



Oskari Kähkönen

DIONEX ICS-5000 -LAITTEEN KÄYTTÖÖNOTTO JA VALIDOINTI

DIONEX ICS-5000 -LAITTEEN KÄYTTÖÖNOTTO JA VALIDOINTI

Oskari Kähkönen
Opinnäytetyö
Syksy 2012
Laboratorioalan koulutusohjelma
Oulun seudun ammattikorkeakoulu

TIIVISTELMÄ

Oulun seudun ammattikorkeakoulu
Laboratorioalan koulutusohjelma, laboratorioanalytiikan suuntautumisvaihtoehto

Tekijä: Oskari Kähkönen

Opinnäytetyön nimi: Dionex ICS-5000 -laitteen käyttöönotto ja validointi

Työn ohjaaja: Eija Hakala

Työn valmistumislukukausi ja -vuosi: Syksy 2012 Sivumäärä: 50 + 6 liitettä

Tämä opinnäytetyö käsittelee menetelmän validointia ammoniumin, nitraatin, nitriitin, kloridin ja sulfaatin yhtäaikaiseksi määrittämiseksi Dionex ICS-5000 -ionikromatografilla. Sen lisäksi opinnäytetyössä käsitellään joitakin yleisiä asioita laitteesta ja sen toiminnasta.

Työn tavoitteena oli Oulun Veden käyttölaboratorion uuden Dionex ICS-5000 -ionikromatografijärjestelmän käyttöönotto sekä menetelmän suunnittelu ja validointi em. epäorgaanisten ionien määrittämiseksi talous- ja raakavesinäytteistä. Tämän jälkeen laitteen käyttö tulisi opastaa edelleen laboratorion henkilökunnalle niin, että he voisivat halutessaan jatkaa menetelmän kehittämistä käyttökokemustensa perusteella.

Työ aloitettiin testaamalla erilaisia ajo-ohjelmia ja asetuksia, joilla ionit saadaan erottumaan riittävän hyvin toisistaan. Sopivien ajo-ohjelmien löydyttyä menetelmää testattiin vertaamalla sitä käytössä olleisiin fotometrisiin menetelmiin mittaamalla samoja näytteitä molemmilla menetelmillä. Toistokokeiden avulla määritettiin ionikromatografiselle menetelmälle toteamis- ja määrittämisrajat kullekin ionille. Tämän lisäksi menetelmän toistettavuus päivien välillä testattiin mittaamalla samoja näytteitä eri päivinä. Lopuksi laboratorion henkilökunnalle opastettiin laitteen arkikäyttö, kalibroitamisten tekeminen sekä ajo-ohjelmien muokkaaminen, jotta he voivat kehittää menetelmää edelleen.

Alustavasta validoinnista saatiin kelvolliset tulokset, joten menetelmä todettiin toimivaksi ja uusi laite voidaan näin ollen ottaa käyttöön. Henkilökunta omaksui laitteen käytön nopeasti, joten opinnäytetyön tavoitteet täyttyivät myös niiltä osin.

Asiasanat:

ionikromatografia, Dionex, validointi, vesianalytiikka

SISÄLLYS

TIIVISTELMÄ	3
SISÄLLYS	4
1 JOHDANTO	6
2 OULUN VESI	7
2.1 Puhdistusprosessi	7
2.2 Laboratorio	8
2.3 Vertailumenetelmät	8
2.3.1 Ammonium	9
2.3.2 Kloridi	9
2.3.3 Sulfaatti	10
2.3.4 Nitriitti	10
2.3.5 Nitraatti	10
3 KROMATOGRAFIA	11
4 DIONEX ICS-5000	12
4.1 Laitteiston rakenne	12
4.1.1 Eluentit	14
4.1.2 Trap-kolonnit	17
4.1.3 Automaattinen näytteensyöttö	19
4.1.4 Injektioventtiili	19
4.1.5 Esikolonnit	20
4.1.6 Erotuskolonnit	20
4.1.7 Suppressorit	21
4.1.8 Detektorit	23
4.2 Chromeleon-ohjelma	23
4.3 Ylläpito ja huolto	24
4.4 Käyttöönotto	24
4.5 Dionex Corporation	25
5 VALIDOINTI	26
5.1 Validoitavat parametrit	26
5.2 Laitteisto ja välineet	27
5.3 Kemikaalit	28

6 TYÖN SUORITUS	30
6.1 Ajo-ohjelmat	30
6.1.1 Anionien ja kationien määrittäminen	30
6.1.2 Tasapainotus ja lepotila	34
6.2 Kalibrointi	35
6.3 Tarkkuus	36
6.4 Toistotarkkuus	38
6.5 Toteamis- ja määritysrajat	39
6.6 Retentioajat	40
6.7 Menetelmien vertailu	40
6.8 Laboratorioiden välinen pätevyyskoe	41
6.9 Koulutus	43
7 POHDINTA	44
LÄHTEET	46
LIITTEET	50

1 JOHDANTO

Oulun Vesi on Oulun kaupungin omistama liikelaitos, jonka yhtenä tehtävänä on puhdistaa Oulujoen vettä talousvedeksi. Puhdistusprosessin toimivuutta seurataan Hintan vedenpuhdistamon käyttölaboratoriossa, jossa talousvettä ja raakavettä analysoidaan lukuisilla eri menetelmillä.

Oulun Veden käyttölaboratorioon hankittiin tammikuussa 2012 uusi Dionex ICS-5000 -ionikromatografi. Vuodenvaihteessa 2013 tapahtuvan kuntaliitoksen myötä laboratorion näytemäärä tulee kasvamaan entisestään, joten hyvällä kromatografisella menetelmällä voidaan helpottaa henkilökunnan työtaakkaa ja vapauttaa aikaa muihin tehtäviin. Kromatografilla on tarkoitus korvata ammoniumin, kloridin, nitriitin, sulfaatin ja nitraatin vanhat fotometriset määrittämenetelmät.

Tehtävänä oli laitteeseen ja ohjelmistoon tutustuminen sekä menetelmän suunnittelu ja osittainen validointi ionien määrittämiseksi. Tämän lisäksi laitteen ja ohjelmiston hallinta tuli ohjeistaa henkilökunnalle niin, että laitteen arkikäyttö on vaivatonta myös ilman laajaa kromatografian tuntemusta.

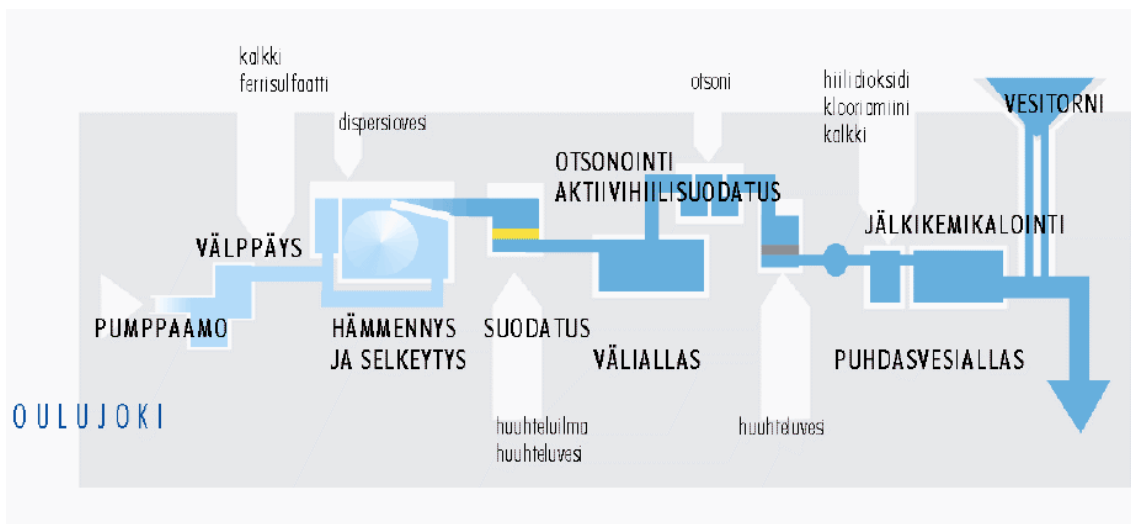
2 OULUN VESI

Vesijohtolaitos perustettiin Ouluun vuonna 1902 ja vuodesta 2002 lähtien se on toiminut nimellä Oulun Vesi. Oulun Vesi on Oulun kaupungin omistama kunnallinen liikelaitos, joka vastaa Oulun vesihuollosta. Oulun Vesi vastaa sekä talousveden puhdistuksesta ja jakelusta, että jätevesien käsittelystä. (1.)

Raakavesi otetaan Oulujoesta noin 4 metrin syvyydeltä kahdelle vedenpuhdistamolle, jotka sijaitsevat joen vastakkaisilla rannoilla Hintassa ja Kurkelanrannassa. Näillä puhdistamoilla raakavesi puhdistetaan talousvedeksi. (1.)

2.1 Puhdistusprosessi

Hintan ja Kurkelanrannan vedenpuhdistamoilla talousvettä valmistetaan nykyi-
kaisilla ja tehokkailla puhdistusmenetelmillä. Puhdistusprosessi on molemmilla
puhdistamoilla hyvin samankaltainen (kuva 1). Raakavedestä saostetaan saos-
tinkemikaalilla muun muassa humuseräiset epäpuhtaudet, minkä jälkeen vesi
johdetaan hiekkasuodatukseen, otsonointiin ja aktiivihiihliin suodatukseen. Tämän
jälkeen vesi desinfioidaan käyttäjille turvalliseksi natriumhypokloriitilla ja ammo-
niumkloridilla. Lopuksi veden alkaliteettia ja kovuutta nostetaan hiilidioksidilla ja
kalkkiliuoksella, jotta vesi ei syövytä vedenjakeluverkostoa. (1.)



KUVA 1. Vedenpuhdistuksen prosessikaavio (1)

2.2 Laboratorio

Hintan vedenpuhdistamon yhteydessä toimii Oulun Veden käyttölaboratorio, jossa on valmius sekä talousvesi- että jätevesianalyysiin. Laboratoriossa tutkitaan päivittäin laitoksista verkostoon lähtevän talousveden laatua, puhdistusprosessin veden laatua sekä raakavetenä käytettävän Oulujoen veden laatua. Lisäksi laboratoriossa tutkitaan tarvittaessa myös vesitornien ja verkoston äärialueiden vesiä sekä uusien ja saneerauslinjojen vesiä. Talousveden viranomaisvalvonta-analyysit ostetaan ulkopuoliselta laboratoriolta.

Vuonna 2011 käyttölaboratoriossa tehtiin yhteensä noin 15 500 vesianalyysiä ja noin 2 700 jätevesianalyysiä. Laboratoriossa työskentelee kaksi laboranttia ja yksi laboratorioanalyttikko. (2, s. 19.)

Laboratoriossa suoritettavia analyysejä ovat muun muassa veden alkaliteetti, kovuus, pH, väri, haju, maku, sameus, veteen liuenneet epäorgaaniset ionit (ammonium, nitriitti, nitraatti, kloridi, sulfaatti), metallit (alumiini, rauta), TOC-arvo, sähkönjohtavuus sekä mikrobiologiset määritykset, kuten koliformisten bakteerien ja kokonaispesäkeluvun määrittäminen. (2, s. 20.)

Lähikuntien ja Oulun kaupungin yhdistyessä uudeksi Ouluksi vuonna 2013 myös laboratorion näytemäärä tulee kasvamaan. Tämän vuoksi epäorgaanisten ionien määritykset aiotaan jatkossa tehdä uudella Dionex ICS-5000 - ionikromatografilla.

2.3 Vertailumenetelmät

Aiemmin veteen liuenneet epäorgaaniset ionit on määritetty fotometrisillä menetelmillä. Kaksi menetelmistä perustuu SFS-standardeihin ja kolme kaupallisiin testikitteihin. Menetelmät ovat toimintavarmoja, mutta vaativat usein paljon näytteenkäsittelyä. Menetelmien suoritustavat on kuvailtu liitteessä 1.

Vertailumenetelmien validointiaineistoa ei ollut saatavilla, joten niiden toteutamis- ja määrittämissä ei voitu arvioida. Standardeissa ja kiteissä ilmoitetut pienimmät mitattavissa olevat pitoisuudet voivat vaihdella riippuen käytettävästä laitteistos-

ta ja työskentelytavoista, joten niitä ei tulisi ajatella menetelmien määrittämisrajoina, vaan korkeintaan suuntaa antavina toteamisrajoina.

2.3.1 Ammonium

Ammoniumin määrittäminen on suoritettu SFS 3032 -standardin ”Veden ammoniumtyypin määrittäminen” mukaisesti. Standardi on vahvistettu käyttöön vuonna 1976. Sen mukaan menetelmällä voidaan määrittää 1–1200 µg/l -ammoniumtyyppipitoisuuksia (NH₄-N), joka ammoniumiksi (NH₄⁺) laskettuna tarkoittaa noin 0,001–0,600 mg/l -pitoisuusalueita. (3.)

Ammonium on tavattu määrittää useita kertoja viikossa ja pitoisuudet ovat suuruusluokkaa 0,01–0,1 mg/l. Korvaavan menetelmän tulisi olla erityisesti ammoniumin osalta hyvin tarkka.

Menetelmän toimintaperiaate on kuvattu standardissa seuraavasti: ”Ammoniumioni muodostaa heikosti alkalisessa liuoksessa (pH-arvo 10,8–11,4) hypokloriitin kanssa monokloramiinin, joka fenolin ja ylimääräisen hypokloriitin läsnä ollessa muuttuu indofenolisiniksi. Katalysaattorina käytetään pentasyanonitrosyyli-ferraattia (nitroprussidia). Indofenolisinin absorptiossa mitataan fotometrilä aallonpituudella λ = 630 nm.” (3.)

2.3.2 Kloridi

Kloridin määrittäminen tehdään Macherey-Nagelin valmistamalla NANOCOLOR[®] Chloride 91820 -kitillä. Kloridi-ionit reagoivat elohopea(II)tiosyanaatin kanssa muodostaen dissosioitumatonta (hajaantumaton) elohopea(II)kloridia. Reaktiossa vapautuva tiosyanaatti muodostaa rauta(III)ionien kanssa liuokseen verenpunaisen värin. Kitillä voidaan määrittää 0,2–125 mg/l -kloridipitoisuuksia. Menetelmän ohessa syntyvä elohopeajäte kerätään omaan ongelmajäteastiaan ja hävitetään asianmukaisesti. Valmistaja ei kerro reagenssien sisältöä tarkasti, mutta pakkauksen kyljestä löytyy neljä varoitusmerkkiä. (4.)

Raakaveden kloridin määrittäminen osoittautui erityisen ongelmalliseksi, sillä raakavedellä on valmiiksi hyvin vahva ruskean punertava väri. Laboratorion henkilökunta oli jo aiemmin epäillyt menetelmän tuottavan vääriä tuloksia.

2.3.3 Sulfaatti

Sulfaatin määrittäminen tehdään Merckin Sulfate Cell Test -kyvettitestillä (tuotenumero 1.14548.0001). Yksi myyntipakkaus sisältää testiputket 25 näytettä varten. Testillä voidaan määrittää 5–250 mg SO₄²⁻/l -pitoisuuksia.

Näyteliuoksen sulfaatti-ionit reagoivat bariumionien kanssa muodostaen heikosti liukenevaa bariumsulfaattia, joka muuttaa liuoksen sameaksi. Muodostunut sameus mitataan fotometrisesti aallonpituudella 525 nm. (5.)

2.3.4 Nitriitti

Nitriitti määritetään SFS 3029 -standardin ”Veden nitriittityypin määrittäminen” mukaisesti. Standardi on vahvistettu käyttöön vuonna 1976. Menetelmällä voidaan määrittää 1–500 µg/l -nitriittityypipitoisuuksia (NO₃-N), joka vastaa nitraatiksi (NO₃⁻) laskettuna 0,3–150 µg/l -pitoisuuksia. (6.)

Nitriitti reagoi erittäin happamassa liuoksessa (pH 1,5–2,0) sulfaaniamidin kanssa muodostaen diatsoyhdisteen, joka edelleen N-(1-naftyyli)-etyleeniamiinin kanssa muodostaa atsoväriaineen. Yhdisteen absorbanssi mitataan aallonpituudella 545 nm. Nitriitti on hyvin pysymätön yhdiste, joten määrittäminen on suoritettava viimeistään 5 tunnin kuluttua näytteenotosta. (6)

2.3.5 Nitraatti

Nitraatin määrittäminen tehdään Hach Langen LCK 339 Nitrate -kitillä, jolla voidaan määrittää 1–60 mg NO₃⁻/l -pitoisuuksia. Pakkaus sisältää 25 testikyvettiputkea.

Menetelmää käytetään pääasiassa jätevesien analysointiin, mutta myös talousvesilaboratoriossa on Hach Lange -fotometri nitraatin/nitraattityypin määrittämistä varten. Laboratoriosta löytyy saman valmistajan kitti myös suuremmille nitraattipitoisuuksille.

3 KROMATOGRAFIA

Kromatografiassa näyte jaetaan analyysin aikana komponenteikseen tunnistamista varten. Sen jälkeen analyyttien pitoisuudet määritetään. (7, s. 140.)

Kromatografialla yleisesti tarkoitetaan näytteen eri komponenttien erottamista ja tunnistamista sekä usein myös niiden pitoisuuksien määrittämistä. Kromatografia jaetaan yleensä kaasukromatografiaan sekä nestekromatografiaan sen mukaan mikä aine kuljettaa näytettä eli toimii liikkuvana faasina. Ionikromatografiassa tutkittava aine kuljetetaan erotuskolonnein eluenttineen mukana. Ionikromatografia on siis nestekromatografian alalaji. (7, s. 140.)

