



Osaamista
ja oivallusta
tulevaisuuden
tekemiseen

Niko Niemi

Gallery Plus -analysointilaitteen validointi fosfaattifosforin määrittämiseen makeista luonnonvesistä

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Laboratorioanalytiikka (AMK)

Laboratorioanalytiikka

Opinnäytetyö

31.10.2021

Tekijä Otsikko Sivumäärä Aika	Niko Niemi Gallery Plus -analysointin validointi fosfaattifosforin määrittämiseen makeista luonnonvesistä 37 sivua + 7 liitettä 31.10.2021
Tutkinto	laboratorioanalyttikko (AMK)
Tutkinto-ohjelma	laboratorioanalytiikka
Ohjaajat	kemisti Hanna Kahelin lehtori Mia Ruismäki
<p>Opinnäytetyö suoritettiin Helsingissä sijaitsevassa Metropolilab Oy:ssä, ja tavoitteena oli validoida uusi Gallery Plus – diskreettialysointilaitteisto fosfaattifosforin mittaamiseen makeista luonnonvesistä. Tarkoituksena on käyttöönottaa uusi Gallery Plus -analysointilaitteisto laboratoriossa vanhemman Aquakem-diskreettialysointilaitteen rinnalle mittaamaan ravinteita vesistövesinäytteistä. Aquakem-diskreettialysointilaitteisto sisältää jo akkreditoitun menetelmän fosfaattifosforin mittaamiseen, ja tämä sama menetelmä on myös siirretty uudelle analysointilaitteistolle. Validoinnin parametrit olivat lineaarisuus ja mitta-alue, toteutus- ja määrittämissuorituskyky, toistettavuus ja uusittavuus, oikeellisuus sekä mittausvarmuus.</p> <p>Gallery Plus on automaattinen analysointilaitteisto, jota käytetään spektrometriin määrittämiin. Siinä värireaktiot tapahtuvat inkubaattoreissa olevissa kyvetissä, joihin lisätään automaattisesti näyte sekä reagenssit. Absorbanssi mitataan inkuboinnin päättymisen jälkeen sopivalla aallonpituudella. Värireaktio perustuu standardiin SFS-EN ISO 6878. Diskreettialysointilaitteisto on luotu analysoimaan useita näytteitä lyhyessä ajassa, mikä vähentää fyysisen työn määrää.</p> <p>Validoinnissa käytettiin näytteinä todellisia luonnonvesi- ja vertailunäytteitä sekä reagensseina molybdaattia ja askorbiinihappoa, jotka valmistettiin standardiin SFS 3025 perustuvan menetelmäohjeen mukaan. Opinnäytetyö suoritettiin tekemällä useita mittauksia eri näytteistä useamman päivän ajan, sillä Gallery Plus -analysointilaitteistolla pystytään helposti mittaamaan monta näytettä päivässä.</p> <p>Työ onnistui hyvin, ja validointi täytti asetetut vaatimukset. Määrittämissuorituskykyksi fosfaatin määrittämiseen saatiin 2 µg/l, joka vastaa Aquakem-analysointilaitteen määrittämissuorituskykyä. Minimivaatimuksena oli päästä vähintään samalle tasolle Aquakem-analysointilaitteen kanssa, mutta tulos oli silti pettymys, sillä uudella laitteella toivottiin pääsevän vielä alhaisempiin rajoihin. Muilla fosfaattia analysoivilla menetelmillä kuten ionikromatografialla tai virtausinjektioanalyysillä (FIA) voidaan päästä vieläkin alhaisempiin määrittämissuorituskykyihin, sillä niitä voidaan optimoida enemmän verrattuna diskreettialysointilaitteistoihin. Gallery Plus -analysointilaitteisto voidaan ottaa käyttöön Metropolilabissa analysoitaessa fosfaattifosforia makeista vesistövesistä.</p>	
Avainsanat	Gallery Plus, fosfaattifosfori, Aquakem, validointi

Author Title	Niko Niemi Validation of the Gallery Plus Analyzer for the Determination of Phosphate Phosphorus from Fresh Natural Waters
Number of Pages Date	37 pages + 7 appendices 31 October 2021
Degree	Bachelor of Laboratory Services
Degree Programme	Laboratory Sciences
Instructors	Hanna Kahelin, Chemist Mia Ruismäki, Senior Lecturer
<p>This thesis study was carried out at Metropolilab Oy, which is located in Helsinki, and the aim of the study was to validate the new Gallery Plus - discrete analyzer for measuring phosphate phosphorus from fresh natural waters. Metropolilab intends to introduce a new Gallery Plus analyzer in the laboratory alongside the older Aquakem discrete analyzer to measure nutrients from freshwater samples. The Aquakem Discrete Analyzer already includes an accredited method for measuring phosphate phosphorus, and this same method has also been transferred to a new analyzer. Validation parameters of this study were linearity and measuring range, limit of detection and limit of quantitation, repeatability, reproducibility, accuracy and measurement uncertainty.</p> <p>Gallery Plus is an automated analyzer used for spectrometric determinations. In it, color reactions take place in cuvettes in incubators, to which the sample and reagents are automatically added. Absorbance is measured after the incubation at the appropriate wavelength. The color reaction is based on the standard SFS-EN ISO 6878. Discrete analyzers are designed to analyze multiple samples in a short amount of time, which reduces the amount of physical work.</p> <p>Actual natural water and reference samples were used for validation, as well as molybdate and ascorbic acid as reagents, which were prepared according to the method guide based on standard SFS 3025. The thesis work was performed by doing several measurements of different samples over several days, as the Gallery Plus analyzer can easily measure many samples per day.</p> <p>The work was successful, and the validation met the requirements. The quantitation limit for the determination of phosphate was 2 µg/l, which corresponds to the quantitation limit for the Aquakem analyzer. The minimum requirement was to reach at least the same level as the Aquakem analyzer, but the result was still disappointing, as the new analyzer was expected to reach even lower limits. Other phosphate analytical methods, such as ion chromatography or flow injection analysis (FIA), can achieve even lower quantitation limits as they can be further optimized compared to discrete analyzers. The Gallery Plus analyzer can now be used in the Metropolilab to analyze phosphate phosphorus from fresh water.</p>	
Keywords	Gallery Plus, phosphate phosphorus, Aquakem, validation

Sisällys

Lyhenteet

1	Johdanto	1
2	Fosfori ja sen merkitys vedessä	3
3	Tekniikat fosfaatin määrittämiseen vedestä	4
3.1	Spektrometrinen menetelmä	4
3.1.1	Toimintaperiaate ja käyttö fosfaatin määrittämisessä	4
3.1.2	Molybdeeninsininen-reaktio	5
3.2	Ionikromatografinen menetelmä	5
3.2.1	Toimintaperiaate ja käyttö fosfaatin määrittämisessä	6
3.2.2	Keinoja alhaisempaan määrittämissrajaa pääsemiseksi	7
3.3	Automatisoidut menetelmät	8
3.3.1	Diskreettianalyysi	8
3.3.2	FIA	10
3.3.3	CFA	11
3.3.4	Keinoja alhaisempaan määrittämissrajaa pääsemiseksi	12
3.3.5	Automatisoitujen tekniikoiden erot	13
3.4	Muita menetelmiä fosfaatin määrittämiseen	14
4	Käytettävä menetelmä	15
4.1	Gallery Plus – diskreettianalyysilaitteisto	15
4.2	Näytteet ja reagenssit	17
5	Työn suoritus ja tulokset	18
5.1	Lineaarisuus ja mittausalue	18
5.2	Toteutus- ja määrittämissraja	20
5.3	Toistettavuus ja uusittavuus	21
5.4	Oikeellisuus	24
5.5	Mittausepävarmuus	26
5.5.1	Satunnaisvirhe ja laboratorion sisäinen toistettavuus	26
5.5.2	Systemaattinen virhe	30
5.5.3	Laajennettu mittausepävarmuus	31

6	Yhteenveto	32
	Lähteet	34
	Liitteet	
	Liite 1. Kalibrointisuorien konsentraatiot sekä absorbanssit	
	Liite 2. Gallery Plus -analysaattorilta saadut nollanäytteiden pitoisuudet	
	Liite 3. Toistettavuus- ja uusittavuusmittausten tulokset	
	Liite 4. Gallery Plus ja Aquakem-analysaattorien vertailuajat	
	Liite 5. Pitoisuustason 0–100 µg/l suoralla analysoidut sertifioidut referenssimateriaalit	
	Liite 6. Kaikkien validoinnissa ajettujen näyteparien saadut tulokset, keskiarvot, keskihajonnat ja suhteelliset keskihajonnat sekä sen neliöt	
	Liite 7. Kontrollinäytteiden suhteelliset keskihajonnat eri pitoisuustasoilla	

Lyhenteet

CFA	<i>Continuous Flow Analysis</i> . Jatkuvan virran analyysi
DA	<i>Discrete Analysis</i> . Diskreettianalyysi
FIA	<i>Flow Injection Analysis</i> . Virtausinjektioanalyysi
FINAS	<i>The Finnish Accreditation Service</i> . Suomen akkreditointipalvelu
HTMA	<i>Hexadecyl-Trimethyl Ammonium</i> . Heksadekyylitrimetyyliammoniu
IC	<i>Ion Chromatography</i> . Ionikromatografia
ICP-MS	<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i> . Induktiivisesti kytketty plasma – massaspektrometri
IR	<i>Infrared</i> . Infrapunasäteily
LCFC	<i>Long way Capillary Flow Cells</i> . Pitkän matkan kapillaarivirtauskyvetti
LOD	<i>Limit of Detection</i> . Toteamisraja
LOQ	<i>Limit of Quantitation</i> . Määrittäysraja
PAMB	<i>Phosphoantimonyl-Molybdenum Blue</i> . Fosfoantimonyylimolybdeeninsininen
PMoB	<i>Phosphomolybdenum Blue</i> . Fosfomolybdeeninsininen
PTFE	<i>Polytetrafluoroethylene</i> . Polytetrafluorieteeni
RC	<i>Reaction Coil</i> . Reaktiokierukka
RSD	<i>Relative Standard Deviation</i> . Suhteellinen keskihajonta

SYKE *Finnish Environment Institute.* Suomen ympäristökeskus

UV *Ultraviolet.* Ultravioletti

VIS *Visible Spectrum.* Näkyvän valon spektri

1 Johdanto

Opinnäytetyö toteutettiin Helsingin Viikissä sijaitsevassa Metropolilab Oy:ssä, joka on Suomen akkreditointipalvelun (The Finnish Accreditation Service, FINAS) akkreditoima testauslaboratorio, jonka palveluihin kuuluu ympäristö-, vesi- ja elintarvikeanalyysit. Tutkimuksia tehdään laajalla alueella, ja niihin kuuluu esimerkiksi vesinäytteiden kemialliset ja mikrobiologiset analyysit, elintarvikkeiden kemiallinen ja mikrobiologinen laatu, haitta-aineet sekä pilaantunut maaperä ja sedimentti. [1.]

Opinnäytetyössä oli tavoitteena selvittää erilaisia analyysitekniikoita, joilla olisi mahdollista päästä alhaisiin määritysrajoihin analysoitaessa fosfaattifosforia vesistövesistä, kuten pinta- ja pohjavesinäytteistä. Käytännön työ suoritettiin käyttämällä Metropolilabin uutta Gallery Plus -diskreettialyysiaattoria, jolle validoitiin menetelmä fosfaatin analysoimiselle luonnonvesinäytteistä. Metropolilabilla on käytössä vanhempi Aquakem-diskreettialyysiaattori, joka sisältää menetelmän fosfaatin analysointiin. Vanhemman analyysiaattorin menetelmää käytettiin uuden analyysiaattorin validoinnin yhteydessä, joten uutta menetelmää ei tarvinnut luoda. Tavoitteena oli myös tutkia päästäkö uudella Gallery Plus -analyysiaattorilla alhaisempiin määritysrajoihin kuin vanhalla Aquakem -analyysiaattorilla.

Alhaisen määritysrajan löytäminen fosfaatille pinta- ja pohjavesistä perustuu Suomen ympäristökeskuksen (Finnish Environment Institute, SYKE) tekemään laatusuositukseen, jonka tarkoituksena on edistää ympäristömittausten laatutasoa sekä parantaa jäljitettävyyttä. Laatusuosituksessa on annettu määritysrajojen lisäksi myös suosituksia vesistä määritettävien analyyttien akkreditoinnille, mittausepävarmuuksille sekä näytteiden säilytysajoille ja säilytystavoille. Erityisesti määritysrajojen kohdalla on suosituksissa otettu huomioon tarpeet pienten pitoisuuksien määrittämiseen. Suomen vesistä on esimerkiksi tärkeää pystyä määrittämään pieniä metallipitoisuuksia, jotta jokivesien Itämereen tuoma metallikuormitus voidaan selvittää. [2, s. 5.]

Akkreditoidun laboratoriomenetelmän perustana toimii määritysrajan ja mittausepävarmuuden laskenta. Määritysraja (Limit of Quantitation, LOQ) tarkoittaa siis pitoisuusrajaa kvantitatiiviselle määrittämiselle, jolle voidaan ilmoittaa epävarmuusarvio. Se yleensä

määritetään joko nollanäytteen hajonnan tai pienen pitoisuuden omaavien näytteiden rinnakkaistulosten keskihajonnan avulla. Nollanäytteet toimivat hyvin menetelmissä, joissa signaali voidaan saada nollanäytteestä, kuten esimerkiksi spektrometriassa. Kuitenkin mm. kromatografisissa tekniikoissa, jotka perustuvat piikkien havaitsemiseen kohinan yläpuolelta, täytyy näytteiden konsentraatioiden olla joko lähellä toteamisrajaa (Limit of Detection, LOD) tai sen yläpuolella. LOQ lasketaan yleensä kertomalla saatu keskihajonta tietyllä kertoimella, joka on kansainvälinen teoreettisen ja sovelletun kemian liiton (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) mukaan 10. Myös kertoimia 5 ja 6 käytetään joskus. Eri laboratoriot voivat käyttää erilaisia käytäntöjä määrittämissä arvioinnissa, mutta mahdollisimman lähelle todellista määrittämissärajaa päästään silloin kun huomioidaan mm. reagensseista ja astioista mahdollisesti aiheutuvat kontaminaatiot. [2, s. 21; 3, s. 21, 24.]

