



Osaamista
ja oivallusta
tulevaisuuden
tekemiseen

Jonatan Hämäläinen

Näytteensyöttäjän käyttöönotto ja validointi natriumille ja kaliumille

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Laboratorioanalyttikko (AMK)

Laboratorioanalytiikka

Opinnäytetyö

13.11.2019

Tekijä Otsikko Sivumäärä Aika	Jonatan Hämäläinen Näytteensyöttäjän käyttöönotto ja validointi natriumille ja kaliumille 56 sivua + 1 liitettä 13.11.2019
Tutkinto	Laboratorioanalyttikko (AMK)
Tutkinto-ohjelma	Laboratorioala
Ohjaajat	Yliopettaja Jukka Niiranen Laboratoriopäällikkö Eero Aspberg Laboratorioinsinööri Anja Hagman
<p>Opintonäytetyö suoritettiin Kymen ympäristölaboratorio Oy:lle, polttolaboratorion tiloissa. Laboratorio on FINAS-akkreditoitu standardin SFS-EN ISO/IEC 17025:2005 mukaan.</p> <p>Opinnäytetyön tavoite oli tutustua laboratoriossa olevan PerkinElmer PinAAcle 500-atomiabsorptiospektrofotometrin lisälaitteena toimivaan näytteensyöttäjään. Tarkoituksena oli oppia tämän lisälaitteen käytöstä osana mittaustyötä ja sen jälkeen validoida natriumin ja kaliumin mittaukset kahdesta näytetyypistä tätä näytteensyöttäjää käyttäen. Toissijainen, tavoite työssä oli verrata tätä kautta saatuja tuloksia käsinsyötöllä saatuihin tuloksiin.</p> <p>Käytetyt näytteet olivat mustalipeä ja sähkösuodintuhka, kumpikin saadaan sivutuotteena paperiteollisuuden osana.</p> <p>Samoista näytetyypeistä on aiemmin mitattu natriumia ja kaliumia samalla instrumentilla, mutta näytteet on syötetty spektrofotometriin käsin. Nämä mittaustyöt, käsinsyötöllä tehtynä, oli jo ennestään validoitu. Kun tämä yllä mainittu näytteensyöttin otetaan käyttöön, se muuttaa mittaustekniikkaa ympäröiviä olosuhteita, ja täten vaatii uuden validoinnin.</p> <p>Ennen varsinaisia validoinnin mittauksia suoritettiin myös muutamia kokeita, jotka toimivat samalla harjoituksena instrumentin käyttämiseen. Muun muassa testattiin mahdollisuutta, että natriumille ja kaliumille voitaisiin tehdä vain yksi kantaliuos, jossa olisi kumpaakin alkuainetta. Testattiin myös cesiumin vaikutusta ionisaatiopuskurina näiden kahden alkuaineen mittaustuloksiin.</p> <p>Lopputuloksena työlle saatiin natriumin kaikki mittaukset suoritettua, mutta osa tuloksista viittasi lisätyön tarpeeseen, jotta mittausten tarkkuudesta voidaan olla varma. Natriumilla havaittiin myös eroa käsin- ja automaattisyötön välillä. Kaliumista ei täydellistä sarjaa analyysistä saatu tehtyä, mutta havaittiin, että käsin- ja automaattisyötön välillä ei vaikuta olevan juuri eroa.</p>	
Avainsanat	AAS, näytteensyöttäjä, validointi, natrium, kalium

Author Title	Jonatan Hämäläinen Deployment and Validation of Autosampler for Sodium and Potassium
Number of Pages Date	56 pages + 1 appendices 13 November 2019
Degree	Bachelor of Laboratory Services
Degree Programme	Laboratory Sciences
Instructors	Jukka Niiranen, Principal lecturer Eero Aspberg, Laboratory chief Anja Hagman, Laboratory engineer
<p>This study was conducted for Kymen Laboratories Ltd, in high-temperature laboratory. The laboratory is FINAS-accredited according to standard SFS-EN ISO/IEC 17025:2005</p> <p>The purpose of this study was learn the usage of an accessory autosampler for the PerkinElmer PinAAcle 500 atomic absorption spectrophotometer. The goal was to learn how this autosampler is operated as part of the spectrophotometers usage, and after that validate the analysis of sodium and potassium from two different types of samples using this autosampler as part of the analysis setup. A secondary goal was to compare the results of analysing the samples using the autosampler, to the results of the same measurements performed by hand-feeding the samples.</p> <p>The two sample types were black liquor, and ESP ash, both side-products of paper production.</p> <p>Sodium and potassium have previously been measured from these kinds of samples using the same instrument, but have been handfed. Done this way, the methods had been validated. With the introduction of the aforementioned autosampler, it changes the circumstances around the analysis, and thus necessitates a new validation.</p> <p>Before performing the measurements for the validation, some experiments were run that also served as practice in learning to use this instrument. The possibility of having a single stock solution, containing both sodium and potassium was tested. Also, the effect of cesium as an ionization buffer was tested.</p> <p>As an end result, all the analyses for sodium were complete, but the results point to need for further testing to ensure the accuracy of the results. Differences in the results between hand- and autosampler-fed samples were also noticed. A complete series of analyses for potassium could not be completed, but the findings point that there might not be difference between samples that are handfed and fed via autosampler.</p>	
Keywords	AAS, autosampler, validation, sodium, potassium

Sisällys

Lyhenteet

1	Johdanto	1
2	Validoinnin teoriaa	1
3	Atomiabsorptiospektrometrian teoriaa	2
4	Validoinnin parametrit	6
4.1	Lineaarisuus ja määrittäminen	7
4.2	Herkkyys	7
4.3	Spesifisyys	8
4.4	Toteamis- ja määrittämissrajat	8
4.5	Oikeellisuus	9
4.6	Toistettavuus	9
4.7	Mittausepävarmuus	10
5	Käytetyt instrumentit, välineistö, reagenssit, ja näytteet	10
5.1	Laitteisto	10
5.1.1	PerkinElmer PinAAcle 500 –atomiabsorptiospektrofotometri	10
5.1.2	PerkinElmer Lumina -onttokatodilamput natriumille ja kaliumille	12
5.1.3	PerkinElmer SC2 DX Autosampler –näytteensyötin	13
5.1.4	Mettler Toledo AG285 –analyysivaaka	15
5.1.5	Milli-Q Reference –vedenpuhdistuslaitteisto	16
5.2	Välineistö	20
5.3	Reagenssit	21
5.4	Näytteet	21
6	Validoinnin käytännön tehtävät	22
6.1	Liuosten valmistus	22
6.2	Mittausten käytännön suoritus, tulokset, ja tulosten tulkinta	23
6.2.1	Natriumin lineaarisuus ja määrittäminen, spesifisyys, herkkyys	23
6.2.2	Natriumin toteamis- ja määrittämissrajat	26

6.2.3	Natriumin oikeellisuus	28
6.2.4	Natriumin toistettavuus	32
6.2.5	Natriumin mittausepävarmuus	42
6.2.6	Kaliumin lineaarisuus ja määritysalue, spesifisyys, herkkyys	42
6.2.7	Kaliumin toteamis- ja määritysrajat	48
6.2.8	Kaliumin oikeellisuus	49
6.3	Näytteensyöttäjän ja käsinsyötön vertaaminen	50
7	Yhteenveto ja loppupäätelmät	55
	Lähteet	57
	Liitteet	
	Liite 1. Natriumin mittausepävarmuus, täysi MUKit-raportti	

Lyhenteet

AAS	<i>Atomic Absorption Spectrophotometer.</i> Atomiabsorptiospektrofotometri. (instrumentti) <i>Atomic Absorption Spectroscopy.</i> Atomiabsorptiospektroskopia (metodi)
ANOVA	<i>ANalysis Of VAriance.</i> Varianssianalyysi
FAAS	<i>Flame ionization Atomic Absorption Spectrophotometer.</i> Liekki-ionisaatioatomiabsorptiospektrofotometri. (instrumentti) <i>Flame ionization Atomic Absorption Spectroscopy.</i> Liekki-ionisaatioatomiabsorptiospektroskopia. (metodi)
LOD	<i>Limit Of Detection.</i> Toteamisraja
LOQ	<i>Limit Of Quantitation.</i> Määrittäysraja
MUKit	<i>Measurement Uncertainty Kit,</i> Mittausepävarmuus kitti
UP-vesi	<i>Ultra Pure.</i> Ultrapuhdas vesi

1 Johdanto

Tämä opinnäytetyö suoritettiin Kymen Ympäristölaboratorio Oy:lle, ja sen osana oli kolme tavoitetta. Ensimmäisenä otettiin käyttöön opinnäytetyön pääinstrumenttina toimineen FAAS:in näytteensyöttäjä. Tämä on lisälaitte joka avustaa mittausprosessia automatisoimalla näytteen syöttämisen instrumenttiin.

Seuraava työn tavoite oli validoida natriumin ja kaliumin mittaukset, käyttäen tätä näytteensyöttäjää osana mittauksia. Validoimalla varmistettiin miten tarkasti, luotettavasti ja toistettavasti näitä alkuaineita voidaan määrittää instrumentilla.

Viimeisenä tavoitteena tarkasteltiin mittaustuloksia jotka instrumentilla saatiin tätä näytteensyöttäjää käyttäen, ja verrattiin näitä saatuja tuloksia tuloksiin jotka saatiin samoista näytteistä ja liuoksista käsinsyötöllä ajettuna. Tarkoituksena näillä vertailuilla oli varmistaa että instrumentti ei tuottanut eri tuloksia samoille näytteille riippuen oliko näytteen syöttö tehty käsin vain näytteensyöttäjän kanssa.

Nämä olivat saavutetut tavoitteet, mutta opinnäytetyön alkuperäinen suunnitelma oli laajempi. Alkuperäisen suunnitelman osana oli, että validointi olisi suoritettu kolmelle alkuaineelle: natriumille, kaliumille ja kalsiumille. Mutta pian varsinaisen suorituksen aloituksen jälkeen vasta ymmärrettiin tämän suunnitelman vaatiman työn laajuus.

Hyvin pian aloituksen jälkeen päätettiin kalsiumin validointi hylätä. Aikaa ei riittänyt että validointi olisi voitu suorittaa läpikohtaisesti ja asianmukaisella huolellisuudella. Myöhemmin kaliumin validointi rajoitettiin osittaiseen validointiin, täydellisen validoinnin sijasta. Tähän päätökseen tultiin kalium-mittauksissa havaittujen, toistuvien ongelmien takia. Näiden ongelmien seurauksena joitakin validointimittauksia jouduttiin toistamaan useita kertoja käyttökelpoisten tulosten saamiseksi.

2 Validoinnin teoriaa

Tarkoitus menetelmän validoinnin taustalla on tarkastella ja arvioida miten hyvin kyseinen menetelmä, käyttäen spesifistä välineistöä, on soveltuva toivottuun tarkoitukseen.

Validionnilla tarkastellaan valitun menetelmän luotettavuutta valitulla instrumentilla, ottaen huomioon ympäristötekijät. Validionnin tulokset eivät ole niinkään absoluuttisia, ennemminkin viitearvoja, jotka kuvaavat menetelmän luotettavuutta kyseisissä olosuhteissa. [1, s.5]

Tietyn tyyppinen instrumentti nojautuu pääasiassa instrumenttityypille ominaisiin perusideoihin joihin sen spesifinen toimintamekanismi perustuu. Yksittäisissä instrumenttimallissa on useammin joitain yksilöllisiä ominaisuuksia joka eroa muista saman toimintaperiaatteen instrumenteista.

Nämä ominaisuudet voivat aiheuttaa eri instrumenttimallien välillä pieniä eroja niillä saatavista mittaustuloksissa. Nämä ominaisuudet voivat myös vaikuttaa mihin tarkoitukseen ja minkälaisiin näytteisiin kukin instrumenttimalli parhaiten soveltuu. Jos kaksi saman valmistajan saman merkkistä instrumenttia käytetään kahdessa eri laboratorioissa, voi tulosten välillä olla havaittavissa eroja.

Instrumentin ominaisuudet eivät välttämättä ole ainoat vaikuttajat tuloksiin. Myös instrumentin ympäristö, sen käyttäjät ja mittauksissa käytetyt reagenssit voivat vaikuttaa tuloksiin. Nämä kaikki potentiaaliset poikkeustekijät antavat syyn miksi validointi on syytä suorittaa. Validointi antaa viitearvoja miten luotettavia kunkin yksilöllisen instrumentin tuottamat tulokset ovat kun kaikki yllä mainitut poikkeamia aiheuttavat tekijät on otettu huomioon.

3 Atomiabsorptiospektrometrian teoriaa

Atomiabsorptiospektrometrian käytännön toimivuus perustuu atomien kykyyn absorboida energiaa valosta aallonpituuksilla jotka ovat kullekin alkuaineelle varsin suppealla alueella. Kun perustilassa olevaan, virittymättömään atomiin kohdistetaan valoa oikealla aallonpituudella, osa tästä valosta ja sen kantamasta energiasta absorboituu atomeihin. Tämä saattaa nämä atomit virittyneeseen tilaan. Absorboituneen valon määrä kasvaa kun sen reitillä olevien atomien määrä kasvaa. Toisin sanoen absorptio on riippuvainen konsentraatiosta. [2, s. 70]

Absorbanssin ja pitoisuuden riippuvuus on usein lineaarinen ainakin jonkun kokoisella pitoisuusalueella, ja tätä lineaarisen pitoisuuden aluetta voidaan käyttää hyväksi määrittäessä tuntemattomasta näytteestä haluttuja alkuaineita. Absorptioon liittyviä ilmiöitä ovat emissio ja fluoresenssi, mutta en käsittele fluoresenssia osana tätä työtä, sillä se ei ole menetelmälle relevanttia.[2, s. 70]

Kuten edellä mainittiin, absorptio spesifisellä aallonpituudella tapahtuu alkuaineen olleessa virittymätön atomi. Absorptio on mahdollista myös alkuaineen ioneista, mutta tällöin absorptio tapahtuu eri aallonpituudella verrattuna puhtaaseen alkuaineeseen.[2, s. 74]

Jotta tämä spesifinen, haluttu aallonpituus saavutetaan, käytetään hyväksi toista yllä mainituista ilmiöistä, emissiota. Kun korkeammalle energiatilalle virittynyt alkuaineen atomi palautuu perustilalle, se emittoi valoa halutulla aallonpituudella, jota saman alkuaineen perustilallinen atomi pystyy absorboimaan. Tätä emissio-ilmiötä hyödynnetään atomiabsorptiospektrofotometreissä valonlähteinä käytettävissä onttokatodilampuissa. Onttokatodilamppu on alkuainekohtainen lamppu, joka käyttää katodina määritettävää alkuainetta. [2, s. 72]

Lampuissa käytetään täytekaasuna pientä määrää neonia tai argonia. Kun lamppuun johdetaan sähkövirtaa, lampun täyttökaasu ionisoituu ja kaasuionien törmäys katodia vasten irrottaa katodin pinnalta atomeita ja virittää ne korkeaenergiseseen tilaan. Kun nämä irronneet ja nyt virittyneet alkuainekatodin atomit palaavat perustilalle, ne emittoivat valoa edellä mainitulla tavalla. [2, s. 72]

