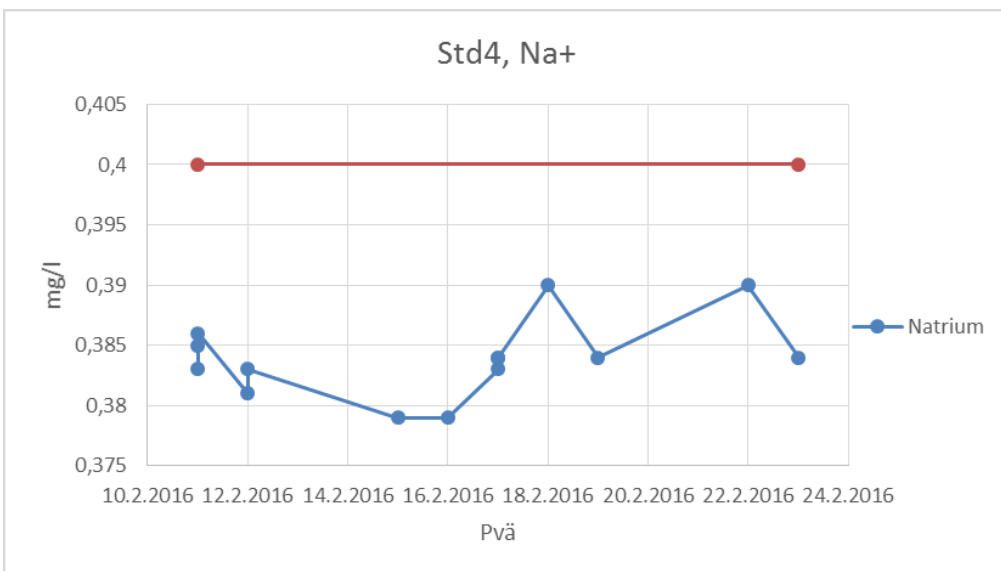
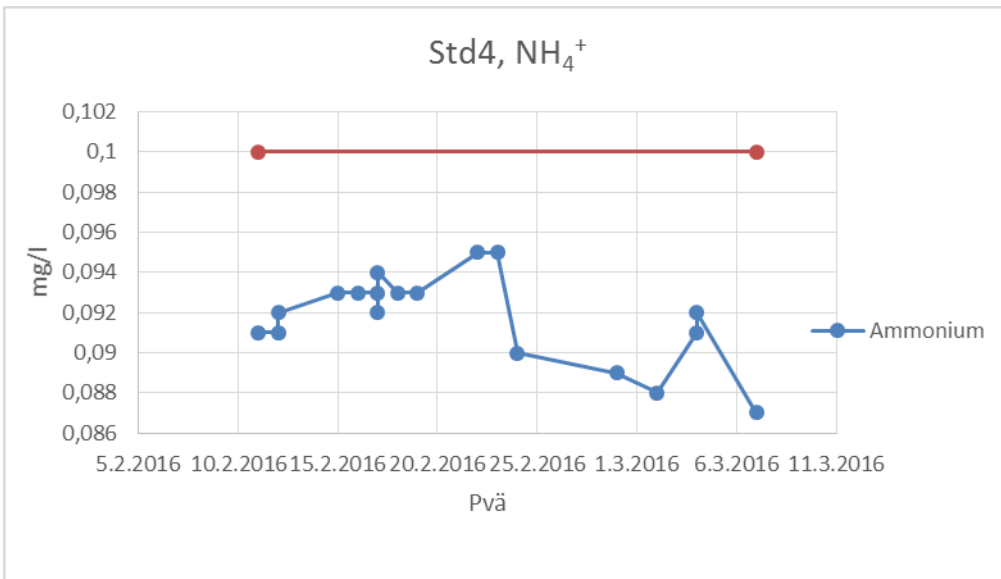
ref1-liuos							
Anova: yksisuuntainen							
YHTEENVETO							
<i>Ryhmät</i>	<i>Lukumäärä</i>	<i>Summa</i>	<i>Keskiarvo</i>	<i>Varianssi</i>			
2.2.2016	6	6,612	1,102	2,6E-05			
3.2.2016	6	6,629	1,104833	9,67E-07			
4.2.2016	6	6,538	1,089667	2,63E-05			
5.2.2016	6	6,734	1,122333	1,23E-05			
23.2.2016	6	6,754	1,125667	1,07E-06			
ANOVA							
<i>Vaihtelun lähde</i>	<i>NS</i>	<i>va</i>	<i>KN</i>	<i>F</i>	<i>P-arvo</i>	<i>F-kriittinen</i>	
Luokkien välissä	0,005373867	4	0,001343	100,9114	4,78E-15	2,75871047	
Ryhmissä	0,000332833	25	1,33E-05				
Yhteensä	0,0057067	29					
ref2-liuos							
Anova: yksisuuntainen							
YHTEENVETO							
<i>Ryhmät</i>	<i>Lukumäärä</i>	<i>Summa</i>	<i>Keskiarvo</i>	<i>Varianssi</i>			