Suosituksia määrittämissärajoista tarvitaan pitkän aikavälin pitoisuustason sekä vesiensuojellisten tavoitteiden saavuttamisen seuraamiseksi. Määrittämissärajojen pitäisi olla ravinteille sekä muille yleisesti tutkittaville analyyteille enintään 10–50 % vesistöalueelta mitatusta alimmasta pitoisuustasosta, jotta pystytään todentamaan tulosten käyttökelpoisuus pidemmällä aikavälillä. Kun tavoitteena on alentaa analyytin pitoisuustasoa vähintään puoleen nykyisestä tietyllä vesistöalueella, niin määrittämissäraja saisi olla enintään 10 % tämän vesistöalueen alimmasta mitatusta analyytin pitoisuustasosta. Jos vedet ovat kuitenkin laadullisesti hyvässä kunnossa ja pitoisuuksia ei ole tarvetta tai niitä ei voida oleellisesti alentaa vesiensuojelutoimenpiteillä, niin määrittämissärajan tavoitteeksi saattaa näillä alueilla riittää 50 %. Alhaisen määrittämissärajan tarpeeseen vaikuttaa kuitenkin myös vuodenaika. Ravinnepitoisuudet ovat kesäaikana pieniä johtuen levätuotannosta, minkä vuoksi riittävän alhainen määrittämissäraja on merkityksellinen. Kesällä esimerkiksi fosforiyhdisteille olisi hyvä saavuttaa määrittämissäraja 3 µg/l sekä merialueilla että sisävesissä. Jopa alempia määrittämissärajoja saatetaan tarvita fosfori- ja typpiyhdisteille, mikäli levätuotantoa rajoittavasta tekijästä tarvitaan tietoa. SYKE:n laatusuosituksessa on annettu suositukset kirkkaista luonnonvesistä mitattavien analyyttien määrittämissärajoille. Fosfaattifosforin määrittämissäraja on tämän taulukon mukaan 2–5 µg/l, joten validoinnin tavoite oli päästä vähintään tälle alueelle. [2, s. 32–33.]

2 Fosfori ja sen merkitys vedessä

Fosfori on yksi yleisimmistä alkuaineista ja yleisesti sitä löytyy fosfaatin muodossa. Sillä on suuri merkitys biokemiallisissa prosesseissa ja se on myös avaintekijä pintaveden rehevöitymisessä. Fosfori on yksi tärkeimmistä perustuotantoa sekä levien kasvua rajoittavista ravinteista vesistöissä. Kokonaisfosforista puhuttaessa tarkoitetaan kaikkea vedessä olevaa fosforia, johon kuuluu eläviin, kuolleisiin ja maahiukkasiin sitoutunut fosfori sekä liuenneessa muodossa oleva fosfori. Kokonaisfosforin pitoisuuteen voi vahvasti vaikuttaa sademäärä ja siitä aiheutuva vaihtelu ravinteiden huuhtoutumisessa valuma-alueilta. Huuhtoutuvien ravinteiden määrä on yleensä suurimmillaan kasvukauden ulkopuolella, joten myös vuodenajalla on merkitystä pitoisuuteen. [4.]

Fosforista peräisin olevat fosfaatit ovat läsnä kolmessa eri muodossa: ortofosfaattina, polyfosfaattina ja orgaanisesti sitoutuneena fosfaattina. Ortofosfaatit syntyvät luonnollisilla prosesseilla ja niitä esiintyy sedimenteissä, luonnonvesissä sekä viemäreissä. Polyfosfaatteja käytetään kattiloiden syöttövesien käsittelyyn ja pesuaineisiin, mutta ollessaan vedessä ne muuttuvat orto-muotoon. Orgaanisia fosfaatteja arvioidaan yleensä fosfaatin kokonaismäärää testaamalla. Ne ovat sitoutuneet mm. kasvukudokseen, kiintoainejätteisiin tai muuhun orgaaniseen materiaaliin. Orgaanisen fosfaatin hajoessa se voidaan muuttaa ortofosfaatiksi. [5.]

Fosfaattipitoisuus on yleensä matala, etenkin puhtaissa vesistöissä, jossa pitoisuus voi olla usein jopa alle 0,03 mg/l. Suuri fosfaatin määrä vedessä on luotettava kemiallinen osoitin ulosteperäisestä saastumisesta. Esimerkiksi pitoisuus yli 0,3 mg/l antaa jo epäilyn saastumisesta. Suovesi on poikkeus, sillä siinä fosfaattipitoisuus voi olla jopa 1 mg/l. Pohjavesien fosfaattipitoisuuksia nostavat kemialliset lannoitteet. Kuitenkin tietyt maaperät pystyvät imemään fosfaattia itseensä, mikä johtaa siihen, että pohjavesi saattaa sisältää normaalin määrän fosfaattia. Juomavedessä liian suuri fosfaattipitoisuus voi johtaa mm. ruoansulatuskanavan häiriöihin. [6, s.12.]

3 Tekniikat fosfaatin määrittämiseen vedestä

Tässä osiossa käydään läpi tunnettuja sekä vähemmän tunnettuja menetelmiä, joita voidaan käyttää fosfaattipitoisuuden määrittämiseen vesinäytteistä. Tarkastellaan myös mahdollisia keinoja, joilla määrittämisrajaa voitaisiin parantaa eri menetelmillä.

3.1 Spektrometrinen menetelmä

3.1.1 Toimintaperiaate ja käyttö fosfaatin määrittämisessä

Spektrometria perustuu sähkömagneettisen säteilyn sekä aineen välisen vuorovaikutuksen mittaamiseen. Eri aineet reagoivat eri tavalla säteilyn kanssa, jolloin pystytään aineita tunnistamaan sekä määrittämään niiden pitoisuuksia. Kun sähkömagneettinen säteily osuu tutkittavaan aineeseen, se saa aikaan erilaisia prosesseja, kuten esimerkiksi muutoksia elektroni- ja vibraatiotiloissa. Tärkeimpiä aallonpituusalueita analyttisen kemian kannalta ovat ultraviolettisäteily (Ultraviolet Radiation, UV), näkyvä valo (Visible Spectrum, VIS) ja infrapunasäteily (Infrared, IR). Laitetta, jolla pystytään näitä aallonpituuksia erottelemaan toisistaan sekä mittaamaan jokaisen aallonpituuden vastaavat intensiteetit, kutsutaan spektrometriksi. Kaikki spektrometriset mittaukset perustuvat Lambert-Beerin lakiin, jonka avulla voidaan laskea aineen konsentraatio valon intensiteetin muutoksen perusteella. Spektrometrillä mitataan absorbanssia, joka on suoraan verrannollinen näytteen konsentraatioon. Lambert-Beerin laki on esitetty kaavalla 1. [7, s. 46, 52.]

$$A = \epsilon \cdot c \cdot b \quad (1)$$

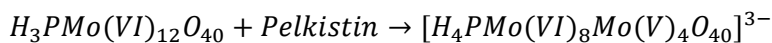
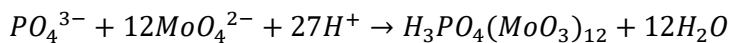
jossa A kuvastaa absorbanssia, ϵ molaarista absorptiokerrointa, c konsentraatiota ja b valotien pituutta [7, s. 52].

Fosfaattia määritetään vesinäytteistä spektrofotometrisesti käyttämällä standardia EN ISO 6878:2004. Tämä menetelmä soveltuu kaikenlaisille vesinäytteille, joihin lukeutuu myös merivesinäytteet. Ortofosfaatti-ionit reagoivat molybdaattia sekä antimoni-ioneja sisältävässä happoliuoksessa, jolloin muodostuu antimonifosfomolybdaattikompleksi. Tämän kompleksin pelkistys askorbiinihapolla johtaa voimakkaan värisen

molybdeenisisinisen kompleksin muodostumiseen. Lopuksi määritetään ortofosfaatin konsentraatio mittaamalla kompleksin absorbanssi spektrofotometrillä. Käytettävän spektrometrin on sovelluttava absorbanssin mittaamiseen näkyvän valon alueella sekä lähellä infrapuna-alueella. Herkin aallonpituus on 880 nm, mutta absorbanssia voidaan mitata myös 700 nm:ssä. Tämä kuitenkin tarkoittaa herkkyyden heikkenemistä. [8, s. 1; 3.]

3.1.2 Molybdeeninsininen-reaktio

Fosfaatin määrittäminen käyttämällä molybdeeninsininen-menetelmää on yksi käytetyimmistä reagenssipohjaisista määrittämisistä. Fosfomolybdeeninsininen-menetelmä (Phosphomolybdenum Blue method, PMoB) tuotetaan kahdessa vaiheessa, joista ensimmäisessä fosfaattianionin ympärille muodostuu polymolybdaattirakenne. Toisessa vaiheessa muodostunut keltainen fosfomolybdaatti pelkistetään sinertävän värin omaavaksi yhdisteeksi. [9, s. 335.]



Molybdeenisisinisen aiheuttama häiriö reaktiossa saadaan estettyä, kun molemmat reaktiot tehdään vahvasti happamassa liuoksessa, jossa pH on 0–1. Askorbiinihapon käyttö pelkistimenä antimonin ollessa läsnä parantaa molybdeenisisinisen muodostumisnopeutta, tehden menetelmästä soveltuvan mm. automatisoituihin tekniikoihin. [9, s. 335.]

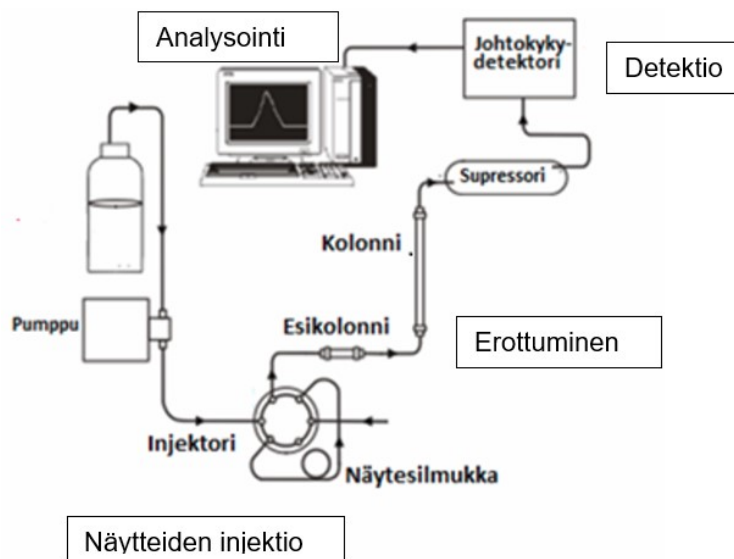
3.2 Ionikromatografinen menetelmä

Kromatografia perustuu tasapainoon. Eri aineilla on erilainen koko, erilaiset kemialliset ominaisuudet ja sähkövarauksien määrä. Kromatografiassa on kaksi faasia: liikkuva sekä kiinteä faasi, joista toinen voi olla esimerkiksi hydrofobinen ja toinen hydrofiilinen. Ionit saadaan aineesta erottumaan siten, että ne ovat jakautuneet joko hydrofiiliseen tai hydrofobiseen faasiin. Ionit liikkuvat eteenpäin ollessaan liikkuvassa faasissa ja pysyvät paikallaan stationäärifaasissa. [7, s. 140; 10, s. 6.] Tässä osiossa käydään läpi

ionikromatografian toimivuutta fosfaatin määrittämisessä sekä mahdollisia keinoja, joilla päästäisiin parempiin määrittämissä rajoihin.

3.2.1 Toimintaperiaate ja käyttö fosfaatin määrittämisessä

Ionikromatografiaa käytetään pääanionien, kuten fluoridin, kloridin, sulfaatin, nitraatin, nitriitin sekä fosfaatin konsentraatioiden määrittämiseen vesipitoisista näytteistä. Näiden lisäksi voidaan myös määrittää orgaanisten happojen pitoisuuksia. Ionikromatografia on nestekromatografian muoto, jossa ionit tarttuvat stationäärifaasiin sähköisillä voimilla. Näiden ionien pitoisuudet määritetään sen mukaan, kuinka hyvin ne ovat vuorovaikutuksessa stationäärifaasin kanssa. Eri ionit erottuvat eri lailla riippuen mm. niiden koosta. Näyteliuokset kulkevat paineistetun kolonnin läpi, jossa sen sisältämät ainesosat adsorboivat ionit. Kun eluentti, eli uuttoneste virtaa kolonnin läpi, niin ionit alkavat erottua kolonnista. Laitteen detektori tunnistaa nämä ionit niiden saapumisjärjestyksessä. Näytteen komponentit ilmestyvät detektorille eri aikaan, mikä johtaa siihen, että kromatogrammissa olevat piikit pystytään erottamaan toisistaan. [11; 7, s. 141.] Kuvassa 1 on esitetty ionikromatografian periaate.



Kuva 1. Ionikromatografian toiminta yksinkertaistettuna [12, s. 8, muokattu].

Ionikromatografiaa voidaan käyttää fosfaatin määrittämiseen jäte-, prosessi-, juomasekä luonnonvesistä ja se yleensä suoritetaan käyttäen ionivaihtokromatografiaa

konduktimetrisen tai spektrofotometrisen detektion kanssa. Kuitenkin jos analysoidaan erittäin puhdasta luonnon vettä niin jonkinlainen esiväkevöinti saattaa olla tarpeen suoraa injektointia varten. Vaihtoehtoisesti voidaan injektoida suuri määrä näytettä. Merivedet sisältävät yleensä paljon kloridia, joka saattaa häiritä fosfaatin määrittystä. Kloridin pitoisuutta voidaan alentaa laimentamalla tai käyttämällä pieniä esikolonneja. Tällaiset lähestymistavat kuitenkin saattavat vähentää herkkyyttä, mikä tekeekin fosfaatin havaitsemisen avoimen merien vesistä vaikeampaa. [13, s. 343–344.]