Ionikromatografiassa nestemäiseen näytteeseen lienneet epäorgaaniset ionit erotetaan toisistaan niiden sähköisten varauksien perusteella (7, s. 141). Laitteeseen injektoitu näyte ohjataan putkimaiseen erotuskolonnein. Kolonnin stationäärifaasin pintaan on kovalenttisesti sidottu varautuneita ryhmiä: anioninvaihtokolonneissa stationäärifaasilla on positiivinen varaus ja kationinvaihtomateriaaleilla vastaavasti negatiivinen varaus (8, s. 171). Näyte kulkee nestemäisen liikkuvan faasin mukana kolonnein, jolloin näytteen ionit tarttuvat stationäärifaasin varattuihin kohtiin. Voimakkaasti varaukselliset ionit sitoutuvat stationäärifaasiin pidemmäksi aikaa, jolloin ionit saadaan erotettua toisistaan. Hiljalleen ionit huuhtoutuvat eli eluoituvat kolonnista ja jatkavat matkaansa detektorille, jossa niiden läsnäolo havaitaan joko sähkökemiallisella detektorilla tai johtokykydetektorilla. Vähemmän varautuneet ionit eluoituvat ensin.

Eluoitumisen nopeuteen vaikuttaa eluentin vahvuus ja virtausnopeus. Eluentin vahvuutta ja virtausnopeutta nostamalla analyysin komponenttien eluoitumista voidaan nopeuttaa, mutta samalla myös resoluutio eli piikkien erottuminen kärsii.

4 DIONEX ICS-5000

Dionex ICS-5000 Reagent-Free™ HPIC™ on yhdysvaltalaisen Dionexin valmistama kaksikanavainen ionikromatografi, jolla voidaan analysoida näytteeseen liuenneet anionit ja kationit yhtäaikaista. Laite sisältää kaksi kanavaa: yhden anioneille ja yhden kationeille. Yksi kanava koostuu pumpusta, eluenttipatruunasta, esikolonnista, erotuskolonnista, suppressorista ja johtokykydetektorista (9, s. 3). Laitekokonaisuus on esitetty kuvassa 2.



KUVA 2. AS-DV -autosampler (vas.), Dionex ICS-5000 -laitteisto sekä PC-tietokone

Näytteensyöttö tapahtuu automaattisen näytteensyöttäjän kautta. Laite lähettää tulokset tietokoneelle, jolla niitä analysoidaan Dionexin kehittämällä Chromeleon-ohjelmistolla.

4.1 Laitteiston rakenne

ICS-5000 -järjestelmä on jaettu neljään eri moduuliin. AS-DV eli automaattinen näytteensyöttäjä injektioi analysoitavan näytteen laitteelle. DP eli Dual Pumps -moduulissa sijaitsevat pumput, jotka pumppaavat vettä laitteen päällä olevista

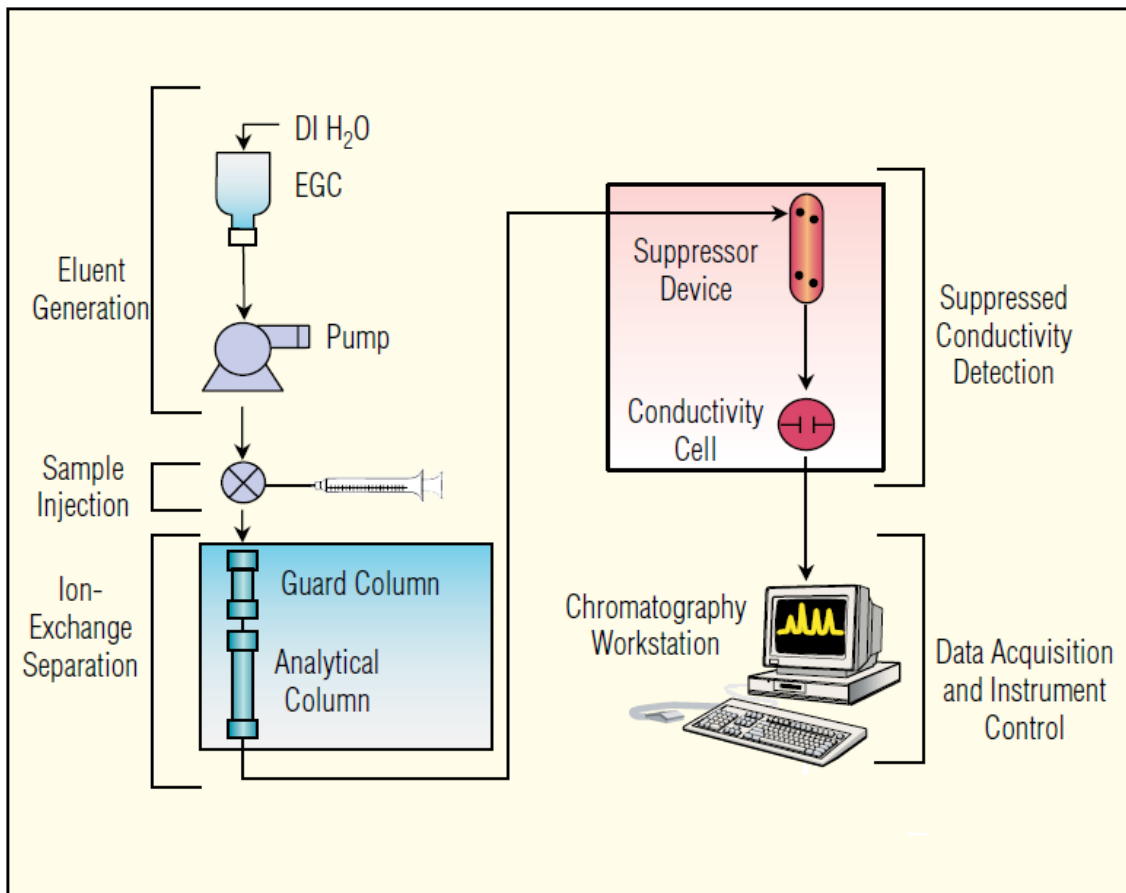
kahden litran vesipulloista ja ylläpitävät virtausta. EG eli Eluent Generator valmistaa vedestä ja eluenttipatruunasta halutun vahvuisen eluenttiliuoksen sähkökemiallisen reaktion avulla. DC eli Detector Compartment sisältää kolonnit, suppressorit ja detektorit, eli laitteen varsinaiset kromatografiaosat. DC-moduuli voidaan termostoida haluttuun lämpötilaan.



KUVA 3. Näkymä ICS-5000 -laitteen sisälle

Kuvassa 3 vasemmalla on DC-moduuli, jonka alemmasta lokerosta löytyvät esi- ja erotuskolonnit sekä injektioventtiilit. Ylemmässä lokerossa ovat suppressorit ja detektorit. Oikealla ylhäällä on pumpun sisältävä DP-moduuli, jonka päällä säilytetään kahden litran vesipulloja. DP-moduulin alla on eluenttipatruunat sisältävä EG-moduuli.

Kuva 4 havainnollistaa eluentin ja näytteen kulkua laitteistossa. Eluentti virtaa kolonnien ja suppressorin läpi detektorille taukoamatta.



KUVA 4. Virtauskaavio (18, s. 2)

4.1.1 Eluentit

RFIC-EG –järjestelmä (Reagent-Free Ion Chromatography System with Eluent Generation) kykenee valmistamaan erittäin puhtaita happo- ja emäseluenteja hyödyntämällä vain ultrapuhdasta vettä. Analyysit voidaan suorittaa käyttämällä ainoastaan ultrapuhdasta vettä kantajana, eikä eluenteja tarvitse valmistaa erikseen.

Kuvassa 5 näkyy laitteessa käytetyt eluenttipatruunat EGC III KOH (Potassium Hydroxide Cartridge) ja EGC III MSA (Methanesulfonic Acid Cartridge). Kuvassa näkyvä musta laatikko on RFIC Eluent Degasser eli kaasunpoistaja.



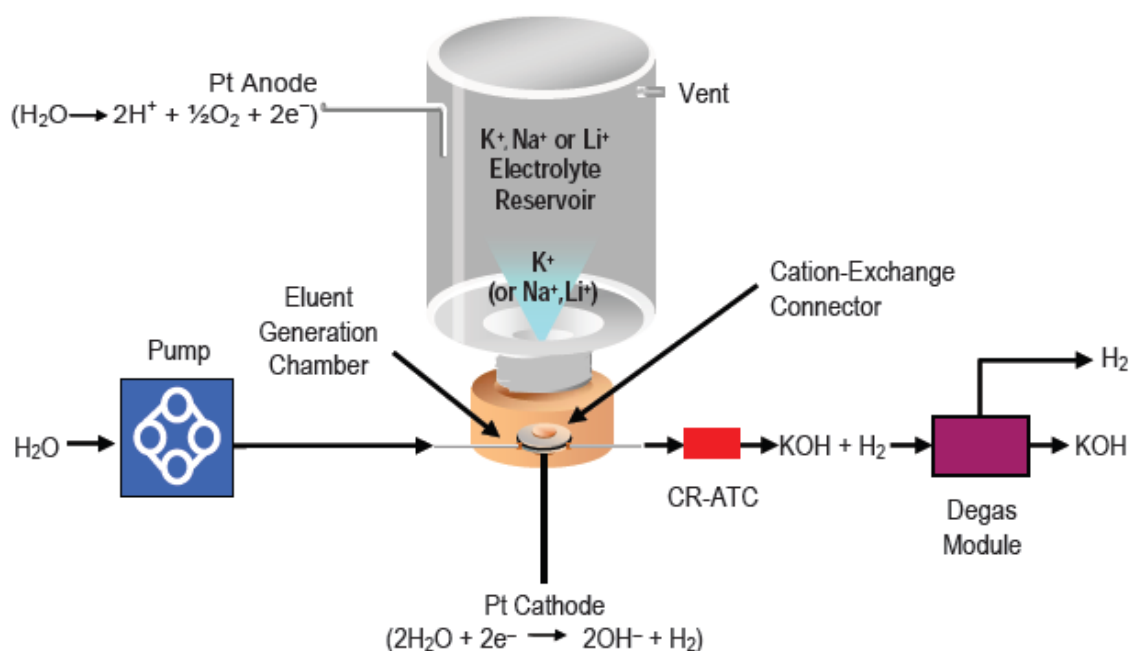
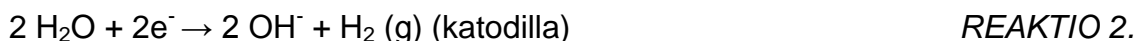
KUVA 5. Näkymä EG-moduulin sisälle

Kuva 6 havainnollistaa kaliumhydroksidieluentin valmistusta EG-moduulissa. KOH-eluenttipatruuna koostuu korkeasti paineistetusta eluentialmistuskammioista (Eluent Generation Chamber, EGC) ja matalasti paineistetusta elektrolyttisäiliöstä, jossa on K^+ -ioneita. EGC-kammion läpi kulkee platinakatodi (Pt) jolla hydroksidi-ionit muodostuvat. Elektrolyttisäiliö sisältää platina-anodin ja elektrolyttiliuoksen. EGC-kammio on yhdistetty elektrolyttisäiliöön kationinvaihtoliittimellä (Cation-Exchange Connector) joka mahdollistaa ionien läpikulun elektrolyttisäiliöstä korkeasti paineistettuun EGC-kammioon, samalla estäen anionien läpikulun elektrolyttisäiliöön. Kationinvaihtoliitin toimii myös fyysisenä seinämänä kammioden välillä. Ultrapuhdasta vettä pumpataan EGC-kammion läpi. Veden elektrolyysi tapahtuu tämän voimakentän välillä anodilla ja katodilla.

Veden hapettuessa anodilla muodostuu H⁺-ioneita ja happikaasua (reaktio 1).
(10, s. 6–7)



Veden pelkistyessä katodilla muodostuu OH⁻-ioneita ja vetykaasua (reaktio 2).

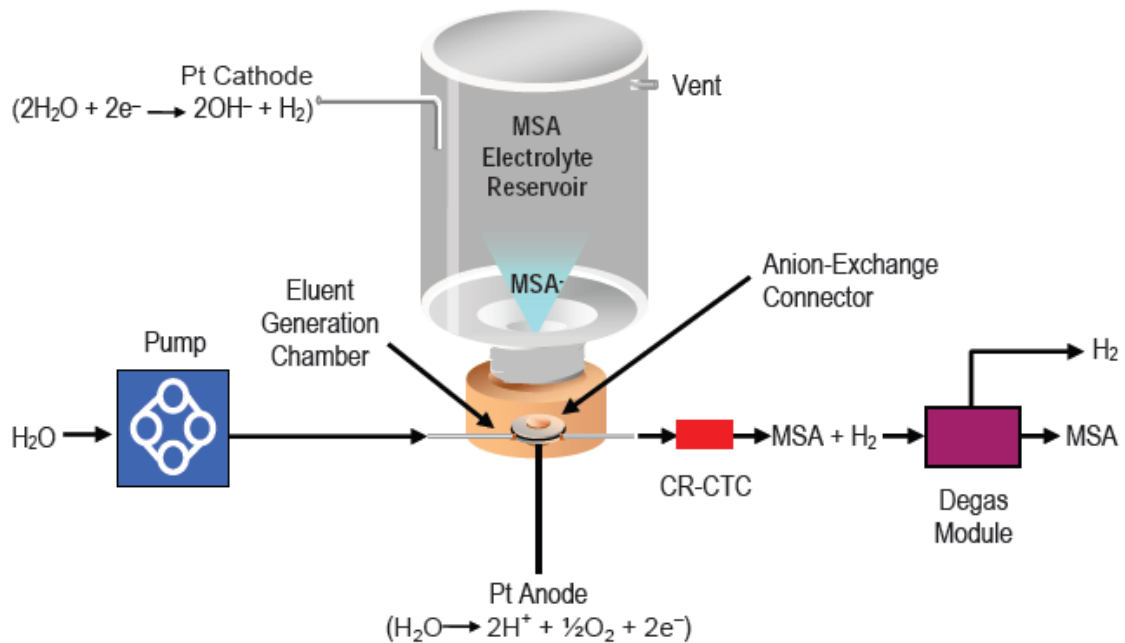


KUVA 6. Kaliumhydroksidieluentin valmistus (10, s. 6)

Anodilla muodostuneet H⁺-ionit syrjäyttävät K⁺-ionit elektrolyttisäiliössä, syrjäytetyt ionit kulkevat toiselle puolelle kationinvaihtoliitintä pitkin eluentinvalmistussäiliöön. Nämä ionit yhdistyvät katodilla muodostuneiden OH⁻-ionien kanssa ja muodostavat KOH-liuosta, jota käytetään eluenttina anioninvaihtokromatografiassa. Valmistetun eluentin konsentraatio määritetään syötetyn virran ja eluenttiveden virtausnopeuden mukaan. (10, s. 6–7)

Metaanisulfonihapon valmistus tapahtuu samalla periaatteella (kuva 7), mutta eluenttipatruuna sisältää tässä tapauksessa MSA⁻-ioneita. Anodilla ja katodilla tapahtuvat samat reaktiot, ja lopuksi MSA⁻-ionit muodostavat H⁺-ionien kanssa

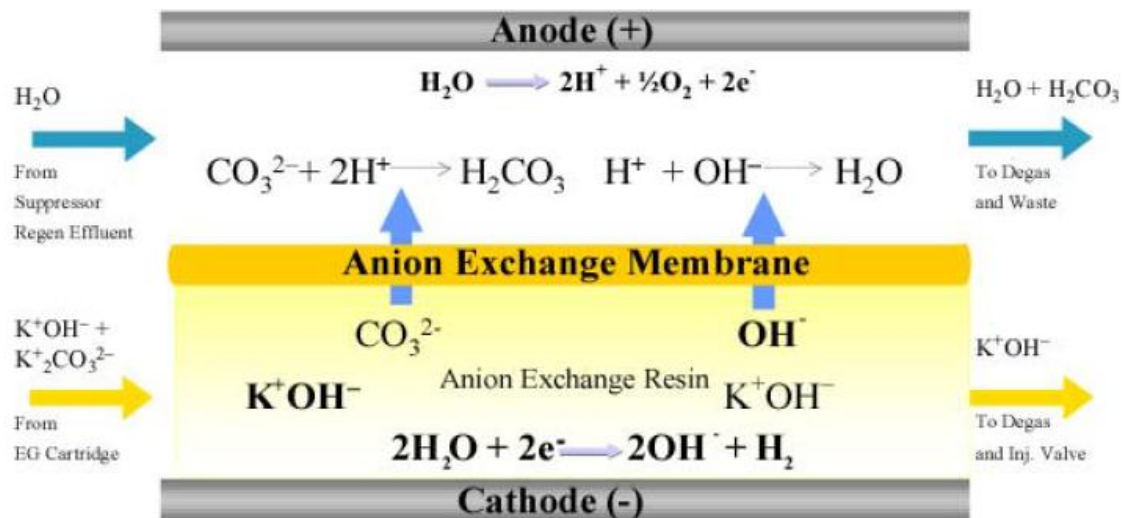
metaanisulfonihappoeluenttia. (10, s. 7–8) Valmistettu eluentti jatkaa kulkuaan puhdistettavaksi trap-kolonnille.