2.2.2016	6	47,961	7,9935	3,39E-05			
3.2.2016	6	47,132	7,855333	0,000464			
4.2.2016	6	47,117	7,852833	3,42E-05			
5.2.2016	6	47,605	7,934167	0,000129			
23.2.2016	6	47,289	7,8815	1,59E-05			
ANOVA							
<i>Vaihtelun lähde</i>	<i>NS</i>	<i>va</i>	<i>KN</i>	<i>F</i>	<i>P-arvo</i>	<i>F-kriittinen</i>	
Luokkien välissä	0,086469467	4	0,021617	159,6084	2,07E-17	2,75871047	
Ryhmissä	0,003386	25	0,000135				
Yhteensä	0,089855467	29					

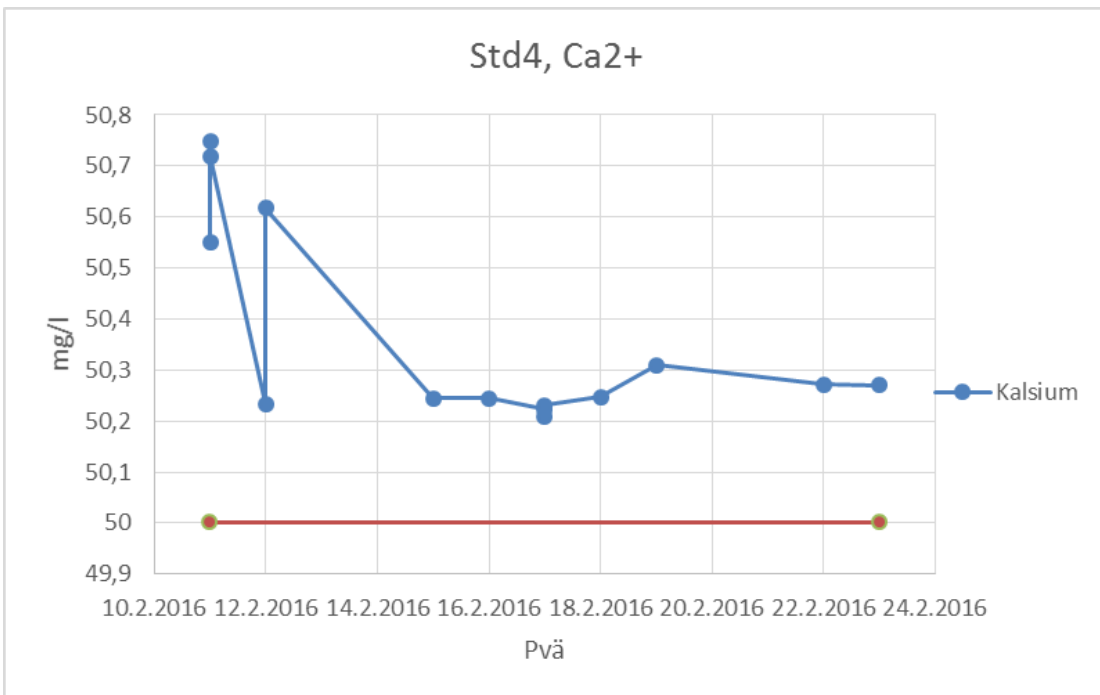
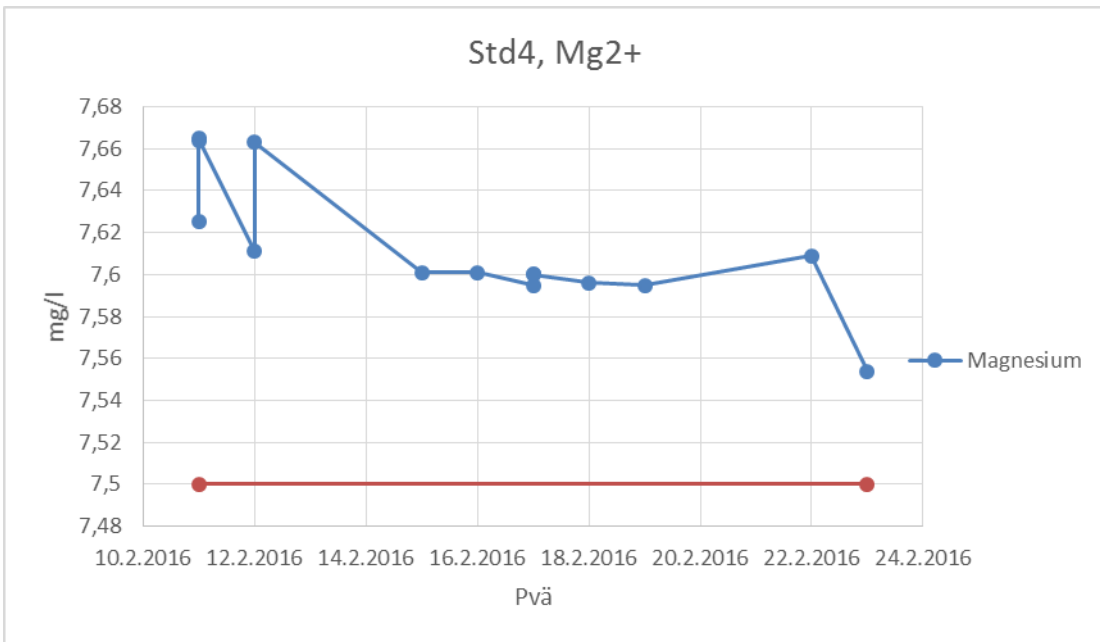
ref1-liuos						
Anova: yksisuuntainen						
YHTEENVETO						
<i>Ryhmät</i>	<i>Lukumäärä</i>	<i>Summa</i>	<i>Keskiarvo</i>	<i>Varianssi</i>		
2.2.2016	6	6,677	1,112833	3,5E-05		
3.2.2016	6	6,834	1,139	2,8E-06		
4.2.2016	6	6,616	1,102667	6,83E-05		