3.2.2 Keinoja alhaisempaan määrittämissärajaa pääsemiseksi

Ionikromatografiassa on erilaisia keinoja, kun halutaan laskea määrittämissärajaa. On mahdollista käyttää sopivan suuruista näytemäärää näytteessä olevan pitoisuuden mukaisesti. Injektoitava näytemäärä on yleensä normaaliskaalan ionikromatografeissa pitoisuuden mukaan noin 5–1000 µg. Näytteet yleensä myös sisältävät fosfaatin lisäksi muitakin anioneita, joten ioninvaihtokerätykseen syötettävää näytemäärää ei voida kuitenkaan kasvattaa loputtomiin, jotta päästäisiin esimerkiksi pitoisuustasolle, joka on alle 10 µg/l. Tällöin voidaan käyttää konsentroitikolonnia, johon on mahdollista kerätä näytteen sisältämiä anioneita todella pienistä näytetilavuuksista. Tällä tekniikalla pystytään määrittämään fosfaattipitoisuuksia todella alhaiselle tasolle asti. [14.]

Käytetyt konsentroitikolonit ovat lyhyitä, yleensä 35–50 mm:n pitkiä, jotka sisältävät stationaarifaasin, joka on identtinen tai hyvin samanlainen kuin analyttisissä kolonneissa. Esikolonnia käytetään esimerkiksi usein konsentroitikolonnina. Sen toiminta perustuu siihen, että suhteellisen puhtaasta vesipitoisesta näytematriisista ”irrotetaan” ylimääräiset ionit, mikä johtaa haluttujen ionien konsentroitintaan ja täten myös pienempiin toteamisrajoihin. Käyttämällä konsentroitikolonneja voidaan suorittaa rutiinianalyyssejä ioneille alhaisilla µg/l pitoisuuksilla ilman laajaa tai työlästä näytteen esikäsittelyä. Kuitenkin tarkkojen ja toistettavien tulosten saamiseksi on käytettävä asianmukaisia tekniikoita kontaminaation estämiseksi. [15, s. 1.]

Todella pienien pitoisuuksien määrittämisessä ionikromatografilla ongelmana on laitteen luotettava kalibrointi. Kalibrointistandardien valmistus halutulle alueelle (1 µg/l) aiheuttaa helposti virhettä, sillä pienikin kontaminaatio vähentää kalibrointien sekä kontrollien tarkkuutta ja toistettavuutta hyväksyttävän luotettavuusrajan huonommalle puolelle. Tällöin

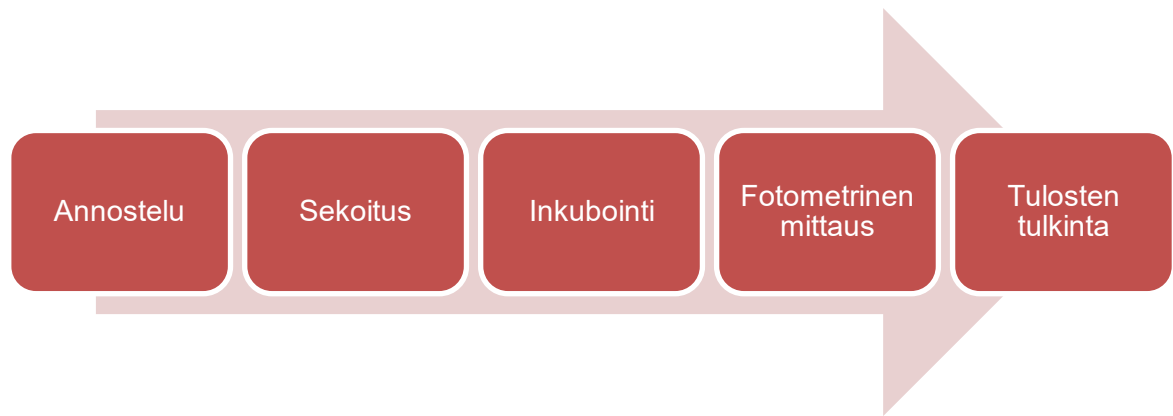
voidaan käyttää kahden näytesilmukan tekniikkaa, jossa kalibrointiliuokset on tehty esimerkiksi 100-kertaa korkeammalle pitoisuusalueelle kuin haluttu mittausalue. Käytettävässä laitteessa on kaksi kiinteää näytesilmukkaa, esimerkiksi 10 µl ja 1000 µl. Näiden kahden tilavuuden välinen suhde eli faktori määritetään mittaamalla näytteestä bromidi käyttäen vuorotellen molempia silmukoita, mikä jälkeen verrataan saadut pinta-alat. Näin saadaan selville tarkka faktori, jota tarvitaan myöhemmissä mittauksissa. Bromidi on hyvä anioni tässä faktorin määrittämisessä, sillä se ei yleensä tule matriisina astioista tai vedestä. Valmistetut kalibrointiliuokset mitataan 10 µl:n näytesilmukalla ja tutkittavat näytteet 1000 µl:n silmukalla. Saadut tulokset jaetaan aikaisemmin saadun faktorin avulla. [14.]

3.3 Automatisoidut menetelmät

Automatisoidut tekniikat helpottavat työvaiheita, varsinkin analysoitaessa suuria määriä näytteitä, näyteprosessin kuten hajotuksen tai erottumisen ollessa hidasta tai kun analyttiset mittaukset on tehtävä verkossa ja ilman valvontaa [13, s. 345]. Tässä osiossa käydään läpi kolme automatisoitua tekniikkaa, joilla voidaan fosfaatti määrittää vesistä. Nämä tekniikat ovat diskreettialyysi (Discrete Analysis, DA), jatkuvan virran analyysi (Continuous Flow Analysis, CFA) sekä virtausinjektioanalyysi (Flow Injection Analysis, FIA).

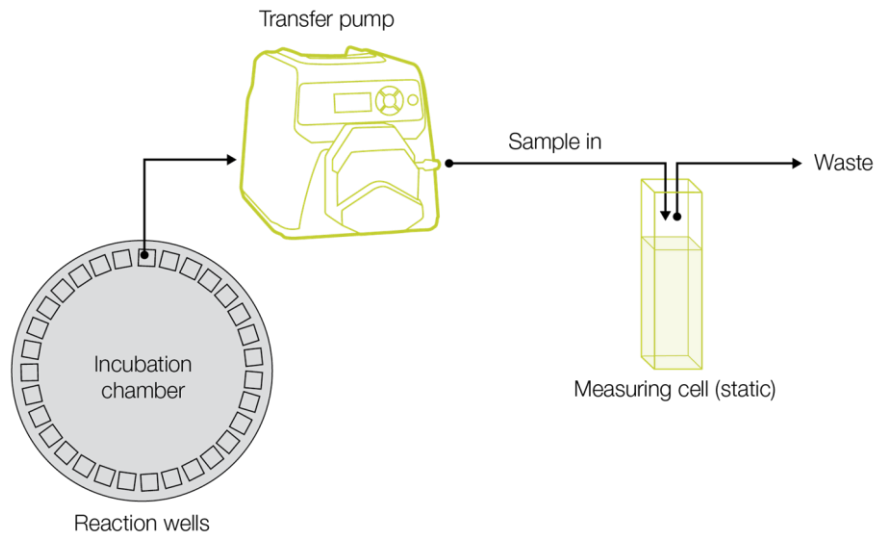
3.3.1 Diskreettialyysi

Diskreettialyysiaattori on automaattinen järjestelmä, jota käytetään joko spektrofotometriseen tai turbidimetriseen määrittämiseen. Siinä värireaktiot tapahtuvat inkubaattorissa olevissa reaktioastioissa kuten kyveteissä. Etukäteen asetetut näytemäärät sekä reagenssit lisätään automatisoidusti näihin kyvetteihin ja ne sekoitetaan. Liuoksen absorbanssi mitataan inkubointijakson päättymisen jälkeen sopivalla aallonpituudella. [16.] Kuvassa 2 on esitetty diskreettialyysin vaiheet eriteltyinä. Diskreettialyysiaattorit koostuvat neljästä komponentista: fotometristä, annosteluantureista näytteiden ja reagenssien lisäämiseksi, inkubaattorista reaktiolämpötilan säätämiseksi sekä sekoittajasta [16].



Kuva 2. Diskreettianalyysin vaiheet

Diskreettianalyysaattorit voidaan jakaa kahteen ryhmään riippuen lopullisen fotometrisen mittauksen suorituksesta. Suoran lukemisen diskreettianalyysaattorissa näytteen ja reagenssien lisäys sekä lopullinen mittaus tehdään samassa kertakäyttöisessä kyvetissä. Tämä eliminoi mm. kyvettien huuhteluvaiheen ja parantaa merkittävästi näytteen suorituskykyä, sillä kontaminaatiota ei tule muista näytteistä koska kaikki näytteet analysoidaan omissa kyveteissä. Fuusiodiskreettianalyysaattorissa (kuva 3) näyte, reagenssien lisäys sekä värin muodostus tehdään kertakäyttöisissä reaktioastioissa ja lopullinen fotometrinen mittaus staattisessa läpivirtauskyvetissä. Värin muodostumisen jälkeen näyteliuos siirtyy kertakäyttöastioista annostelijan tai peristalttisen pumpun avulla läpivirtauskyvetiin analysoitavaksi. Tässä samassa kyvetissä tehdään kaikki analyysit, joten se on huuhdeltava perusteellisesti näytteiden välillä deionisoidulla vedellä tai puskureilla, mikä vähentää suorituskykyä. Yksi fuusiojärjestelmän suurimmista eduista kuitenkin on mahdollisuus muuttaa staattisen mittauskyyvetin valotien pituutta, minkä avulla voidaan tutkia pienempiä pitoisuuksia mm. vesimatriiseista. [17.]

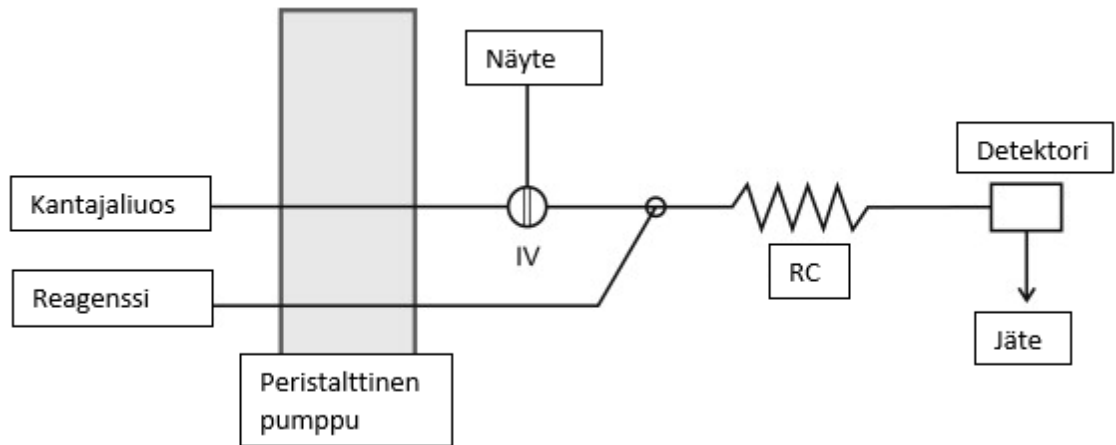


Kuva 3. Fuusiodiskreettianalysaattorin toimintaperiaate. Näyte siirtyy värireaktion jälkeen inkubointikammioista peristalttisen pumpun avulla mittauskyvettiin analysoitavaksi. [17.]

Fosfaatin määrittäminen diskreettianalysaattorilla perustuu spektrometriseen määrittämiseen standardiin ISO 6878, jossa fosfaatti reagoi ensin molybdaatti- sekä antimoni-ionien kanssa happamassa ympäristössä, jonka jälkeen se pelkistetään askorbiinihapolla vahvan sinisen värin omaavaksi yhdisteeksi. Absorbanssi mitataan spektrometrilla käyttämällä aallonpituutta 880 nm, jolla saadaan näytteen sisältämä fosfaattikonsentraatio. [8, s.1]

3.3.2 FIA

FIA on tekniikka, jota käytetään paljon ympäristö- ja lääketieteen sekä maatalouskemian aloilla. Siinä nestemäinen näyte injektoidaan jatkuvasti virtaavaan nestemäiseen kantajaan, joka sisältää näytteen kanssa reagoivan reagenssin. Näytevyöhyke laajenee näytteen virratessa injektorista detektoriin. Reagenssi ja näyte reagoivat keskenään muodostaen värillisen kompleksin, jonka absorbanssi voidaan mitata. [18, s. 234; 19, s. 471.] FIA-analysaattorilla voidaan helposti käsitellä 100 näytettä tunnissa. Verrattuna esimerkiksi ”eräprosesseihin”, joissa yksittäiset näytteet analysoidaan erikseen niin FIA-analysaattorin etuja ovat mm. nopeus sekä alhainen hinta. [19, s. 471–472.] FIA-laitteen toimintaperiaate on esitetty kuvassa 4.