Atomiabsorptiospektrometriassa käytetään muutamia eri menetelmiä, joilla näyte saateen tilaan, jossa se on vapaana leijuvina atomeina. Yleisin, ja ainakin jossain mielessä helpoin näistä, on liekkitekniikka. Lisäksi on myös grafiittiuunitekniikka, joka on liekitön menetelmä, joka käyttää sähkövirralla kuumennettavaa grafiittiputkea. Kylmähöyrytekniikka on erityismenetelmä, jota käytetään yksinomaan elohopean määrittämiseen. [2, s. 75—80]

On myös hydriditeknikka, jossa käytetään natriumbooritetrahydridiä hapon kanssa, muodostaen haihtuvia hydridimolekyylejä määritettävän alkuaineen kanssa. Hydriditeknikalla määritetään vain kourallinen alkuaineita, mutta mikään näistä alkuaineista ei kuulu tämän työn validoitavien alkuaineiden piiriin, joten niitä ei käsitellä tässä sen enempää. Koska käytetty instrumentti on liekkiatomiabsorptiospektrofotometri, näihin muihin menetelmiin ei tässä työssä perehdytä enempää. [2, s. 80]

Liekkimenetelmässä käytetään hyväksi korkeanlämpöistä liekkiä näytteiden hajottamiseen atomiseen muotoon. Mitattavat näytteet käsitellään liuos-muotoon, useimmiten käyttäen vettä tai happoa liuottimena. Tämä voi vaikuttaa järjenvastaiselta, vesiliuoksen luulisi vain sammuttavan ja tukahduttavan liekin. [3, s. 28]

Päästäkseen tämän esteen ympäri näyteliuos täytyy muuttua hienoksi aerosoliksi, joka sekoitetaan liekin käyttämään palavaan kaasuun ja kantajakaasuun. Tämä saavutetaan instrumentissa olevan sumuttimen avulla. Tyypillinen sumutin on pneumaattinen sumutin. Pneumaattisessa sumuttimessa näyte syötetään korkeanopeuksiseen kaasuvirtaukseen, joka hajottaa nesteen hienojakoiseksi aerosoliksi edetessään sekoituskammioon. [3, s. 28—29]

Monissa laitteissa on sumuttimen jälkeen myös niin kutsuttu törmäyshelmi, jota vasten suurimmat nestehiukkaset joko pirstoutuvat tai takertuvat. Suuri osa näytekapillaarin kautta syötetystä näytteestä tiivistyy suuremmiksi nestepisaroiksi, joko törmäyshelmen pinnalle tai sekoituskammion seinämille ja päätyy tätä kautta jätteeseen. Sumuttimen tehokuutta mitataan sen siirtoteholla, joka kertoo miten suuri osa näytteestä pääsee liekille asti. Hyvissä sumuttimissa tämä siirtoteho voidaan saada jopa 10 prosenttiin, mutta useimmilla sumuttimilla tämä siirtoteho on muutaman prosentin luokkaa. [3, s. 29—30]

Kun kaasuun sekoittunut aerosoli siirtyy polttimen liekkiin, palavan kaasuseoksen korkea lämpötila höyrystää näyte-aerosolin liuottimen, johtaen pieniin, liekissä oleviin kiinteisiin näytehiukkaisiin. Liekin korkea lämpötila sulattaa ja höyrystää nämä näytehiukkaset, ja kaasumuodossa olevat hajoavat edelleen atomiseen muotoon. [2, s. 73]

Tämä atomisaatiomenetelmä muodostaa kaksi ongelmaa käytettäessä tällä tavoin osana absorptio mittausta. Ensimmäinen on että atomisaattorin liekki tuottaa palaessaan valoa, myös aallonpituudella jota mitattava näyte absorboi. Toinen ongelma on että liekissä olevat atomit jotka absorboivat valoa ja virittyvät myös emittoivat valoa palautuessaan virittymättömälle energiatasolle, ja tämä näytteen emission vääristää tuloksia. [2, s.70—71]

Ratkaisu ensimmäiseen näistä on verrattain yksinkertainen, mutta on myös yksi atomiabsorptiospektrofotometrin ominaisuus joka poikkeaa useimmista muista spektrofotometreistä: spektrometrin monokromaattori on näytteen jälkeen. Koska lamppu itsessään tuottaa valoa jo halutulla aallonpituudella, ja atomisointi tuottaa ei-haluttua valoa. Useimmissa muissa spektrometreissä lamppu tuottaa valoa laajalla aallonpituusalueella ja monokromaattoria käytetään halutun aallonpituuden valon erottamiseksi ei-halutusta valosta. AAS:ssä halutun aallonpituuden valoa saadaan tuotettua suoraan lampusta. Ei-haluttua valoa tulee vasta näytteen jälkeen, ja erotetaan täten monokromaattorilla vasta näytteen jälkeen. [2, s.70]

Jälkimmäistä ongelmaa varten löytyy ratkaisu instrumentin onttokatodilampun toiminnasta. Lampun tuottaman valo ei ole jatkuvaa, vaan on sen sijaan moduloitua, tai pulssitettua. Valodetektorissa liekistä läpi tulevan valon signaali muutetaan sähköiseksi signaaliksi. Johtuen lampun moduloidusta mittausvalosta, tämä käytännössä tuottaa signaalin jossa on sekä tasa- että vaihtojännitettä. Tasajännitettä muodostuu liekistä tulevasta atomien emissiosta, ja signaalin vaihtojännite lampusta tulevasta valon.[2, s.71]

Tietyt tekijät näytteessä ja sen matriisissa voivat aiheuttaa erilaatuisia ongelmia oikeellisen signaalin saamisessa. Muut metallit ja alkuaineet voivat aiheuttaa häiriötä, antaen signaalin joka on todellista matalampi tai korkeampi. Jotkut metallit voivat ionisoitua tai virittyä liekissä, jolloin ne eivät absorboi valoa oikein. Ionisaation aiheuttamaa virhettä on mahdollista korjata lisäämällä liuokseen reagenssia jonka komponentti-atomit ionisoituvat helpommin kuin mitattava alkuaine. Esimerkkinä tällaisesta metallista voidaan mainita cesium. Cesium on niin sanottu ionisaatiopuskuri. Se ionisoituu mielellään ennen muita alkuaineita ja kasvattaa liekissä olevien vapaiden elektronien määrää. Tämä stabiloi muita alkuaineita ionisaatiota vastaan.[3, s. 148—149]

Ennen varsinaisia validointiin liittyviä mittauksia, tehtiin useamman viikon verran mittauksia joiden tarkoituksena oli oppia ymmärtämään käytössä olevan instrumentin ja näytteen-syöttäjän toimintaa, sekä saada hieman alustavaa ensikäden ymmärrystä mitattavien alkuaineiden käyttäytymisestä mitattaessa.

Testattiin mitä vaikutusta natriumin ja kaliumin mittaustuloksissa olisi jos toista mainituista alkuaineista oli läsnä mitattavassa liuksesta. Tarkasteltiin myös minkälaisia vaikutuksia voitiin havaita, jos liuksessa oli mitattavan alkuaineen lisäksi huomattava ylimäärä, noin 500 —1000-kertainen pitoisuus cesiumia.

Näitä mittauksia suoritettaessa tehtiin muutamia havaintoja. Ensimmäinen näistä havainnoista oli, että natriumin läsnäolo liuksessa josta mitataan kaliumia, antoi kohonnutta kaliumin signaalia. Mittaliuos joka sisälsi saman pitoisuuden natriumia kuin kaliumia, antoi toistosta riippuen noin 25—50% korkeamman signaalin kuin mittaliuos jossa oli sama pitoisuus kaliumia mutta ei lisättyä natriumia. Vastaava signaalin kasvua ei havaittu natriumia mitattaessa liuksesta joka sisälsi myös kaliumia.

Cesiumin läsnä ollessa saatiin korkeampaa signaalia kaliumia mitattaessa, toistosta riippuen tämä oli välillä 100—150% korkeampi verrattuna saman pitoisuuden liukseen jossa cesiumia ei ollut lisätty. Vastaavaa signaalin kohoamista ei natriumilla havaittu.

Cesium on tunnettu ionisaatiopuskuri alkalimetalleille, mutta näistä havainnoista ja kirjallisuudesta voidaan päätellä että myös natrium käyttäytyy ionisaatiopuskurina kaliumille tarpeeksi suurissa pitoisuuksissa. [4]

4 Validoinnin parametrit

Validoinnin osana haluttiin tiettyjä ominaisuuksia tarkistella, joihin tutustutaan syvällisemmin seuraavissa osioissa.

4.1 Lineaarisuus ja määrittäminen

Lineaarisuus kuvaa pitoisuusalueita jolla valittua alkuainetta voidaan havaita toistettavasti ja luotettavasti halutulla tarkkuudella siten että analyysin pitoisuuden ja saadun signaalin suhde on edelleen lineaarinen. Määrittäminen sen sijaan kuvaa instrumentilla mitattavan pitoisuuden ala- ja ylärajaa. Määrittämistä varten valmistetaan vähintään kahdeksan pisteen kalibrointisuora laajalta pitoisuusalueelta. Optimaalisessa tapauksessa nämä pitoisuudet olisivat lineaarisuusalueen ja määrittämisalueen kummallakin puolella. [1, s. 15—17]

Sarjasta tehdään regressioanalyysi, ja saatuja residuaaleja tarkastellaan. Residuaalien tulisi olla jakautunut tasaisesti nollaviivan molemmin puolin, ja residuaalien ei myöskään tulisi poiketa liian paljoa kummallekään puolelle nollaviivaa. Poikkeaman ei tulisi olla enempää kuin 10 % lasketusta arvosta. Jos residuaalit alkavat tietyn pitoisuuden jälkeen painottumaan jommallekummalle puolelle nollaviivaa, tämä on yleensä merkki, että pitoisuus on lineaarisuusalueen ulkopuolella. [1, s. 19—21]

Määrittämisalueen alarajaa voi olla vaikea määrittää tarkasti, koska sitä varten voidaan tarvita hyvin matalia pitoisuuksia. Näin matalissa pitoisuuksissa voivat pienet virheet esimerkiksi liuoksia useampaan kertaan laimennettaessa tuottaa verrattain suuremman virheen. Mikäli menetelmällä on luonnostaan suuri mittausepävarmuus, on tämän mittausepävarmuuden vaikutus suhteessa suurempi matalan pitoisuuden liuoksiin. [1, s. 25—26]

4.2 Herkkyys

Herkkyys viittaa menetelmän tai instrumentin kykyyn havaita pieniä pitoisuuseroja tarkasti. Optimioloissa pienikin muutos näytteen pitoisuudessa tuottaa suhteessa suuren muutoksen signaalissa. Herkkyden määrittämistä varten ei tarvita erillisiä analyysejä. Sen sijaan lineaarisuutta ja määrittämisaluetta sekä spesifisyyttä määritettäessä saatujen tulosten perusteella voidaan tehdä johtopäätöksiä tarkastelemalla saatujen kuvaajien kulmakertoimia. [1, s. 18]

4.3 Spesifisyys

Spesifisyys tarkoittaa menetelmän kykyä havaita pelkästään mitattavaa analyyttiä tai alkuainetta. Tämä eroaa jossain määrin selektiivisyydestä. Siinä missä selektiivisyys kuvastaa metodin kykyä erottaa halutun analyytin signaali muista näytematriisista saaduista signaaleista, spesifisyys kuvaa pelkästään kykyä saada signaalia halutusta analyytistä. [1, s. 29]

Spesifisyyden määrittämistä varten käytetään lineaarisuutta ja määrittämisalueita määritettäessä saatuja tuloksia. Lisäksi valmistetaan vähintään kuuden pisteen sarja käyttäen samoja analyyttipitoisuuksia kuin standardisuoran kanssa, mutta jokaisen pisteen liuokseen lisätään joko sama määrä samaa näytettä, tai muuten sama määrä tunnettua analyyttiliuosta. Näin saatu standardilisäyssarja mitataan, ja saadun kuvaajan kulmakertoimen verrataan standardisuoran kulmakertoimeen. Jotta menetelmää tai instrumenttia voidaan kutsua spesifiseksi jollekin analyytille, ei ero näiden kulmakertoimien välillä saisi olla viittä prosenttia enempää.[1, s. 31—32]

4.4 Toteamis- ja määrittäysraja

Toteamis- ja määrittäysrajat liittyvät läheisesti toisiinsa, määrittäysraja on käytännössä jatke toteamisrajalle. Toteamisraja kuvaa pienintä pitoisuutta analyyttiä, mitä voidaan mitata havaita. Kromatografisissa menetelmissä joissa on taustakohinaa, tämä kuvaa vasetta joka erottuu tarpeeksi kohinasta. [1, s. 24]

Määrittäysraja on tästä korkeampi pitoisuus ja kuvastaa pienintä pitoisuutta jossa analyytin määrää voidaan määrittää hyväksyttävällä määrällä tarkkuutta. Ei-kromatografisissa menetelmissä toteamisrajan ja määrittäysrajan arvot lasketaan matemaattisesti nollanäytteistä ajettujen toistojen keskiarvosta ja keskihajonnasta. [1, s. 25]

4.5 Oikeellisuus

Oikeellisuus kuvastaa metodin tai instrumentin kykyä tuottaa signaalin, joka kuvastaa mitattavan näytteen todellista pitoisuutta. Osana tätä on myös instrumentin tai menetelmän kyky tuottaa sama signaali kun samaa, homogeenistä näytettä mitataan monta kertaa peräkkäin. Tässä tapauksessa oikeellisuutta varten tehtiin kaksi eri analyysiä. [1, s. 49—50]

Ensimmäinen oli varmistettu referenssimateriaali, jossa mitattiin liuosta jonka pitoisuus tunnettiin, niin että saatiin useita toistoja. Tästä saatuja mittaustuloksia verrataan odotusarvoon, ja oikeellisuus voidaan laskea tästä prosenttina. Oikeaoppisesti tätä analyysiä varten olisi toistettava mittaukset useammilla eri pitoisuuksilla. [1, s. 49]

Toinen analyysi on saantokoe, jossa useammasta näytteestä tehdään useampi rinnakkainen laimennos, joista osaan lisätään tunnettu pitoisuus mitattavaa analyyttiä. Saanto saadaan prosenttina vertaamalla lisäyksen saaneiden laimennosten mitattua pitoisuutta siihen mitä sen pitäisi olla kun lasketaan yhteen ilman lisäystä olevan rinnakkaisnäyte laskettu pitoisuus, ja vastaavan lisäysnäytteen laskettu pitoisuus.[1, s. 50]

4.6 Toistettavuus

Toistettavuus kuvastaa instrumentin tai metodin kykyä tuottaa täsmällisiä tuloksia samasta näytteestä saman laboratorion sisällä, toistettavissa olosuhteissa, lyhyen aikavälin sisällä. Esimerkiksi saman viikon aikana, peräkkäisinä päivinä tehtyjen mittausten samasta näytteestä tulisi tuottaa tuloksia, jotka eivät poikkea toisistaan merkittävästi.[1, s. 39—41]

Olettaen että muut mittaukseen liittyvät parametrit tai ympäröivät olosuhteet eivät ole muuttuneet huomattavasti, tulisi toistettavan menetelmän peräkkäisinä päivinä tuottaa samanlaisia tuloksia. Toistettavuutta varten mitataan toistoja samoista näytteistä useina peräkkäisinä päivinä, ja tarkastellaan ovatko päivien välisten tulosten erot tilastollisesti merkittäviä.[1, s. 42]

4.7 Mittausepävarmuus

Mittausepävarmuus kuvaa kaikkia mittaukseen liittyviä epävarmuuden tekijöitä yhdessä, ja näiden tekijöiden kumulatiivista vaikutusta. Suuri mittausepävarmuus voi olla merkki menetelmän tai ainakin yksittäisten tulosten heikosta luotettavuudesta. Mittausepävarmuutta varten ei ole omia mittauksia. Sen sijaan mittausepävarmuuden määrittämiseen käytetään muita validoinnin yhteydessä saatuja mittaustuloksia, jotka syötetään MUKit-ohjelmaan.