5.2.2016	6	6,824	1,137333	3,23E-05		
23.2.2016	6	6,933	1,1555	3,5E-06		
ANOVA						
<i>Vaihtelun lähde</i>	<i>NS</i>	<i>va</i>	<i>KN</i>	<i>F</i>	<i>P-arvo</i>	<i>F-kriittinen</i>
Luokkien välissä	0,010952467	4	0,002738	96,54854	8,01E-15	2,75871047
Ryhmissä	0,000709	25	2,84E-05			
Yhteensä	0,011661467	29				
ref2-liuos						
Anova: yksisuuntainen						
YHTEENVETO						
<i>Ryhmät</i>	<i>Lukumäärä</i>	<i>Summa</i>	<i>Keskiarvo</i>	<i>Varianssi</i>		
2.2.2016	6	297,551	49,59183	0,000664		
3.2.2016	6	293,259	48,8765	0,017692		
4.2.2016	6	293,209	48,86817	0,000703		
5.2.2016	6	295,506	49,251	0,00197		
23.2.2016	6	297,068	49,51133	0,004679		
ANOVA						
<i>Vaihtelun lähde</i>	<i>NS</i>	<i>va</i>	<i>KN</i>	<i>F</i>	<i>P-arvo</i>	<i>F-kriittinen</i>
Luokkien välissä	2,795248867	4	0,698812	135,915	1,42E-16	2,75871047