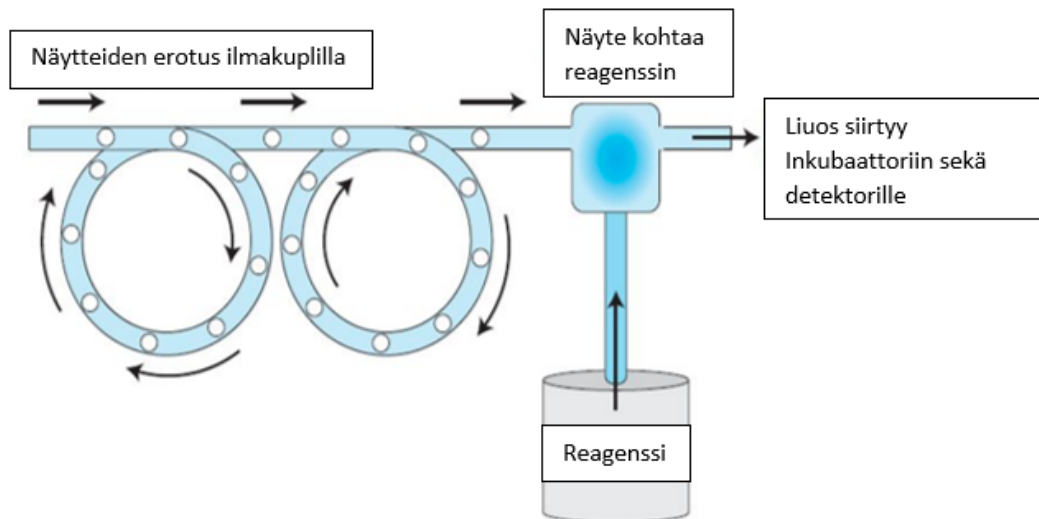


Kuva 4. FIA-analysaattorin toimintaperiaate. Näyte injektoidaan reagensseja sisältävään kantajavirtaan, jossa analyttien reagoi muodostuu värillinen kompleksi. Peristalttinen pumppu työntää nestettä joustavan letkun läpi. Reaktiokierukassa (Reaction Coil, RC) tapahtuu näytteen ja reagenssin välinen reaktio. [20, muokattu.]

Fosfaatti voidaan määrittää vesistä FIA-analysaattorilla käyttämällä standardia SFS-EN ISO 15681-1. Näyte injektoidaan kantajavirtaan, jossa se reagoi happaman ammoniummolybdaattiliuoksen kanssa muodostaen molybdofosforihappoa. Tina(II)kloridia käyttämällä voidaan saatu molybdofosforihappo pelkistää molybdeeninsiniseksi. [21 s. 1–2.]

3.3.3 CFA

CFA:ssa näyte injektoidaan virtaavaan kantajaliuokseen, joka kulkee nopeasti pienikokoisen putken tai letkun läpi. Näyte reagoi putkessa olevan reagenssin kanssa, jolloin muodostuu värillinen kompleksi ja näytepitoisuus voidaan määrittää. Virtausolosuhteet ovat huolellisesti kontrolloituja, joten värinmuodostumisreaktio on toistettavissa. Tämä tarkoittaa, että värimittauksen näytteestä voi suorittaa, vaikka reaktio ei ole edennyt loppuun asti. [22.] Periaate on hyvin samantyylinen FIA-tekniikan kanssa, mutta CFA-tekniikassa pumpataan näytteiden ja reagenssien lisäksi myös ilmaa. Näytteet erotellaan ilmakuplien avulla, jonka jälkeen vasta lisätään reagenssi. Tämä idea on esitetty kuvassa 5. [23.]



Kuva 5. CFA:n toimintaperiaate, jossa näyte erotellaan käyttämällä ilmakuplia [23, muokattu].

Fosfaatti voidaan määrittää vesistä CFA-analysaattorilla käyttämällä standardia SFS-EN ISO 15681-2. Menetelmää pystytään soveltamaan mm. juoma-, pinta-, pohja- ja jätevesille. Myös merivesien analysointi on mahdollista, mutta se vaatii muutoksia herkkyydessä mukauttamalla kalibrointi- ja kantajaliuokset näytteiden suolapitoisuuteen. CFA:ssa käytetään myös spektrofotometristä detektiota, kuten diskreettialysaattorissa sekä FIA:ssa. Riippuen halutusta pitoisuusalueesta voidaan fotometri varustaa 10–50 mm:n kyvetteillä, mutta äärimmäisiin herkkyyksiin voidaan käyttää 250 mm sekä 500 mm pitkän matkan kapillaarivirtauskyvettejä (Long way Capillary Flow Cell, LCFC). [24, s. 6.]

3.3.4 Keinoja alhaisempaan määrittämissärajaksi pääsemiseksi

Parempaan määrittämissä- ja toteamisrajaan voidaan yrittää päästä laitteita optimoimalla, kuten kokeilemalla erimittaisia kyvettejä, joita mm. FIA-laitteessa on mahdollista käyttää. Kyvetin valotien pituudella on vaikutus laitteen herkkyyteen. Lämpötilan vaikutusta määrittämissärajaksi voidaan myös tutkia. FIA sisältää vastuksen, jonka ympärillä menevässä letkussa kulkevat reagenssi ja injektoitu näyte. Tämän vastuksen lämpötilaa muuttamalla voidaan mahdollisesti laskea laitteen herkkyyttä. Laitteessa on myös erillinen näytesilmukka, johon näyte kerätään ennen kantajavirtaan injektointia. Näytteen tilavuutta voidaan lisätä muuttamalla tämän silmukan pituutta, jolloin näytettä voidaan injektoida enemmän. Tämän avulla saadaan parempi värireaktio sekä laitteen antama vaste.

Autoanalysaattorit käyttävät myös spektrometristä detektiota, joten spektrometrin asetuksia kuten ajo-ohjelmaa muokkaamalla voidaan myös saavuttaa parempi herkkyys. [25, s. 25–26.]

CFA:n herkkyyttä voidaan nostaa käyttämällä erityisiä virtauskyvettejä, jotka on suunniteltu käytettäväksi Skalar-yhtiön San++-laitteelle. Tämä kyveti yhdistää nostetun optisen 50 cm:n tai 100 cm:n valotien pituuden pieneen näytemäärään. Tämän avulla voitaisiin päästä todella pieniin fosfaattipitoisuuksiin jopa haastavista näytematriiseista kuten merivesistä. [26.] Diskreettialysaattoreiden määritys- ja toteamisraja voidaan optimoida käyttämällä optimaalista lasikyvetiä, jonka valotien pituus on 10 mm [27].

3.3.5 Automatisoitujen tekniikoiden erot

CFA, FIA sekä DA ovat kaikki analysaattoreita, joita käytetään ympäristöanalytiikassa analyttien, kuten fosfaatin ja typen yhdisteiden tutkimiseen. Tästä huolimatta niistä löytyy silti eroja. FIA on pohjimmiltaan CFA:n johdannainen, jossa ei ole ilman segmentointia. Molemmat näistä tekniikoista sekoittavat näytteen ja reagenssit jatkuvasti virtaavassa virrassa. Letkujen pituus, joissa reaktiot tapahtuvat ja mistä reagenssit syötetään ovat muutamia tekijöitä, jotka vaikuttavat mm. tapahtuvaan reaktioon ja herkkyyteen. CFA:n segmentointi rajoittaa dispersiota, joten se on letkujen pituudessa hiukan FIA:ta anteeksiantavampi. Esimerkiksi ylimääräisen putken lisääminen FIA-laitteeseen saattaa muuttaa merkittävästi piikin muotoa ja herkkyyttä, kun taas CFA-laitteelle, sillä ei ole merkitystä. [28.] Diskreettialysaattorit ovat taas ihanteellisia silloin kun määritetään useita ja erilaisia testejä eri näytteille, ja ne pystyvätkin tarjoamaan nopeamman analyttisen prosessin verrattuna muihin automaattisiin analysaattoreihin [27].

3.4 Muita menetelmiä fosfaatin määrittämiseen

Fosfaatin määrittämiseen vesistä on olemassa myös muita vähemmän tunnettuja menetelmiä, joita ei yleensä näe useimmissa laboratorioissa. Esimerkiksi tavanomaisella spektrofotometrillä pystytään tutkimaan alhaisia fosfaattipitoisuuksia pintavesistä sekä oligotrofisista vesistä membraanuuuttomenetelmällä, jossa käytetään hydrofiilistä polytetrafluorieteeni (Polytetrafluoroethylene, PTFE) - kalvosuodatinta. Valmistettu fosfoantimonyylimolybdeeninsininen (Phosphoantimonyl-Molybdenum Blue, PAMB) reagoi heksadekyylitrimetyyliammonium (Hexadecyl-Trimethyl Ammonium, HTMA) – ionien kanssa ultraäänihauteessa ollessaan. Aineiden täytyy myös olla jäähauteessa, jotta reaktio voi tapahtua. Tämä muodostaa PAMB- ja HTMA-ioniparin. Suodatuksen kautta tämä ionipari kiinnittyy PTFE-kalvosuodattimeen, jonka jälkeen se uutetaan asetonitrilillä. Käyttämällä 10 ml asetonitriliä uuttoluottimena 100 ml:n vesinäytteessä voidaan saada toteamisrajaksi fosfaatille 0,80 µg/l. [29.]

Induktiivisesti kytketty plasma–massaspektrometri (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-MS) - tekniikkaa ei yksinään voida käyttää fosfaatti-ionien määrittämiseen, mutta yhdistettynä esimerkiksi ionikromatografiin (Ion Chromatograph, IC) tulee se mahdolliseksi. Näissä tapauksissa ICP-MS:ää käytetään kromatografilaitteiden detektorina, ja tämä mahdollistaa suuremman herkkyuden verrattuna siihen, jos käytettäisiin pelkästään ionikromatografia. [30.] Artikkelissa ”Determination of glyphosate and phosphate in water by ion chromatography—inductively coupled plasma mass spectrometry detection” kuvataan juuri tätä menetelmää määrittäessä pieniä glyfosaatti- sekä fosfaattipitoisuuksia vedestä. Tässä ionien erotus tehdään IC:llä ja detektio ICP-MS:llä. Glyfosaatin ja fosfaatin erotus käytettävässä kolonnissa suoritetaan eluoimalla näytettä 20 nM:lla sitruunahapolla nopeudella 0,50 ml/min. ICP-MS detektoi analyytit selektiivisesti massa-varaussuhteella. Artikkelissa tehdyn tutkimuksen mukaan näytettä injektoidessa 500 µl, saadaan toteamisrajaksi fosfaatille 0,7 µg/l. [31; 13, s. 342.]

Kapillaarielektroforeesia on myös sovellettu ortofosfaatin määrittämiseen vesinäytteistä. Se antaa paljon nopeamman anionien erottumisen verrattuna mm. ionikromatografiin. Kapillaarielektroforeesilaitteisto, jossa on tavallinen UV-detektio kärsii kuitenkin herkkyyden puutteesta, joten se ei sovellu todella alhaisten pitoisuuksien määrittämiseen. [13, s. 344.]

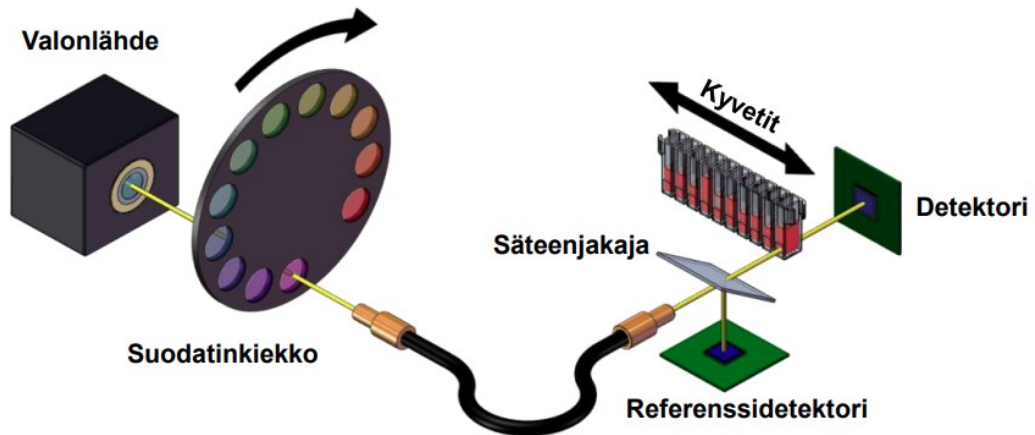
4 Käytettävä menetelmä

Menetelmäksi opinnäytetyöhön valittiin diskreettianalyysi. Laitteena käytettiin Metropolilabin uutta Thermo Scientific Oy:n Gallery Plus -diskreettianalyysiaattoria, jolle validoitiin fosfaatin määrittäminen makeille luonnonvesille, kuten puro- ja lähdevesille. Metropolilabissa on jo käytössä vanhempi Aquakem-diskreettianalyysiaattori, jossa on jo olemassa valmis, akkreditoitu menetelmä fosfaatin analysointiin. Tämän menetelmän mittaustuloksia käytettiin pohjana Gallery Plus -analyysiaattorille laaditussa mittausmenetelmässä, joten mm. inkubointiajat pidettiin samoina.

Validoinnissa määritettiin lineaarisuus ja mittaustulosalue, toteamis- ja määrittämissuorat, toistettavuus, uusittavuus, oikeellisuus sekä mittaustuloksen varmuus Metropolilabin validointiohjeen mukaan. Työstä laadittiin yrityksen sisäinen validointisuunnitelma ennen validoinnin aloitusta sekä validointiraportti työn päätyttyä.