KUVA 7. Metaanisulfonihappoeluentin valmistus (10, s. 7)

4.1.2 Trap-kolonnit

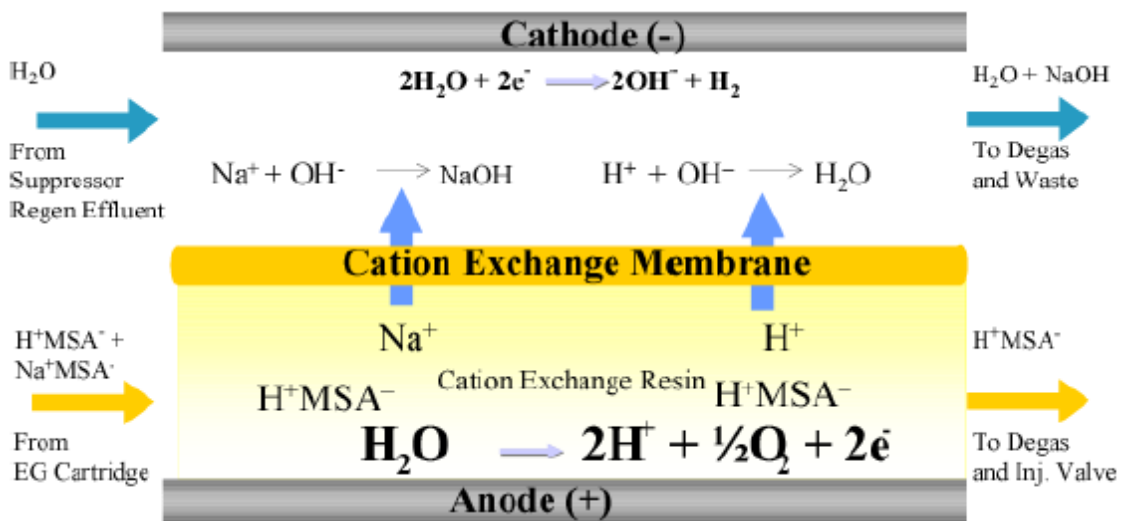
Molemmilla kanavilla on oma CR-TC (Continuously Regenerated Trap Column) eli trap-kolonne, joka poistaa eluentista kaikki anioniset tai kationiset epäpuhtaudet.



KUVA 8. CR-ATC:n toimintaperiaate (11, s. 3)

Kuva 8 havainnollistaa CR-ATC:n toimintaperiaatteen. CR-ATC koostuu anioninvaihtohartsista, jossa katodi on eluutin purkautumistiellä. Rajapinnassa oleva anioninvaihtomembraani erottaa anodin eluutin kulkutieltä. Anioninvaihtohartsit viivästyttää anionisia epäpuhtauksia ja vetää niitä kohti anodia. Anionit pyyhkäistään anioninvaihtomembraanin läpi kuten kuvassa 8. Katodilla luotava hydroksidi regeneroi hartsia samalla kun anodilla tuotetut hydroniumionit yhdistyvät poistettujen anionisten epäpuhtauksien kanssa ja muodostavat happoja. Näin CR-ATC:ltä poistuva eluentti on vapaa anionisista epäpuhtauksista. (11, s. 3.)

CR-CTC:n (Continuously Regenerated Cation Trap Column) toimintaperiaate (kuva 9) on hyvin samanlainen: kationiset epäpuhtaudet vaeltavat kohti katodia, jolloin hydroksidi-ionit muodostavat niiden kanssa emästä (kuvassa NaOH). Näin metaanisulfonihappoeluentti on puhdas kationisista epäpuhtauksista. (11, s. 4.)



KUVA 9. CR-CTC:n toimintaperiaate (11, s. 4)

Tämän jälkeen eluentti jatkaa kulkuaan degasserille eli kaasunpoistajalle (P/N 062137). Degasser poistaa elektrolyysikaasun vastavalmistetusta eluentista ennen kuin eluentti ohjataan erotuskoloniin. (12, s. 43.)

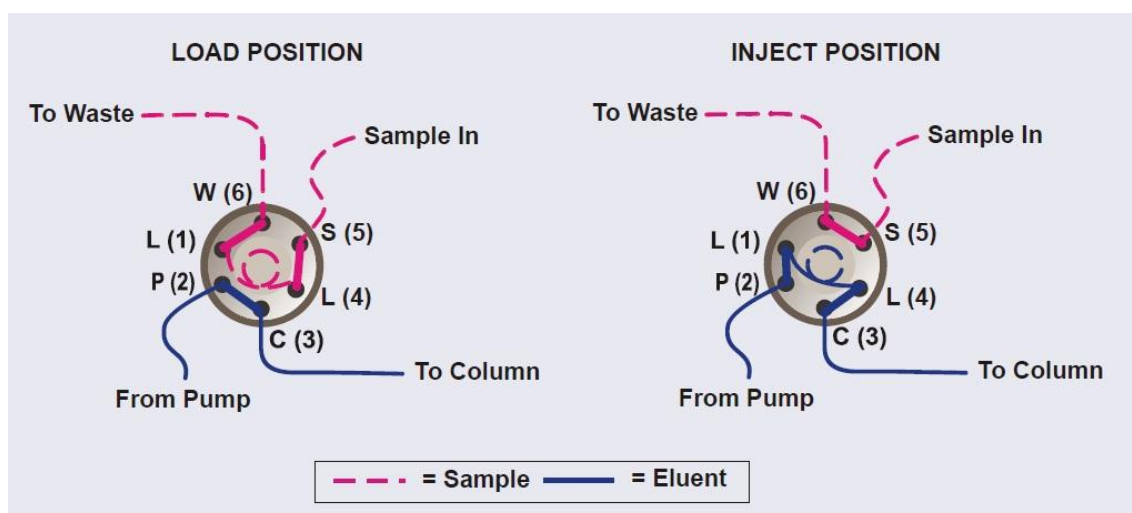
4.1.3 Automaattinen näytteensyöttö

Näytteensyöttö tapahtuu automaattisen näytteensyöttäjän AS-DV Autosamplerin kautta (P/N 068907). Näytettä kaadetaan 5 ml:n kertakäyttöiseen PolyVial™-näyteputkeen merkkiviivaan asti ja putki suljetaan korkilla, jossa on 20 µm:n suodatin. Näytekaruselliin mahtuu kerrallaan 50 näyteputkea. Autosampler on liitetty tietokoneeseen USB-liitännällä. Yhdestä putkesta voidaan injektoida näyte useita kertoja. (13, s. 4.)

4.1.4 Injektioventtiili

DC-moduulin alaosasta löytyvästä, termostoidusta lokerosta löytyy kaksi 6-porttista Rheodyne TitanHP™ -injektioventtiiliä, joihin autosamplerin ruiskuttama näyte kuljetetaan. Injektioventtiilillä on kaksi asentoa: Load ja Inject. (12, s. 122.)

Load-asennossa näyte kuljetetaan näytelooppiin, jossa sitä pidetään ennen injektointia. Eluentti virtaa pumpulta venttiilin läpi kolonniin ohittaen näyteloopin. Inject-asennossa näyte pyyhkäistään kolonniin analysointia varten. Eluentti virtaa pumpulta näyteloopin läpi kolonniin kuljettaen näytteen mukanaan. (12, s. 122.)



KUVA 10. Näytteen ja eluentin kulku injektioventtiilissä Load- ja Inject -asennoissa (12, s. 122)

4.1.5 Esikolonnit

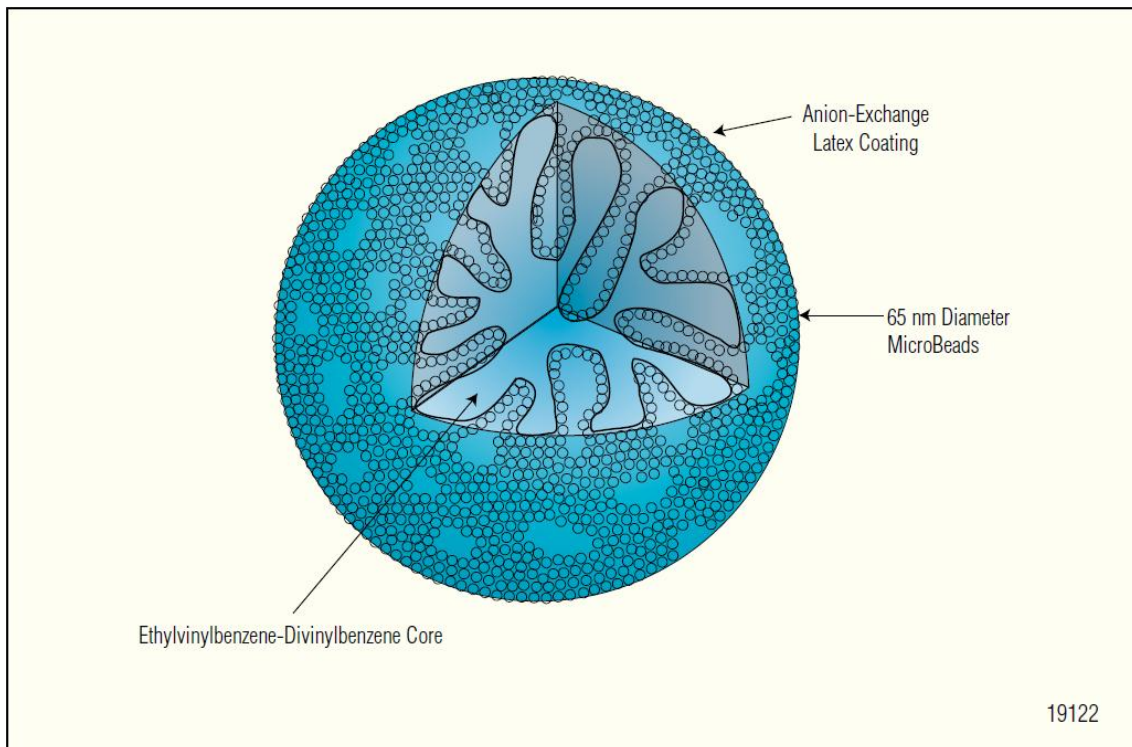
Ennen varsinaisia erotuskolonneja molemmilla kanavilla on esikolonnit, joiden tärkein tehtävä on estää näytteen epäpuhtauksia pääsemästä erotuskolonneihin. Esikolonnin puhdistaminen tai vaihtaminen on järkevämpää ja edullisempaa kuin uuden erotuskolonnin hankkiminen. Esikolonnin vaihtaminen on suositeltavaa silloin, kun havaitaan esimerkiksi retentioaikojen pienentyneen. Esikolonnin uusiminen pidentää erotuskolonnin käyttöikä. (14, s. 8.)

Oulun Veden laitekoonpanossa käytettiin kationikanavalla IonPac[®] CG12A Guard Column -esikolonnia (2 x 50 mm, P/N 046076) ja anionikanavalla IonPac[®] AG18 Guard Column -esikolonnia (2 x 50 mm, P/N 060555). Esikolonneja valitaan aina käytettävän erotuskolonnin mukaan.

4.1.6 Erotuskolonnit

IonPac[®] AS18 Analytical Column -erotuskolonne (2 x 250 mm, P/N 060553) on hydroksidiselektiivinen anioninvaihtokolonne, joka on suunniteltu pienten anionipitoisuuksien määrittämistä varten. Sillä voidaan erottaa tehokkaasti mm. fluoridi, kloridi, nitriitti, bromidi, nitraatti, sulfaatti ja fosfaatti monimutkaisistakin näytetaustoista, kuten jätevedestä tai talousvedestä. (15, s. 1.)

IonPac AS18 -kolonne on pakattu kalvomaisilla partikkeleilla, jotka koostuvat verkottuneesta ytimestä ja pinnalle kiinnitetystä lateksisesta MicroBead[™] -anioninvaihtokerroksesta (kuva 11). Alustana partikkelille toimii halkaisijaltaan 7,5 µm kokoinen superhuokoinen hartsihelmi, joka koostuu etyyliivinylibentseenistä ja divinylibentseenistä. Hartsihelmen pinta on varattu voimakkaasti hydrofiilisillä kvaternäärisillä ammoniumryhmillä. (15, s. 2.)



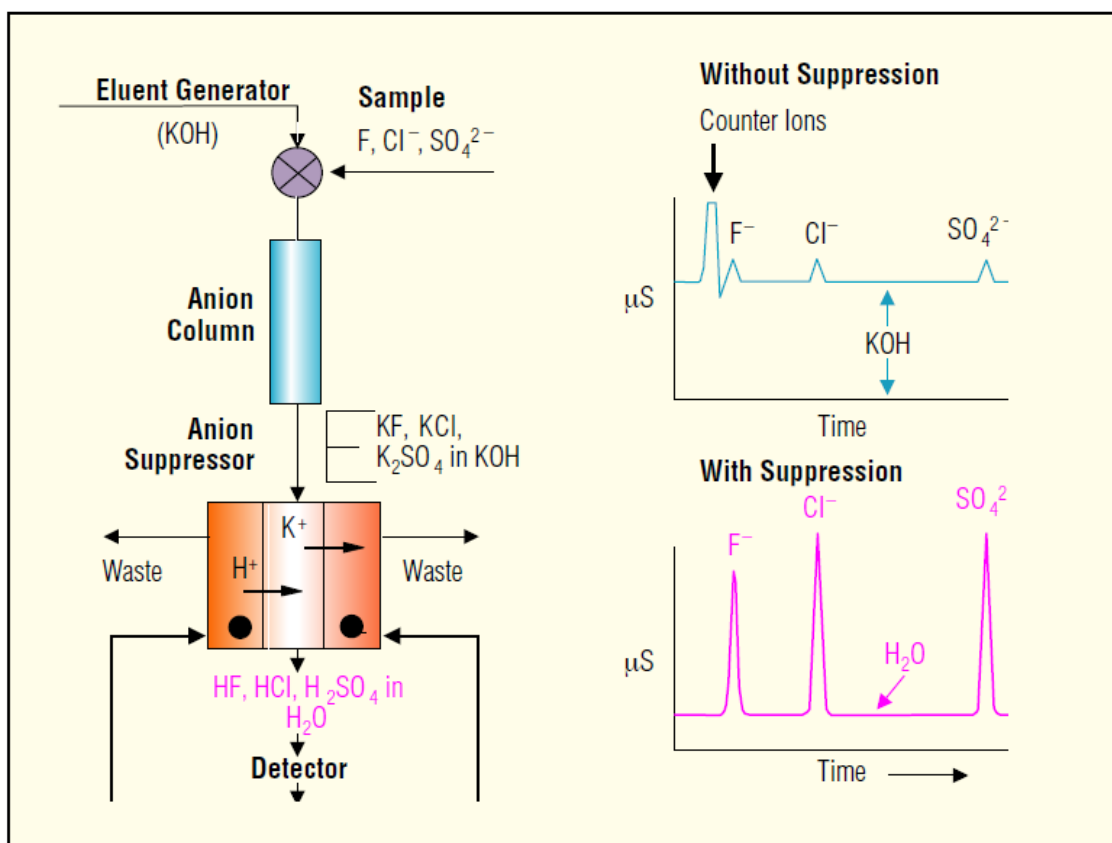
KUVA 11. AS18-kolonnin hartsihelmen rakennekuva (15, s. 2)

Kationikanavalla käytetään IonPac[®] CS12A Analytical Column -kolonnia (2 x 250 mm, P/N 046075). Kationikolonnin hartsihelmet ovat halkaisijaltaan 8 µm:n kokoisia, ja niiden pinta on varattu hydrofiilisellä kerroksella karboksyylihappo-fosfonihapposekoitusta. (16, s. 4.)

4.1.7 Suppressorit

Suppressorien tehtävä on vähentää eluentin johtokykyä ja taustakohinaa. Molemmilla kanavilla on oma suppressorinsa:

- Anion Self-Regenerating Suppressor ASRS[®] 300 (2-mm), P/N 064555
- Cation Self-Regenerating Suppressor CSRS[®] 300 (2-mm), P/N 064557.



KUVA 12. Anionisuppressorin toiminta (18, s. 2)

Kuvassa 12 on havainnollistettu ASRS[®] 300 -anionisuppressorin toiminta sekä sen vaikutus eluentin johtokykyyn. Suppressorin poistaa eluentista kationeita ja korvaa ne vetyioneilla, jotka muodostetaan veden elektrolyysillä. Vetyionit liittyvät eluentin hydroksidi-ioneihin ja muodostavat vettä, jonka johtokyky on erittäin matala verrattuna hydroksidieluenttiin. Analyytin johtokyky vahvistuu analyytti-ionien liittyessä vetyioneihin, joilla on korkea johtokyky. (18, s. 2.)

Lyhyesti sanottuna suppressori vähentää eluentin johtokykyä ja parantaa analyytin eli näytekemponenttien johtokykyä (19, s. 4).

ASRS[®] 300 -suppressoriin on lisäksi kiinnitetty karbonaatinpoistaja, Carbonate Removal Device CRD 200 (2 mm, P/N 062986), jonka tehtävä on poistaa hydroksidieluentista johtuva karbonaattipiikki reaktion 3 mukaisesti (21, s. 4). Karbonaattikontaminaatio voi olla seurausta jo pelkästä näytteen altistumisesta ilman hiilidioksidille. Karbonaatinpoistaja on asennettu anionisuppressorin ja detektorin väliin. (20, s. 1.)



REAKTIO 3.

Suppressoreiden toimintaan vaikutetaan säätämällä niiden syöttämää virtaa (yksikkö mA). Virran suuruus määräytyy eluentin pitoisuuden mukaan.

4.1.8 Detektorit

Lopulta näyte ohjataan suppressorien takana oleville johtokykydetektoreille (Conductivity Detector, P/N 061716), jotka mittaavat eluentin johtokykyä. Eluentti virtaa johtokykykennon läpi, joka mittaa analyytti-ionien sähköisen johtokyvyn (12, s. 69). Chromeleon piirtää kromatogrammin eli kuvaajan, jossa seurataan johtokyvyn muutosta ajan funktiona. Ionit havaitaan piikkeinä johtokyvyssä.