5 Käytetyt instrumentit, välineistö, reagenssit, ja näytteet

5.1 Laitteisto

5.1.1 PerkinElmer PinAAcle 500 –atomiabsorptiospektrofotometri

Kuvassa 1 näemme työssä käytetyn PerkinElmer PinAAcle 500 –atomiabsorptiospektrofotometrin.



Kuva 1. PerkinElmer PinAAcle 500

Yllä nähtävään FAAS:in oli asennettuna 10cm leveä poltin, joka on nähtävissä kuvassa 2.



Kuva 2. PerkinElmer PinAAcle 500:n 10 cm leveä poltin

5.1.2 PerkinElmer Lumina -onttokatodilamput natriumille ja kaliumille

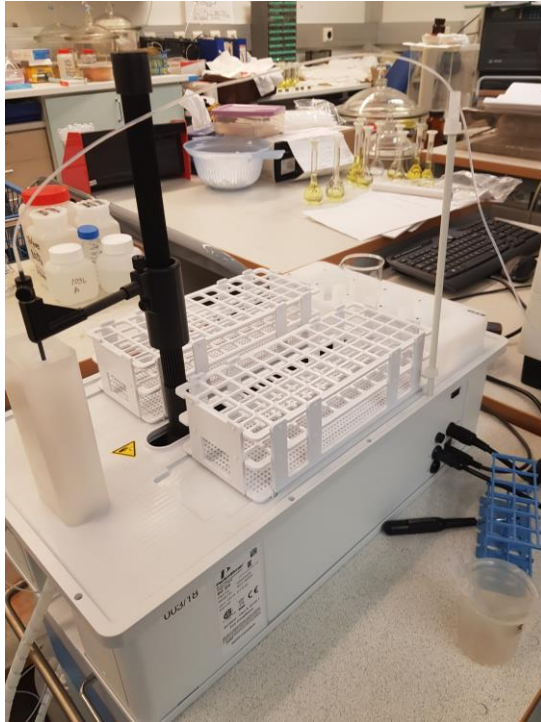
FAAS:issa käytetyt natriumin ja kaliumin onttokatodilamput nähdään kuvassa 3 kahden muun lampun kanssa.



Kuva 3. Neljä kappaletta PerkinElmer Lumina -onttokatodilamppuja

5.1.3 PerkinElmer SC2 DX Autosampler –näytteensyötin

Validoitava näytteensyöttäjä, PERkinElmer SC2 DX nähdään esitettynä kuvassa 4.



Kuva 4. PerkinElmer SC2 DX Autosampler

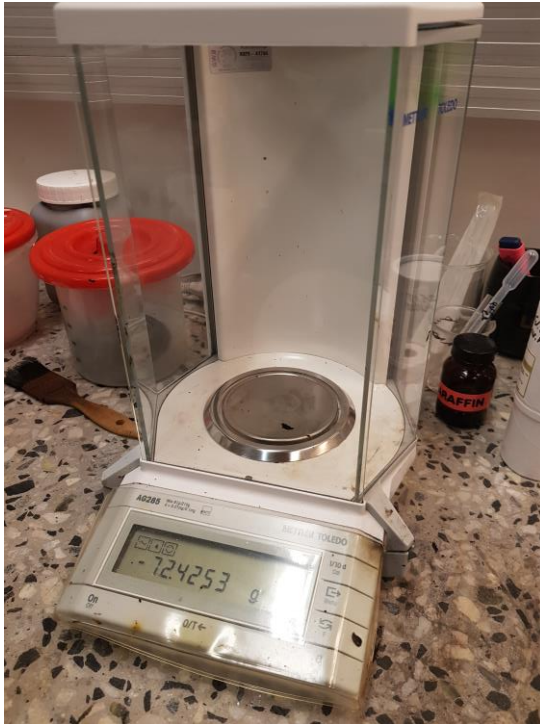
Näytteensyöttäjän yhteydessä käytettiin peristaltista kaksoispumppua jonka avulla näytteet saatiin näytteensyöttäjästä sekoituskammioon. Pumppu on nähtävissä kuvassa 5.



Kuva 5. Näytteenyöttäjän käyttämä kaksoispumppu

5.1.4 Mettler Toledo AG285 –analyysivaaka

Reagenssien punnitsemiseen käytetty Mettler Toledo AG285 –analyysivaaka nähdään kuvassa 6, kivipöydän päällä.



Kuva 6. Mettler Toledo AG285

5.1.5 Milli-Q Reference –vedenpuhdistuslaitteisto

Liuosten valmistamiseen ja laimentamiseen saatu vesi saatiin Milli-Q Reference –vedenpuhdistuslaitteistosta, joka nähdään kuvassa 7.



Kuva 7. Milli-Q Reference

Puhdistuslaitteisto käytti kahta patruunamallia: Q-Gard T1 -patruuna ja Quantum TEX -patruuna, jotka ovat vastaavasti nähtävissä kuvissa 8 ja 9.



Kuva 8. Milli-Q Q-Gard T1

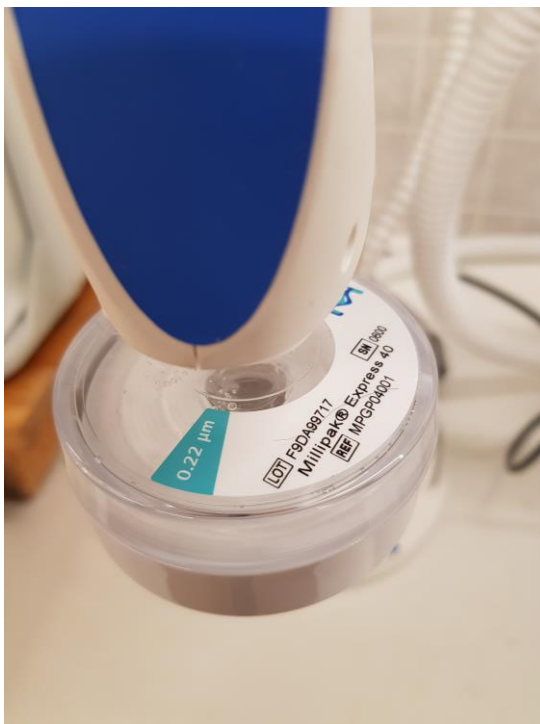


Kuva 9. Milli-Q Quantum TEX

Vedenpuhdistuslaittesito antoi vettä ulos Q-pod –vedenjakeluyksikön kautta, joka voidaan nähdä kuvassa 10. Lisäksi vedenjakeluyksikköön oli kytketty Millipak Express 40 –suodatin, joka voidaan nähdä kuvassa 11.



Kuva 10. Milli-Q Q-pod



Kuva 11. Milli-Q Millipak Express 40

5.2 Välineistö

Määrittämissä käytettiin yllämainitun laitteiston lisäksi myös seuraavia välineitä.

- mittapulloja, tilavuudet 2000 ml, 1000 ml, 500 ml, ja 100ml.
- täyspipetit, A tai AS luokitus, tilavuudet 20 ml, 15 ml, 10 ml, 5 ml, 2ml, 1ml.
- dekantterilaseja, eri kokoja, tarkat tilavuudet ei relevantteja.
- mittalasi, tilavuus 100 ml. Käytettiin vain hapon annosteluun.
- Labsystems Finnpiette automaattipipetit, tilavuudet 20—200 µl, 200—1000 µl, ja 1—5 ml
- automaattipipettien kärkiä

5.3 Reagenssit

Määrittysten liuosten valmistamisen käytettiin seuraavia reagensseja.

- natriumkloridi, NaCl, M = 58,44 g/mol J.T. Baker Cas: 7647-14-5 Lot:1710301832
- naliumsulfaati, K₂SO₄, M = 174,27 g/mol Merck 1.05153.0500 Lot:A886953 745
- cesiumkloridi, CsCl, M = 168,36 g/mol Merck 1.02039.0250 Lot:K48660839 722
- väkevä suolahappo, 37 %, HCl:n vesiliuos, M = 36,46 g/mol VWR Chemicals 20252.335 Lot:19G024019

5.4 Näytteet

Validoinnin mittauksia varten käytettiin yhteensä kuutta näytettä jotka oli laboratorion puolesta jo ennestään mitattu. Tämän perusteella saatiin jonkinlainen arvio näytteiden natrium- ja kaliumpitoisuuksista. Näytteet oli jo valmiiksi liuotettu happopitoiseksi liuokseksi. Seuraavia kuutta näytettä käytettiin.

- 1096: sähkösuodintuhka, natrium-pitoisuus noin 1200 mg/l, kalium-pitoisuus noin 700 mg/l
- 924-1: sähkösuodintuhka, natrium-pitoisuus noin 1000 mg/l, kalium-pitoisuus noin 700 mg/l
- 5623-1: sähkösuodintuhka, natrium-pitoisuus noin 1200—1300 mg/l, kalium-pitoisuus noin 200—250 mg/l
- 2756-1A: mustalipeä, natrium-pitoisuus noin 44 mg/l, kalium-pitoisuus noin 1,5 mg/l
- 2756-2A: mustalipeä, natrium-pitoisuus noin 35 mg/l, kalium-pitoisuus noin 1 mg/l

- L39-18 2B: mustalipeä, natrium-pitoisuus noin 40 mg/l, kalium-pitoisuus noin 14-15 mg/l.

6 Validoinnin käytännön tehtävät

6.1 Liuosten valmistus

Natriumin alkuperäinen kantaliuos valmistettiin punnitsemalla 50,8455 g kiinteää natriumkloridia, Tämä liuotettiin UP-veteen 2 000 ml:n mittapullossa. Mittapulloon lisättiin noin 100 ml väkevää vetykloridia (suolahappoa), jonka jälkeen pullon sisällön annettiin jäähtyä ennen merkkiin täyttöä. Kohdepitoisuus oli 10 000 mg natriumia per litra. Punnitulla määrällä natriumkloridia, liuoksen natriumpitoisuus olisi 10 000,75 mg/l. Tästä kantaliuoksesta tehtiin laimennos 1:10, jota tästä eteenpäin toimi kantaliuoksena työliuosta valmistettaessa. Lopullinen kantaliuoksen pitoisuus oli siis 1 000,75 mg/l.

Kaliumin kantaliuos valmistettiin punnitsemalla 4,4562 g kiinteää kaliumsulfaattia, Tämä liuotettiin UP-veteen 2 000 ml:n mittapullossa. Mittapulloon lisättiin noin 100 ml väkevää vetykloridia (suolahappoa), jonka jälkeen pullon sisällön annettiin jäähtyä ennen merkkiin täyttöä. Kohdepitoisuus oli 1 000 mg kaliumia per litra. Punnitulla määrällä kaliumsulfaattia, liuoksen kaliumpitoisuus olisi 999,77 mg/l

Sekä natriumin että kaliumin kantaliuoksista 1 000 mg/l valmistettiin työliuos pipetoinnalla 5 ml kantaliuosta 500 ml mittapulloon, joka täytettiin merkkiin UP-vedellä. Tästä laimennos 1:100 saatiin työliuos, jonka pitoisuus on 10 mg/l.

Myös kalsiumia varten oli valmistettu projektin alkuvaiheessa kantaliuos, mutta koska kalsiumin validoinnista luovuttiin aikaisessa vaiheessa projektia, ei tätä liuosta lopulta käytetty.

Kaikki astiat joihin liuokset tehtiin, kaikki lasitavara mitä käytettiin osana liuosten valmistus- ja laimennusprosessia tai joka oli kosketuksissa liuosten tai niiden raaka-aineiden kanssa oli happopesty käyttäen laimennettua suolahappoa. Kaikki astiat huuhdeltiin UP-vedellä hapolla huuhtomisen jälkeen ja annettiin kuivua.

Syynä kantaliuosten korkeille pitoisuuksille ja suurille määrille verrattuna lopullisten työliuosten pitoisuuksiin ja tarvittuihin määriin johtui alustavasta väärinymmärryksestä mitattavien pitoisuusalueiden suhteen. Pitoisuudet joita varten kantaliuokset oli alun perin valmistettu, oli noin 4 000 mg/l natriumille ja noin 400 mg/l kaliumille.

6.2 Mittausten käytännön suoritus, tulokset, ja tulosten tulkinta

6.2.1 Natriumin lineaarisuus ja määrittäminen, spesifisyys, herkkyys

Lineaarisuuden, määrittäminen, spesifisyyden ja herkkyyden määrittämistä varten valmistettiin kaksi liuosarjaa, yksi kahdeksan pisteen sarja standardisuoraa varten ja yksi kuuden pisteen sarja standardilisäystä varten. Kaikki liuokset valmistettiin työliuoksesta 100 ml:n mittapulloihin täyspipettejä käyttäen.

Standardisuoralle pitoisuuksiksi valittiin 0,1 mg/l; 0,2 mg/l; 0,5 mg/l; 0,7 mg/l; 1,0 mg/l; 1,2 mg/l; 1,5 mg/l ja 2,0 mg/l. Näitä pitoisuuksia varten pipetoitiin vastaavasti 1 ml, 2 ml, 5 ml, 7 ml, 10 ml, 12 ml, 15 ml ja 20 ml työliuosta 100 ml:n mittapulloihin. Standardilisäyksiä varten käytettiin ensimmäistä kuutta pistettä standardisuoralta, 0,1—1,2 mg/l, mutta ennen merkkiin täyttöä kuhunkin pulloon pipetoitiin 2 ml työliuosta, joka vastaa 0,2 mg/l lisäystä pitoisuudessa.

Kaikki pullot täytettiin tämän jälkeen noin $\frac{3}{4}$ täyteen vedellä ja sekoitettiin kääntämällä korkitettu pullo ylösalaisin useita kertoja. Liuosten annettiin asettua hetken jotta mahdolliset pullon sisäpinnalle jääneet pisarat ehtisivät valua takaisin pullon pohjalle ennen merkkiin täyttöä.

Tuloksista on mainittava että instrumentin odotusaika ennen analyysiä, näytteensyötön aloituksen ja mittauksen aloituksen välillä, oli asetettu liian matalaksi. Tämän seurauksena ensimmäinen kolmesta toistosta jokaisen mittauksen yhteydessä antoi liian matalan tuloksen. Oletuksena on, että AAS:n sekoituskammio ei ollut vielä ehtinyt saavuttaa tasapainoa näytesumu-kaasuseoksessa, mutta tämä tasapaino ehdittiin saavuttaa mittauksen toisen toistoon mennessä. Tulosten laskemisessa on käytetty kunkin mittauksen toisen ja kolmannen toiston keskiarvoa, jättäen ensimmäinen toisto huomiotta.