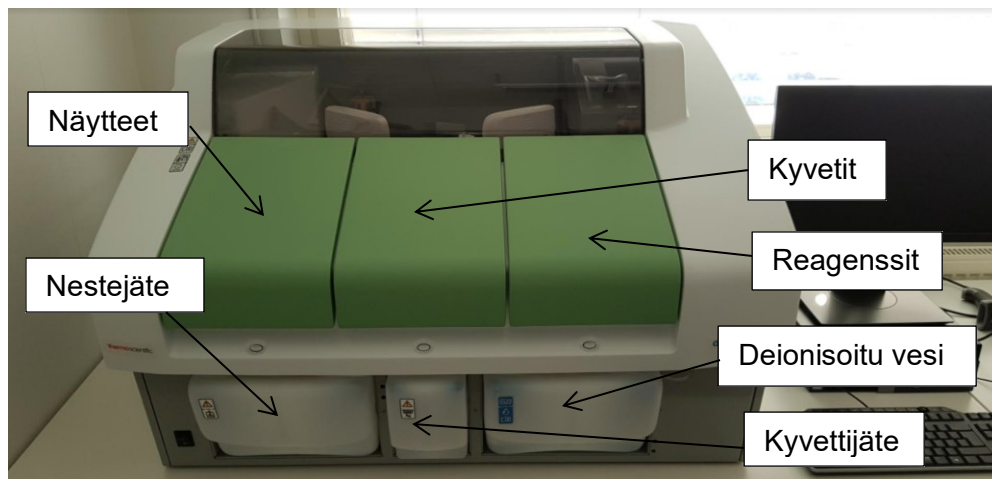
4.1 Gallery Plus – diskreettianalyysiaattori

Gallery Plus -laitteen analysointi perustuu siis fotometriseen mittaustuloksien perusteeseen, jossa aallonpituusalue on 275–880 nm. Analyysiaattorissa on pyörivä suodatinkiekko, jossa on useita eri suodattimia, jotka tuottavat eri aallonpitoisuuksia. Valonsäde osuu valittuun suodattimeen, jolloin säteestä suodattuu pois muut paitsi haluttu aallonpituus. Valonsäde kulkeutuu valokuitukaapelin ja säteenjakajan kautta näytekyvetiin absorbanssin mittausta varten. Gallery Plus -analyysiaattorin fotometrinen mittaustuloksen periaate on esitetty kuvassa 6. Eri analyysiyhdistyksille käytetään eri aallonpitoisuuksia. Fosfaattia määrittäessä käytetään aallonpituutta 880 nm, mutta aallonpituutta 275 nm voidaan käyttää mm. katuruuden mittaamiseen panimoissa. [32, s. 2.]



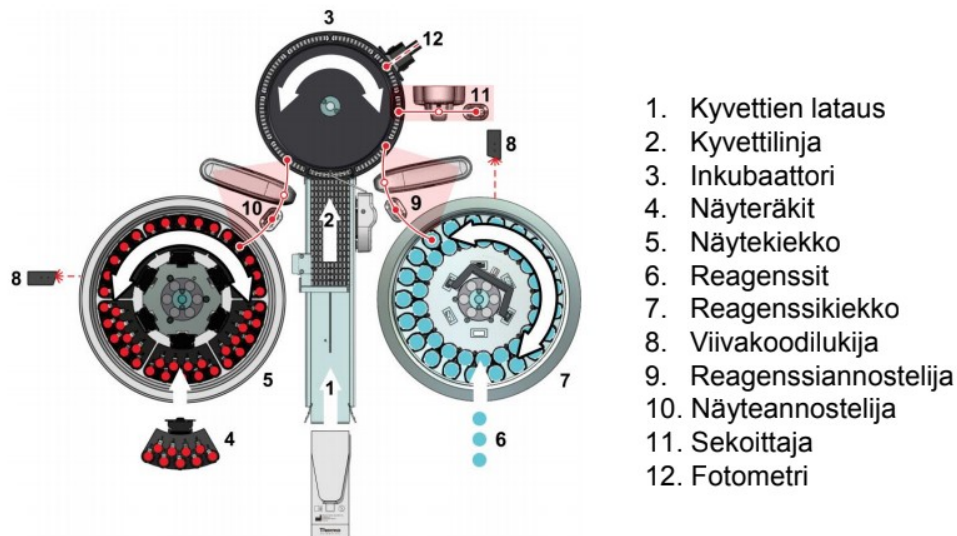
Kuva 6. Gallery Plus -analysoittorin fotometrinen mittausperiaate [32, s. 2].

Laitteesta on myös olemassa normaali Gallery-diskreettialysoittori, jonka periaate on täysin sama, mutta Gallery Plus -laitteen etuna on mm. suurempi näytekapasiteetti. Validoitava Gallery Plus -analysoittori on esitetty kuvassa 7.



Kuva 7. Gallery Plus - diskreettialysoittori

Gallery Plus -analysoittori on automaattinen menetelmä, joka pystyy ajamaan useimpia näytteitä kerralla. Kyvetit laitetaan laitteeseen, josta ne siirtyvät inkubaattoriin. Laitteessa on kaksi kiekkoa, joista toiseen laitetaan reagenssit ja toiseen näytteet. Automaattiset annostelijat lisäävät inkubaattoreissa oleviin kyvetteihin tarvittavat määrät näytettä ja reagenssia, josta ne siirtyvät sekoituksen jälkeen fotometrille mitattavaksi. Kuvassa 8 on esitetty nämä Gallery Plus -analysoittorin osat, jotka ohjaavat näyteanalyysia.



1. Kyvettien lataus
2. Kyvettilinja
3. Inkubaattori
4. Näyteräkit
5. Näytekiekk
6. Reagenssit
7. Reagenssikiekk
8. Viivakoodilukija
9. Reagenssiannostelija
10. Näyteannostelija
11. Sekoittaja
12. Fotometri

Kuva 8. Gallery Plus -analysaattorin osat, joissa analyysin vaiheet tapahtuvat automatisoidusti [32, s. 4].

Gallery Plus -analysaattorissa käytetään kertakäyttöisiä DECACELL-kyvettejä, joten kontaminaation riski on hyvin vähäinen. Laitteeseen kävivät vain nämä kyvetit, joten valotien pituutta ei ole mahdollista muuttaa alhaisemman määritysrajan saavuttamiseksi.

4.2 Näytteet ja reagenssit

Näytteinä validoinnissa käytettiin todellisia luonnonvesi- sekä vertailunäytteitä. Fosfaattimenetelmälle on olemassa omat molybdaatti- ja askorbiinihapporeagenssit sekä sokeareagenssit, jotka valmistettiin Metropolilabin mentelmäohjeen mukaan, joka perustuu standardiin SFS 3025. Reagenssit uusittiin aina tarvittaessa esimerkiksi liuosten värjäytyttyä tai loputtua. Käytettäviä sokeareagensseja käytettiin pienten fosfaattipitoisuuksien tutkimisessa. Sokeareagensseista puuttuu värireaktion aiheuttamat komponentit kuten molybdaatti, mutta ne sisältävät askorbiinihappoa. Näytteiden sameus sekä askorbiinihappo saattavat aiheuttaa pieniä häiriöitä absorbanssin mittauksessa, joten sokeareagenssien avulla saadaan juuri vähennettyä niiden aiheuttama häiriö. Ensin analysoidaan näyte, johon on lisätty mittausreagenssit. Tämän jälkeen analysoidaan sama näyte, johon on lisätty normaalien reagenssien tilalla sokeareagenssit. Sokeanäytteen tulos vähennetään saadusta näytetuloksesta. Näin saadaan parempi ja pienempi absorbanssi ja päästään mm. parempaan määritysrajaan.

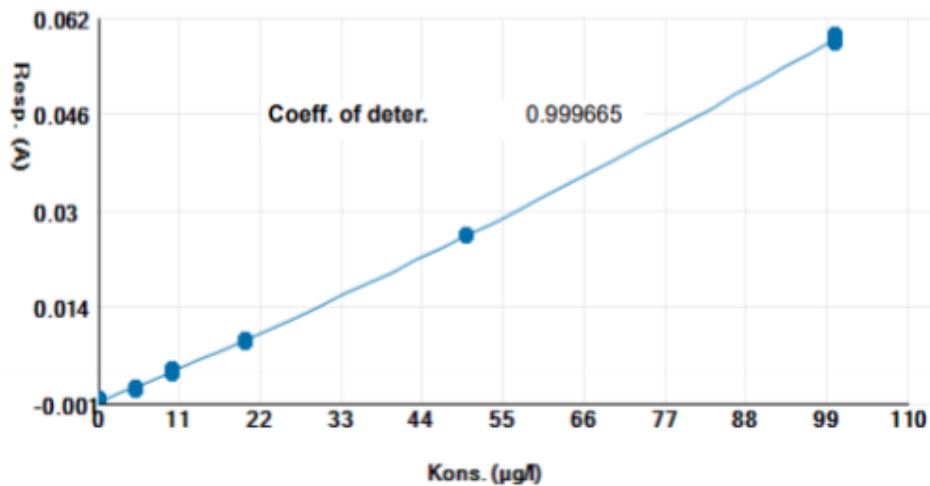
5 Työn suoritus ja tulokset

Tässä osiossa käydään läpi validoinnin suoritus sekä siitä saadut tulokset. Gallery Plus -analysaattorista suoritettiin käyttökoulutus kaikille laitteella työskenteleville työntekijöille ennen validoinnin aloitusta. Opinnäytetyö suoritettiin muiden analyyttien kuten typen yhdisteiden validoinnin ohella.

5.1 Lineaarisuus ja mittausalue

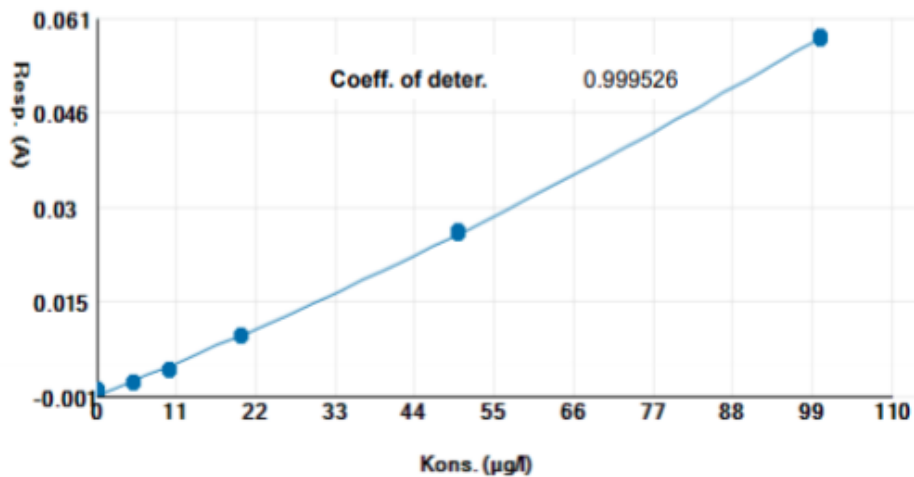
Lineaarisuutta ja mittausaluetta tutkittiin kalibrintisuorien avulla. Fosfaatin analysointiin on menetelmässä kaksi kalibrintisuoraa, joista toista käytetään alle 100 µg/l pitoisuuksille ja toista korkeamman pitoisuustason näytteille. Näiden lisäksi myös sokeanäytteille on oma kalibrintisuora. Vesinäytteitä analysoitaessa pitoisuudet laskettiin automaattisesti käyttäen pienemmän pitoisuustason suoraa sekä sokeanäytesyoraa fosfaattipitoisuuden ollessa alle 100 µg/l. Analysaattori vaihtaa automaattisesti suuremman pitoisuustason kalibrintisuoraan pitoisuuden ylittäessä 100 µg/l. Kalibroinnin pysyvyyttä tarkkaillaan säännöllisesti mitattavien kontrollinäytteiden avulla ja se uusitaan tarvittaessa.

Fosfaattia sisältävästä 100 mg/l:n kantaliuoksesta valmistettiin laimentamalla 0,1 mg/l kalibrintiliuos, josta analysaattori laimensi automaattisesti vähintään kuusi eri pitoisuutta. Laimennosten absorbanssit mitattiin, joiden jälkeen analysaattori laski automaattisesti uuden kalibrintisuoran sekä sen korrelaatiokertoimen. Uusi kalibrinti suoritettiin pienemmän pitoisuustason sekä sokeanäytteen suorille, jotka on molemmat esitetty kuvissa 9 ja 10. Nämä suorat uusittiin, koska kontrollit sekä näytteiden rinnakkaistulokset eivät validoinnin alussa olleet ideaaleja. Kaikki kalibrintisuorien pisteiden konsentraatiot sekä absorbanssit on esitetty liitteessä 1.



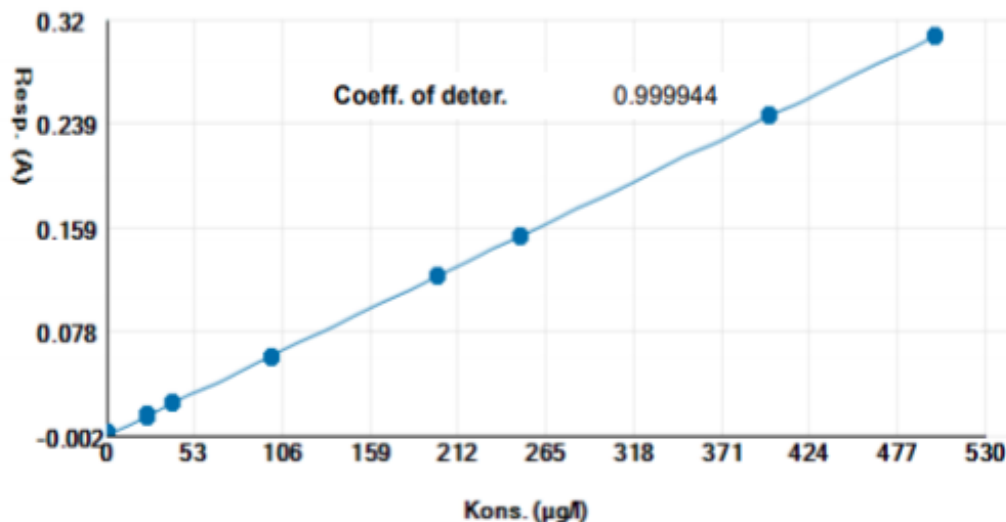
Kuva 9. Fosfaattimenetelmän kalibrintisuora, jonka mittausalue on 0–100 µg/l.