Ryhmissä	0,1285385	25	0,005142			
Yhteensä	2,923787367	29				

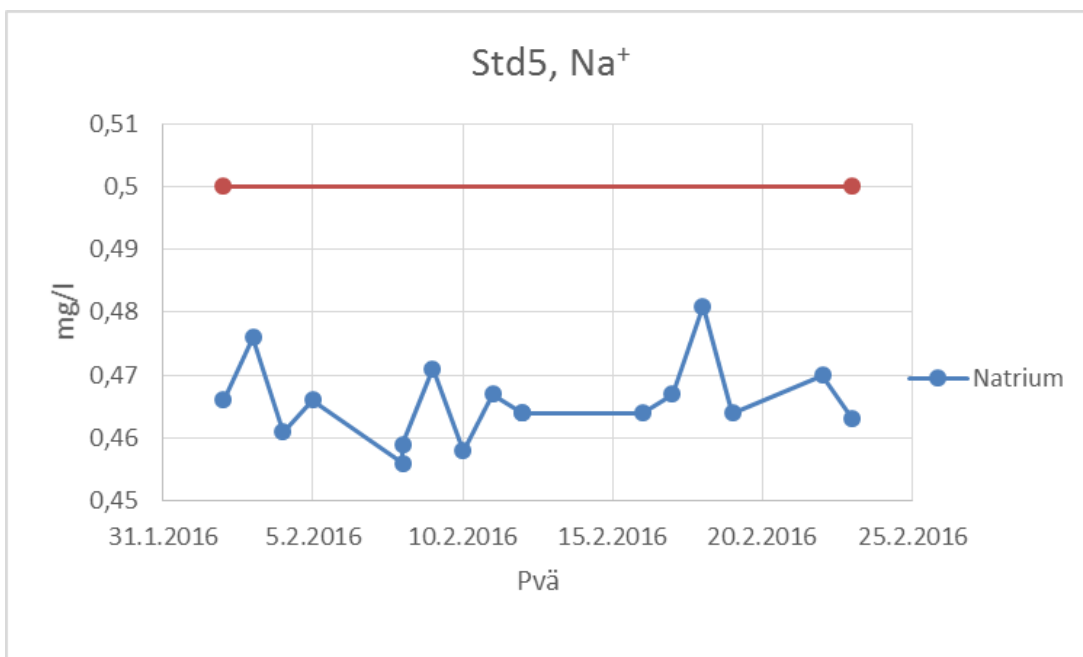
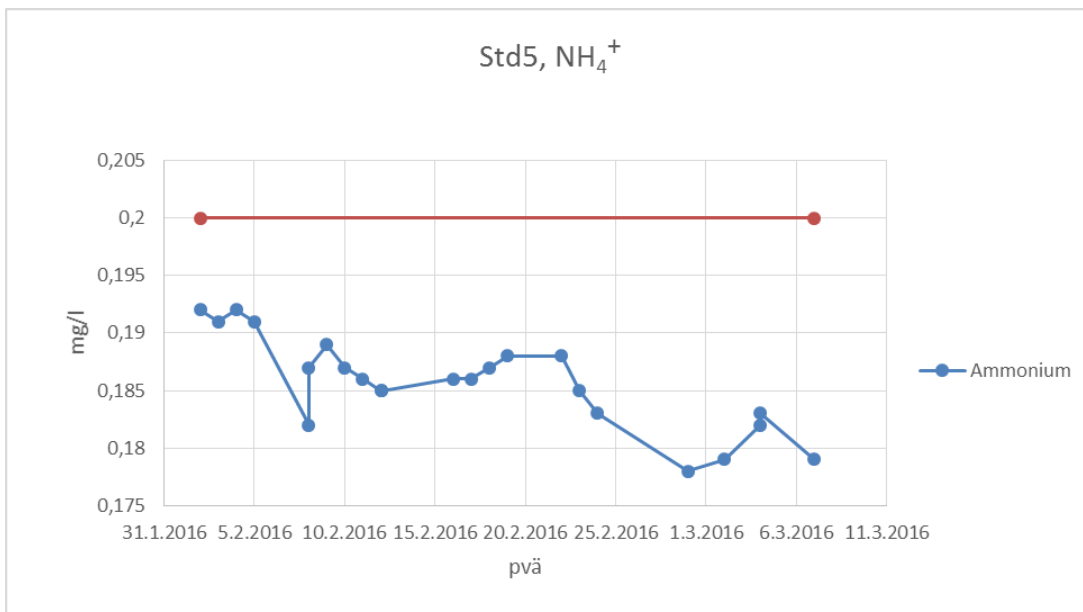


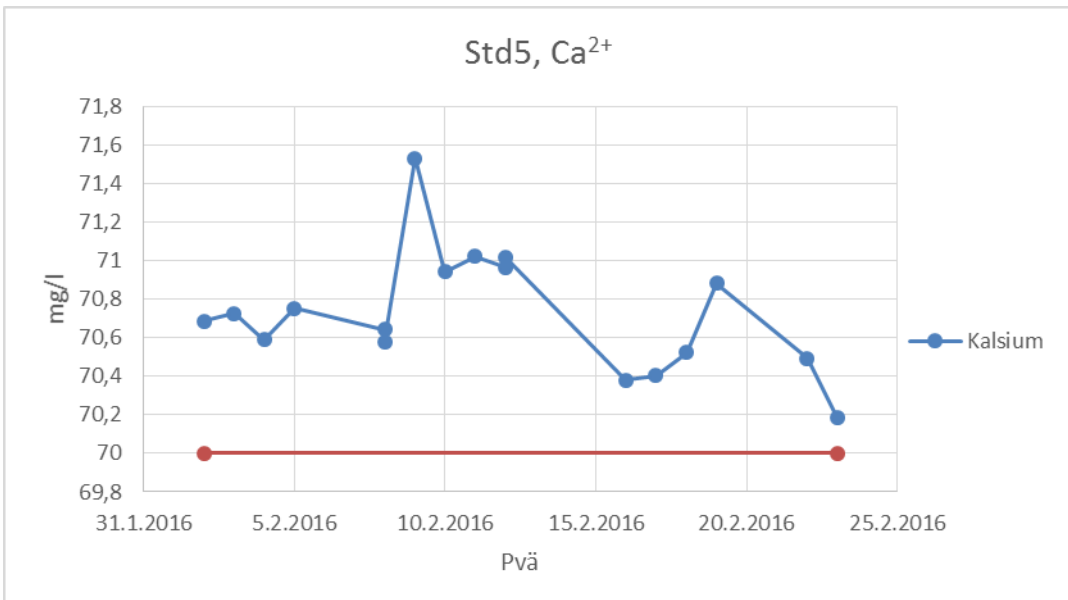
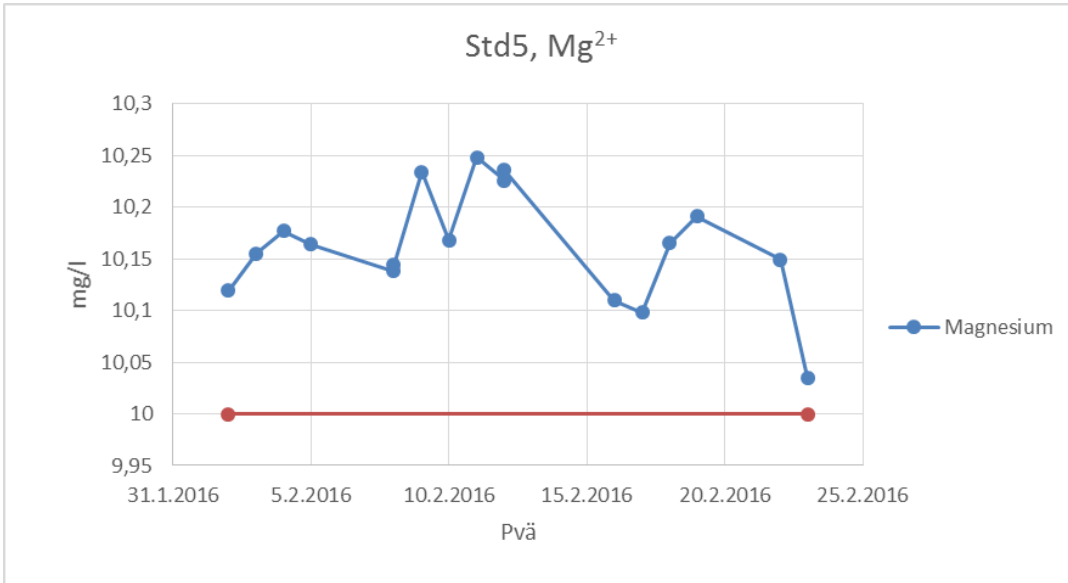












	RVH			JVH			JVK	
	IC/NH <sub>4</sub>	Spek/NH <sub>4</sub>		IC/NH <sub>4</sub>	Spek/NH <sub>4</sub>		IC/NH <sub>4</sub>	Spek/NH <sub>4</sub>
12.2.2016	0,011		12.2.2016	0,079		12.2.2016	0,077	
	0,014			0,079			0,077	
	0,014			0,074			0,077	
15.2.2016	0,012	0,0079	15.2.2016	0,07	0,0752	15.2.2016	0,074	0,0826
	0,011			0,065			0,074	
16.2.2016	0,011		16.2.2016	0,069		16.2.2016	0,075	
	0,01			0,07			0,075	
17.2.2016	0,009	0,0061	17.2.2016	0,067	0,0742	17.2.2016	0,073	0,0792
	0,009			0,067			0,073	