Kalibrointisuoran mittauksista saadut tulokset on nähtävissä taulukossa 1.

Taulukko 1. Natriumin kalibrointisuoran mittaustulokset

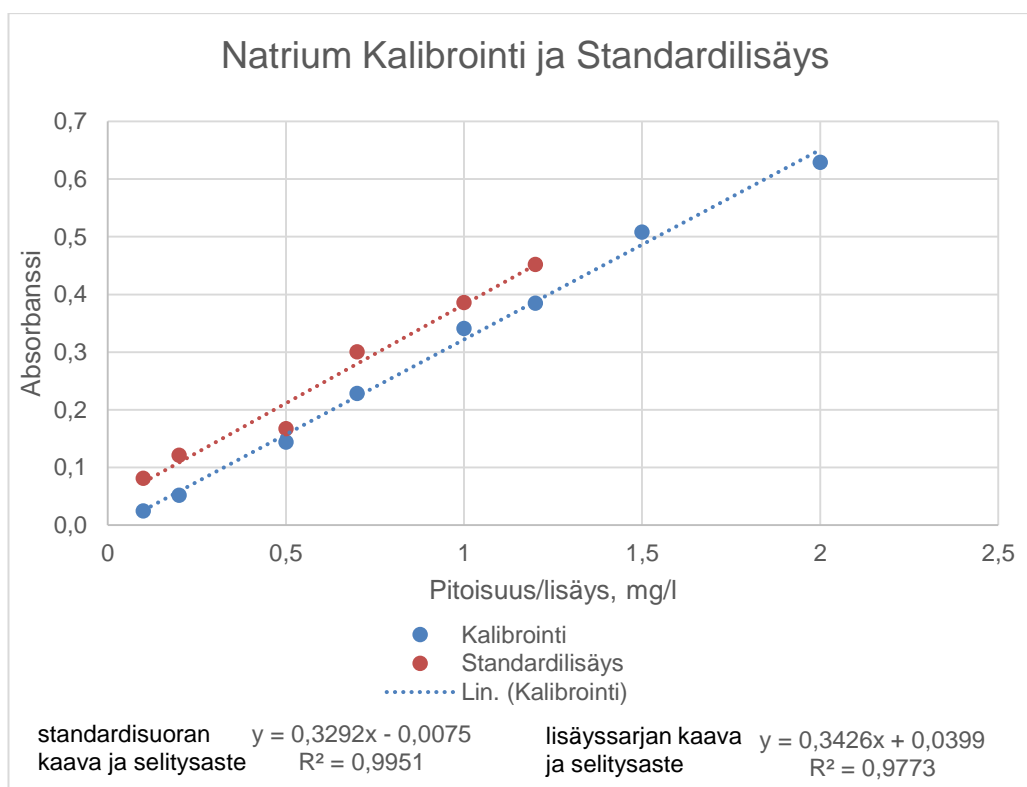
kalibrointi	
pitoisuus, mg/l	absorbanssi
0,1	0,0245
0,2	0,0514
0,5	0,1436
0,7	0,2281
1	0,3412
1,2	0,3849
1,5	0,5081
2	0,6289

Standardilisäyssarjan mittauksista saadut tulokset on nähtävissä taulukossa 2.

Taulukko 2. Natriumin standardilisäyssarjan mittaustulokset

standardilisäys	
lisäys, mg/l	absorbanssi
0,1	0,0808
0,2	0,1210
0,5	0,1671
0,7	0,3005
1	0,3857
1,2	0,4519

Yllä saatujen tulosten perusteella valmistettiin kuvaaja, joka on nähtävissä kuvassa 12.



Kuva 12. Natriumin kalibrointisuoran ja standardilisäyssarjan kuvaaja

Kuvaaja ei ole optimaalinen, varsinkin lisäyssarjan selitysaste jättää paljon parantamisen varaa. Lisäyssarjan 0,5 mg/l pisteen poistaminen kuvaajasta nostaisi selitysasteen noin 0,998:aan, mutta lisäyssarjan selitysasteen merkitys on toissijainen.

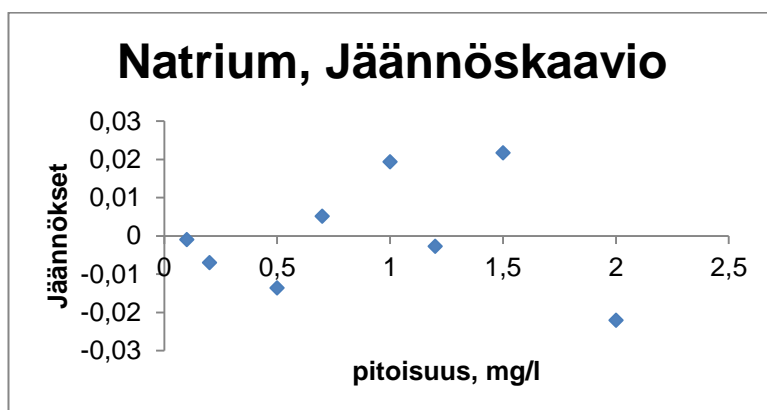
Standardisuoran kulmakerroin on toiseksi suurin kaikista kulmakertoimista mitä validoinnin analyysien yhteydessä saatiin, toisena ainoastaan natriumin lisäyssarjan kulmakertoimelle. Pelkästään saatuja numeroita tarkastelemalla havaitaan että, hyvinkin pienten, 0,1 mg/l pitoisuuksien muutos aiheuttaa näkyvää kasvua absorbanssissa. Voidaan siis ainakin jollain varmuudella sanoa, että natriumin kanssa instrumentti on varsin herkkä.

Seuraavaksi tarkastellaan spesifisyyttä. Kulmakertoiminen ero lasketaan seuraavasti, jotta saadaan kulmakertoimien välinen prosentuaalinen ero.

$$\left(\frac{0,3426}{0,3292}\right) * 100\% = 104,0704 \%$$

Ero on yhteensä siis 4,0704 %, suurimman sallitun eron ollessa 5 %. Tämän perusteella voidaan sanoa että instrumentti on spesifinen natriumille, mutta parantamisen varaa spesifisyyden suhteen on.

Seuraavaksi olisi tarkasteltava residuaaleja kuvasta 13 jotta lisää johtopäätöksiä voidaan tehdä.



Kuva 13. Natriumin standardisuoran tulosten perusteella tehty jäännöskaavio

Tässä näemme lähes esimerkillisen jäännöskaavion. Pisteet ovat hienosti jakautuneet kummallekin puolelle nollaviivaa. Pisteitä on viisi nollaviivan alapuolella, niistä yksi lähes nollaviivalla ja kolme viivan yläpuolella. Vaikka jäännösten arvo näyttää kasvavan korkeampia pitoisuuksia lähestyttäessä, on huomioitava että ero jäännösten ja niitä vastaavien tulosten välillä on korkeimmillaan noin prosentin luokkaa.

Näiden tulosten perusteella voidaan päätellä instrumentin olevan lineaarinen mittausalueella 0,1—2,0 mg natriumia per litra. Standardisuoran pitoisuudet eivät olleet tarpeeksi suuret jotta instrumentin lineaarisen mittausalueen yläpäättä voitaisiin määrittää.

6.2.2 Natriumin toteamis- ja määrittäysrajat

Toteamis- ja määrittäysrajan määrittämistä varten oli mitattava liuosta jossa ei olisi lainkaan mitattavaa analyyttiä. Analyysiin käytettiin tähän tarkoitukseen ultrapuhdasta vettä. Jotta mitattavan veden kontaminaation riski saatiin minimoitua, aiemmin happopestyyn

astiaan otettiin tuoretta ultrapuhdasta vettä, josta vettä kaadettiin autosamplerin käyttämiin kertakäyttöisiin koeputkiin. Täytettiin yhteensä neljä koeputkea, joista kustakin tehtiin kolme mittausta, jolloin saatiin yhteensä kaksitoista rinnakkaista.

Kuten kalibrintisuoran kanssa yllä, toteamis- ja määrittämissuoran analyysien tuloksissa kunkin mittauksen ensimmäinen toisto kolmesta antoi epäluotettavaa tulosta, joten laskelmissa käytettiin kunkin rinnakkaisen toista ja kolmatta toistoa. Alla taulukossa 3 nähdään mittausten tulokset, jossa käytetty absorbanssi oli kunkin rinnakkaisen toisen ja kolmannen toiston keskiarvo. Mittausten pitoisuudet laskettiin saaduista absorbanssi-arvoista käyttäen kuvan 12 kalibrintisuoran kaavaa.

Taulukko 3. Natriumin toteamis- ja määrittämissuoran tulokset

mittaus	absorbanssi	toisto 1	toisto 2	laskettu pitoisuus, mg/l
1	-0,00095	-0,0011	-0,0008	0,00461
2	-0,0004	-0,0005	-0,0003	0,00628
3	0,00025	0,0005	0	0,00826
4	-0,00085	-0,0009	-0,0008	0,00492
5	-0,0001	-0,0002	0	0,00720
6	0,0005	0,0006	0,0004	0,00902
7	0,0003	0,0002	0,0004	0,00841
8	0,00015	0,0002	0,0001	0,00796
9	0,00075	0,0007	0,0008	0,00978
10	0,00065	0,0006	0,0007	0,00947
11	0,00085	0,0006	0,0011	0,01008
12	0,0009	0,001	0,0008	0,01023
keskiarvo, \bar{x}				0,00802
keskihajonta, s				0,00192

Taulukosta havaitaan että mittausten absorbanssit olivat todella matalat ja noin kolmannes niistä negatiivisia. Voidaan myös havaita että tulokset vaikuttavat nousevan hieman peräkkäisten rinnakkaisten myötä. Sekoituskammioon on voinut jäädä jokaisen mittauksen jälkeen jotain pieniä pitoisuuksia natriumia jokaisen rinnakkaisen jäljiltä. Kyseessä saattaa olla taustavalon häiriötä.

On epätodennäköistä että sekoituskammioon olisi jäänyt aiemmasta mittauksesta natriumpitoista liuosta, sillä edellisen viikon lopussa oli laitteen läpi ajettu happoa puhdistustarkoituksessa, ja toteamis- ja määritysrajan mittaukset ajettiin ennen mitään muita mittauksia sinä päivänä.

Kuten taulukon 3 oikeassa alakulmassa nähdään, laskettujen pitoisuuksien keskiarvo ja keskihajonta on jo laskettu. Toteamis- ja määritysrajat voidaan laskea näiden kahden arvon perusteella. Kaavat toteamisrajan (LOD) ja määritysrajan (LOQ) laskemista varten voidaan nähdä alla kaavoissa 1 ja 2.

$$LOD = x + 3s \quad (1)$$

$$LOQ = x + 10s \quad (2)$$

Näitä kaavoja käyttäen, laskettiin toteamis- ja määritysrajat seuraavasti:

$$LOD = 0,00802 \frac{mg}{l} + \left(3 * 0,00192 \frac{mg}{l} \right) = 0,01377 \frac{mg}{l}$$

$$LOQ = 0,00802 \frac{mg}{l} + \left(10 * 0,00192 \frac{mg}{l} \right) = 0,02720 \frac{mg}{l}$$

Laskujen mukaan määritysraja, ja täten mittausalueen alapää olisi noin neljännesosa pienimmästä pitoisuudesta joka mitattiin. On vaikea päätellä miten tarkkoja nämä saadut arvot ovat, johtuen tulosten välisestä korkeasta keskihajonnasta.

6.2.3 Natriumin oikeellisuus

Ensimmäinen mittaus oikeellisuutta varten oli tunnettu referenssimateriaali. Tätä analyysiä varten saatiin kaupallista liuosta jonka natriumpitoisuus oli 10 mg/l, josta tehtiin täyspipettiä käyttäen laimennos 1:10. Liuoksesta mitattiin kaksitoista rinnakkaista neljästä putkesta, kolme rinnakkaista per putki. Mittaussarjaan oli epähuomiossa tullut kolmas-toista toisto. Tämän toiston kanssa ei ollut mitään ongelmia, joten dataa päädyttiin käyttämään. Toistojen tulokset on nähtävissä taulukossa 4. Mittausten pitoisuudet laskettiin saaduista absorbanssi-arvoista käyttäen kuvan 12 kalibrintisuoran kaavaa.

Taulukko 4. Natriumin tunnetun referenssimateriaalin mittaustulokset

toisto	absorbanssi	laskettu pitoisuus, mg/l
1	0,3907	1,194
2	0,39095	1,195
3	0,3906	1,194
4	0,3679	1,125
5	0,3694	1,130
6	0,36825	1,126
7	0,37325	1,141
8	0,37335	1,142
9	0,37235	1,139
10	0,3707	1,134
11	0,36795	1,125
12	0,3684	1,127
13	0,371	1,134
	keskiarvo	1,147
	keskihajonta	0,027

Odotusarvo tuloksille oli 1,0 mg/l. Kaupallinen liuos oli laimennettava mittauksia varten ja vaikka käsin pipetointi tuo mukanaan kaksi eri mittausepävarmuuden lähdettä, pipetin tarkkuuden ja pipetoinnin tarkkuuden, ne eivät riittäneet selittämään tätä lähes 15 %:n kasvua odotusarvosta. Oikeaoppista määrittystä varten olisi tunnettuja referenssimateriaaleja tullut olla useammilla eri pitoisuuksilla. Koska tämä kyseinen määrittys tehtiin vain yhdellä pitoisuudella, olivat saadut tulokset pitkälti hyödyttömiä.

Saantokokeet olivat toinen tapa määrittää oikeellisuutta. Saantokokeita varten valmistettiin yhteensä kaksitoista liuosta käyttäen kolmea näytettä pohjana. Valitut näytteet olivat 1096, 2756-1A, ja L39/18 2B. Liuokset valmistettiin siten että neljän liuoksen sarjassa oli sama pitoisuus yhtä näytettä. 1096:ta sisältävään sarjaan tehtiin lisäys siten että lopullinen laimennos oli 1:1000, ja 2756-1A:ta ja L39/18 2B:tä sisältäviin sarjoihin molempiin lisättiin näytettä siten että kummankin laimennos oli 1:50.