Sokeanäytesuoraa käytettiin, kun näytteiden fosfaattipitoisuudet olivat alle 100 µg/l, sillä askorbiinihapon aiheuttama häiriö absorbanssissa on niin pieni, että suuremmissa pitoisuuksissa sillä ei ole vaikutusta.



Kuva 10. Fosfaattimenetelmän sokeanäytteiden kalibrintisuora, jota käytettiin tulosten laskennassa näytteiden pitoisuuksien ollessa alle 100 µg/l.

Suuremman pitoisuustason näytteille ei validoinnin aikana suoritettu uutta kalibroitintia, sillä kontrollinäytteiden tulokset olivat hyvin rajoissa. Kuvassa 11 on esitetty kalibroitintisuora suurille fosfaattipitoisuuksille.



Kuva 11. Fosfaattimenetelmän kalibrintisuora, jonka mittausalue on 0–500 µg/l. Näytteiden pitoisuudet laskettiin käyttäen tätä suoraa, kun niiden pitoisuus ylitti 100 µg/l.

Kalibrintisuorat kattavat alueen 0–500 µg/l ja ovat osittain päällekkäin. Esimerkiksi kuvien 9 ja 11 molemmat suorat kattavat alueen 0–100 µg/l. Minimivaatimus kalibroinnin hyväksymiselle on, että korrelaatiokerroimen arvon on vähintään oltava 0,999. Kalibrintisuorista näkee, että minimivaatimus on toteutunut jokaisella suoralla.

5.2 Toteamis- ja määrittämissuorat

LOD eli toteamisraja tarkoittaa pienintä pitoisuutta, jolla voidaan todeta luotettavasti sisältääkö näyte tutkittavaa yhdistettä ja LOQ eli määrittämissuora tarkoittaa pienintä pitoisuutta, joka voidaan hyväksyttävällä tarkkuudella määrittää. Toteamis- ja määrittämissuoraa arvioitiin nollanäytteiden keskiarvosta ja keskihajonnasta käyttäen kaavoja 2 ja 3.

$$LOD = \text{nollanäytteiden keskiarvo} + 3 * \text{nollanäytteiden keskihajonta} \quad (2)$$

$$LOQ = \text{nollanäytteiden keskiarvo} + 6 * \text{nollanäytteiden keskihajonta} \quad (3)$$

Nollanäytteinä käytettiin ionivaihdettua vettä ja analysointi suoritettiin useampana päivänä. Nollanäytteitä ajettiin vähintään 10 kertaa päivässä ja mahdolliset haja-arvot, kuten negatiiviset tulokset poistettiin. Yhteenveto tuloksista on esitetty taulukossa 1.

Määritys- ja toteamisrajojen laskemiseen käytetyt nollanäytteiden ajojen tulokset on esitetty liitteessä 2.

Taulukko 1. Määritys- sekä toteamisraja, jotka on laskettu analysoiduista nollanäytteistä.

Näytteiden lukumäärä	91
Minimiarvo (µg/l)	0,620
Maksimiarvo (µg/l)	1,350
Keskiarvo (µg/l)	0,933
Keskihajonta	0,177
Toteamisraja (µg/l)	1,464
Määritysraja (µg/l)	1,996

Tavoitteena oli saada määritysraja SYKE:n laatusuosituksessa annettuihin rajoihin [2, s. 32—33]. Määritysrajaksi saatiin 91 nollanäytteen jälkeen 2 µg/l, joka täyttää SYKE:en vaatimuksen. Tämän lisäksi saadun tuloksen piti olla sama tai alhaisempi kuin käytössä olevassa Aquakem-diskreettianalysaattorissa, jossa määritysraja on 2 µg/l fosfaatille. Tulosten perusteella Gallery Plus -diskreettilaitteella päästään samaan määritysrajaan, joten minimivaatimus toteutui. Pienempään määritysrajaan kuten 1 µg/l:aan ei päästy validoinnin aikana, sillä esimerkiksi valotien pituutta ei pystytty muuttamaan. Menetelmä fosfaatin analysoimiseen on sama kuin Aquakem-analysaattorissa, joten mahdollisesti mm. näytteiden inkubointiaikaa muokkaamalla pystyttäisiin mahdollisesti vaikuttamaan määritysrajoihin jollakin tasolla. Tämä jäi kuitenkin opinnäytetyön aikataulun ulkopuolelle.

5.3 Toistettavuus ja uusittavuus

Toistettavuutta tutkitaan tekemällä näytteestä toistokokeita joko samassa sarjassa tai lyhyen ajan sisällä käyttäen samoja olosuhteita, laitteita sekä henkilöstöä. Päivän sisäiset rinnakkaismääritykset ovat esimerkiksi toistettavuutta. Uusittavuus määritetään analysoimalla samaa näytettä joko eri aikana, eri laitteella tai eri henkilön toimesta.

Toistettavuutta ja uusittavuutta arvioitiin SYKE:n vertailunäytteiden, todellisten vesistö-vesinäytteiden, erillisen sertifioidun referenssikontrollin sekä menetelmälle tarkoitettujen kontrolliliuosten avulla. Referenssikontrolli on valmistettu liuos, jossa on tarkka fosfaattipitoisuus tiedossa. Liuoksia analysoitiin kolmena eri päivänä ja jokaisesta näytteestä tehtiin seitsemän rinnakkaisajoa. Päivän sisäinen toistettavuus arvioitiin päivän sisäisten mittaustulosten suhteellisena keskihajontana (relative standard deviation, RSD %), joka on keskihajonnan prosentuaalinen osuus saadusta keskiarvosta. Päivien välinen uusittavuus laskettiin laboratorion sisäisen käytännön perusteella. Se arvioitiin päivien välisen mittausten suhteellisen keskihajonnan neliöityjen arvojen keskiarvona, ja on laskettu kaavalla 4.

Päivien välinen uusittavuus =

$$\sqrt{\left(100 * \frac{\text{päivien välisten näyteparien keskiarvo}}{\text{päivien välisten näyteparien keskihajonta}}\right)^2 + \left(100 * \frac{\text{päivien välisten näyteparien keskiarvo}}{\text{päivien välisten näyteparien keskihajonta}}\right)^2} \quad (4)$$

Toistettavuus ja uusittavuus laskettiin käyttämällä kaikkia kalibrointikäyriä, riippuen siitä ylittikö näytteen fosfaattipitoisuus 100 µg/l. Taulukoissa 2 ja 3 on esitetty yhteenveto saaduista tuloksista ja liitteessä 3 on kaikkien analysoitujen näytteiden toistettavuus- ja uusittavuusmittaukset.

Taulukko 2. Toistettavuus- ja uusittavuustulokset näytteille, joiden fosfaattipitoisuus on alle 100 µg/l.

Näyte	Keskimääräinen pitoisuus (µg/l)	Päivä 1, mittausten RSD %	Päivä 2, mittausten RSD %	Päivä 3, mittausten RSD %	Päivien välinen uusittavuus, keskiarvo %
Synteettinen näyte, SYKE (A1P)	22,81	0,86	4,50	0,69	2,88
Murtovesi, SYKE (B2P)	27,50	2,72	2,55	1,56	2,88
Jokivesi, SYKE (N3P)	34,46	0,60	0,66	0,88	0,84
Purovesi (12222-1)	67,91	0,33	0,60	0,67	4,25
Purovesi (12223-1)	2,64	3,60	6,46	6,47	9,81
Referenssi, QC RW1 (PO ₄ 99,4 µg/l)	100,31	0,76	0,46	0,29	1,70
Kontrolli (PO ₄ 5 µg/l)	5,44	4,39	3,53	4,45	7,00
Kontrolli (PO ₄ 50 µg/l)	53,05	0,51	0,81	0,62	1,24

Taulukko 3. Toistettavuus- ja uusittavuustulokset näytteille, joiden fosfaattipitoisuus on yli 100 µg/l.

Näyte	Keskimääräinen pitoisuus (µg/l)	Päivä 1, mittausten RSD %	Päivä 2, mittausten RSD %	Päivä 3, mittausten RSD %	Päivien välinen uusittavuus, keskiarvo %
Vesistövesi (1460-1)	194,17	0,26	0,21	0,30	1,02
Vesistövesi (1460-3)	318,76	0,22	0,25	0,69	0,65
Referenssi, QC RW1 (PO ₄ 99,2 µg/l)	92,40	0,19	0,37	0,25	1,06
Kontrolli (PO ₄ 50 µg/l)	47,22	0,47	1,30	0,76	1,6
Kontrolli (PO ₄ 400 µg/l)	385,6	0,87	0,42	0,81	1,09

Tulosten toistettavuus oli hyvä. Lähellä määritysrajaa pitoisuuksissa 2–5 µg/l toistettavuutta kuvaava RSD-% - arvo vaihteli 3,5–6,5 %, alle 100 µg/l pitoisuuksissa välillä 0,3–2,7 % ja yli 100 µg/l pitoisuuksissa 0,2–0,9 %. Lähellä määritysrajaa olevissa näytteissä kuten purovedessä 12223–1 keskihajonta on isompi suuremman mittauserpävarmuuden vuoksi. Näytteen koostumus vaikutti analysaattorissa myös paljon uusittavuuteen ja toistettavuuteen. SYKE:en vertailunäytteissä päivien sisäinen toistettavuus ja välinen uusittavuus oli parempi kuin tutkituissa purovesissä. Vertailunäytteet olivat paljon homogeenisempiä, kun taas purovedet olivat sakkaisempia.

Päivien välinen uusittavuus todellisten näytteiden avulla on fosfaatin analysoinnissa hankalaa, sillä se on pysymätön yhdiste ja analyysit tulisi menetelmän mukaan suorittaa 24 tunnin kuluttua näytteenotosta. Päivien välisen uusittavuuden arviot pyrittiin tekemään kolmena peräkkäisenä päivänä (liite 3). Fosfaatin pysymättömyyden takia validoinnissa käytettyjen vertailukoenäytteiden tuloksia ei voitu käyttää oikeellisuuden arviointiin, koska niitä oli validoinnin aikana säilytetty jo kuukausia.

5.4 Oikeellisuus

Oikeellisuudella tarkoitetaan mittaustuloksen oikean tai oikeaksi sovitun arvon yhteensopivuutta. Tulosten oikeellisuutta arvioitiin mittaamalla todellisia vesistövesinäytteitä ja vertaamalla tuloksia samoista näytteistä akkreditoitulla menetelmällä Aquakem-analysaattorilla saatuihin tuloksiin käyttäen parittaista t-testiä (taulukko 4). Vertailuajojen tulokset on esitetty liitteessä 4.

Taulukko 4. Parittainen kahden otoksen t-testi, jossa vertaillaan validoitavaa Gallery Plus -analyysaattoria sekä vanhempaa Aquakem-analyysaattoria 95 %:n luottamustasolla.

	<i>Gallery Plus</i>	<i>Aquakem</i>
Keskiarvo	13,67125	14,4515625
Varianssi	464,4256242	540,7160523
Havainnot	32	32
Pearsonin korrelaatio	0,997508342	
Arvioitu keskiarvojen ero	0	
va	31	
t Tunnusluvut	-1,900120905	
P(T<=t) yksisuuntainen	0,033376677	
t-kriittinen yksisuuntainen	1,695518783	
P(T<=t) kaksisuuntainen	0,066753353	
t-kriittinen kaksisuuntainen	2,039513446	

Vertailuna ajettiin 32 makean vesistöveden näytettä Aquakem-analyysaattorin kanssa samana päivänä. T-testissä tarkasteltiin saatua p-arvoa, joka kuvastaa onko tulosten välillä tilastollista eroa. Gallery Plus -laitteella saatujen tulosten keskiarvo 13,67 µg/l (n=32) ei eronnut tilastollisesti merkittävästi Aquakem-analyysaattorilla saadusta keskiarvosta 14,45 µg/l (n=32), sillä kaksisuuntaisen t-testin tulos 0,06675 ylittää arvon 0,05.

Haasteena oli kuitenkin löytää todella suuria pitoisuustason näytteitä, sillä fosfaattipitoisuudet ovat yleensä varsin alhaisia makeissa luonnonvesissä. Vaihtoehtona on myös lisätä fosfaattia manuaalisesti eli spiikata näytteitä, jolloin saataisiin suurempia fosfaattipitoisuuksia, mutta tämä jäi opinnäytetyön aikataulun ulkopuolelle.