4.2 Chromeleon-ohjelma

Laitteen hallinta ja datan analysointi tapahtuu Dionexin omalla Chromeleon 6.80 -ohjelmalla, joka on asennettu tietokoneelle jolla hallitaan ICS-5000 -laitteistoa. Laitteiston eri moduulit on kytketty tietokoneeseen tavallisilla USB-liitännöillä. Tietokoneen käyttöjärjestelmänä toimii Windows XP. Chromeleon tukee myös Windows Vista, Windows 7 Professional ja Windows 7 Ultimate -käyttöjärjestelmiä (22).

Työjakson perusteella Chromeleon on erittäin vakaa ohjelmisto eikä se koekäytön aikana kaatunut kertaakaan. Ohjelmiston peruskäyttö on erittäin helppoa, mutta sitä pystyy myös optimoimaan erittäin paljon käyttäjän omien mieltymysten mukaiseksi. Ohjelmisto sisältää häkellyttävän määrän erilaisia ominaisuuksia ja uusia, hyödyllisiä toimintoja löytyi päivittäin läpi koekäyttöjakson.

Mediq on toimittanut laitteen mukana erittäin hyvän suomenkielisen Chromeleon-käyttöohjeen, jossa on käyty seikkaperäisesti läpi kalibrointi, näytteiden ajaminen, integrointi ynnä muu laitteen peruskäyttöön tarvittava tieto. Tarvittaessa Mediq tarjoaa myös apua ja koulutusta Chromeleonin käyttöön.

4.3 Ylläpito ja huolto

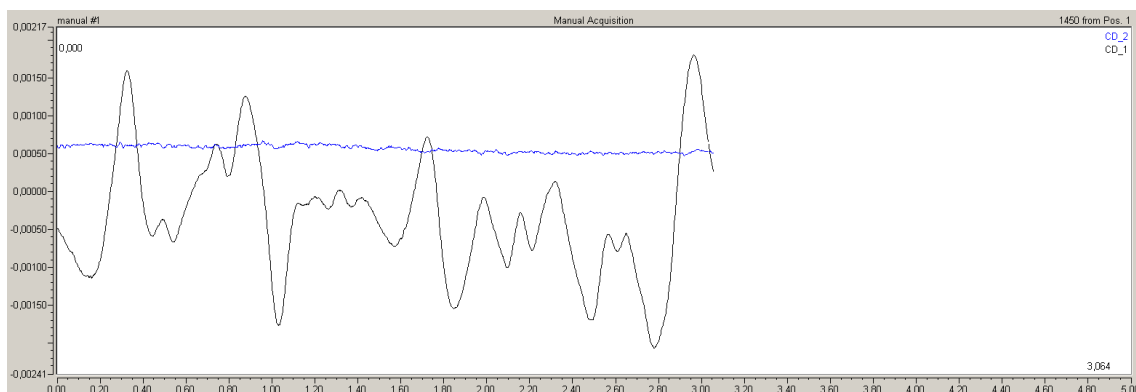
Laite ei vaadi varsinaisia ylläpito- ja huoltotoimenpiteitä lukuun ottamatta eluentivesisäiliöiden täyttämistä ja pumpun ilmaamista tarvittaessa. Koekäyttöjakson aikana vesisäiliöt riittivät hyvin viikoksi. Säiliöt täytettiin aina perjantaisin, jotta laitteisto ei kuivuisi viikonlopun aikana.

Eluenttipatruunan riittävyttä voi seurata Chromeleonista. Ohjelma ilmoittaa jäljellä olevan elektrolyysiliuoksen määrän prosentteina. Patruunan käydessä vähiin vaihtoehtona on tilata uusi patruuna maahantuojalta ja asentaa se itse tai pyytää Mediq'n huoltohenkilö asentamaan se.

Kolonnien päässä olevat ruuvit voidaan avata pienellä jakoavaimella ja näin myös kolonnien vaihtaminen on erittäin helppoa. Osia vaihdettaessa on kuitenkin tärkeää varmistaa, että muoviset letkut, kiinnitykset ynnä muut pysyvät ehjinä, sillä väärin asennetuilla osilla voi olla välitön vaikutus esimerkiksi retentioaikoihin. Dionexin englanninkielinen käyttöohje tarjoaa tarkat ohjeet myös näihin ylläpitotoimenpiteisiin.

4.4 Käyttöönotto

ICS-5000 toimitettiin Oulun Vedelle tammikuussa 2012. Mediq järjesti laboratorion henkilökunnalle muutamia koulutuspäiviä, mutta laitetta ei näissä saatu kertaakaan toimimaan oikein. Kationikanava toimi moitteettomasti, mutta anionikanavan pohjaviiva huojui valtavasti, eikä laitteella sen vuoksi kyetty tekemään anionien määrityksiä lainkaan.



KUVA 13. Pohjaviivojen kohinat vertailussa

Kuvassa 13 näkyy toukokuussa 2012 mitattu pohjaviivan kohina. Sinisenä näkyvä vakaa viiva on kationikanavan pohjaviiva ja musta, aaltoileva viiva on anionikanavan pohjaviiva. Dionexin tukihenkilö Saksassa epäili vian johtuneen viallisesta trap-kolonnista. Osa vaihdettiin, mutta se ei korjannut ongelmaa. Tämän jälkeen epäiltiin eluenttipatruunan vahingoittuneen jossain asennuksen vaiheessa, joten sekin vaihdettiin. Ongelma ilmeni yhä, joten anionikanavalle vaihdettiin myös uusi esikolonne, erotuskolonne, suppressori sekä karbonaatinpoistaja. Vasta detektorin vaihdon jälkeen ongelma korjaantui, joten vian uskotaan olleen detektorissa.

4.5 Dionex Corporation

Yhdysvaltalainen Dionex Corporation on tunnettu kromatografien ja Chromeleonin lisäksi myös mm. ASE-uuttolaitteistaan. Se on kehittänyt ionikromatografeja jo 1970-luvulta lähtien ensin Durrum Instrument Corporationin tytäryhtiönä ja vuodesta 1980 lähtien itsenäisenä yrityksenä (23). Vuonna 2010 Thermo Fisher Scientific ilmoitti ostaneensa Dionexin 2,1 miljardilla Yhdysvaltain dollarilla. Kaupan avulla Thermo Fisher aikoo laajentaa Aasian ja erityisesti Kiinan kasvaville markkinoille. Dionex ICS-5000 -tuotteet myydään jatkossa Thermo Scientific Dionex ICS-5000 Reagent-Free™ HPIC™ -nimellä ja laitteen sininen ulko-kuori on muutettu vaaleanharmaaksi. (24) Suomessa Dionexia edustaa Mediq Suomi Oy.

5 VALIDOINTI

Validointi tarkoittaa analyysimenetelmän kelvollisuuden toteamista. Sen avulla osoitetaan menetelmän soveltuvuus tiettyyn käyttötarkoitukseen sekä menetelmän pätevyys käytetyillä asetuksilla ja ajo-olosuhteilla. (20, s. 11.)

5.1 Validoitavat parametrit

Alla on selitetty validoitavat parametrit, joiden tuloksiin palataan validointiprosessin yhteydessä kappaleessa 6.

Mittausalue, lineaarinen mittausalue

Mittausalue on pitoisuusalue, jolla menetelmä antaa luotettavia tuloksia hyvällä tarkkuudella ja toistotarkkuudella. Mittausalue pyritään määrittämään sellaiselle alueelle, joka kattaisi mahdollisimman hyvin näytteiden pitoisuudet. Lineaarinen mittausalue on se pitoisuusalue, jolla kalibrointikuvaajan kaartumista ei havaita. (25, s. 53.)

Toteamisraja

Toteamisraja on pienin menetelmällä havaittu pitoisuus, josta voidaan päätellä tutkittavan aineen esiintyminen kohtuullisella tilastollisella varmuudella. Toteamisrajan arvo riippuu merkittävästi mm. laitteiston kunnosta ja työskentelyn tarkkuudesta. (25, s. 51.)

Määrittäysraja

Määrittäysraja on tutkittavan aineen menetelmällä mitattava alin pitoisuus, joka voidaan määrittää hyväksyttävällä tarkkuudella ja täsmällisyydellä. Laitteiston kunto ja työskentelyn tarkkuus vaikuttavat myös määrittäysrajaan. (25, s. 51.)

Selektiivisyys

Menetelmän selektiivisyys kuvaa menetelmän kykyä erottaa tutkittavan analyysin vaste muista vasteista. Täysin analysoitavalle aineelle selektiivistä menetelmää kutsutaan spesifiseksi. Selektiivisyyden puute taas aiheuttaa systemaattisen virheen, mikäli häiriötä ei pystytä eliminoimaan esimerkiksi laskennallisin tai teknisin keinoin. (25, s. 46.)

Tarkkuus

Menetelmän tarkkuus kuvaa mitatun tuloksen ja oikean arvon läheisyyttä - toisin sanoen menetelmän kykyä tuottaa oikeita tuloksia. Tarkkuus karakterisoi menetelmän systemaattista ja satunnaisvirhettä (25, s. 56).

Toistotarkkuus

Toistotarkkuus ilmaisee keskenään riippumattomien tulosten vastaavuuden (25, s. 54). Käytännössä tämä tarkoittaa rinnakkaisten näytteiden tulosten vastaavuutta keskenään mitattuna esimerkiksi eri päivinä.

5.2 Laitteisto ja välineet

Tulosten jäljitettävyyden kannalta on tärkeää, että työskenneltäessä käytetään hyvin huollettuja ja kalibroituja välineitä. Oulun Veden käyttölaboratorio ostaa useimpien välineiden kalibroitopalvelut ulkoisilta yrityksiltä.

Kaikki työssä suoritettut pipetoinnit tehtiin Biohit e1000 50–1000 µl- ja Biohit Pro-line XL 0,1–25 ml -pipeteillä, jotka oli kalibroitu 23.7.2012 Pipettitohtorilla.

Kaikki punnitukset tehtiin Denver Instrument Company TB-200 -vaa'alla, joka oli kalibroitu 30.3.2012 (Intermed Oy). Vaa'an maksimikuorma on 200 grammaa ja tarkkuus 0,0001 grammaa.

Ionikromatografikäyttöä varten laboratorioon oli hankittu uusi Thermo Scientific Smart2Pure -laite. Laite puhdistaa verkostovedestä ASTM I -tyypin ultrapuhdasta vettä (taulukko 1) käänteisosmoosikalvon ja UV-valon avulla (26, s. 11). Kaikki työssä valmistetut standardiliuokset laimennettiin ultrapuhaalla vedellä (27). Ultrapuhdasta vettä käytetään myös ICS-5000:n eluenttivetenä.

TAULUKKO 1. Ultrapuhtaan veden laatuvaatimukset

Sähkönjohtokyky, maksimi (25°C)	0,056 µS/cm
Ominaisvastus, minimi (25°C)	18,0 MΩ-cm
TOC, maksimi	100 µg/l
Natrium, maksimi	1 µg/l
Silica, maksimi	3 µg/l
Kloridi, maksimi	1 µg/l

Shimadzu UV-1700 PharmaSpec -spektrofotometriä hyödynnetään lukuisissa laboratorion analyysimenetelmissä. Laitetta käytetään sisäänrakennettujen pienen näyttöruudun ja näppäimistön avulla.

Työssä käytetyt muoviasiastiat ja pullot olivat käytössä ainoastaan ionikromatografilla työskenneltäessä. Mittaliuoksia varten käytettiin Vitlabin 100±0,10 ml:n ja 1000±0,40 ml:n A-luokan mittapulloja. Kaikki muoviasiastiat huuhdeltiin ennen käyttöä kolme kertaa ultrapuhtaalla vedellä.

5.3 Kemikaalit

Kalibrintiliuokset laimennettiin taulukossa 2 luetelluista kaupallisista standardiliuoksista. Taulukossa on ilmoitettu myös kemikaali, josta standardiliuos on valmistettu. Kaikkien kemikaalien laatusertifikaatteja ei kyetty jäljittämään, joten pitoisuutena on ilmoitettu ainoastaan purkin kyljessä oleva pitoisuus.

TAULUKKO 2. Standardiliuosten kaupalliset kantaliuokset

Nimi	Valmistaja	Kemikaali	Ilmoitettu pitoisuus (mg/l)	Tuotenumero	Eränumero
Ammonium Ion Chromatography Standard	WVR Prolabo	NH ₄ Cl	1000	458192M	B9035096
Nitrite Standard Solution	Merck	NaNO ₂	1001 ± 5	1.19899.0500	HC110332
Nitrate Standard Solution	Merck	NaNO ₃	1002 ± 5	1.19811.0500	HC117147
Chloride Ion Chromatography Standard	WVR Prolabo	NaCl	1000	458012Q	210105010
AccuStandard Reference Standard Sulfate	AccuStandard	K ₂ SO ₄	1000	IC-SO4-10X-1	211125046

Koska varmennettua vertailumateriaalia ei ollut saatavilla, tutkittiin kalibroinnin oikeellisuutta itse valmistetuilla liuoksilla. Liuokset valmistettiin punnitsemalla ja liuottamalla taulukossa 1 ilmoitetuista kemikaaleista.

Ammoniumin ja sulfaatin vertailuliuokset valmistettiin samasta ammoniumsulfaattikemikaalista. Ammoniumsulfaattia ja kaliumkloridia kuivattiin lämpökaapissa 6 tuntia 105 ± 5 °C:n lämpötilassa. Kaliumnitriitti ja kaliumnitraatti ovat hapettavia aineita, eikä niitä suositella kuumennettavan, joten niitä kuivattiin eksikaattorissa 24 tunnin ajan.

TAULUKKO 3. Vertailuliuosten valmistuksessa käytetyt kemikaalit

Kemikaali	Valmistaja	Tuotenumero	Eränumero	Muuta
Kaliumnitraatti, KNO ₃	VWR Prolabo	26869.234	12A050003	Hapettava
Ammoniumsulfaatti, (NH ₄) ₂ SO ₄	Merck	1.01217.0100	A977017	
Kaliumnitriitti, KNO ₂	Merck	1.05067.0250	K30825267	Hapettava, myrkyllinen, ympäristölle haitallinen
Kaliumkloridi, KCl	VWR Prolabo	26764.232	10C310004	

6 TYÖN SUORITUS

Aktiivinen työosuus laitteen parissa kesti noin 4 viikkoa. Tässä ajassa suunniteltiin ja testattiin ajo-ohjelmat sekä tehtiin kaikki tarvittavat mittaukset. Tämän jälkeen laitteen käyttö opetettiin laboratorion henkilökunnalle.

6.1 Ajo-ohjelmat

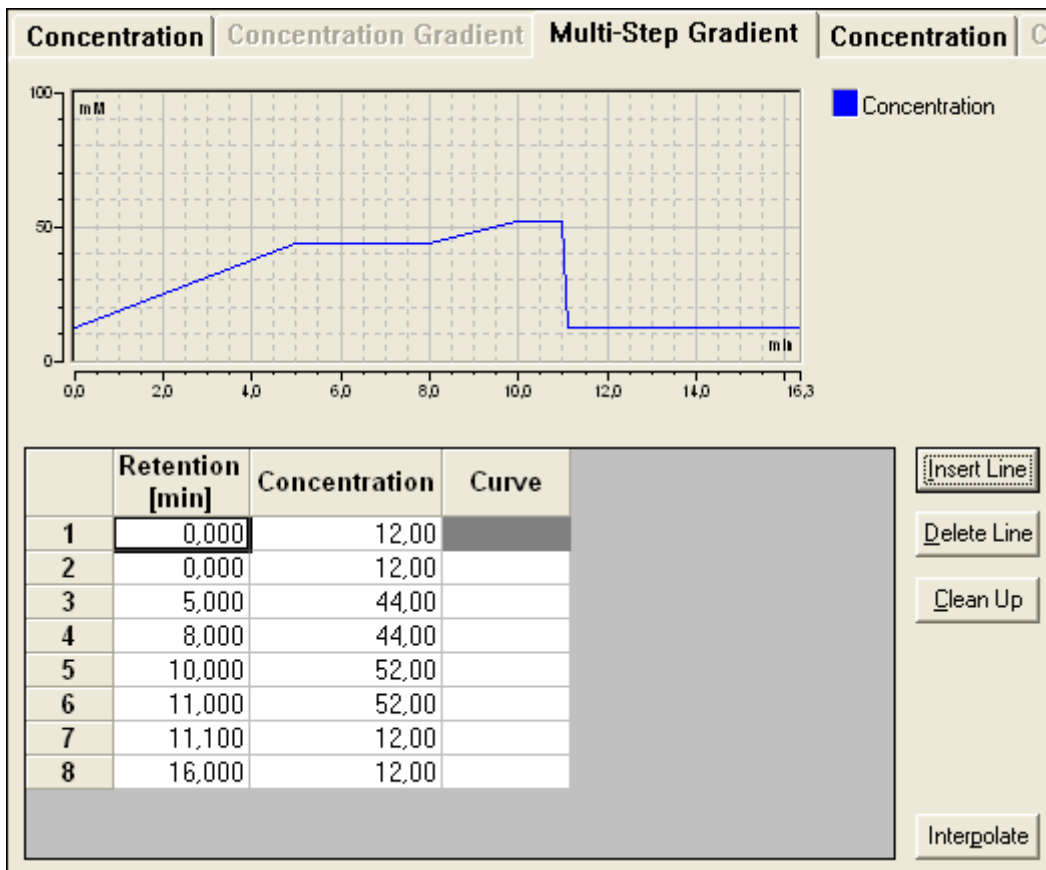
Menetelmän validointi aloitettiin ajo-ohjelman suunnittelulla ja testaamisella. Ajo-ohjelma suunniteltiin erityisesti Oulun Veden näytteitä varten sellaiseksi, että haluttujen ionien piikit saatiin erotettua ja määritettyä hyvin yhdellä ajolla.