18.2.2016	0,009		18.2.2016	0,071		18.2.2016	0,071	
19.2.2016	0,01	0,0022	19.2.2016	0,072	0,0778	19.2.2016	0,072	0,0762
22.2.2016	0,011	0,0046	22.2.2016	0,074	0,076	22.2.2016	0,075	0,0771
23.2.2016	0,01		23.2.2016	0,0715		23.2.2016	0,0735	
24.2.2016	0,009	0,0067	24.2.2016	0,064	0,0797	24.2.2016	0,075	0,0799
25.2.2016	0,01		25.2.2016	0,064		25.2.2016	0,075	
26.2.2016	0,011	0,0085	26.2.2016	0,071	0,0804	26.2.2016	0,075	0,0803
29.2.2016	0,01	0,0046	29.2.2016	0,07	0,0793	29.2.2016	0,074	0,0805
1.3.2016	0,009		1.3.2016	0,064		1.3.2016	0,075	
2.3.2016	0,01	0,0077	2.3.2016	0,07	0,0808	2.3.2016	0,067	0,0873
3.3.2016			3.3.2016			3.3.2016		
4.3.2016	0,011	0,0086	4.3.2016	0,073	0,0817	4.3.2016	0,069	0,0823

ref1	IC	spek		ref2	IC	spek		
12.2.2016	0,012			12.2.2016	0,115			
12.2.2016	0,012			12.2.2016	0,117			