Jokaisesta neljän liuoksen sarjasta yksi pullo täytettiin merkkiin normaalisti ja kolmeen jäljellä olevaan lisättiin tunnetut määrä natriumin työliuosta ennen merkkiin täyttöä. Nämä määrät olivat 1 ml, 2 ml ja 5 ml. Koska kukin laimennos valmistettiin 100 ml:n

mittapulloon, nämä lisäykset kasvattivat kussakin pullossa olevaa pitoisuutta vastavasti: 0,1 mg/l, 0,2 mg/l, ja 0,5 mg/l. Lopullinen sarja näytteistä ja niiden lisäyksistä on näkyvillä taulukossa 5

Taulukko 5. selitys saantokokeiden lisäyksistä.

näytteen nimi	lisäys, mg/l
1096	ei lisäystä
	0,1
	0,2
	0,5
2756-1A	ei lisäystä
	0,1
	0,2
	0,5
L39/18 2B	ei lisäystä
	0,1
	0,2
	0,5

Yllä esitetyt näytelaimennokset mitattiin, ja saadut tulokset on nähtävissä taulukossa 6

Taulukko 6. Natriumin saantokokeiden tulokset

näytteen nimi	lisäys, mg/l	absorbanssi	laskettu pitoisuus, mg/l	erotus	Saanto, %R
2756-1A	0	0,3415	1,045	0,000	
	0,1	0,3318	1,015	-0,029	-29,465
	0,2	0,3872	1,184	0,139	69,411
	0,5	0,4618	1,410	0,365	73,086
L39/18 2B	0	0,3246	0,994	0,000	
	0,1	0,3032	0,929	-0,065	-65,006
	0,2	0,3678	1,125	0,131	65,614
	0,5	0,4244	1,297	0,303	60,632
1096	0	0,4393	1,342	0,000	
	0,1	0,4251	1,299	-0,043	-43,135
	0,2	0,5032	1,536	0,194	97,053
	0,5	0,5988	1,826	0,485	96,902

Taulukon 6 erotus-sarakkeessa on kunkin lisäysnäytteen laskettu pitoisuus, josta on vähennetty vastaavan lisäyksettömän näytteen laskettu pitoisuus. Saanto-sarakkeen luku on laskettu kaavalla 3.

$$\%R = \frac{(S-U)*100\%}{C} \quad (3)$$

Kaavassa 3 S on lisäystä sisältävän näytteen laskettu pitoisuus, U on vastaavan näytteen johon ei ole tehty lisäystä laskettu pitoisuus ja C on S:ää vastaavan lisäysnäytteen tehdyn lisäyksen pitoisuus.

Käyttäen kaavaa 1 laskettiin saantoprosentit. Ensimmäisen kahden näytteen kohdalla prosentit eivät näyttäneet kovin hyviltä. Kahden ensimmäisen näytteen saantoihin verrattuna aiemman analyysin 15 %:n pitoisuuden kasvu näytti hyvältä. On huomattavaa että kaikkien näytteiden kanssa 0,1 mg/l lisäys toi negatiivisen saannon. Tämä on kovin poikkeuksellinen ilmiö. 0,2 mg/l:n ja 0,5 mg/l:n lisäyksissä oli kahdella ensimmäisellä näytteellä noin 60—70 %:n saanto. Tämä ei ole hyvä saanto, mutta hyväksyttävä. Kolmas näyte tuo näillä lisäyksillä yli 95 % saannon.

Ensimmäiset kaksi näytettä olivat mustalipeä-näytteitä, kolmas näyte oli sähkösuodintuhkaa. Koska kaikkia kuutta näytettä ei käytetty saantojen mittaamiseen, ei voida päätellä varmasti johtuivatko nämä poikkeukset saannoissa eri näytematriiseista, mutta saatavilla oleva, rajallinen data viittaisi tämän olevan tapaus. Näytematriisi voi vaikuttaa saantoon, mutta sen vaikutus ei yksinään pysty selittämään miten matalan pitoisuuden lisäys mitattavaa analyyttiä johtaa signaaliin joka on matalampi kuin samalla tavalla laimennettu näyte ilman lisäystä.

Kyse ei todennäköisesti ollut satunnaisvirheestä. Kukin mittaus sisälsi kolme rinnakkaista, ja yllä olevat tulokset edustivat näiden rinnakkaisten keskiarvoja. Jos kyseessä olisi ollut jokin hetkellinen oikku, tämä olisi huomattu rinnakkaistuloksia tarkasteltaessa, mutta rinnakkaisten välillä ei ollut merkittävää eroa. Tunnetun referenssimateriaalin ja saantokokeiden analyysien välillä saatu data on parhaimmillaan ristiriitaista. Tämän perustella ei voida tehdä johtopäätöstä oikeellisuuden suhteen. Lisätutkimukselle ja ylimääräisille mittauksille olisi tarvetta.

6.2.4 Natriumin toistettavuus

Toistettavuutta varten oli mitattava näytteistä toistoja useampina päivinä. Mieluiten nämä toistot tehtäisiin peräkkäisinä päivinä, mutta muutaman näytteen tapauksessa ei tätä saatu tehtyä, osa mittauksista tehtiin viikonlopun kummallakin puolella. Ensimmäisen päivän mustalipeät laimennettiin väärin, niin että niiden laimennuskerroin oli vain 1:20, eikä haluttu 1:50.

Sähkösuodintuhka-näytteistä 1096, 924-1, ja 5623-1 tehtiin ensin 1:100 laimennus mitapulloon, ja tästä välilaimennoksesta tehtiin edelleen 1:10 laimennos suoraan näyteputkeen pipetoimalla 500 µl välilaimennosta ja 4,5 ml UP-vettä. Kaikkien sähkösuodintuhkien kokonaislaimennos oli siis 1:1000. Mustalipeä-näytteistä 2746-1A, 2756-2A, ja L39/18 2B tehtiin 1:50 laimennos suoraan putkeen. Suoraan putkeen tehdyt laimennokset tehtiin automaattipipetillä. Jokaisesta näytteestä valmistettiin kaksi putkea per mitauskerta ja kummastakin putkesta tehtiin kaksi toistoa. Yhteensä jokaisesta näytteestä tehtiin neljä toistoa per päivä.

Toistot suoritettiin kolmena päivänä per näyte. Jokaista näytettä kohti saatiin yhteensä siis kaksitoista tulosta. Alla oleva taulukko 7 esittää näytteiden mittaukset. Näyte ID-saraketta luetaan seuraavasti: ensimmäisenä oleva kirjain kuvastaa spesifistä näytettä, A = 1096, B = 924-1, C = 5623-1, D = 2756-1A, E = 2756-2A, ja F = L39-18 2B. Pisteessä oleva numero vastaa kalenteripäivän numeroa, ja pisteen jälkeen oleva numero vastaa rinnakkaismittauksen numeroa.

Esimerkiksi B 18.3 on näytteestä B eli 924-1, 18. päivänä tehty kolmas rinnakkainen.

16. päivä mitatut näytteet kärsivät samasta toisto-ongelmasta kuin natriumin kalibrointisuora, jolloin ensimmäinen toisto kolmesta toistosta olivat epäluotettavia. Kaikki 16. päivän tulokset on laskettu käyttäen vastaavan näytteen toisen ja kolmannen toiston keskiarvoa.

Taulukko 7. Natriumin toistettavuuden päivät ja tulokset.

Näyte ID	signaali, keskiarvo	laskettu pitoisuus, mg/l	Näyte ID	signaali, keskiarvo	laskettu pitoisuus, mg/l
A 16.1	0,4324	1,321	D 17.1	0,27475	0,842
A 16.2	0,4239	1,295	D 17.2	0,27635	0,847
A 16.3	0,42305	1,293	D 17.3	0,29175	0,894
A 16.4	0,4203	1,284	D 17.4	0,2725	0,835
A 17.1	0,40135	1,227	D 18.1	0,29045	0,890
A 17.2	0,3814	1,166	D 18.2	0,28895	0,885
A 17.3	0,3781	1,156	D 18.3	0,29145	0,893
A 17.4	0,37385	1,143	D 18.4	0,2913	0,892
A 18.1	0,4249	1,298	D 21.1	0,1585	0,489
A 18.2	0,4036	1,234	D 21.2	0,1581	0,488
A 18.3	0,3964	1,212	D 21.3	0,1615	0,498
A 18.4	0,3945	1,206	D 21.4	0,1618	0,499
B 16.1	0,34905	1,068	E 17.1	0,25765	0,790
B 16.2	0,34815	1,065	E 17.2	0,25975	0,797
B 16.3	0,3488	1,067	E 17.3	0,2602	0,798
B 16.4	0,3477	1,064	E 17.4	0,2613	0,801
B 17.1	0,3071	0,940	E 18.1	0,27975	0,857
B 17.2	0,30525	0,935	E 18.2	0,27725	0,850
B 17.3	0,30475	0,933	E 18.3	0,2758	0,845
B 17.4	0,30495	0,934	E 18.4	0,2732	0,837
B 18.1	0,3181	0,974	E 21.1	0,1514	0,467
B 18.2	0,32455	0,993	E 21.2	0,1537	0,474
B 18.3	0,32505	0,995	E 21.3	0,1548	0,478
B 18.4	0,32195	0,985	E 21.4	0,1545	0,477
C 16.1	0,4557	1,392	F 17.1	0,2549	0,782
C 16.2	0,45655	1,394	F 17.2	0,25165	0,772
C 16.3	0,45155	1,379	F 17.3	0,2522	0,774
C 16.4	0,4576	1,398	F 17.4	0,2528	0,775
C 17.1	0,40145	1,227	F 18.1	0,2685	0,823
C 17.2	0,4055	1,239	F 18.2	0,2708	0,830
C 17.3	0,40385	1,234	F 18.3	0,26845	0,823
C 17.4	0,4036	1,234	F 18.4	0,26975	0,827
C 18.1	0,42245	1,291	F 21.1	0,1514	0,467
C 18.2	0,42625	1,302	F 21.2	0,1506	0,465
C 18.3	0,42565	1,300	F 21.3	0,1506	0,465
C 18.4	0,43105	1,317	F 21.4	0,1523	0,470

Tarkastelemalla tuloksia voidaan havaita selkeitä eroja. Mitattujen absorbanssien perusteella laskettiin pitoisuudet käyttäen kalibrintisuoran kaavaa. Kunkin näytteen keskiarvo, keskihajonta, ja suhteellinen keskihajonta laskettiin. Näytteiden D, E, ja F kanssa nämä arvot laskettiin kaikilla tuloksilla, ja jättäen pois 21. päivän poikkeukselliset tulokset. Tulokset on esitetty alla taulukoissa 8 ja 9. Taulukko 8 sisältää arvot jotka on laskettu näytteiden D, E ja F kaikilla tuloksilla, ja taulukko 9 sisältää arvot jotka laskettiin jättäen nämä poikkeukselliset arvot pois.

Taulukko 8. Natriumin toistettavuusnäytteiden keskiarvot, keskihajonnat, ja suhteelliset keskihajonnat

Otaen huomioon näytteiden D-F poikkeukselliset toistot		
A Pitoisuus keskiarvo, mg/l	A Keskihajonta	A Suhteellinen Keskihajonta, RSD-%
1,236	0,059	4,764
B Pitoisuus keskiarvo, mg/l	B Keskihajonta	B Suhteellinen Keskihajonta, RSD-%
0,996	0,054	5,408
C Pitoisuus keskiarvo, mg/l	C Keskihajonta	C Suhteellinen Keskihajonta, RSD-%
1,309	0,065	4,945
D Pitoisuus keskiarvo, mg/l	D Keskihajonta	D Suhteellinen Keskihajonta, RSD-%
0,746	0,180	24,088
E Pitoisuus keskiarvo, mg/l	E Keskihajonta	E Suhteellinen Keskihajonta, RSD-%
0,706	0,165	23,425
F Pitoisuus keskiarvo, mg/l	F Keskihajonta	F Suhteellinen Keskihajonta, RSD-%
0,689	0,159	23,023

Jättäen pois näytteiden D-F poikkeukselliset toistot		
A Pitoisuus keskiarvo, mg/l	A Keskihajonta	A Suhteellinen Keskihajonta, RSD-%
1,236	0,059	4,764
B Pitoisuus keskiarvo, mg/l	B Keskihajonta	B Suhteellinen Keskihajonta, RSD-%
0,996	0,054	5,408
C Pitoisuus keskiarvo, mg/l	C Keskihajonta	C Suhteellinen Keskihajonta, RSD-%
1,309	0,065	4,945
D Pitoisuus keskiarvo, mg/l	D Keskihajonta	D Suhteellinen Keskihajonta, RSD-%
0,872	0,024	2,774
E Pitoisuus keskiarvo, mg/l	E Keskihajonta	E Suhteellinen Keskihajonta, RSD-%
0,822	0,026	3,180
F Pitoisuus keskiarvo, mg/l	F Keskihajonta	F Suhteellinen Keskihajonta, RSD-%
0,801	0,025	3,156

Tämän jälkeen jokaisen näytteen toistosarjoista tehtiin yksisuuntainen ANOVA, verraten eri päivien välisiä tuloksia. Tässä tapauksessa käytetään seuraavia hypoteeseja:

- Nollahypoteesi: Päivien välillä ei ole tilastollisesti merkittävää eroa 95 %:n luottamusvälillä.
- Vastahypoteesi: Päivien välillä on tilastollisesti merkittävää eroa 95 %:n luottamusvälillä.

Näytteiden ANOVA-tuloksia voidaan tarkastella taulukoista 9, 10, 11, 12, 13 ja 14.

Taulukko 9. Näytteen A ANOVA tulokset

Anova: yksisuuntainen

A

YHTEENVETO

<i>Ryhmät</i>	<i>Lukumäärä</i>	<i>Summa</i>	<i>Keskiarvo</i>	<i>Varianssi</i>
16	4	5,192971	1,298243	0,000252
17	4	4,691908	1,172977	0,001369
18	4	4,949198	1,2373	0,00179

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	0,031391	2	0,015695	13,80245	0,001812	4,256495
Ryhmissä	0,010234	9	0,001137			
Yhteensä	0,041625	11				

Taulukko 9 esittää näytteen A mittauksista saatujen tulosten välistä ANOVA:a. Koska F on suurempi kuin F-kriittinen, ei nollahypoteesi jää voimaan, joten vastahypoteesi astuu voimaan. Todetaan siis että näytteellä A oli päivien välillä tuloksissa eroa joka oli tilastollisesti merkittävää 95 %:n luottamusvälillä.

Taulukko 10. Näytteen B ANOVA tulokset

Anova: yksisuuntainen

B

YHTEENVETO

<i>Ryhmät</i>	<i>Lukumäärä</i>	<i>Summa</i>	<i>Keskiarvo</i>	<i>Varianssi</i>
16	4	4,263597	1,065899	3,48E-06
17	4	3,742181	0,935545	1,07E-05
18	4	3,947527	0,986882	9,33E-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	0,034495	2	0,017248	481,2432	7,09E-10	4,256495
Ryhmissä	0,000323	9	3,58E-05			
Yhteensä	0,034818	11				

Taulukko 10 esittää näytteen B mittauksista saatujen tulosten välistä ANOVA:a. Koska F on suurempi kuin F-kriittinen, ei nollahypoteesi jää voimaan, joten vastahypoteesi astuu voimaan. Todetaan siis että näytteellä B oli päivien välillä tuloksissa eroa joka oli tilastollisesti merkittävää 95 %:n luottamusvälillä.

Taulukko 11. Näytteen C ANOVA tulokset

Anova: yksisuuntainen

C

YHTEENVETO

<i>Ryhmät</i>	<i>Lukumäärä</i>	<i>Summa</i>	<i>Keskiarvo</i>	<i>Varianssi</i>
16	4	5,562807	1,390702	6,48E-05
17	4	4,93401	1,233502	2,55E-05
18	4	5,210437	1,302609	0,000116

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	0,049664	2	0,024832	360,6276	2,56E-09	4,256495
Ryhmissä	0,00062	9	6,89E-05			
Yhteensä	0,050283	11				

Taulukko 11 esittää näytteen C mittauksista saatujen tulosten välistä ANOVA:a. Koska F on suurempi kuin F-kriittinen, ei nollahypoteesi jää voimaan, joten vastahypoteesi astuu voimaan. Todetaan siis että näytteellä C oli päivien välillä tuloksissa eroa joka oli tilastollisesti merkittävää 95 %:n luottamusvälillä.