Ajo-ohjelman tulisi olla riittävän nopea, mutta myös riittävän korkea piikkien erottelukyky eli resoluutio. Erottelukykyyn voidaan vaikuttaa säätämällä eluentin konsentraatiota ja virtausnopeutta, sekä erityisillä gradienttiaojoilla, joissa eluentin konsentraatio muuttuu ajon kuluessa. Pienellä virtausnopeudella ja eluenttikonsentraatiolla ionien eluoitus on hitaampaa, suurella virtausnopeudella ja eluenttikonsentraatiolla taas nopeampaa.

6.1.1 Anionien ja kationien määrittäminen

Anionien ja kationien määrittämiseen suunniteltiin 16 minuuttia pitkä ajo-ohjelma, jossa molempien kanavien eluenteille määritettiin gradienttiohjelma. Virtausnopeudeksi molemmille kanaville valittiin 0,250 ml/min, sillä on käytännöllistä, että veden kulutus on niillä yhtä suurta.

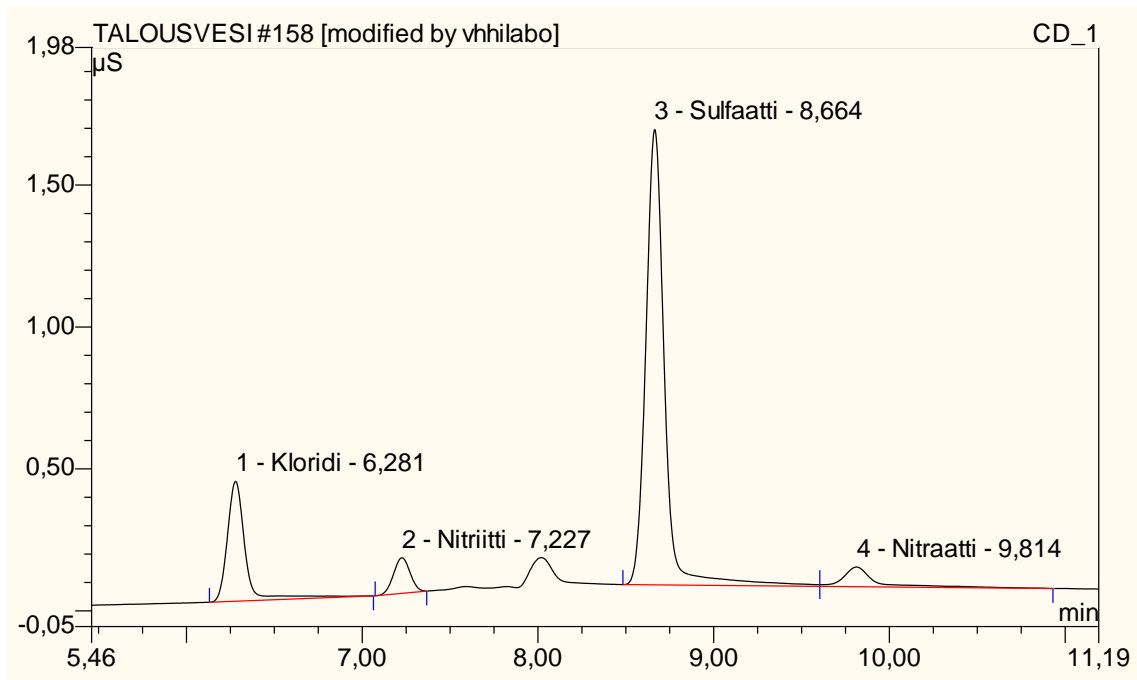
Anionikanavan gradienttiohjelma on esitetty kuvassa 14. Eluentin pitoisuutta kasvatetaan hiljalleen ja nostetaan lopulta 52 mM -pitoisuuteen, jolloin saadaan huuhdottua mahdollinen fosfaatti pois kolonnista. Lopuksi kolonnin tasapainotetaan noin 5 minuuttia seuraavaa ajoa varten. Kuvasta 14 näkyy myös yksinkertainen taulukko, johon gradientin asetukset säädetään.



KUVA 14. Anionikanavan gradientt ajo-ohjelma

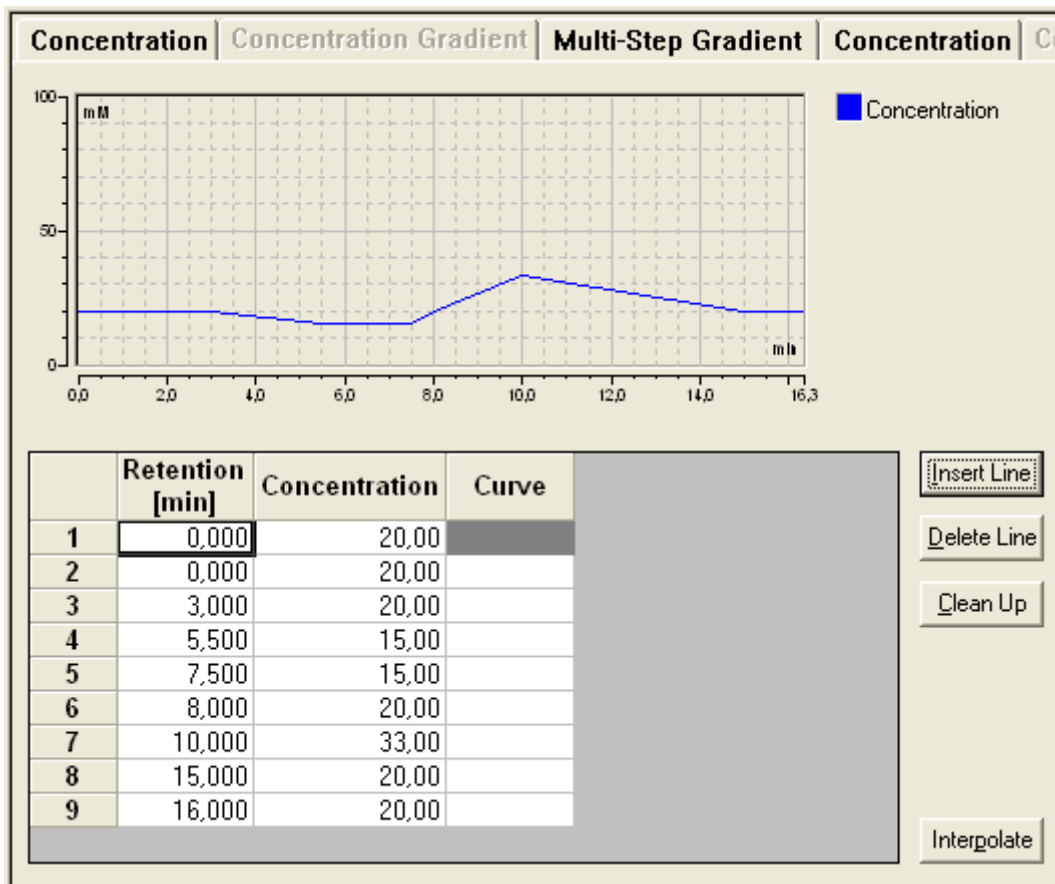
Dionex suosittelee määrittämään suppressorin virran käytettävän gradientin suurimman eluenttipitoisuuden mukaan. Suurin pitoisuus kirjataan ajo-ohjelmaan jolloin ohjelma asettaa suppressorin virran automaattisesti eluentin pitoisuuden ja virtausnopeuden mukaan. Anionisuppressorin virraksi asetettiin 33 mA.

Kuvasta 15 voidaan nähdä piikkien, että piikit erottuvat varsin hyvin ja että tutkitavat ionit ovat erittäin hyvin erillään toisistaan. Kuvassa 8 minuutin kohdalla näkyvä karbonaatin piikki on siististi erillään muista eikä se häiritse muiden piikkien kvantitointia.



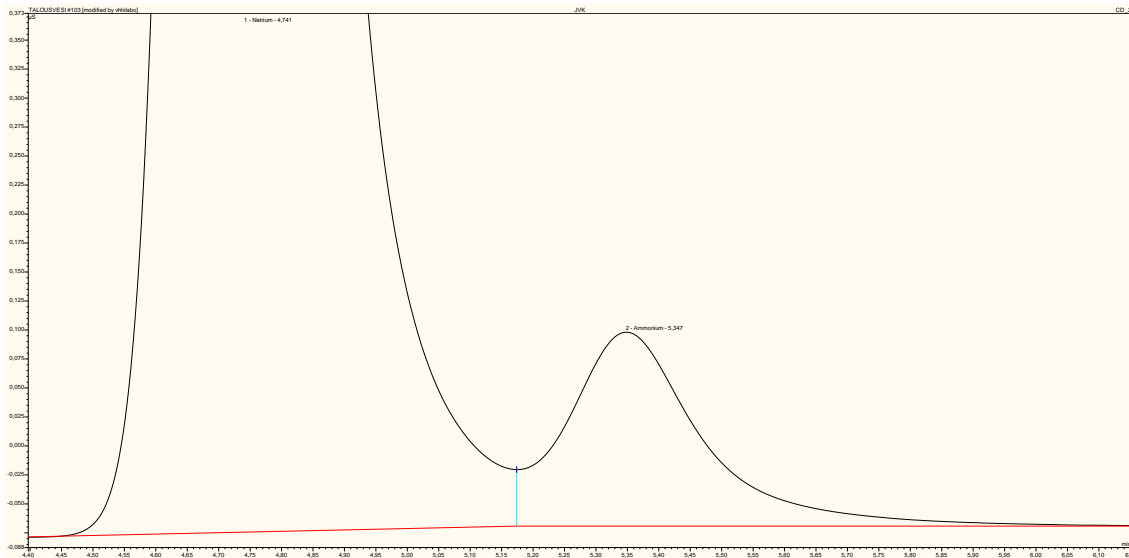
KUVA 15. Anionien erottuminen: kloridi 0,1 mg/l; nitriitti 0,05 mg/l; sulfaatti 0,5 mg/l ja nitraatti 0,05 mg/l

Kationikanavan ohjelmalla määritetään ainoastaan ammonium. Gradienttiohjelmaksi suunniteltiin kuvassa 16 esitetty ajo-ohjelma, jossa eluentin pitoisuutta muutetaan suhteellisen vähän. Kationisuppressorin virraksi asetettiin 25 mA.



KUVA 16. Kationikanavan gradienttijaiohjelma

Ammoniumin erottaminen osoittautui yllättävän hankalaksi näytteistä, jotka sisälsivät alle 0,010 mg/l -pitoisuuden ammoniumia ja suuria määriä natriumia. Natriumin läsnä ollessa piikit asettuvat kromatogrammissa jonkin verran päällekkäin ja ammonium näkyy ns. natriumpiikin olkapäänä (kuva 17). Tästä huolimatta ohjelmalla saatiin oikeansuuntaisia tuloksia, kun sekä kalibrointistandardit että näytteet integroitiin kuvassa 17 näkyvällä tavalla piikkien välisestä laaksosta pohjaviivaan. Jatkossa piikkejä voidaan yrittää erottaa toisistaan paremmin muokkaamalla ajo-ohjelman asetuksia, mutta se voi olla käytännössä hankalaa, jos halutaan säilyttää ajoaika lyhyenä.



KUVA 17. Natrium-piikin pieni olkapää suurennettuna: ammonium 0,085 mg/l

6.1.2 Tasapainotus ja lepotila

Veden ja eluenttipatruunoiden säästämiseksi laitteelle suunniteltiin erilliset lepotila- ja tasapainotusohjelmat. Ohjelmat voidaan asettaa jonoon niin, että näytteidien ajon jälkeen laite menee automaattisesti lepotilaan. Tasapainotus voidaan ajastaa seuraavalle aamulle niin, että laite on käyttövalmiudessa heti tarvittaessa.

Lepotilaohjelmassa molemmille kanaville on asetettu virtausnopeudeksi 0,100 ml/min, eluenttien konsentraatioiksi 5 mM ja suppressoreiden virraksi 2 mA.

Tasapainotusohjelma palauttaa normaaliajosten taulukossa 4 esitetyt lähtöasetukset.

TAULUKKO 4. Tasapainotusohjelman asetukset

	Channel_1 (anionit)	Channel_2 (kationit)
Virtausnopeus	0,250 ml/min	0,250 ml/min
Eluentin konsentraatio	12 mM KOH	20 mM MSA
Suppressorin virta	33 mA	25 mA

Tasapainotuksen kestoksi on määritetty 60 minuuttia, jonka jälkeen laite ylläpitää mainitut asetukset. Tasapainottumisen olisi suotavaa kestää vähintään tämä aika.

6.2 Kalibrointi

Kalibrointistandardit valmistettiin tilaajan toiveiden mukaisesti taulukossa 2 ilmoitetuista kaupallisista standardien kantaliuoksista. Jokaiselle ionille tehtiin viiden pisteen kalibrointi taulukon 5 mukaisesti.

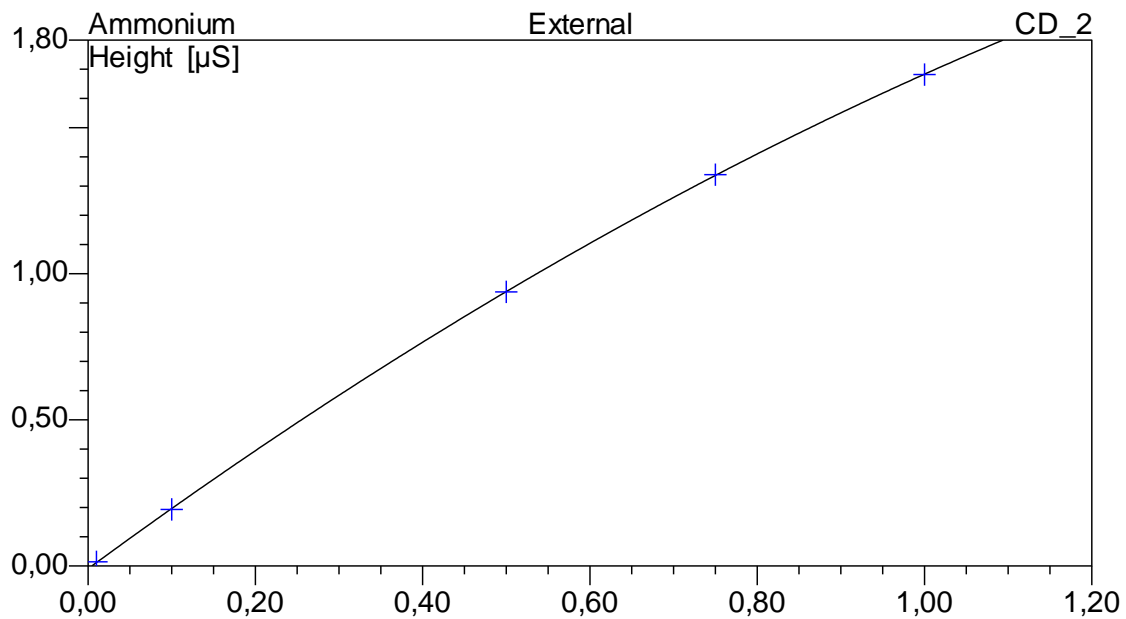
Anionien (kloridi, nitriitti, sulfaatti ja nitraatti) ja kationien (ammonium) liuokset valmistettiin eri pulloihin. Käytännössä laitteelle ajettiin siis 10 erillistä standardinäytettä. Mittausten tulokset on koottu liitteeseen 2.

TAULUKKO 5. Kalibrointistandardiliuosten pitoisuudet (mg/l)

	I	II	III	IV	V
Ammonium NH_4^+	0,01	0,10	0,50	0,75	1,00
Kloridi, Cl^-	0,2	1,0	5,0	7,5	10,0
Nitriitti, NO_2^-	0,02	0,05	0,10	0,50	1,00
Sulfaatti, SO_4^{2-}	0,5	5	10	25	50
Nitraatti, NO_3^-	0,02	0,10	0,50	1,00	2,50

Laite piirtää tuloksista kalibrointikuvaajat annetun pitoisuuden ja piikin pinta-alan funktiona. Ammoniumin kohdalla kalibrointiperusteena päädyttiin käyttämään piikin pinta-alan sijasta piikin korkeutta kuvassa 17 esitellyn piikkien päällekkäisyysongelman vuoksi. Näin natriumpiikin vaikutus pystyttiin osittain eliminoidaan.

Ainoastaan kloridin kalibrointikuvaaja oli halutulla mittausalueella lähes täydellisen lineaarinen. Muut kuvaajat kaartuvat loivasti, joten niille valittiin Chromeleonista kalibrointityypiksi Quadratic with Offset (QOff), jossa suora noudattaa 3. asteen yhtälöä eikä sitä pakoteta kulkemaan origon kautta. Kuvaajan kaartuminen on normaalia, eivätkä kuvaajat useinkaan ole lineaarisia kuin pienillä pitoisuusalueilla. Esimerkkinä on kuvassa 18 esitetty ammoniumin kalibrointikuvaaja. Muut kuvaajat ja kaikkien kuvaajien yhtälöt on koottu liitteeseen 3.



KUVA 18. Ammoniumin kalibrointikuvaaja

6.3 Tarkkuus

Tulosten tarkkuutta tutkittiin laadunvalvontaliuoksilla, jotka valmistettiin taulukon 3 kemikaaleista liuottamalla taulukon 6 punnittu määrä 1000 ml:aan ultrapuhdasta vettä.