15.2.2016	0,018		<i>Vuoto IC pumpuissa</i>	15.2.2016	0,124		<i>Vuoto IC pumpuissa</i>	
16.2.2016	0,012			16.2.2016	0,116			
16.2.2016	0,012			16.2.2016	0,116			
17.2.2016	0,012	0,0086		17.2.2016	0,111	0,1215		
18.2.2016	0,012			18.2.2016	0,116			
19.2.2016	0,011	0,0065		19.2.2016	0,114	0,1306		
19.2.2016	0,011	0,007		19.2.2016	0,114	0,12905		
22.2.2016	0,011	0,0099		22.2.2016	0,114	0,1262		
23.2.2016	0,0105			23.2.2016	0,116667			
24.2.2016	0,01	0,0138		24.2.2016	0,113	0,1264		
25.2.2016				25.2.2016				
26.2.2016	0,013	0,0152		26.2.2016	0,134	0,1302		
29.2.2016	0,011	0,0109		29.2.2016	0,116	0,1286		
29.2.2016		0,0116		29.2.2016		0,12745		
1.3.2016				1.3.2016				
2.3.2016	0,011	0,0153		2.3.2016	0,115	0,1333		
3.3.2016				3.3.2016				
4.3.2016	0,013	0,0156		4.3.2016	0,115	0,1277		