Taulukko 12. Näytteen D ANOVA tulokset

Anova: yksisuuntainen

D

YHTEENVETO

<i>Ryhmät</i>	<i>Lukumäärä</i>	<i>Summa</i>	<i>Keskiarvo</i>	<i>Varianssi</i>
17	4	3,418062	0,854515	0,000707
18	4	3,560225	0,890056	1,21E-05
21	4	1,973803	0,493451	3,49E-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	0,385236	2	0,192618	766,5642	8,86E-11	4,256495
Ryhmissä	0,002261	9	0,000251			
Yhteensä	0,387497	11				

Taulukko 12 esittää näytteen D mittauksista saatujen tulosten välistä ANOVA:a. Koska F on suurempi kuin F-kriittinen, ei nollahypoteesi jää voimaan, joten vastahypoteesi astuu voimaan. Todetaan siis että näytteellä D oli päivien välillä tuloksissa eroa joka oli tilastollisesti merkittävää 95 %:n luottamusvälillä.

Taulukko 13. Näytteen E ANOVA tulokset

Anova: yksisuuntainen

E

YHTEENVETO

<i>Ryhmät</i>	<i>Lukumäärä</i>	<i>Summa</i>	<i>Keskiarvo</i>	<i>Varianssi</i>
17	4	3,185832	0,796458	2,16E-05
18	4	3,38966	0,847415	6,92E-05
21	4	1,896343	0,474086	2,18E-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	0,32786	2	0,16393	4366,49	3,6E-14	4,256495
Ryhmissä	0,000338	9	3,75E-05			
Yhteensä	0,328198	11				

Taulukko 13 esittää näytteen E mittauksista saatujen tulosten välistä ANOVA:a. Koska F on suurempi kuin F-kriittinen, ei nollahypoteesi jää voimaan, joten vastahypoteesi astuu voimaan. Todetaan siis että näytteellä E oli päivien välillä tuloksissa eroa joka oli tilastollisesti merkittävää 95 %:n luottamusvälillä.

Taulukko 14. Näytteen F ANOVA tulokset

Anova: yksisuuntainen

F

YHTEENVETO

<i>Ryhmät</i>	<i>Lukumäärä</i>	<i>Summa</i>	<i>Keskiarvo</i>	<i>Varianssi</i>
17	4	3,102752	0,775688	1,86E-05
18	4	3,303086	0,825772	1,17E-05
21	4	1,867485	0,466871	6,05E-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	0,302248	2	0,151124	12468,34	3,22E-16	4,256495
Ryhmissä	0,000109	9	1,21E-05			
Yhteensä	0,302357	11				

Taulukko 14 esittää näytteen F mittauksista saatujen tulosten välistä ANOVA:a. Koska F on suurempi kuin F-kriittinen, ei nollahypoteesi jää voimaan, joten vastahypoteesi astuu voimaan. Todetaan siis että näytteellä F oli päivien välillä tuloksissa eroa joka oli tilastollisesti merkittävää 95 %:n luottamusvälillä.

Päivien välillä oli havaittavissa eroa. Odottamatonta oli että tilastollisesti merkittävää eroa havaittiin kaikista näytteistä, kuten yllä olevien taulukoiden tuloksista voidaan päätellä.. Näytteiden D, E, ja F kanssa tämä ei ollut niinkään odottamatonta, mutta on F:n ja F-kriittisen väliset erot olivat paikoitellen suorastaan vaikuttavia niiden huomattavan suurissa luvuissa.

Erojen suuruuden voi tässä tapauksessa olla työn suorittajan osaamattomuus ANOVA:a tehdessä. Tulosten perusteella on tultava johtopäätökseen että tällä hetkellä instrumentti ei anna tuloksia jotka ovat toistettavia.

6.2.5 Natriumin mittausepävarmuus

Mittausepävarmuutta varten ei suoritettu omia analyysyjä, sen sijaan oikeellisuuden osana mitattujen tunnetun referenssimateriaalin tuloksia, ja toistettavuuden osana mitattujen näytteiden tuloksia käytettiin. Tulokset syötettiin MUKit-ohjelmaan, käyttäen toistettavuuden näytemittauksia näyterinnakkaisina, ja tunnetun referenssimateriaalin tuloksia käytettiin tunnettuna referenssimateriaalina.

Tulokset joiden perusteella MUKit-ohjelman laskut suoritettiin, eivät kattaneet koko pitoisuusalueetta jolla validointi suoritettiin. Lisäksi ongelmia voi aiheuttaa tekijän osaamattomuus MUKit:in kanssa. Tulosten pitoisuusalue ja tekijän kokemattomuus voivat asettaa saadut tulokset kyseenalaisiksi. MUKit-ohjelman antamat tulokset voidaan nähdä taulukossa 15.

Taulukko 15. Natriumin mittauksille MUKit-ohjelmasta saatu mittausepävarmuus

Concentration range (mg/l)	Reproducibility method	u(Rw)	Bias method	u(bias)	Combined uncertainty	Expanded uncertainty
0,4—1,4	Control sample and routine sample replicates	2,62 %	Certified reference material / Control Sample	15,51 %	15,73 %	32 %

Tulokset eivät olleet optimaaliset. Kuten taulukkoa 15 edeltävässä kappaleessa mainittiin, tulosten tarkkuus on kyseenalainen. Voidaan päätellä että instrumentin mittausepävarmuus on lisätutkimuksen tarpeessa. Täyttää raporttia mittausepävarmuudesta voidaan tarkastella Liitteestä 1, tämän dokumentin lopusta.

6.2.6 Kaliumin lineaarisuus ja määritysalue, spesifisyys, herkkyys

Lineaarisuuden, määritysalueen, spesifisyyden ja herkkyuden määrittämistä varten valmistettiin kaksi liuosarjaa, yksi kahdeksan pisteen sarja standardisuoraa varten ja yksi

kuuden pisteen sarja standardilisäystä varten. Kaikki liuokset valmistettiin työliuoksesta 100 ml:n mittapulloihin täyspipettejä käyttäen.

Standardisuoralle pitoisuuksiksi valittiin 0,2 mg/l, 0,5 mg/l, 0,7 mg/l, 1,0 mg/l, 1,2 mg/l, 1,5 mg/l, 2,0 mg/l ja 2,2 mg/l. Näitä pitoisuuksia varten pipetoitiin vastaavasti 2 ml, 5 ml, 7 ml, 10 ml, 12 ml, 15 ml, 20 ml ja 22ml työliuosta. Standardilisäyksiä varten käytettiin ensimmäistä kuutta pistettä standardisuoralta, 0,2—1,5 mg/l, mutta ennen merkkiin täyttöä kuhunkin pulloon pipetoitiin 2 ml työliuosta, joka vastaa 0,2 mg/l lisäystä pitoisuudessa.

Kaikki pullo taitettiin tämän jälkeen noin $\frac{3}{4}$ täyteen vedellä ja sekoitettiin kääntämällä korkitettu pullo ylösalaisin useita kertoja. Liuosten annettiin asettua hetken jotta mahdolliset pullon sisäpinnalle jääneet pisarat ehtisivät valua takaisin pullon pohjalle ennen merkkiin täyttöä.

Koska spektrofotometri tuotti ongelmia kaliumia mitattaessa, saatiin yhdeltä laboratorion työntekijöistä apua tämän valmistettua toisen parin sarjoja käyttäen automaattipipettejä. Tarkkaa valmistusmenettelyä ei kysytty, mutta tämän työntekijän mukaan nämä liuos-sarjat olivat samaa pitoisuutta kuin aiemmat sarjat. Sarjoista ajettiin standardisuora kahdesti ja standardilisäykset kerran

Ensimmäisen kalibroitisuuden mittauksista saadut tulokset on esitetty taulukossa 16, alla.

Taulukko 16. Kaliumin 1. kalibroitisuuden mittaustulokset

kalibrointi	
pitoisuus, mg/l	absorbanssi
0,2	0,0134
0,5	0,0273
0,7	0,0324
1	0,0448
1,2	0,05
1,5	0,0626
2	0,0852
2,2	0,0896

Ensimmäisen standardilisäyssarjan mittauksista saadut tulokset on esitetty taulukossa 17.

Taulukko 17. Kaliumin 1. standardilisäyssarjan mittaustulokset

standardilisäys	
lisäys, mg/l	absorbanssi
0,2	0,0196
0,5	0,0313
0,7	0,0389
1	0,0512
1,2	0,0574
1,5	0,0714

Tarkastellaan ensin laboratorion työntekijän valmistaman kalibrointi- ja standardilisäyssarjan tulokset, ja tarkastellaan molempien sarjojen kuvaajia sen jälkeen. Kaliumin toisen kalibrointisuoran tulokset on esitetty taulukossa 18.

Taulukko 18. Kaliumin 2. kalibrointisuoran mittaustulokset

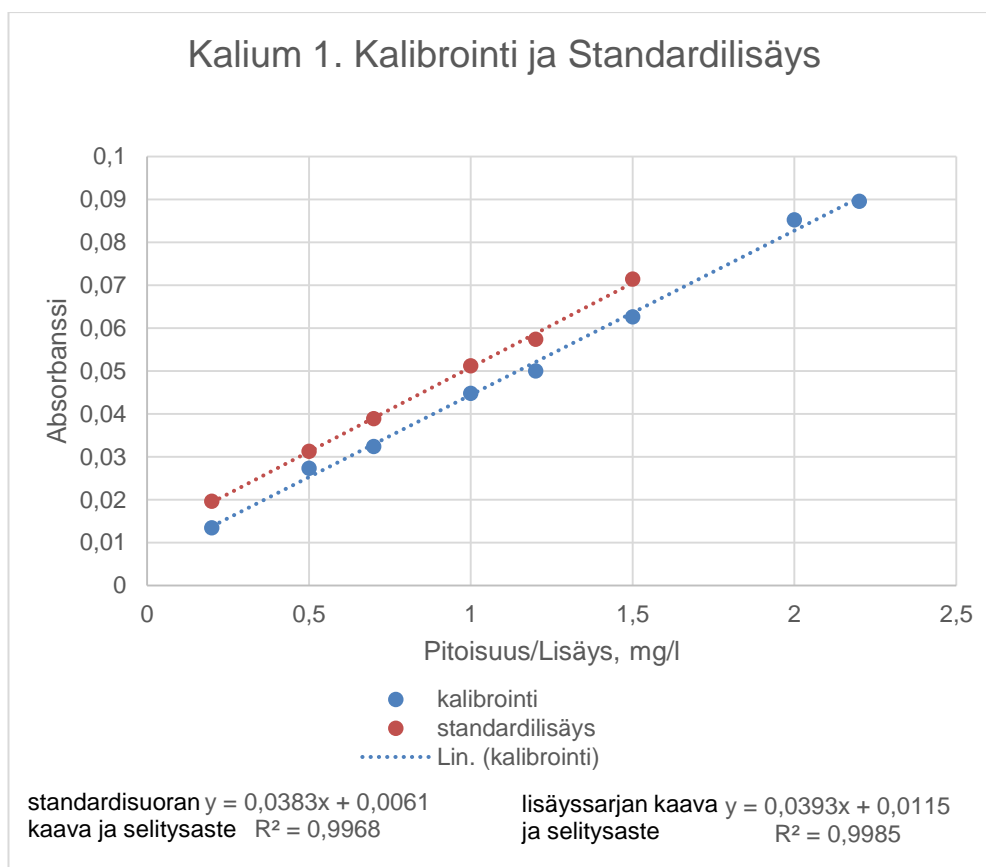
kalibrointi	
pitoisuus, mg/l	absorbanssi
0,2	0,0149
0,5	0,0353
0,7	0,0511
1	0,0715
1,2	0,0862
1,5	0,1062
2	0,1424
2,2	0,1622

Kaliumin toisen standardilisäyssarjan mittauksista saadut tulokset on esitetty taulukossa 19.

Taulukko 19. Kaliumin 2. standardilisäyssarjan mittaustulokset

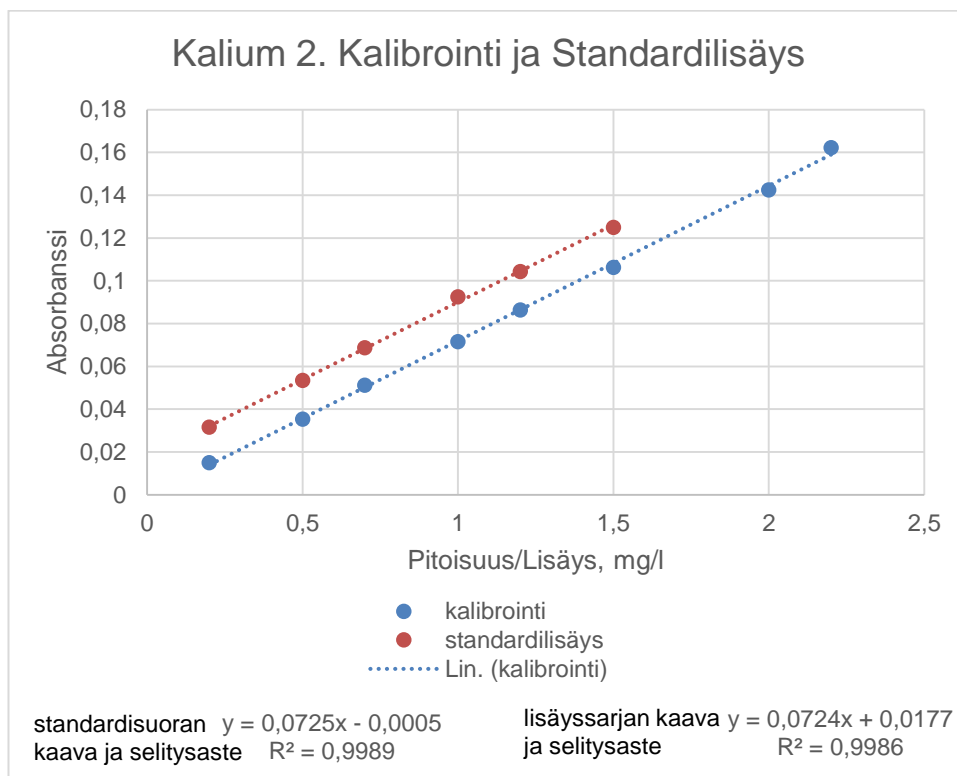
standardilisäys	
lisäys, mg/l	absorbanssi
0,2	0,0315
0,5	0,0533
0,7	0,0686
1	0,0924
1,2	0,1043
1,5	0,1249

Numeerisia tuloksia tarkastelemalla havaitaan että työntekijän valmistamista sarjoista saatiin paljon korkeammat signaalit. Ei ole varmaa onko tällä erolla tekemistä sarjojen tekijöiden kanssa vai instrumentin ongelmallisuuden kanssa. Näistä sarjoista valmistettiin kuvaajat. Kuvassa 14 näemme ensimmäisen sarjan kalibrointi- ja standardilisäyssuorat.



Kuva 14. Kaliumin 1. kalibrointisuoran ja standardilisäyssarjan kuvaaja

Kuvaajaa voidaan kuvailla erinomaiseksi. Havaitaan korkeat selitysasteet ja suorien kulmakertoimien samanlaisuus. Seuraavaksi toisen sarjan kuvaaja on nähtävissä kuvassa 15.