TAULUKKO 6. Vertailuliuosten valmistus

Suola	Ioni	Punnitus	Pitoisuus
Ammoniumsulfaatti, (NH ₄) ₂ SO ₄	NH ₄ ⁺	3,6628 g	1000,1 mg/l
Kaliumnitriitti, KNO ₂	NO ₂ ⁻	0,9251 g	500,1 mg/l
Kaliumkloridi, KCl	Cl ⁻	2,1029 g	1000,0 mg/l
Ammoniumsulfaatti, (NH ₄) ₂ SO ₄	SO ₄ ²⁻	6,8782 g	5000,2 mg/l
Kaliumnitraatti, KNO ₃	NO ₃ ⁻	0,6455 g	499,7 mg/l

Liukset laimennettiin ultrapuhdalla vedellä 1:1000 ja 1:10 000. Lisäksi ammoniumista tehtiin myös laimennos 1:2500. Mittauksia tehtiin kolmena eri päivänä. Mittaustulosten yhteenveto on koottu taulukkoon 7, johon on kirjattu teoreettisen pitoisuuden lisäksi mittaussarjojen pienin ja suurin mitattu pitoisuus sekä mittausten keskiarvo. Saanto-%-sarakeessa näitä tuloksia on verrattu viitearvoon.

RSD%-sarakeessa on mittaussarjan suhteellinen keskihajonta (kaava 3) ja viimeisessä sarakeessa rinnakkaisten mittausten lukumäärä. Suhteellinen keskihajonta lasketaan keskiarvon (kaava 1) ja keskihajonnan (kaava 2) avulla.

$$\bar{x} = \frac{(x_1 + \dots + x_n)}{n} \quad \text{KAAVA 1.}$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n}} \quad \text{KAAVA 2.}$$

$$\text{RSD\%} = \frac{\bar{x}}{s} * 100 \% \quad \text{KAAVA 3.}$$

n = mittausten lukumäärä

TAULUKKO 7. Tarkkuuskokeiden yhteenveto

Ioni	Pitoisuus (mg/l)	Mitattu pitoisuus (mg/l)			Saanto-%			RSD%	Lkm
		Min.	Max.	Keskiarvo	Min.	Max.	Keskiarvo		
NH ₄ ⁺	0,10	0,111	0,122	0,115	111 %	122 %	115 %	3,2 %	15
NH ₄ ⁺	0,40	0,410	0,436	0,425	103 %	109 %	106 %	1,7 %	29
NH ₄ ⁺	1,00	1,030	1,066	1,053	103 %	107 %	105 %	1,2 %	15
Cl ⁻	0,10	0,077	0,112	0,089	77 %	112 %	89 %	9,6 %	15
Cl ⁻	1,00	0,938	0,989	0,968	94 %	99 %	97 %	1,8 %	15
NO ₂ ⁻	0,05	0,046	0,053	0,048	91 %	106 %	96 %	4,2 %	15
NO ₂ ⁻	0,50	0,467	0,503	0,485	93 %	101 %	97 %	2,4 %	15
SO ₄ ²⁻	0,50	0,422	0,469	0,440	84 %	94 %	88 %	3,9 %	15
SO ₄ ²⁻	5,00	5,001	5,294	5,160	100 %	106 %	103 %	1,7 %	15

Taulukosta voidaan havaita, että suuremmista pitoisuuksista saadaan lähempänä viitearvoa olevia tuloksia. Toisin sanoen menetelmän tarkkuus heikkenee pienemmillä pitoisuuksilla. Yleisesti hyväksyttävänä tasona pidetään 95–105 %:n oikeellisuutta (22, s. 115). Tällä mittarilla oikeita tuloksia saadaan ammoniumista (< 1 mg/l), kloridista (< 1 mg/l), nitraatista (koko pitoisuusalue) sekä sulfaatista (< 5 mg/l).

Tarkkuuskokeen tuloksiin vaikuttavat työvaiheista ja liuosten valmistuksesta johtuvat epätarkkuudet mm. pipetoinnissa ja punnituksissa. Mittauksia tehtiin kolmena peräkkäisenä päivänä, joten tuloksiin vaikuttaa myös laitteesta johtuva epätarkkuus sekä näyteliuoksen säilyvyys. Lisätutkimuksia olisi suotavaa suorittaa varmennetuilla vertailumateriaaleilla.

Nitraattimittauksista saatiin vääriä tuloksia, joten niiden tulokset hylättiin tarkkuuskokeen osalta. Hygroskooppinen kaliumnitraatti ei todennäköisesti ollut punnitusvaiheessa kuivaa eksakkaattorikuivauksesta huolimatta.

6.4 Toistotarkkuus

Tarkkuusmittausten tuloksista laskettiin menetelmälle myös toistotarkkuus. Samalla tavalla valmistettuja näytteitä mitattiin kolmena eri päivänä, joista saadun aineiston perusteella määritettiin MS Excelin varianssianalyysin avulla mittauspäivien sisäinen hajonta, päivien välinen hajonta sekä sarjojen kokonaishajonta (25, s. 108–110).

TAULUKKO 8. Toistokokeiden tulosten yhteenveto

Ioni	Pitoisuus (mg/l)	Lkm	F	F _{crit}	sw	sw-%	sb	sb-%	st	st-%
NH ₄ ⁺	0,10	15	31,421 (S)	3,885	0,000	0,03 %	0,000	0,14 %	0,000	0,17 %
NH ₄ ⁺	0,40	29	46,251 (S)	3,369	0,000	0,07 %	0,001	0,26 %	0,001	0,33 %
NH ₄ ⁺	1,00	15	54,608 (S)	3,885	0,000	0,02 %	0,002	0,19 %	0,002	0,21 %
Cl ⁻	0,10	15	13,999 (S)	3,885	0,001	1,37 %	0,003	3,20 %	0,004	4,57 %
Cl ⁻	1,00	15	0,702 (NS)	3,885	0,001	0,09 %	0,000	0,01 %	0,001	0,10 %
NO ₂ ⁻	0,05	15	15,041 (S)	3,885	0,000	0,03 %	0,000	0,09 %	0,000	0,12 %
NO ₂ ⁻	0,50	15	26,596 (S)	3,885	0,000	0,07 %	0,002	0,32 %	0,002	0,39 %
SO ₄ ²⁻	0,50	15	4,772 (S)	3,885	0,002	0,53 %	0,002	0,42 %	0,004	0,95 %
SO ₄ ²⁻	5,00	15	18,759 (S)	3,885	0,026	0,51 %	0,082	1,59 %	0,108	2,10 %
NO ₃ ⁻	0,05	15	3,242 (NS)	3,885	0,000	0,22 %	0,000	0,12 %	0,000	0,34 %
NO ₃ ⁻	0,50	15	4,370 (S)	3,885	0,001	0,53 %	0,001	0,39 %	0,002	0,92 %

^{sw} Päivien sisäinen hajonta, ^{sb} Päivien välinen hajonta, st Kokonaishajonta,

^S Tilastollisesti merkittävä ero, ^{NS} Tilastollisesti merkityksetön ero

Tuloksista voidaan havaita, että päivien sisäinen hajonta on lähes kaikilla näytteillä pienempää kuin päivien välinen hajonta. Kokonaisvaihtelu on kuitenkin

suhteellisen pientä suurimmalla osalla näytteistä: Ainoastaan kahden näytteen kokonaishajonta on yli 1,0 %. Hajontaan vaikuttavat osaltaan työskentelytavat sekä näytteiden säilyvyys, jota ei tutkittu. Näin ollen hajonta ei ole ainoastaan laitteesta tai menetelmästä johtuvaa.

Koska yhdeksän näytteen kohdalla havaittiin systemaattinen virhe päivien välillä ($F > F_{crit}$), kannattaa menetelmä tarkistaa lisäkokeilla mahdollisten virhelähteiden selvittämiseksi. Tarvittaessa menetelmää voi muuttaa ja tehdä toistotarkkuuskokeet uudelleen. Käytännön kannalta hajonta on kuitenkin suhteellisen pientä, eikä se estä menetelmän käyttöönottoa.

6.5 Toteamis- ja määrittämissrajat

Toteamis- ja määrittämissrajat määritettiin mittaamalla toistoja pienimmistä standardeista. Tulossarjalle laskettiin keskiarvo, keskihajonta ja suhteellinen keskihajonta (liite 3). Toteamisrajat (LOD, limit of detection) ja määrittämissrajat (LOQ, limit of quantification) lasketaan tulossarjan keskihajonnan (s) avulla käyttäen kaavoja 4 ja 5:

$$\text{LOD} = 3 \cdot s \quad \text{KAAVA 4.}$$

$$\text{LOQ} = 10 \cdot s, \quad \text{KAAVA 5.}$$

TAULUKKO 9. Toteamis- ja määrittämissrajat

	Ammonium, NH₄⁺	Kloridi, Cl⁻	Nitriitti, NO₂⁻	Sulfaatti, SO₄²⁻	Nitraatti, NO₃⁻
LOD (Toteamisraja)	0,002 mg/l	0,022 mg/l	0,001 mg/l	0,009 mg/l	0,003 mg/l
LOQ (Määrittämissraja)	0,007 mg/l	0,074 mg/l	0,003 mg/l	0,031 mg/l	0,008 mg/l
Pienimmän standardin pitoisuus	0,010 mg/l	0,200 mg/l	0,020 mg/l	0,500 mg/l	0,020 mg/l

Toteamis- ja määrittämissrajat ovat erittäin hyvällä tasolla ja kaikki määrittämissrajat alittavat kyseisen ionin pienimmän standardin pitoisuuden. Laboratorio voi halutessaan käyttää määrittämissrajana taulukon 9 LOD-arvoa tai pienimmän standardin pitoisuutta.

6.6 Retentioajat

Piikkien retentioaikoja seurattiin 28 päivän pituisen jakson ajan. Taulukkoon 10 on koottu laskettu aineiston keskiarvo, keskihajonta, suhteellinen keskihajonta (RSD%) sekä etsitty aineiston minimi- ja maksimiarvot. Alimmalla on laskemiin käytettyjen tulosten lukumäärä. Kaikkien ionien hajonta on saman suuruista ja retentioajat pysyivät hyvin paikallaan.

TAULUKKO 10. Yhteenveto retentioajoista

	NH_4^+	Cl^-	NO_2^-	SO_4^{2-}	NO_3^-
Keskiarvo (min)	5,349	6,280	9,802	7,230	8,649
Keskihajonta	0,0130	0,0094	0,0243	0,0104	0,0347
RSD%	0,24 %	0,15 %	0,25 %	0,14 %	0,40 %
Minimi (min)	5,234	6,257	9,734	7,207	8,541
Maksimi (min)	5,374	6,301	9,857	7,250	8,697
Lukumäärä	159	181	95	54	176

6.7 Menetelmien vertailu

Menetelmien vertailu ei ole validoinnin luotettavuuden kannalta välttämätöntä, vaan järjestelyllä pyritään varmistamaan, ettei toimivaa menetelmää korvata huonommalla menetelmällä. Analyttisessä kemiassa regressioanalyysi on tehokas työkalu verrattaessa kahta analyysimenetelmää toisiinsa. Kun näytteitä on paljon ja niiden pitoisuudet vaihtelevat laajalla alueella, ei esim. t-testi anna luotettavaa kuvaa menetelmien toimivuudesta, sillä hajonta ei ole vakio laajalla pitoisuusalueella. Tällöin vertailu on suoritettava regressioanalyysillä. (25, s. 74)

Menetelmien välinen vertailu suoritettiin mittaamalla samoja näytteitä sekä ionikromatografilla että laboratorion käytössä olleilla menetelmillä. Näytevalikoima koostui standardiliuoksista, talous- ja raakavesinäytteistä sekä muista laboratorioon saapuneista näytteistä. Saatuja tulospareja verrattiin MS Excelin regressioanalyysillä. Ionikromatografi asetettiin toistotarkempaan menetelmään x-akselille ja vertailumenetelmä y-akselille. Tulosten perusteella laskettiin pienimmän neliösumman menetelmällä regressiosuoran yhtälö, joka on muotoa

$$y = b + ax$$

YHTÄLÖ 1.

Ideaalitilanteessa menetelmät antavat täysin identtisiä tuloksia. Tällöin regressiosuoran kulmakertoimen arvo (a) on 1 ja y-akselin leikkauspiste (b) on 0. Tulosten vastaavuutta voidaan arvioida myös korrelaatiokerroimella, jonka arvo ideaalitilanteessa on 1. (25, s. 87)

TAULUKKO 11. Regressioanalyysien tulokset

	Kulmakerroin	Leikkauspiste	Korrelaatiokerroin R ²
Ammonium, NH ₄ ⁺	0,9870	-0,0020	0,97710
Kloridi, Cl ⁻	1,2727	-0,2603	0,98763
Nitriitti, NO ₂ ⁻	0,9865	-0,0001	0,99916
Sulfaatti, SO ₄ ²⁻	0,9445	0,5815	0,98561

Tuloksista huomataan menetelmien antamien tulosten vastaavan suhteellisen hyvin toisiaan. Kloridin kulmakerroin poikkeaa reilusti ideaaliarvosta. Kloridin määrittäminen oli jo aiemminkin aiheuttanut päänvaivaa Oulun Veden henkilökunnalle, eivätkä he pitäneet menetelmää enää luotettavana. Vertailumenetelmässä kloridi havaitaan ruskeanpunertavana värinä, joten erityisesti raakavesinäytteiden väri häiritsee määrittäystä. Kloridimenetelmien eroavaisuuksille ei kannata antaa juurikaan painoarvoa, sillä vika on mitä ilmeisemmin vanhassa menetelmässä.

Sulfaatin muita suurempi leikkauspiste ei ole ongelma, sillä määritettävät sulfaattipitoisuudet talousvesinäytteissä ovat hyvin suuria (n. 50 mg/l). Tämän vertailun perusteella voidaan todeta että 95 % luottamustasolla vanhoilla ammoniumin, nitriitin ja sulfaatin määrittäminen menetelmillä saadaan samoja tuloksia kuin ionikromatografilla. Nitraatin harvakseltaan käytettyä vertailumenetelmää ei otettu vertailuun mukaan.

6.8 Laboratorioiden välinen pätevyyskoe

Oulun Veden käyttölaboratorio osallistui syyskuussa Suomen ympäristökeskuksen järjestämään laboratorioiden väliseen pätevyyskokeeseen 7/2012, jossa laboratoriot tekivät SYKEN lähettämistä vesinäytteistä mm. seuraavia määrittä-

siä: pH, sähkönjohtavuus, SO₄, Cl, NH₄-N, NO₂-N, NO₃-N (28). Pätevyyskokeeseen osallistui 36 laboratoriota. Laboratorio osallistui kokeeseen vanhoilla menetelmillä, mutta koenäytteet analysoitiin myös ionikromatografilla. Kokeen tulokset saapuivat lokakuussa.

Taulukkoon 12 on koottu SYKE:n ilmoittama teoreettinen pitoisuus sekä kaikkien laboratoroiden keskiarvo, Oulun Veden laboratorion mittaama tulos sekä ionikromatografilla mitattu tulos (29).

TAULUKKO 12. SYKE-pätevyyskokeen tulokset

	Näyte	Ilmoitettu pitoisuus (mg/l)	Keskiarvo (mg/l)	Laboratorion tulos (mg/l)	IC:n tulos (mg/l)
Cl	A1S	11,44	11,38	11,00	11,36
	D2S	23,70	23,68	20,00	23,64
	N3S	9,81	9,76	8,71	9,78
NH₄-N	A1N	0,180	0,187	0,183	0,205
	D2N	0,240	0,233	0,220	0,269
	N3N	0,120	0,118	0,113	0,142
NO₂-N	A1N	0,100	0,101	0,103	0,103
	D2N	0,140	0,139	0,141	0,144
	N3N	0,064	0,063	0,064	0,067
NO₃-N	A1N	1,580	1,560	1,510	1,443
	D2N	0,980	0,981	0,954	0,951
	N3N	0,340	0,335	0,325	0,354
SO₄	A1S	6,28	6,22	7,79	6,39
	D2S	22,80	22,82	21,10	23,12
	N3S	4,37	4,38	6,56	4,42

Kromatografilla saadut tulokset vastaavat hyvin SYKE:n ilmoittamia pitoisuuksia. Kautta linjan tulokset ovat hyvin samansuuntaisia – kloridin ja sulfaatin tulokset ovat jopa tarkempia kuin vertailumenetelmillä saadut tulokset. Ammoniumtyypen tulokset ovat jonkin verran keskiarvoa suurempia. Kokeen tulokset ilmoitettiin tyyppiyhdisteinä (NH₄-N, NO₂-N, NO₃-N), joten IC:llä mitatut tulokset muutettiin oikeaan muotoon liitteen 5 muuntokerrointen avulla.

6.9 Koulutus

Laboratorion henkilökunnalle pidettiin kolme koulutuspäivää, joiden aikana käytiin läpi laitteen ja ohjelmiston käyttöön liittyvät tärkeimmät seikat:

- ajo-ohjelman valmistaminen ja muokkaaminen
- sekvenssin tekeminen
- kalibrointi ja integrointi
- näytteiden ajaminen ja tulosten tarkastelu
- laitteiston tasapainottaminen ja asettaminen lepotilaan
- pumppujen ilmaaminen.

Koulutusta tukemaan valmistettiin myös pikaohje (liite 6), jossa on käyty askel askeleelta läpi joitakin perusasioita mm. näytteiden ajamisesta. Henkilökunta omaksui laitteen peruskäytön hyvin ja näytteiden ajaminen ja kalibrointisuorien tekeminen onnistui heiltä vaivattomasti. Koulutuksissa käytiin läpi kaikki menetelmän jatkokehittelyn kannalta oleelliset työkalut, kuten ajo-ohjelmien muokkaaminen. Jatkossa laboratorion henkilökunta voi suorittaa kokeiluja itsenäisesti ja tehdä uusia ajo-ohjelmia erilaisiin tarpeisiin.

7 POHDINTA

Työn tarkoituksena oli opiskella laitteen ja ohjelman käyttö sekä laatia sille menetelmä epäorgaanisten ionien määrittämiseksi talous- ja raakavesistä. Niiden lisäksi työn päätavoitteena oli laitteen käytön kouluttaminen laboratorion henkilökunnalle niin, että he voivat jatkaa menetelmän kehittämistä itsenäisesti.