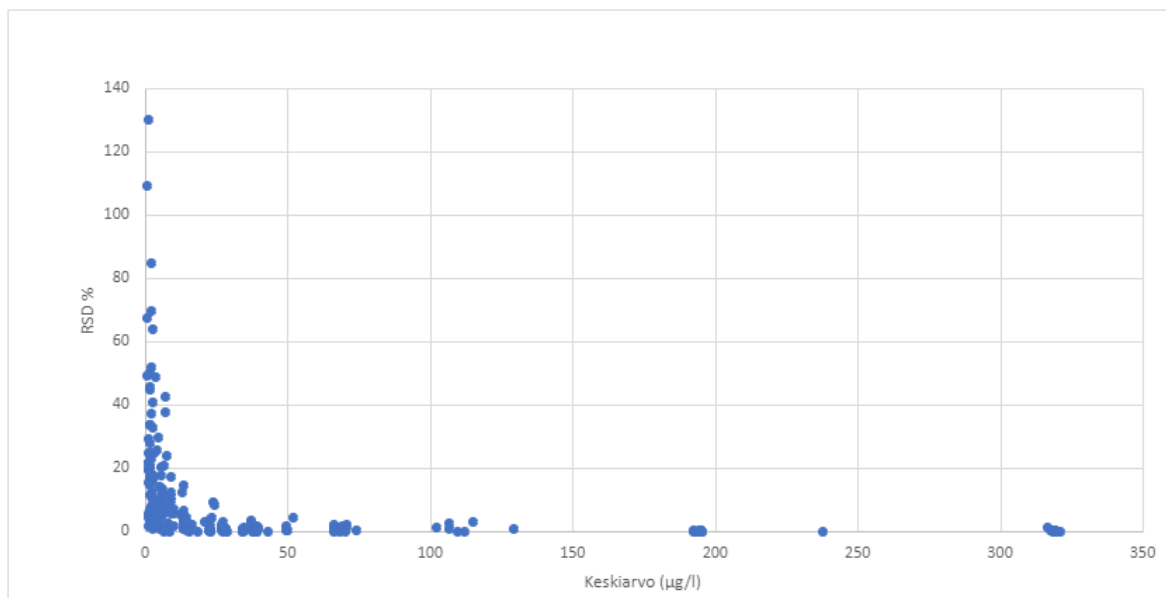
Oikeellisuutta arvioitiin myös sertifioidun referenssimateriaalin (QC RW1) avulla. Sen sisältämän fosfaattipitoisuuden tulisi olla 99,2 µg/l, joten sitä analysoitiin käyttäen molempia kalibrintikäyriä kuten taulukoissa 2 ja 3 on esitetty. Pitoisuusalueen 0–100 µg/l kalibrintisuoraa käyttämällä saatiin oikeellisemmat tulokset kuin suuremman pitoisuustason suoralla. Kaikki pienemmän pitoisuustason suoralla analysoidut referenssimateriaalin pitoisuudet on esitetty liitteessä 5. Mittausepävarmuutta laskiessa käytettiin näitä tuloksia. Validointia päivitetään myöhemmin vielä oikeellisuuden osalta. Osallistumalla laboratorioden välisiin vertailututkimuksiin ja mittaamalla eri pitoisuustason sertifioituja referenssimateriaaleja saadaan oikeellisuusarviota tarkennettua tulevaisuudessa.

5.5 Mittausepävarmuus

Mittausepävarmuus koostuu systemaattisesta sekä satunnaisesta virheestä ja se saadaan laskettua validoinnista saatujen tulosten perusteella. Satunnaisvirhe eli laboratorion sisäisen toistettavuuden arvio voidaan laskea todellisten näytteiden rinnakkaistulosten ja kontrollinäytteiden suhteellisen keskihajonnan avulla. Systemaattista virhettä taas arvioidaan yleensä pitoisuudeltaan tunnettujen näytteiden, kuten vertailu- ja kontrollinäytteiden avulla. Laajennettu mittausepävarmuus U (95 %, $k = 2$) laskettiin kontrolli- ja vertailukoenäytteiden mittaustuloksista sekä todellisten näytteiden rinnakkaistuloksista oppaan Nordtest Technical report 537 ed. 3,1 Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories mukaisesti [33].

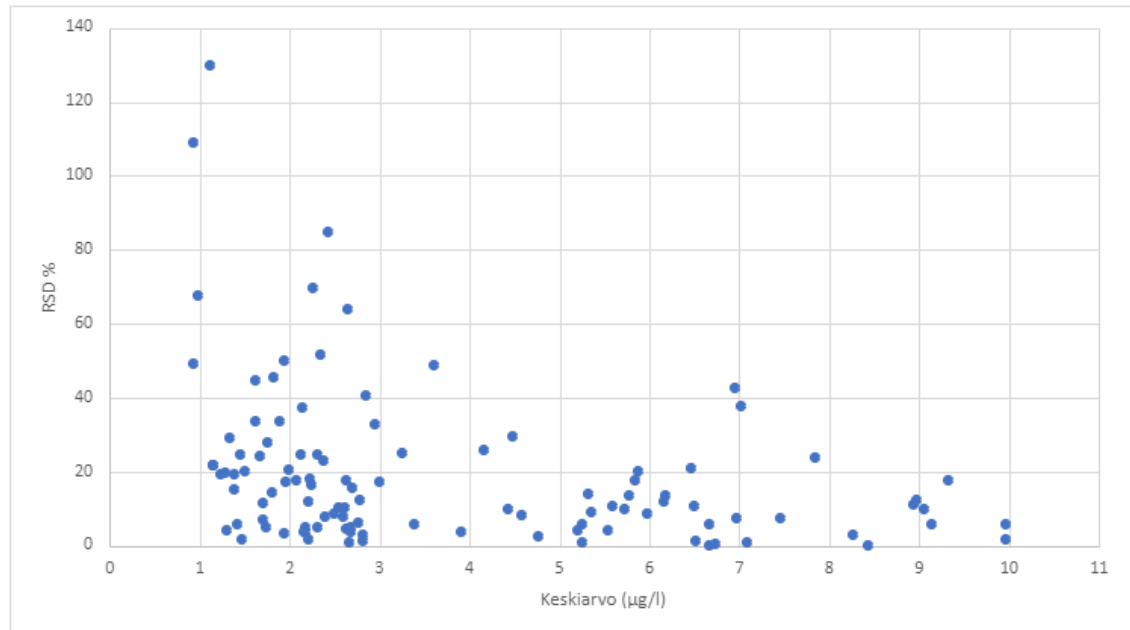
5.5.1 Satunnaisvirhe ja laboratorion sisäinen toistettavuus

Satunnaisvirheen arviointiin käytettiin kaikkia validoinnin aikana analysoituja todellisia vesistövesinäytteitä. Näytteiden tulokset taulukoitiin pareina eri rinnakkaisina, jolloin jokaisesta näytteestä oli vähintään kaksi tulosta. Näytteet, joita käytettiin mm. toistettavuuden ja uusittavuuden analysoimisessa muodostivat useamman näyteparin, sillä niistä oli ajettu useampia rinnakkaisia. Pitoisuusvälin haluttiin olevan mahdollisimman suuri, joten erillisiä näytteitä ajettiin vielä, jotta fosfaattipitoisuusväliä saatiin suurennettua ja hajontaa näkyisi selvästi. Näytepareista laskettiin keskiarvo, keskihajonta, RSD-prosentti sekä sen neliö. Kaikki analysoidut ja lasketut tulokset on esitetty liitteessä 6. Näyteparien suhteellinen keskihajonta esitettiin niiden keskiarvon funktiona (kuva 12).

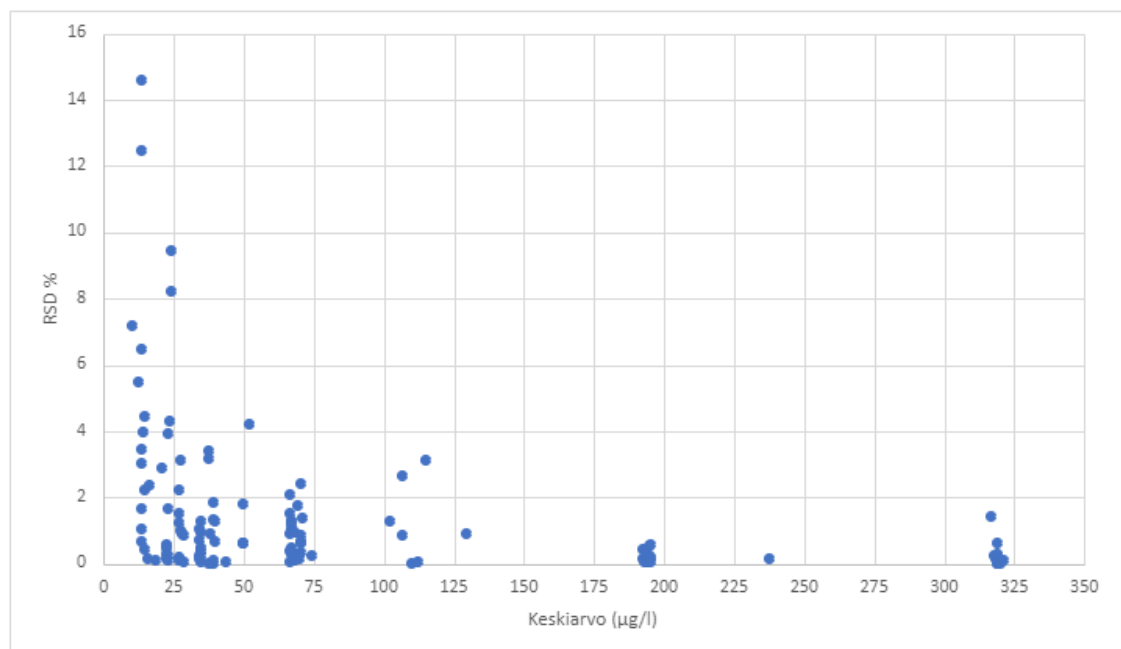


Kuva 12. Todellisten vesistövesinäytteiden pitoisuuksien hajontaa kuvaava kaavio, jossa x-akselilla on näytepareista laskettu keskiarvo ja y-akselilla niistä laskettu RSD-prosentti.

Kuvaajasta huomataan, että pitoisuuden pienentyessä RSD-prosentti suurenee, eli hajontaa tapahtuu enemmän, mutta suuremmissa pitoisuuksissa hajontaa on selvästi vähemmän. Pitoisuusalue jaettiin kuvaajan perusteella kahteen osaan, joille molemmille tehtiin oma tarkastelu. Käytettiin samoja arvoja sekä tuloksia kuin liitteessä 6, mutta ne jaettiin kahdeksi eri taulukoksi, joista toisessa on keskiarvoiltaan alle 10 µg/l pitoisuudet ja toisessa 10–500 µg/l olevat pitoisuudet. Molemmista tehtiin kuvan 12 kaltaiset taulukot, jotka kuvaavat hajontaa tarkemmin. Nämä on esitetty kuvissa 13 ja 14.



Kuva 13. Kuvaaja, joka kuvastaa hajontaa näyteparien fosfaattipitoisuuksien keskiarvojen ollessa alle 10 µg/l.



Kuva 14. Kuvaaja, joka kuvastaa hajontaa näyteparien fosfaattipitoisuuksien keskiarvojen ollessa yli 10 µg/l.

Kaavioista huomataan tarkemmin, kuinka hajonta rinnakkaisnäytteiden välillä pienenee huomattavasti siirryttäessä suuremmalle pitoisuusalueelle. Tuloksista laskettiin yhdistetty RSD-prosentti kaavalla 5.

$$\text{Yhdistetty RSD \%} = \sqrt{\frac{\text{RSD \%}^2 \text{ summa}}{\text{näytteiden lukumäärä}}} \quad (5)$$

Taulukossa 5 ja 6 on esitetty yhteenvetona molempien pitoisuustasojen näytepitoisuusväli sekä saatu yhdistetty RSD-prosentti.

Taulukko 5. Alle 10 µg/l pitoisuusalueesta saadut arvot sekä laskettu yhdistetty RSD %.

Keskiarvopitoisuus (µg/l)	3,78
Minimipitoisuus (µg/l)	0,09
Maksimipitoisuus (µg/l)	9,96
RSD % ² Summa	90707,47
Näyteparien lukumäärä	109
Yhdistetty RSD %	28,85

Taulukko 6. Yli 10 µg/l pitoisuusalueesta saadut arvot sekä laskettu yhdistetty RSD %.

Keskiarvopitoisuus (µg/l)	81,26
Minimipitoisuus (µg/l)	10,33
Maksimipitoisuus (µg/l)	321,25
RSD % ² Summa	894,71
Näyteparien lukumäärä	118
Yhdistetty RSD %	2,75

Laboratorion sisäinen toistettavuus (Rw %) arvioitiin kontrollinäytteiden ja todellisten näytteiden rinnakkaismääritysten suhteellisesta keskihajonnasta. Validoinnin aikana saatujen kontrollinäytteiden tuloksista laskettiin keskiarvo, keskihajonta sekä RSD-% (liite 7). Laboratorion sisäinen toistettavuus saatiin käyttämällä taulukoiden 5 ja 6 tuloksia sekä kontrollinäytteiden suhteellista keskihajontaa eli RSD-prosenttia. Rw % laskettiin kahdelle eri pitoisuustasolle käyttämällä kaavaa 6.

$$Rw \% = \sqrt{(Kontrollinäytteen RSD \%^2 + Todellisten näytteiden yhdistetty RSD \%^2)} \quad (6)$$

Laboratorion sisäinen toistettavuus laskettiin sekä alle 10 µg/l:n pitoisuustasolle että 10–500 µg/l:n pitoisuusalueelle. Pienempää pitoisuustasoa laskiessa käytettiin taulukon 5 arvoa sekä 5 µg/l:n kontrollin suhteellista keskihajontaa.

$$Rw \% (< 10 \mu\text{g/l}) = \sqrt{(14,192^2 + 28,848^2)} = 32,15 \quad (7)$$

Suuremmassa pitoisuustasossa arvoina käytettiin taulukon 6 tulosta ja 50 µg/l:n kontrollista saatua suhteellista keskihajontaa.

$$Rw \% (10 \mu\text{g/l} - 500 \mu\text{g/l}) = \sqrt{(1,518^2 + 2,754^2)} = 3,14 \quad (8)$$

Laboratorion sisäinen toistettavuus kuvaa satunnaisvirheen osuutta mittausepävarmuudesta. Se on se osa mittausvirheestä, joka vaihtelee ennustamattomalla tavalla mittausta toistettaessa. Tulosten perusteella voidaan todeta, että alle 10 µg/l:n pitoisuustasolla hajonta on selvästi suurempaa. Laboratorion sisäistä toistettavuutta käytetään myös laajennetun mittausepävarmuuden laskennassa.

5.5.2 Systemaattinen virhe

Systemaattinen virhe tarkoittaa käytetystä mittauslaitteesta tai menetelmästä johtuvaa virhettä, joka voi johtua mm. puutteellisesta kalibroinnista. Systemaattista virhettä tutkittiin analysoimalla sertifioitua referenssimateriaalia, jonka fosfaattipitoisuus tiedettiin. Tarvittavat laskut suoritettiin oppaan Nordtest Technical report 537 ed. 3,1 Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories mukaisesti [33]. Taulukossa 7 on esitetty systemaattista virhettä varten tarvittavat arvot sekä lopullinen systemaattinen virhe. Liitteessä 5 on esitetty validoinnin aikana referenssimateriaalista saadut fosfaattipitoisuudet käyttäen pienemmän pitoisuustason suoraa. Liitteessä olevien arvojen avulla laskettiin systemaattinen virhe.