Kuva 15. Kaliumin 2. kalibrointisuoran ja standardilisäyssarjan kuvaaja

Verrattuna kuvan 14 kuvaajaan, kaavat kahden eri sarjaparin välillä ovat huomattavan erilaiset. Kuvan 15 kulmakertoimet ovat lähes identtiset, ja selitysasteet erinomaiset.

Herkkyden kannalta ensimmäinen sarja ei ole kovin hyvä. Kulmakerroin on kovin matala, ja kalibrointisuoran yksittäisten pisteiden välillä ei havaita kovin suurta eroa. Toisella sarjalla kulmakerroin on lähes kaksinkertainen, ja ero pisteiden signaalin välillä on paljon huomattavampi.

Ottaen huomioon että sarjojen liuosten pitoisuuksien tulisi olla käytännössä identtiset, ja mittaustulokset poikkeavat kuitenkin näin huomattavasti toisistaan, ei voida tehdä var-

maa johtopäätöstä onko menetelmä herkkä kaliumia mitattaessa. Kyseessä voi olla instrumentin oikku joko ensimmäisen tai toisen sarjan mittauksen aikana. Enemmän määrittäviä pidemmällä aikavälillä tarvittaisiin varman tuloksen saamiseksi.

Tarkastellaan spesifisyyttä. Pelkästään kuvaajia katsomalla voidaan todeta että kalibroitisarjan ja standardilisäyssarjojen kulmakertoimien välillä ei havaita suurta eroa. Ensimmäisen sarja-parin ero laskettiin seuraavasti:

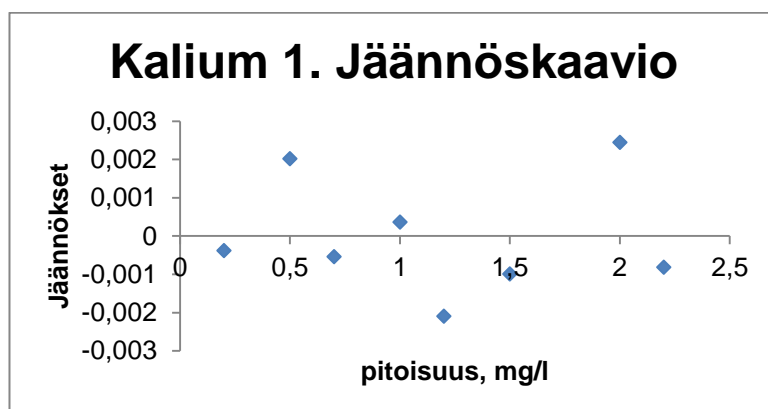
$$\left(\frac{0,0393}{0,0383}\right) * 100\% = 102,6110\%$$

Ero on siis 2,6110 %. Oikein hyvä tulos, kun lukua verrataan 5 %:n ylärajaan. Toisen sarja-parin ero laskettiin seuraavasti:

$$\left(\frac{0,0724}{0,0725}\right) * 100\% = 99,8621\%$$

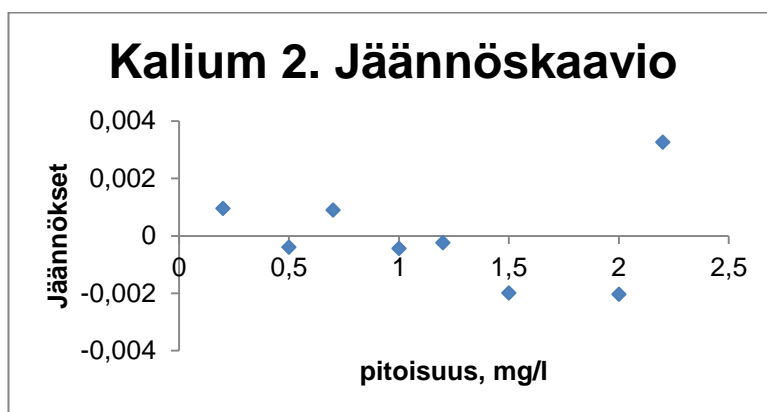
Ero on 0,1379 %. Verrattuna 5 %:n ylärajaan, tämä tulos oli erinomainen. Vaikka kaliummittausten tuloksissa havaitaan eroja sarjojen välillä, tulokset eivät ole ristiriitaisia. Tässä tapauksessa voidaan tarkastella kahta esimerkkiä erinomaisesta spesifisyydestä. Kaliumia mitattaessa voidaan todeta instrumentin olevan spesifinen.

Ensimmäisen sarjan tuloksista tehtiin regressioanalyysi, jonka osana saatiin jäännöskaavio, joka on nähtävissä kuvassa 16.



Kuva 16. 1. kalium-standardisuoran jäännöskaavio

Verrattuna natriumin jäännöskaavioon, yllä oleva kaliumin kaavio ei vaikuta hyvältä. Pisteet ovat absorbanssi-signaaleihin verrattuna huomattavasti kauempana nollaviivasta. Ja voidaan havaita että 0,5 mg/l pisteen jäännös on lähes 10 % absorbanssista. Pisteet ovat jakautuneet kummallekin puolelle nollaviiva, mutta jäännökset ovat liian suuret. Myös toisen sarjan tuloksista tehtiin regressioanalyysi. Saatu jäännöskaavio nähdään kuvassa 17.



Kuva 17. 2. kalium-standardisuoran jäännöskaavio

Verrattuna kaliumin ensimmäiseen kaavioon, tämä kaavio näyttää paremmalta. Pisteet ovat lähempänä nollaviivaa, ja ensimmäistä pistettä lukuun ottamatta jäännökset eivät eroa vastaavan pisteen absorbanssista kovin suuresti. Ensimmäinen piste poikkeaa noin 10 %, mutta kaikkien muilla pisteillä tämä ero on 1—2% luokkaa. Pisteet ovat jälleen jakautuneet kummallekin puolelle nollaviivaa, vaikka huomattava on että neljäs, viides, kuudes ja seitsemäs piste ovat kaikki yhdellä puolella viivaa.

Tulosten perusteella voidaan todeta instrumentin olevan lineaarinen kaliumia määrittäessä pitoisuusalueella 0,2—2,2 mg/l. Standardisuoran pitoisuudet eivät olleet tarpeeksi suuret, että instrumentin lineaarisen mittausalueen yläpäättä voitaisiin määrittää.

6.2.7 Kaliumin toteamis- ja määrittämissrajat

Toteamis- ja määrittämissrajan määrittämistä varten oli mitattava liuosta jossa ei olisi lainkaan mitattavaa analyyttiä. Analyysiin käytettiin tähän tarkoitukseen ultrapuhdasta vettä. Jotta mitattavan veden kontaminaation riski saatiin minimoitua, aiemmin happopestyyn

astiaan otettiin tuoretta ultrapuhdasta vettä, josta vettä kaadettiin autosamplerin käyttämiin kertakäyttöisiin koeputkiin. Täytettiin yhteensä neljä koeputkea, joista kustakin tehtiin kolme mittausta, jolloin saatiin yhteensä kaksitoista rinnakkaista.

Tämä analyysi toistettiin useampaan kertaan, koska joka kerta instrumentin tuottamat tulokset olivat huomattavasti negatiivisella, ja tuloksia ei täten voitu käyttää. Käyttökelpoisia tuloksia ei useista yrityksistä huolimatta saatu tuotettua. Toteamisrajaa tai määrittämissrajaa ei täten voitu laskea.

6.2.8 Kaliumin oikeellisuus

Kaliumin oikeellisuutta varten mitattiin tunnettu referenssimateriaali. Tätä analyysiä varten saatiin kaupallista liuosta jonka natriumpitoisuus oli 10 mg/l, josta tehtiin täyspipettiä käyttäen laimennos 1:10. Liuoksesta mitattiin kaksitoista rinnakkaista neljästä putkesta, kolme rinnakkaista per putki. Analyysi toistettiin useaan kertaan tulosten epäluotettavuuden vuoksi. Absorbanssista laskettiin pitoisuus. Tulokset on nähtävissä taulukossa 20.

Taulukko 20. Kaliumin oikeellisuuden tulokset

toisto	absorbanssi	laskettu pitoisuus, mg/l
1	0,0377	0,579
2	0,0372	0,572
3	0,0377	0,579
4	0,0378	0,581
5	0,0374	0,575
6	0,0362	0,556
7	0,0375	0,576
8	0,0352	0,541
9	0,0351	0,540
10	0,0351	0,540
11	0,036	0,553
12	0,034	0,523
	keskiarvo	0,560
	keskihajonta	0,019

Odotusarvo oli 1,0 mg/l. Kalium osoittautui hyvin ongelmalliseksi analytyiksi mitata, joten yllä olevat tulokset eivät olleet odottamattomat. Tulokset ovat yli 40% liian matalat, näin matalilla tuloksilla oikeellisuusprosentin laskeminen oli turhaa.

Oikeaoppista määrittystä varten olisi tunnettuja referenssimateriaaleja tullut olla useammilla eri pitoisuuksilla. Koska tämä kyseinen määrittys tehtiin vain yhdellä pitoisuudella, ovat saadut tulokset pitkälti hyödyttömiä. Nämä oikeellisuustulokset eivät olleet hyvät, ja lisäksi instrumentilla ei onnistuttu mittamaan luotettavia saantokokeita. Kaliumin oikeellisuuden johtopäätöksen tekemiseen ei ollut riittävää dataa.

6.3 Näytteensyöttäjän ja käsinsyötön vertaaminen

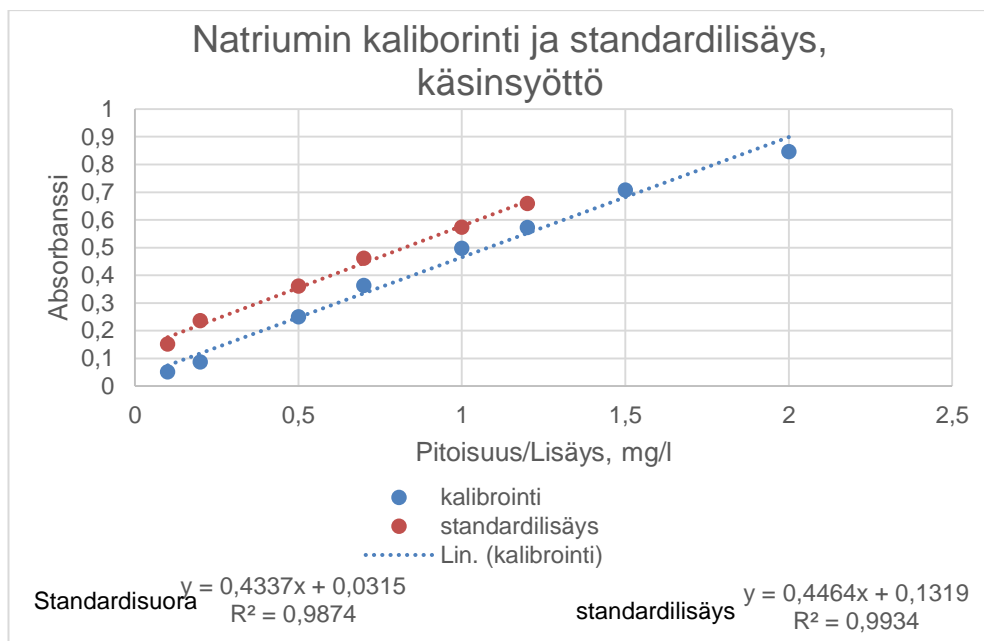
Eräs tämän opinnäytetyön tavoitteista, näytteensyöttäjän käyttöönoton lisäksi, oli tarkastella miten mitattujen näytteiden lasketut pitoisuudet poikkeavat toisistaan kun verrataan näytteitä ja standardisuuraa jotka on ajettu näytteensyöttäjällä ja käsinsyötöllä. Tässä yhteydessä ajettiin myös natriumin ja kaliumin standardilisäyssarjat jotta niitä myös voitaisiin verrata.

Tarkastellaan ensin natriumin tuloksia, jotka ovat esitettynä taulukossa 21.

Taulukko 21. Natriumin standardisuoran ja standardilisäysten käsinsyötön tulokset

kalibrointi		standardilisäys	
pitoisuus, mg/l	absorbanssi	lisäys, mg/l	absorbanssi
0,1	0,0517	0,1	0,1519
0,2	0,0869	0,2	0,2366
0,5	0,2504	0,5	0,3609
0,7	0,3629	0,7	0,4611
1	0,4972	1	0,5738
1,2	0,5724	1,2	0,6585
1,5	0,7072		
2	0,8457		

Näiden tulosten perusteella tehtiin kuvaaja, joka on nähtävissä kuvassa 18.



Kuva 18. natriumin käsinsyötetyn kalibrintisarjan ja standardilisäyssarjan kuvaaja

Huomattavaa tässä on että kalibrintisuoran viimeinen piste ei enää ole lineaarisella alueella. Standardilisäyksen selitysaste oli heikko, kolmen yhdeksän selitysaste olisi optimaalinen, mutta tämä on käyttökelpoinen. Kulmakertoimet, ja sitä kautta herkkyys näyttivät hyvältä. Kulmakertoimissa ei havaittu suurta eroa, laskettuna prosenttieroksi saadaan seuraavasti:

$$\left(\frac{0,4464}{0,4337}\right) * 100\% = 102,9283\%$$

Saatiin 2,9283 %:n ero. Tämä oli hyvä tulos spesifisyyden kannalta. Lineaarisuus ja mitausalue eivät käsinsyötölle olleet tärkeitä, joten niitä ei tässä käsitellä. Tarkastellaan käsinsyötettyjen näytteiden tuloksia ja verrataan niitä vastaaviin autosamplerilla syötettyjen näytteiden tuloksiin, kummatkin löytyvät taulukosta 22. Huomioitakoon että autosampler-näytteiden pitoisuuksina käytettiin samana päivänä toistettavuutta varten mitattujen näytteiden pitoisuuksia.

Taulukko 22. Natriumin käsinsyötettyjen näytteiden tulokset.

näyte	toisto	signaali	laskettu pitoisuus, mg/l	Vastaava autosampler pitoisuus, mg/l
2756-1	1	0,4826	1,081	0,890
	2	0,5314	1,194	0,885
	3	0,5757	1,296	0,893
	4	0,7004	1,583	0,892
L39/18	1	0,4607	1,031	0,823
	2	0,5049	1,133	0,830
	3	0,5409	1,216	0,823
	4	0,6536	1,476	0,827
1096	1	0,6179	1,393	1,298
	2	0,6575	1,485	1,234
	3	0,6969	1,575	1,212
	4	0,799	1,811	1,206

Ensimmäisenä huomioidaan että kunkin näytteen toiston myötä pitoisuus kasvaa. Käsinsyötöllä instrumentti imee sisään näyteliuosta paljon nopeammin kuin näytteensyöttäjällä, ja oletettu syy tälle nousulle oli että sekoituskammiota ei huuhdottu tarpeeksi mittausten välissä. Taulukosta havaitaan että käsinsyötöllä ajettujen näytteiden pitoisuudet olivat korkeammat.