Talous- ja raakavesille laadittu menetelmä ei toistaiseksi läpäise tiukkaa validointia, mutta soveltuu kuitenkin laboratorion omavalvontaan, mihin myös aikaisempia menetelmiä on käytetty. Erityisesti menetelmien välisten vertailujen tulokset sekä SYKE-kokeen tulokset tukevat johtopäätöstä, että laite voidaan ottaa käyttöön kyseisten ionien määrittämiseksi. Täytyy kuitenkin huomioida, että validointi oli lähinnä suuntaa antava – menetelmää validoitiin Oulun Veden laboratorion omiin tarpeisiinsa, eikä sitä ollut tarkoituskaan akkreditoida. Kokeileminen ja laitteen käyttömahdollisuuksien omaksuminen olivat työssä etusijalla.

Anionien määrittäminen onnistuu menetelmällä hyvin, enkä ehdota ohjelmaan varsinaisia muutoksia. Fosfaatin määrittäminen voisi olla yksi jatkokehittelyn kohde. Fosfaatti eluoituu ajon loppupuolella ja erottuu hyvin, joten se saataisiin todennäköisesti määritettyä helposti pidentämällä ohjelmaa ja kenties tekemällä pieniä muutoksia gradienttiin.

Ammoniumin ja natriumin lähes samanaikainen eluoituminen ja siitä johtuva piikkien päällekkäisyys kationikanavalla on yleisesti tunnettu ongelma ionikromatografiassa. Piikkien korkean resoluution erottaminen pidentää myös ajoaika huomattavasti. Henkilökunta aloitti heti koulutusten jälkeen kokeilut ammoniumin ja natriumin erottamiseksi ja alustavat tulokset olivat lupaavia, joskin ajoaika tulee pidentymään jonkin verran. Myös kalsiumin tai muiden kationien erottaminen samalla ohjelmalla onnistuisi, mikäli laboratorio on kiinnostunut niiden pitoisuuksien seuraamisesta.

Oulun Veden henkilökunta omaksui laitteen käytön erittäin hyvin, vaikka laitteen loputtomilta vaikuttavat erilaiset ominaisuudet takuulla uuvuttavatkin käyttäjän ensisilmäyksellä. Peruskäyttö onnistui heiltä koulutusten jälkeen vaivattomasti. Ennen kaikkea he oppivat ajo-ohjelmien muokkaamisen, mikä mahdollistaa

menetelmien kehittämisen myös jatkossa – pidän tätä opinnäytetyön tärkeimpänä saavutuksena.

Monimutkaisen laitteiston ja uusien menetelmien käyttöönotto on työlästä, mutta pitkällä aikajänteellä se myös säästää aikaa: Määrityksiä ei tarvitse enää tehdä aikaa vievillä fotometrimenetelmillä, jotka vaativat paljon näytteenkäsittelyä. Ionikromatografia varten näytteet täytyy korkeintaan suodattaa tai laimentaa, mutta pääsääntöisesti näytteenkäsittelyä ei vaadita lainkaan.

Vaikka testikittejä ja reagensseja ei tarvitsisikaan enää hankkia uutta laitetta varten, ei varsinaisesti voida puhua säästöistä: ICS-5000 -järjestelmän kokonaishinta kaikkine osineen on noin 45 000 euroa. Muut laitteen sivukustannukset koostuvat eluenttipatruunoiden ja kolonnien uusimisesta sekä kertakäyttöisten näyteputkien ja suodatinkorkkien hankkimisesta. Aika näyttää, kuinka kauan eluenttipatruunat ja kolonnit kestävät aktiivisessa käytössä.

Kaiken kaikkiaan laite oli laboratoriolle erittäin hyvä hankinta. Hyvin käytettynä se tulee säästämään työntekijöiden voimavaroja ja tuottamaan tarkkoja tuloksia suhteellisen vaivattomasti. Laboratorio voi tulevaisuudessa myös laajentaa laitteen käyttöä muiden ionien määrittämiseen tai jätevesianalyysiin.

LÄHTEET

1. Oulun Vesi. Saatavilla: <http://www.oulunvesi.fi/>. Hakupäivä: 18.10.2012.
2. Vuosikertomus 2011. Oulun Vesi. Saatavilla: <http://www.oulunvesi.fi/vuosikertomukset/Vuosikertomus2011.pdf> Hakupäivä: 26.9.2012.
3. SFS 3032. 1976. Veden ammoniumtyypen määrittäminen. Helsinki: Suomen Standardisoimisliitto.
4. Pikaohje kloridin määrittämiseen. 2010. Oulun Vesi.
5. Pikaohje sulfaatin määrittämiseen. 2010. Oulun Vesi.
6. SFS 3029. 1976. Veden nitriittityypen määrittäminen. Helsinki: Suomen Standardisoimisliitto.
7. Jaarinen, Soili – Niiranen, Jukka 2008. Laboratorion analyysitekniikka. 5.-6. painos. Helsinki: Edita.
8. Riekkola, Marja-Liisa – Hyötyläinen, Tuulia 2002. Kolonnikromatografia ja kapillaarielektromigraatiotekniikat. 2. painos. Helsinki: Yliopistopaino.
9. Dionex ICS-5000 Ion Chromatograph System Brochure. 2012. Dionex. Saatavilla: <http://www.dionex.com/en-us/webdocs/30191-Bro-Dionex-ICS-5000-29May2012-BR70098.pdf>. Hakupäivä: 11.10.2012.
10. Product Manual for Eluent Generator Cartridges (EGC). 2009. Dionex. Saatavilla: <http://www.dionex.com/en-us/webdocs/29667-Man-065018-03-EGC-III-Jul11.pdf>. Hakupäivä: 9.10.2012.
11. Product Manual for the Continuously Regenerated Trap Column (CR-TC). 2010. Dionex. Saatavilla: <http://www.dionex.com/en-us/webdocs/4394-Man-031910-03-CR-TC-Cap-May10.pdf>. Hakupäivä: 9.10.2012.

12. Dionex ICS-5000 Ion Chromatography System Operator's Manual. 2011. Dionex. Saatavissa: <http://www.dionex.com/en-us/webdocs/87164-Man-IC-ICS5000-Operators-Dec2011-DOC065342-06.pdf>. Hakupäivä: 18.10.2012.
13. AS-DV Autosampler Data Sheet. 2009. Dionex. Saatavilla: <http://www.dionex.com/en-us/webdocs/70750-DS-AS-DV-Autosampler-01May09-2195-01.pdf>. Hakupäivä: 9.10.2012.
14. IonPac AS18 Analytical Column Manual. 2012. Dionex. Saatavilla: <http://www.dionex.com/en-us/webdocs/4393-Man-IonPac-AS18-Fast-031878-08-Jun12.pdf>. Hakupäivä: 9.10.2012.
15. IonPac AS18 Analytical Column Data Sheet. 2011. Dionex. Saatavilla: <http://www.dionex.com/en-us/webdocs/4183-DS-IonPac-AS18-05Apr2011-LPN1513-03.pdf>. Hakupäivä: 9.10.2012.
16. IonPac CS12A Cation-Exchange Column Data Sheet. 2010. Dionex. Saatavissa: <http://www.dionex.com/en-us/webdocs/4230-DS-IonPac-CS12A-20Apr2010-0643-12-R2.pdf>. Hakupäivä: 19.10.2012.
17. IonPac CS12A Analytical Column Manual. 2010. Dionex. Saatavilla: <http://www.dionex.com/en-us/webdocs/4340-Man-031132-09-IonPac-CS12A-May10.pdf>. Hakupäivä: 9.10.2012.
18. Eluent Suppressors for Ion Chromatography. 2010. Dionex. Saatavilla: <http://www.dionex.com/en-us/webdocs/4270-DS-Eluent-Suppressors-23Nov10-LPN1290-10.pdf>. Hakupäivä: 10.10.2012.
19. Product Manual for ASRS 300 and CSRS 300. 2009. Dionex. Saatavilla: <http://www.dionex.com/en-us/webdocs/57919-Man-031956-07-ASRS-CSRS-300-Sep09.pdf>. Hakupäivä: 10.10.2012.
20. Carbonate Removal Device 200 (CRD 200) for RFIC-EG Systems. 2010. Dionex. Saatavilla: <http://www.dionex.com/en-us/webdocs/48902-DS-CRD-200-23FEB2010-LPN1786-02.pdf>. Hakupäivä: 10.10.2012.

21. Product Manual for Carbonate Removal Device 200 (CRD 200). 2008. Dionex. Saatavilla: <http://www.dionex.com/en-us/webdocs/29668-Man-065068-05-CRD-200-May10.pdf>. Hakupäivä: 10.10.2012.
22. Dionex – Chromeleon News: Compability of Windows 7 and Chromeleon Software. 2011. Saatavilla: <http://www.dionex.com/en-us/products/chromatography-software/chromeleon-support/chromeleon-news/lp-85014.html>. Hakupäivä: 16.10.2012.
23. Evans, Barton 2004. The History of Ion Chromatography: The Engineering Perspective. Journal of Chemical Education. Journal of Chemical Education 81 (9), 1285-1292. Saatavilla: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ed081p1285>. Hakupäivä: 8.10.2012.
24. Rusli, Evelyn M 2010. Thermo Fisher to Buy Lab Tool Maker. The New York Times DealBook 13.12.2010. Saatavilla: <http://dealbook.nytimes.com/2010/12/13/thermo-fisher-buys-dionex-for-2-1-billion/>. Hakupäivä 15.10.2012.
25. Välimäki, Ilkka 2010. T440103 Laboratorion tiedonhallinta 3 op. Opintojakson oppimateriaali keväällä 2011. Oulu: Oulun seudun ammattikorkeakoulu, tekniikan yksikkö.
26. Thermo Scientific. Operating Instructions: Smart2Pure Ultrapure water systems.
27. American Society for Testing and Materials. 1991. Water Quality Standard (ASTM) D1193-91.
28. Suomen Ympäristökeskus. 2012. Ilmoituskirje Pätevyyskoe 7/2012. Saatavissa: <http://www.ymparisto.fi/download.asp?contentid=136950&lan=fi>. Hakupäivä: 19.10.2012.
29. Suomen Ympäristökeskus. 2012. Pätevyyskoe 7/2012 Talousvedet: Pätevyyskokeen tulokset.

30. Dionex. 2006. CHROMELEON® 6.80 Tutorial and User Manual. Saatavilla:
[http://www.dionex.com/en-us/webdocs/40879-
Chromeleon_680_Tutorial_and_Manual2.pdf](http://www.dionex.com/en-us/webdocs/40879-Chromeleon_680_Tutorial_and_Manual2.pdf). Hakupäivä: 19.10.2012.

LIITTEET

Liite 1 Vertailumenetelmien suoritustavat

Liite 2 Kalibrointimittausten tulokset

Liite 3 Suorien yhtälöt ja kalibrointikuvaajat

Liite 4 Toteamis- ja määritysrajamittausten tulokset

Liite 5 Typpiyhdisteiden muuntokertoimet

Liite 6 Dionex ICS-5000 -pikaohje

Ammonium

Suoritus: 25 ml:n Schott Duran -pulloon annostellaan silmämääräisesti 25 ml näytettä pullon merkiviivaan asti. Näytteeseen lisätään 1,0 ml 1,2 mol/l natriumsitraattiliuosta, 1,0 ml fenolinitroprussidiliuosta ja 1,0 ml alkalista hypokloriittiliuosta. Näytteet sekoitetaan ja laitetaan 90 °C:n lämpötilaan lämpökaappiin 40 minuutiksi. Näytteet jäädytetään huoneenlämpöiseksi ja absorbanssit mitataan fotometrillä. (2.)

Kloridi

Suoritus: 25 ml:n mittapulloon annostellaan n. 20 ml näytettä. Pulloon pipetoidaan 2,0 ml R1-reagenssia ja sekoitetaan. Tämän jälkeen pulloon pipetoidaan 2,0 ml R2-reagenssia ja sekoitetaan, minkä jälkeen mittapullo täytetään merkkiin asti näytteellä ja sekoitetaan. Reaktion annetaan tapahtua tasan 1 minuutin ajan, minkä jälkeen liuos mitataan aallonpituudella 470 nm. Reaktioaika mitataan sekuntikellolla. (3.)

Sulfaatti

Suoritus: Testikyvetiin pipetoidaan 5 ml näytettä ja lisätään annoslusikallinen kiteistä ja myrkyllistä $\text{SO}_4\text{-1K}$ -reagenssia. Lisäyksen jälkeen liuosta sekoitetaan ja annetaan seistä 2 minuuttia. Odotusajan jälkeen näyteputki käännetään varovasti ylösalaisin ja liuoksen sulfaattipitoisuus mitataan aallonpituudella 525 nm. Mittauksessa käytetään irtokyvettyyksikköä, joten pohjaviiva tulee ajaa erikseen ennen mittauksen aloittamista. (4.)

Nitriitti

Suoritus: 25 ml:n mittapullot huuhdellaan näytteellä ja täytetään merkkiin. Näytteisiin lisätään 0,5 ml:aa sulfaniiliamidiliuosta, sekoitetaan ja annetaan seistä 4–6 minuuttia. Tämän jälkeen näytteisiin pipetoidaan 0,5 ml N-(1-naftyyli)-etyleeniamiiniliuosta ja sekoitetaan pulloja kääntelemällä. Mittaus suoritetaan aikaisintaan 20 minuutin ja viimeistään 2 tunnin kuluttua viimeisestä reagenssillisäyksestä. (5.)

Nitraatti

Suoritus: Kyvetiin pipetoidaan hitaasti 1,0 ml:aa näytettä ja 0,2 ml:aa LCK 339 A -reagenssia. Putkea sekoitetaan jolloin liuos kuumenee huomattavasti. Annetaan reagoida 15 minuuttia, jonka jälkeen muodostunut väri mitataan Hach Lange -spektrofotometrillä. Fotometri tunnistaa kyvetin kyljessä olevan viivakoodin ja valitsee oikean metodin sen mukaan.

Ammonium				
	Teoreettinen pitoisuus (mg/l)	Laskettu pitoisuus (mg/l)	Area (uS*min)	Height (uS)
1.	0,01	0,0113	0,0027	0,0139
2.	0,10	0,0985	0,0397	0,1933
3.	0,50	0,4994	0,2114	0,9379
4.	0,75	0,7519	0,3124	1,3393
5.	1,00	0,999	0,4008	1,6818
Kloridi				
	Teoreettinen pitoisuus (mg/l)	Laskettu pitoisuus (mg/l)	Area (uS*min)	Height (uS)
1.	0,2	0,1708	0,0954	0,7571
2.	1,0	0,9743	0,5442	5,0838
3.	5,0	5,0153	2,8013	26,1321
4.	7,5	7,5035	4,1911	39,0260
5.	10,0	9,9929	5,5816	51,9793
Nitriitti				
	Teoreettinen pitoisuus (mg/l)	Laskettu pitoisuus (mg/l)	Area (uS*min)	Height (uS)
1.	0,02	0,025	0,0042	0,0393
2.	0,05	0,0486	0,0133	0,1095
3.	0,10	0,0951	0,0314	0,2450
4.	0,50	0,5017	0,1882	1,5040
5.	1,00	0,9996	0,3774	3,2104
Sulfaatti				
	Teoreettinen pitoisuus (mg/l)	Laskettu pitoisuus (mg/l)	Area (uS*min)	Height (uS)
1.	0,5	0,4403	0,1980	1,5541
2.	5	5,0261	2,0360	17,2982
3.	10	10,0816	4,0616	33,9627
4.	25	24,9407	10,0117	78,1544
5.	50	50,0113	20,0387	140,6853
Nitraatti				
	Teoreettinen pitoisuus (mg/l)	Laskettu pitoisuus (mg/l)	Area (uS*min)	Height (uS)
1.	0,02	0,0211	0,0041	0,0293
2.	0,10	0,1009	0,0275	0,1922
3.	0,50	0,4957	0,1447	0,9702
4.	1,00	1,0026	0,2988	2,0369
5.	2,50	2,4998	0,7766	5,2954

Peak Name	Cal.Type	Cal.Basis	RSD %	R ²	Offset (c ₀)	Slope (c ₁)	Curve (c ₂)
Ammonium	QOff	Height	0,4412	0,99997	-0,0097	2,1019	-0,4092
Kloridi	Lin	Area	0,6608	0,99989	0	0,5612	0
Nitriitti	QOff	Area	1,2742	0,99991	-0,0049	0,3755	0,0195
Sulfaatti	QOff	Area	0,4756	0,99998	0,0219	0,4007	0
Nitraatti	QOff	Area	0,4481	0,99999	-0,0021	0,2924	0,0076

Lin, Linear (30, s. 111):

$$F(x) = c_1 * x$$

YHTÄLÖ 1.