Näytteiden mittausten välillä oli enimmäkseen tunti, tämän aikaeron ei pitäisi vaikuttaa tuloksiin, ainakaan niin huomattavasti kuin havaittiin. Käsinsyötöllä ja näyttensyöttäjällä tehtyjen mittausten välillä vaikutti olevan eroa, mutta lopullista johtopäätöstä varten ei ollut tarpeeksi dataa.

T-testillä voisi määrittää oliko ero tilastollisesti merkittävä, mutta näin pienellä määrällä näytetoistoja t-testin tulos ei edustaisi instrumentin natrium-mittauksia kokonaisuudessaan.

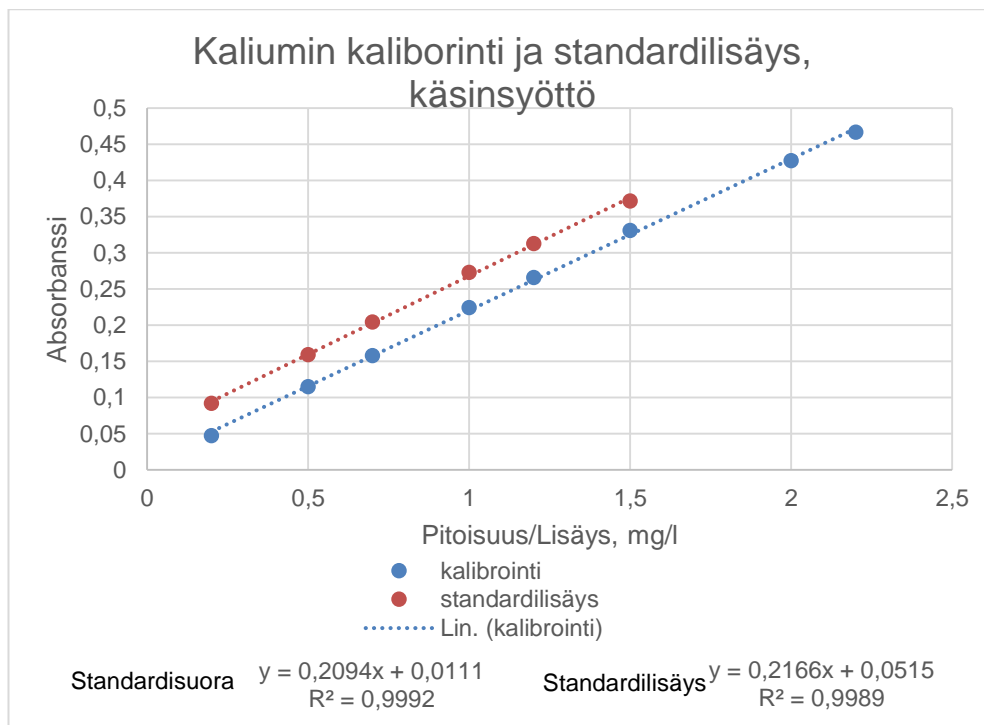
Tarkastellaan kaliumin tuloksia seuraavaksi. Kaliumin standardisuuraa ja standardiläysiksiä varten käytettiin laboratorion työntekijän liuoksia. Tämä vastaa siis kaliumin toista sarjaa, joka vastaa taulukoita 18 ja 19, sekä kuvaa 15.

Käsinsyötettyjen kalibrointiliuossarjan ja standardilisäyssarjan tulokset voidaan nähdä taulukossa 23.

Taulukko 23. Kaliumin standardisuoran ja standardilisäysten käsinsyötön tulokset

kalibroiinti		standardilisäys	
pitoisuus, mg/l	absorbanssi	lisäys, mg/l	absorbanssi
0,2	0,0475	0,2	0,0921
0,5	0,115	0,5	0,1593
0,7	0,1582	0,7	0,2045
1	0,2246	1	0,2731
1,2	0,2659	1,2	0,3128
1,5	0,331	1,5	0,3719
2	0,4277		
2,2	0,4669		

Näiden tulosten perusteella valmistettiin kuvaaja joka voidaan nähdä kuvassa 19.



Kuva 19. kaliumin käsinsyötetyn kalibrointisarjan ja standardilisäyssarjan kuvaaja

Kummallakin sarjalla saatiin erinomainen selitysaste, mutta kulmakertoimien erot vaikuttavat alustavasti korkeilta. Prosenttiero kulmakertoimien välillä laskettiin seuraavasti

$$\left(\frac{0,2166}{0,2094}\right) * 100\% = 103,4384\%$$

Eroa on 3,4383 %, ero oli matalampi kuin mitä alustavasti vaikutti. Kaliumin kanssa käsinsyöttö antoi todella hienon kulmakertoimen ja sitä kautta mainion herkkyyden. Spesifisyydessä tulokset olivat hyväksyttävissä. Tarkastellaan seuraavaksi näytteiden tuloksia. Koska kaliumin toistettavuutta ei saatu määritettyä, alla olevat näytteensyöttäjällä mitatut näytteet on ajettu spesifisesti vertailua varten. Saadut tulokset on nähtävissä taulukossa 24.

Taulukko 24. Kaliumin käsinsyötettyjen näytteiden tulokset.

näyte	toisto	signaali	laskettu pitoisuus, mg/l	Vastaava autosampler pitoisuus, mg/l
1096	1	0,0543	0,270	0,278
	2	0,0548	0,273	0,412
	3	0,0545	0,271	0,275
	4	0,0538	0,268	0,256
924-1	1	0,1581	0,766	0,730
	2	0,1563	0,758	0,712
	3	0,155	0,751	0,719
	4	0,1562	0,757	0,716
2756-1	1	0,1927	0,931	0,936
	2	0,1971	0,952	0,954
	3	0,1933	0,934	0,952
	4	0,1959	0,947	0,922
2756-2	1	0,1822	0,881	0,887
	2	0,1849	0,894	0,845
	3	0,1832	0,886	0,882
	4	0,1849	0,894	0,868

Nämä tulokset vaikuttavat päinvastaisilta natriumin tuloksiin verrattuna. Toistojen kesken ei havaittu juuri muutosta, ja nousua toistojen mittaan ei ollut. Tuloksissa käsinsyötettyjen näytteiden ja autosamplerilla syötettyjen näytteiden välillä ei juuri ollut.

Vaikuttaisi siltä että käsinsyötön ja näytteensyöttäjän välillä ei ollut eroa, mutta tällainen johtopäätös ei todennäköisesti ole edustava kaikkien näytteiden ja pitoisuusalueiden suhteen.

7 Yhteenveto ja loppupäätelmät

Natriumin validointi saatiin suoritettua, ja kaliumin osittain valmiiksi. Tulosten perusteella voidaan päätellä että mitattaessa natriumia parametrit ovat varsin hyvät. Instrumentti oli natriumin mittauksessa herkkä ja lineaarinen alueella 0,1—2mg/l. Natriumin määritysaluetta ei pystytty varmistamaan, ja spesifisyydessä natriumia mitattaessa olisi parantamisen varaa, vaikka onkin vielä hyväksyttävä. Havainto- ja määritysrajat saatiin määritettyä, ja lasketut tulokset putosivat pitoisuusalueelle jotka vaikuttivat järkevältä.

Oikeellisuus olisi voinut olla parempi. Saadut saantoprosentit olivat kovin huolestuttavia. Esitetään tämän suhteen matriisin vaikutuksen mahdollisena syynä heikoille saannoille, mutta tämän ei pitäisi pystyä johtaa saantoprosentteihin jotka olivat matalimmillaan -60% luokkaa. Tätä olisi syytä tutkia lisää.

Viimeisenä natriumille oli toistettavuus ja mittausepävarmuus. Nämä kaksi mainitaan yhdessä, sillä kummankaan tulokset eivät tuntuneet luotettavilta. Toisaalta tekijän kokeemaatomuus näiden kahden parametrin määrittämisessä asettaa tulosten tarkkuuden kyseenalaiseksi. Toistettavuus ei ollut hyvä. Samana päivänä mitatut toistot näytteestä poikkesivat toisistaan, päivien välillä tämä ero kasvoi. Lopulta kolmen päivän tuloksia vertaava ANOVA varmisti tämän tilastollisesti merkittävän eron.

Vaikka ANOVA:n tarkkuus ei välttämättä ollut täysin varma, vaatii tämän poikkeaman syy lisää tutkimusta. Laskettu mittausepävarmuus oli liian korkea, vaikka sen määrittäminen MUKit:in avulla voitiin asettaa kyseenalaiseksi. Uusi mittausepävarmuuden määrittäminen voisi tuottaa parempaa tulosta. Tämä tulos, vaikka onkin kyseenalainen, on syytä ottaa huomioon tulevien mittausten kanssa.

Kaliumin kanssa oli ongelmia lähes alusta alkaen. Laboratorion työntekijän avusta huolimatta, aika ei riittänyt. Seurauksena täyttää validointia ei saatu suoritettua. Kaliumin tulokset ja johtopäätökset lineaarisuuden, määrittelyalueen, herkkyuden ja spesifisyyden suhteen olivat verrattain samat kuin natriumin vastaavat parametrit. Menetelmä oli lineaarinen välillä 0,2—2,2 mg/l ja määrittelyalueen yläpäättä ei saatu määritettyä. Spesifisyydessä kaliumin tulokset olivat erinomaiset, mutta herkkyys oli määrittely-sarjasta riippuen varsin matala. Toteamis- ja määrittelyrajoja ei saatu määritettyä onnistuneesti. Oikeellisuutta varten saatiin osa mittauksista suoritettua, mutta saadusta datasta ei voitu tehdä johtopäätöksiä.

Alkalimetallit, natrium ja kalium mukaan lukien ovat vahvasti valoa emittoivia alkuaineita. Tämä ominaisuus saattaa olla osatekijänä validoinnin aikana esiintyneisiin ongelmiin, mutta ottaen huomioon miten laajamittaiset ja vakaviksi nämä ongelmat osoittautuivat, ei emissio voi kovin suurta osa ongelman kokonaissuutta muodostaa.

Osana validoinnin alkuperäistä suunnitelmaa oli cesiumin käyttäminen ionisaatiopuskurina, antamaan parempia signaaleja, mutta tästä osasta suunnitelmaa luovuttiin pian kustannussyistä.

Validoinnin viimeisenä päivänä suoritettiin ylimääräisiä kalium-mittauksia joiden tarkoituksena oli varmistaa olisiko cesiumin lisäyksellä merkittävää vaikutusta kaliumin kanssa havaittujen ongelmien lieventämisessä.

Tätä varten suoritettiin mittauksia samasta liuksesta, jossa oli tunnettu pitoisuus kaliumia ja johon oli tehty lisäys cesiumia, yhteensä 48 toistoa. Koska kyseessä ei ollut suoranainen osa validointia, tuloksia ei tässä esitetä. Tuloksista mainitaan että verrattaessa ensimmäisen toiston signaalia viimeisten toistojen signaaleihin, oli signaalin intensiteetti laskenut 75 prosenttiin ensimmäisen toiston signaalista.

Loppupäätelmänä huomattiin että vaikka opinnäytetyön tekijällä ei ollut syvällistä asiantuntemusta instrumenttien diagnosoinnista tai korjauksesta, viittaisi saatu data ja tehdyt testit instrumentin olevan viallinen. Laite tulisi huoltaa ja korjata ennen käytön jatkoa.

Lähteet

- 1 Koriseva, Eija; Niiranen, Jukka; Ruismäki, Mia. 2015. Analyysimenetelmän validointi käytännössä. Metropolia
- 2 Jaarinen, Soili; Niiranen, Jukka. 2005. Laboratorion analyysitekniikka. 5., uudistettu painos. Helsinki: Edita
- 3 Lindsjö, Olle; Riekkola, Marja .1976. Instrumnettianalytiikka 1 Atomabsorptiospektrometria. Vammala: Gummerus
- 4 Sanui, Hisahsi; Pace, Nello. 1967. Chemical and ionization interferences in the atomic absorption spectrophotometric measurement of sodium, potassium, rubidium, and cesium. Verkkoaineisto. ScienceDirect. <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003269768901085>>. Luettu 16.9.2019

Natriumin mittausepävarmuus, täysi MUKit-raportti

Step	Action	Measurand	19.11.2019												
1	Specify Measurand	Concentration range: 0,4 - 1,4 mg/l													
2	Quantify within-laboratory reproducibility, $u(R_w)$ A: Control sample B: Possible steps not covered by control sample	<p>A: Control samples: Number of control samples: 13 Average concentration: 1,146615 mg/l Standard deviation, s_{RW} : 2,43 %</p> <p>B: Routine replicate samples : Number of routine replicate samples: 36 Number of parallell measurements: 2 Concentration range: 0,466 - 1,393000 mg/l Standard deviation estimate from range, s_r : 1,00 %</p> $u(R_w) = \sqrt{s_{RW}^2 + s_r^2} = 2,62 \%$													
3	Quantify method and laboratory bias, $u(bias)$	<p>Method and laboratory bias from certified reference material: Different certified reference materials count, N : 1</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>i</th> <th>1</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Certified concetration, $c_{ref i}$</td> <td>1 mg/l</td> </tr> <tr> <td>Standard uncertainty of certified concentration, $u(c_{ref i})$</td> <td>5,00 %</td> </tr> <tr> <td>Measured concentration, c_i</td> <td>1,146615 mg/l</td> </tr> <tr> <td>Standard deviation of measured concentration, s_{bias}</td> <td>2,43 %</td> </tr> <tr> <td>Number of Measurements, n_i</td> <td>13</td> </tr> </tbody> </table>	i	1	Certified concetration, $c_{ref i}$	1 mg/l	Standard uncertainty of certified concentration, $u(c_{ref i})$	5,00 %	Measured concentration, c_i	1,146615 mg/l	Standard deviation of measured concentration, s_{bias}	2,43 %	Number of Measurements, n_i	13	
i	1														
Certified concetration, $c_{ref i}$	1 mg/l														
Standard uncertainty of certified concentration, $u(c_{ref i})$	5,00 %														
Measured concentration, c_i	1,146615 mg/l														
Standard deviation of measured concentration, s_{bias}	2,43 %														
Number of Measurements, n_i	13														

		<table border="1"> <tr> <td>$bias_1 = \frac{c_1 - c_{ref1}}{c_{ref1}} \cdot 100\%$</td> <td>14,66 %</td> </tr> <tr> <td>Period of measurements</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Matrix</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Additional information</td> <td></td> </tr> </table> $u(bias) = \sqrt{bias_1^2 + \left(\frac{s_{bias_1}}{\sqrt{n_1}}\right)^2 + u(c_{ref1})^2} =$ <p>15,51 %</p>	$bias_1 = \frac{c_1 - c_{ref1}}{c_{ref1}} \cdot 100\%$	14,66 %	Period of measurements	-	Matrix		Additional information	
$bias_1 = \frac{c_1 - c_{ref1}}{c_{ref1}} \cdot 100\%$	14,66 %									
Period of measurements	-									
Matrix										
Additional information										
4	Convert components to standard uncertainty	$u(R_w) = 2,62 \%$ $u(bias) = 15,51 \%$								
5	Calculate combined standard uncertainty, u_c	$u_c = \sqrt{u(R_w)^2 + u(bias)^2} = 15,73 \%$								
6	Calculate expanded uncertainty, U	$U = 2 \cdot u_c = 32 \%$								