QOff, Quadratic with Offset (30, s. 113):

$$F(x) = c_0 + c_1 * x + c_2 * x^2$$

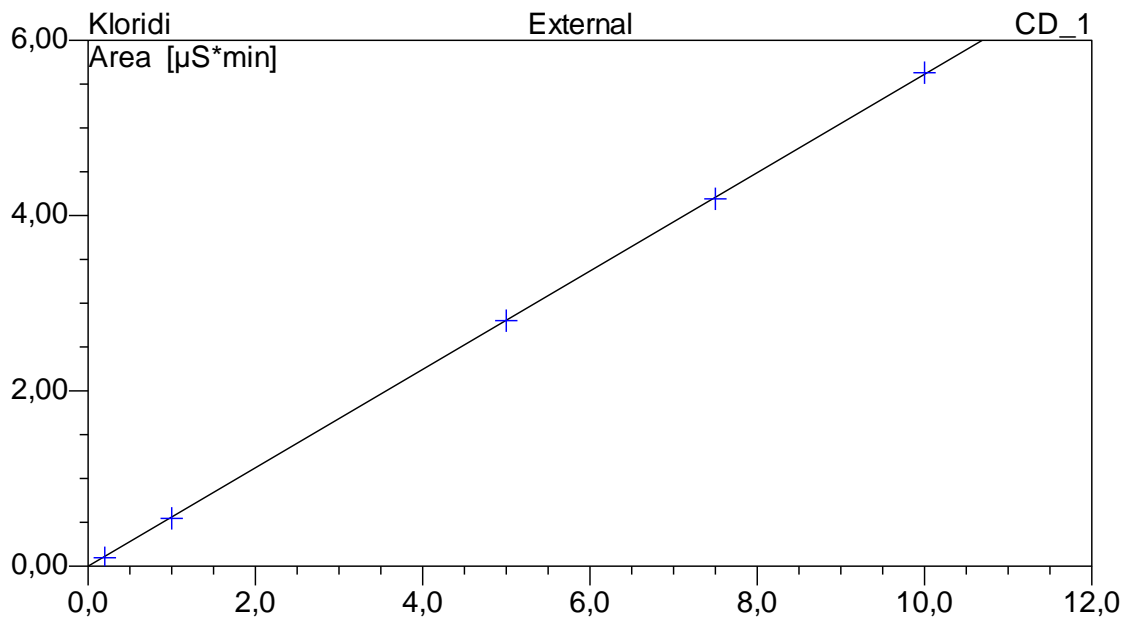
YHTÄLÖ 2.

Joissa

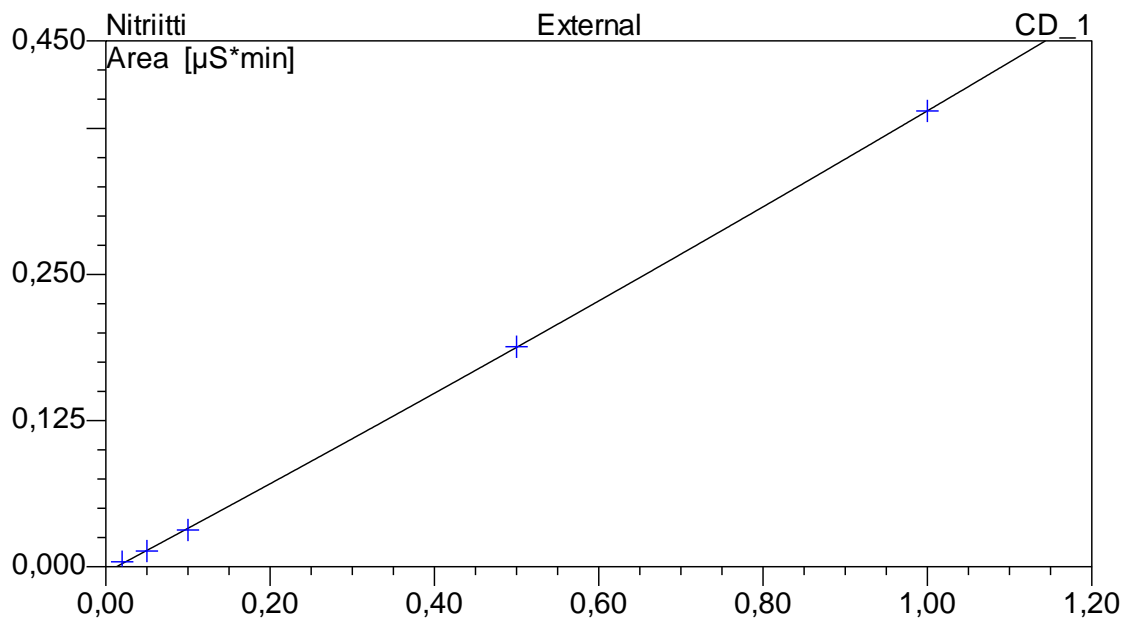
c₀ = Offset, leikkauspiste

c₁ = Slope, kulmakerroin

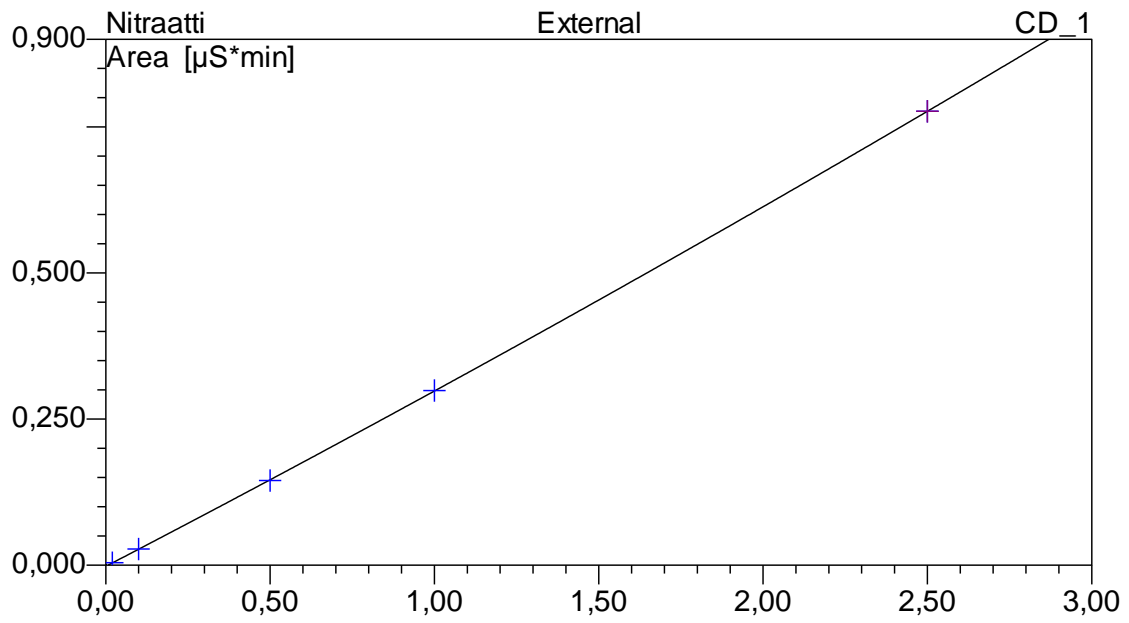
c₂ = Curve, kaartumista kuvaava arvo.



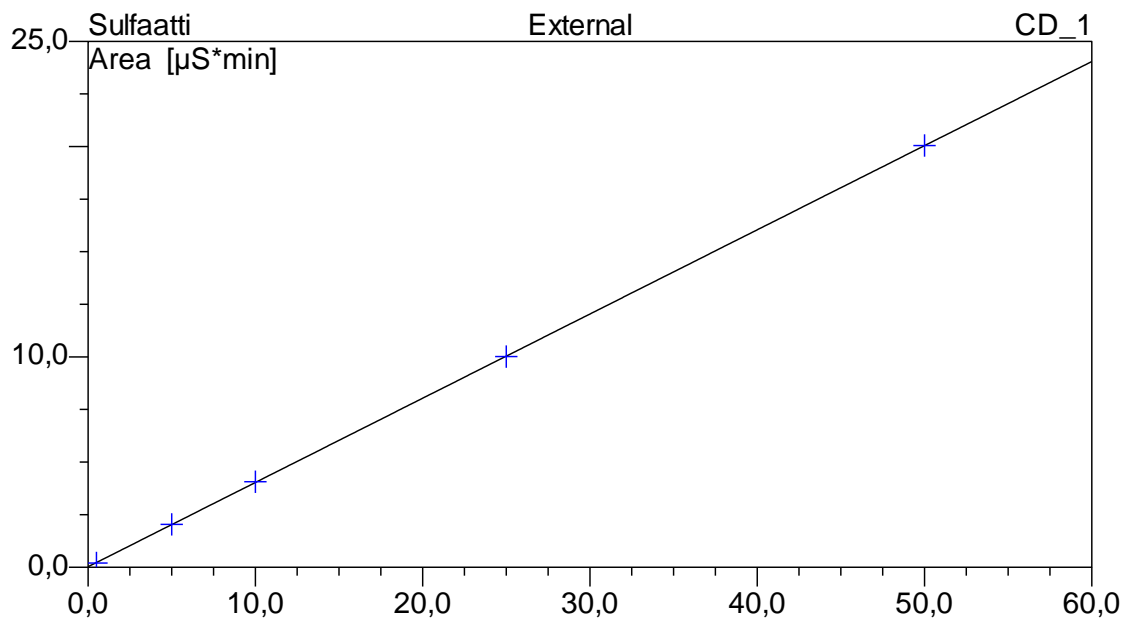
KUVA 19. Kloridin kalibroitikuvaaja.



KUVA 20. Nitriitin kalibroitikuvaaja.



KUVA 21. Nitraatin kalibrointikuvaaja.



KUVA 22. Sulfaatin kalibrointikuvaaja

	Ammonium NH₄⁺	Kloridi Cl⁻	Nitriitti NO₂⁻	Sulfaatti SO₄²⁻	Nitraatti NO₃⁻
1.	0,0128	0,2031	0,0301	0,3883	0,0276
2.	0,0122	0,2037	0,0303	0,3867	0,0285
3.	0,0124	0,1994	0,0300	0,3851	0,0265
4.	0,0125	0,2000	0,0298	0,3928	0,0287
5.	0,0131	0,1880	0,0299	0,3810	0,0267
6.	0,0131	0,1865	0,0302	0,3867	0,0284
7.	0,0131	0,1896	0,0298	0,3866	0,0268
8.	0,0135	0,1876	0,0305	0,3887	0,0267
9.	0,0143	0,1871	0,0303	0,3839	0,0273
10.	0,0138	0,1862	0,0305	0,3867	0,0270
Keskiarvo	0,0131	0,1931	0,0301	0,3867	0,0274
Keskihajonta	0,0007	0,0074	0,0003	0,0031	0,0008
RSD %	5,0 %	3,8 %	0,9 %	0,8 %	3,0 %
LOD (3s)	0,0020	0,0223	0,0008	0,0093	0,0025
LOQ (10s)	0,0065	0,0742	0,0026	0,0310	0,0083

Ammonium ammoniumtypeksi:

$$C(\text{NH}_4\text{N}) = \frac{C(\text{NH}_4)}{1,2878}$$

Nitriitti nitriittitypeksi:

$$C(\text{NO}_2\text{N}) = \frac{C(\text{NO}_2)}{3,2844}$$

Nitraatti nitraattitypeksi:

$$C(\text{NO}_3\text{N}) = \frac{C(\text{NO}_3)}{4,4266}$$

DIONEX ICS-5000 -PIKAOHJE

Alkutarkastukset

Tarkista aluksi että tasapainotus on onnistunut ja ajo-olosuhteet ovat oikein:

- Virtausnopeus molemmilla kanavilla: 0,250 ml/min (1. välilehti)
- Eluentit: 12 mM KOH, 20 mM MSA (1. välilehti)
- Paine: Pump1 noin 1800 psi, Pump2 noin 2100 psi (1. välilehti)
- Detektorien total signalit: CDet1: noin 0,200 μ S, CDet2: noin 0,100 μ S (Cond. Detector -välilehdet)

Näytteiden ajaminen

1. Kaada näytettä näyteputkeen merkkiin asti, sulje putki korkilla ja aseta karuselliin.
2. Avaa **Browser** ja valitse Oulun Vesi/TALOUSVESI-sekvenssi.
3. Lisää sekvenssiin uusi näyte klikkaamalla viimeisintä näytettä ja painamalla näppäimistöä nuoli alaspäin ↓.
4. Laita näytteelle haluamasi nimi (**Name**), oikea paikka (**Pos.**). Ohjelman pitäisi olla automaattisesti **MultistepGradient_12_44_52_12**.
5. Kun tiedot ovat oikein, on näyte valmis ajettavaksi. Lisää loput näytteet samalla tavalla.
6. Ajon käynnistäminen: Valitse yläpalkista **Batch**, tarkista että luettelossa on oikea sekvenssi (TALOUSVESI) ja klikkaa **Start...** Jos sekvenssi ei ole luettelossa automaattisesti, lisää se valitsemalla **Add...** ja etsimällä oikea sekvenssi.
7. Näytteitä voi lisätä sekvenssiin myös ajon aikana. Laite ajaa käynnissä olevan sekvenssin näytteet järjestyksessä ylhäältä alas.

Lepotila ja tasapainottaminen

1. Laita karuselliin 2 näyteputkea joissa milliQ-vettä.
2. Lisää näyte LEPOTILA-sekvenssiin. Valitse ohjelmaksi (Program) **Sleep** ja katso että **Pos.** on oikein.

3. Lisää toinen näyte HERÄTYS-sekvenssiin. Valitse ohjelmaksi (Program) **WakeUp** ja katso että **Pos.** on oikein.
4. Lisää sekvenssit valitsemalla **Batch** → **Edit...**
5. Valitse **Add...** ja lisää ensin LEPOTILA. Valitse sitten taas **Add...** ja lisää HERÄTYS.
6. Klikkaa HERÄTYS-nimeä ja valitse **Set delay...** laita ruksi kohtaan **Set Delayed Start of Sequence** ja aseta haluamasi kellonaika ja päivämäärä. Hyväksy painamalla **OK**.
7. Valitse **Start**.

Tulosten tarkastelu

Tulokset näkyvät Browser-ikkunassa sekvenssissä omissa sarakkeissaan. Kromatogrammin saa auki tuplaklikkaamalla halutun näytteen nimeä. Chromeleon-ohjekirjassa on tarkemmat ohjeet integrointiin, mutta se ei ole aina tarpeellista.

Prime eli ilmaaminen

Pumpun ilmaaminen kannattaa suorittaa vesisäiliöiden täyttämisen jälkeen. Avaa pumpun ruuvia vähintään puoli kierrosta vastapäivään. Paina Panel Tabsetin etusivulta molempien pumppujen kohdalta punainen **Prime**-nappi vihreäksi. Ilmakuplat lähtevät liikkeelle letkuja pitkin. Ilmaus pysähtyy viiden minuutin kuluttua. Jos ilmakuplat on saatu liikkeelle heti, voi ilmaamisen sammuttaa aiemminkin klikkaamalla Prime-napit takaisin punaiseksi. Sulje lopuksi aiemmin avatut ruuvit. Klikkaa napit takaisin vihreäksi (punaiseksi jäävät ainoastaan kaksi Prime-nappia).

Ajo-ohjelman tekeminen ja muokkaaminen

Valitse Chromeleonin valikosta File → New → Program File. Valitse Timebase: ICS5000_Anion. Ohjelman tekemisessä kannattaa pitää mielessä että Channel_1 on anionikanava ja Channel_2 kationikanava.

1. Pump_# Options: Ensimmäiseksi määritetään pumpun asetukset: Halutaanko virtausnopeudesta tehdä gradientti vai pidetäänkö tasainen (Isoc-

- ratio) virtausnopeus. Asetukset määritetään molemmille pumpuille erikseen.
2. EGC_# Options: Seuraavaksi määritetään eluentit molemmille kanaville erikseen. Eluentit ovat 1-kanavalle EGC KOH ja 2-kanavalle EGC MSA. Concentration-laatikosta voidaan valita, pidetäänkö ohjelmassa vain yhtä eluenttipitoisuutta (Isocratic) vai tehdäänkö gradienttiao (Multi-Step Gradient). CR-TC -asetus pidetään kohdassa On.
 3. Flow Gradient Options: Mikäli valitsit gradienttiao, ohjelma pyytää sinua nyt suunnittelemaan gradientin. Retention [min] -sarakeeseen asetetaan aika ja Concentration -sarakeeseen haluttu pitoisuus.
 4. Sample Preparation Options: Seuraavassa ikkunassa (Sample Preparation Options) voidaan säätää joitakin näytteensyöttöön liittyviä asetuksia. Näihin ei ole tarvinnut yleensä koskea, joten rastioletukset riittävät ajoihin.
 5. Acquisition Options: Tähän määritellään kuinka kauan laite kerää dataa, eli ts. kuinka kauan ajo kestää. Aseta To: -ruutuun haluamasi ajoaika. Select data acquisition channels / devices -luettelosta valitaan ne laitteet, joilta halutaan kerätä tietoa. Jos halutaan kerätä tietoa molemmilta detektoreilta, ruksitaan CDet1 ja CDet2.
 6. CDet# Options: Seuraavaksi kysytään detektoreiden asetuksia. Varmista seuraavat asetukset:
 - a. Data Collection Rate: 5,0 Hz
 - b. Autozero: Yes
 - c. Temp. Comp: 1,7 %/°C
 - d. Cell Temp: 30,00 °C ja alla ruksi On.
 7. DC Options: Tarkista asetukset:
 - a. Column ja Compartment -lokeroissa ruksattuna Use ja molemmat asetettu On.
 - b. Column Temperature 30 °C ja ruksi Wait / Ready.
 - c. Compartment Temperature 17 °C ja ruksi Wait / Ready.
 8. Suppressor# Options: Kirjaa Eluent Concentration -ruutuun korkein käytämäsi eluentin pitoisuus kullakin kanavalla. Laite antaa Current -lokeroon käytettävän suppressorin virran. 1-kanavan KOH-gradientin

korkein pitoisuus asetetaan Hydroxide-ruutuun ja 2-kanavan MSA-gradientin korkein pitoisuus seuraavassa ikkunassa MSA-ruutuun.

9. Relay and State Devices Options: Näihin asetuksiin ei tarvitse peruskäytössä koskea.
10. Completion: Anna ajo-ohjelmillesi nimi, valitse Save the program immediately ja tallenna se klikkaamalla Valmis. Ohjelma kysyy nyt sekvenssiä, johon haluat tallentaa ohjelmasi.

Tallennettua ohjelmaa voi nyt käyttää valitsemalla se sekvenssin Program-valikosta.