Taulukko 7. Sertifioidusta referenssimateriaalista saatu systemaattinen virhe, joka on laskettu oppaan Nordtest Technical report 537 ed. 3,1 Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories mukaisesti [33].

Keskiarvo (µg/l)	100,644
Keskihajonta	1,000
Suhteellinen keskihajonta RSD%	0,994
Sertifioitu pitoisuus (µg/l)	99,2
Sertifioidun pitoisuuden hajonta	1,4
Sertifioidun pitoisuuden epävarmuus u(Cref)	0,714
Sertifioidun pitoisuuden suhteellinen epävarmuus u(Cref)%	0,720
Suhteellinen poikkeama bias%	1,456
Tulosten lukumäärä n (kpl)	43
Systemaattinen virhe (%)	1,631

Saatua systemaattista virhettä käytettiin laajennetun mittausepävarmuuden saamiseksi.

5.5.3 Laajennettu mittausepävarmuus

Laajennettu mittausepävarmuus (U %) laskettiin siis oppaan Nordtest Technical report 537 ed. 3,1 Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories mukaan käyttämällä laboratorion sisäistä toistettavuutta sekä systemaattista virhettä ja kaavaa 9 [33].

$$U \% = 2 * \sqrt{(\text{Systemaattinen virhe}^2 + \text{Laboratorion sisäinen toistettavuus}^2)} \quad (9)$$

Laajennettu mittausepävarmuus laskettiin kahdelle eri pitoisuustasolle, joiden tulokset on esitetty taulukossa 8.

Taulukko 8. Validoinnista saatu laajennettu mittausepävarmuus kahdelle eri pitoisuustasolle

Laajennettu mittausepävarmuus (U %)	
Pitoisuustasolla < 10ug/l	64
Pitoisuustasolla > 10 ug/l	7

Saadut mittausepävarmuudet eroavat pitoisuuksien välillä paljon, mutta tulokset ovat silti loogisia. Alle 10 µg/l:n pitoisuustason korkean mittausepävarmuuden voi selittää

esimerkiksi se, että pitoisuustaso ei ole paljoo määritysrajaa korkeampi. Lähempänä määritysrajaa mittausepävarmuus on luonnollisesti suurempi. Fosfaatti on myös tutkittavana analyytinä hankala mm. sen pysymättömyyden takia. Yli 10 µg/l:n pitoisuustasolla mittausepävarmuus on kuitenkin kiitettävällä tasolla.

6 Yhteenveto

Validointi onnistui loppuun asti ilman suurempia ongelmia, joten Gallery Plus -diskreetti-analysaattori voidaan ottaa käyttöön fosfaattifosforin analysoimiseen. Muutamia pienet haasteet liittyivät käytettyihin liuoksiin kuten kontroleihin ja reagensseihin. Niitä piti valmistaa validoinnin aikana muutamia kertoja, sillä ne joko loppuivat tai olivat vanhentuneita, mikä johti siihen, että kontrollit eivät menneet rajoihin tai näytteiden rinnakkaiset saattoivat heittää toisistaan. Analysaattorille myös suoritettiin kerran viikossa huolto- ja pesutoimenpiteet, jotta se pysyi hyvässä kunnossa. Laitteesta suoritetaan tulevaisuudessa perehdytys kaikille työntekijöille, jotka tulevat sitä käyttämään.

Käytössä olevassa vanhemmassa Aquakem-diskreettialyzaattorissa on sertifioitu menetelmä fosfaattifosforin analysoimiseen makeista luonnonvesistä. Sama menetelmä siirrettiin myös Gallery Plus -analyzaattorille. Mittausalue kattaa pitoisuusvälin 0–500 µg/l. Kaikkien valmistettujen kalibrointisuorien korrelaatiokertoimet olivat yli 0,999, joten minimivaatimus kalibrointien hyväksymiselle toteutui. Kalibrointi oli todella helppo suorittaa, joten se pystyttiin aina uusimaan tarvittaessa, tai jos esimerkiksi korrelaatiokerroin ei läpäissyt minimivaatimusta.

Toistettavuus, uusittavuus ja oikeellisuus onnistuivat ongelmitta ja niiden tulokset olivat loogisia. Saadut RSD-arvot, joita käytettiin toistettavuuden määrittämiseen, olivat suurempia lähempänä määritysrajaa, eli näytteiden välinen hajonta oli sitä suurempaa mitä pienempi niiden pitoisuus oli. Näytteiden sameus ja koostumus vaikutti myös toistettavuuteen. Mitä sameampi näyte oli niin sitä suurempi myös rinnakkaisten välinen ero pienissä pitoisuuksissa. Tutkittujen vertailunäytteiden rinnakkaistulokset eivät eronneet toisistaan paljoo, sillä ne olivat niin homogeenisia. Fosfaatti on tutkittavana analyytinä hankala, sillä se on pysymätön yhdiste, ja menetelmän mukaan se pitäisi analysoida viimeistään yhden päivän kuluttua näytteenotosta. Tämän takia käytettyjä vertailunäytteitä, joita

oli säilytetty jääkaapissa useampia kuukausia ei voitu käyttää oikeellisuuden määrittämiseen. Oikeellisuutta määritettiin analysoimalla samoja vesistövesinäytteitä sekä Gallery Plus -analysaattorilla että Aquakem-analysaattorilla sekä vertailemalla saatuja pitoisuuksia ja tekemällä niistä parittainen kahden otoksen t-testi. Näytteet analysoitiin vähintään saman päivän aikana, mutta mahdollisesti myös samaan aikaan päivästä, jotta saatiin mahdollisimman oikeelliset vertailutulokset. Saadun t-testin mukaan tulokset molemmilla analysaattoreilla eivät eronneet tilastollisesti merkittävästi toisistaan. Oikeellisuuden osalta arvioita vielä tarkennetaan mittaamalla eri pitoisuustason sertifioituja referenssimateriaaleja sekä mahdollisesti osallistumalla laboratorioden välisiin vertailututkimuksiin

Määritysrajassa päästiin samalle tasolle vanhemman Aquakem-diskreettialysaattorin kanssa eli $2 \mu\text{g/l}$, joten minimivaatimus toteutui. Tulos oli kuitenkin pettymys, sillä uudella laitteella oletettiin pääsevän alhaisempiin rajoihin. Gallery Plus -analysaattorissa ei kuitenkaan ole mahdollista muuttaa mm. valotien pituutta kyveteissä, joten toivottuun $1 \mu\text{g/l}$ määritysrajaan ei päästä. Muilla fosfaattia analysoivilla menetelmillä, kuten IC:llä tai CFA:lla, joilla pystytään optimoimaan eri alueita, voidaan päästä vielä alhaisempiin määritysrajoihin kuin diskreettialysaattoreissa.

Mittausepävarmuus arvoitiin Mukit-ohjelmaan perustuvan oppaan Nordtest Technical report 537 ed. 3,1 Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories mukaan [33]. Kaikkia validoinnissa ajettuja näytteitä ja kontroleja käytettiin mittausepävarmuuden laskemisessa. Gallery Plus -analysaattorin helppokäyttöisyyden ja analysointinopeuden ansiosta voitiin näytteitä mittausepävarmuutta varten ajaa paljon. Lopullinen mittausepävarmuus laskettiin sekä alle $10 \mu\text{g/l}$:n pitoisuustason alueelle että $10\text{--}500 \mu\text{g/l}$:n pitoisuusvälin alueelle. Saadut laajennetut mittausepävarmuudet (U %) erosivat toisistaan paljon, mutta tulokset olivat loogisia. $0\text{--}10 \mu\text{g/l}$:n pitoisuusvälin tulokseksi saatiin 64 %, mikä on korkea, mutta pitoisuusalue ei paljoa eroa saadusta määritysrajasta. $10 \mu\text{g/l}$ on vain viisi kertaa saatu määritysraja, jolloin saatu tulos vaikuttaa loogisemmalta, sillä lähempänä määritysrajaa myös mittausepävarmuus on korkeampi. Mittausepävarmuus olisi voitu myös laskea erikseen vieläkin lähempää määritysrajaa, esimerkiksi alueelta $0\text{--}5 \mu\text{g/l}$, jolloin nähtäisiin, kasvaisiko laajennettu mittausepävarmuus vielä paljon.

Lähteet

- 1 Palvelut. Verkkoaineisto. Metropolilab Oy. <<https://metropolilab.fi/fi/palvelut>>. Luettu 17.4.2021.
- 2 Kyröläinen, Helena; Luotola, Marja; Mäkinen, Irma; Näykki, Teemu; Pehkonen, Riitta; Sainio, Pirja; Väisänen, Tero & Witick Allan. 2016. Laatusuositukset ympäristöhallinnon vedenlaaturekistereihin vietävälle tiedolle. Verkkoaineisto. Suomen Ympäristökeskus. <https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/163532/SY-KEra_22_2016.pdf?sequence=1>. Luettu 17.4.2021.
- 3 The Fitness for Purpose of Analytical Methods. 2014. Verkkoaineisto. Eurachem. <https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_EN.pdf>. Luettu 19.4.2021.
- 4 Tietoa mitattavista muuttujista. Verkkoaineisto. Vesimittari. <<http://wwwi2.ymparisto.fi/i2/vesimittari/muuttujat.html>>. Luettu 17.4.2021.
- 5 Oram, Brian. Phosphate in Surface Water Streams Lakes. Verkkoaineisto. Water Research Center. <<https://www.water-research.net/index.php/phosphate-in-water>>. Luettu 18.4.2021.
- 6 Fosfaatti. Verkkoaineisto. Tevella Oy. <https://www.tevella.fi/media/catalog/product/5/5/553088_KO_fin.pdf>. Luettu 17.4.2021
- 7 Jaarinen, Soili & Niiranen, Jukka. 2008. Laboratorion analyysitekniikka. 5.–6. Painos. Helsinki: Edita Prima Oy.
- 8 SFS-EN ISO 6878. Water quality. Determination of phosphorus. Ammonium molybdate spectrometric method. 2004. Helsinki: Suomen Standardisoimisliitto.
- 9 Hatta, Mariko; Measures, Christopher & Ruzicka, Jaromir. 2019. Determination of traces of phosphate in sea water automated by programmable flow injection: Surfactant enhancement of the phosphomolybdenum blue response. Verkkoaineisto. Elsevier. <<https://par.nsf.gov/servlets/purl/10107422#page=8&zoom=100,409,556>>. Luettu 20.4.2021.
- 10 Rautiainen, Merja. 2014. Sulfaattien mittaaminen kaivosvesistä eri teknologioita hyödyntäen. Verkkoaineisto. Measurepolis Development Oy. <<http://mmeafinalreport.fi/files/WP5%20Sulfaattien%20mittaaminen%20kaivosvesista.pdf>>. 9.4.2014. Luettu 20.4.2021.
- 11 Bruckner, Z. Monica. Ion Chromatography. Verkkoaineisto. Microbial Life. <https://serc.carleton.edu/microbelife/research_methods/biogeochemical/ic.html>. Luettu 23.4.2021.

- 12 Viljamaa, Emilia. 2018. Kationimenetelmän validointi ionikromatografille. Opinnäytetyö. Tampereen Ammattikorkeakoulu. Theseus-tietokanta.
- 13 De Gelder, S. P. Leen & Nollet, M. L. Leo. 2013. Handbook of Water Analysis. 3rd ed. CRC Press.
- 14 Porkka, Veijo. Tuotepäällikkö, Thermo Fisher Scientific, Vantaa. Sähköposti 24.9.2020.
- 15 The Use of Concentrator Columns in Ion Chromatography. Verkkoaineisto. Dionex. <<http://www.science.smith.edu/departments/cabr/PDF-documents/TN8%20-%20Use%20of%20Concentrator%20Columns%20in%20IC.pdf>>. Luettu 25.4.2021.
- 16 Narayanan, Hari. 2020. Automated Wet Chemical Analysis – What is Automated Discrete Analyzer. ThermoFisher Scientific. <<https://www.analyte-guru.com/t5/Blog/Automated-Wet-Chemical-Analysis-2-What-is-Automated-Discrete/ba-p/3750>>. 10.10.2020. Luettu 14.5.2021.
- 17 Narayanan, Hari. 2021. Which Discrete Analyzer Is Most Suitable for My Lab? A Discrete Analyzer Selection Guide. ThermoFisher Scientific. <<https://www.analyte-guru.com/t5/Blog/Which-Discrete-Analyzer-Is-Most-Suitable-for-My-Lab-A-Discrete/ba-p/3820>>. 21.4.2021. Luettu 14.5.2021.
- 18 Katoh, Michio; Kondo, Yasuo & Shimomura, Hiroaki. 1987. An Application of Flow Injection Analysis to water Quality Monitoring System. Verkkoaineisto. <https://www.jstage.jst.go.jp/article/jcorr1974/36/4/36_4_234/_pdf>. Luettu 15.5.2021.
- 19 Harris, D. C. 2010. Quantitative Chemical Analysis. 9. painos. New York: W.H. Freeman & Company.
- 20 Flow Injection Analysis. Verkkoaineisto. ScienceDirect. <<https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/flow-injection-analysis>>. Luettu 15.5.2021.
- 21 SFS-ISO 15681-1. Water quality. Determination of orthophosphate and total phosphorus contents by flow analysis (FIA and CFA). Part 1: Method by flow injection analysis (FIA). 2004. Helsinki: Suomen Standardisoimisliitto.
- 22 Continuous Flow Analysis & Discrete Analyzers. 2010. Verkkoaineisto. LCGC. <<https://www.chromatographyonline.com/view/continuous-flow-analysis-discrete-analyzers>>. Luettu 25.5.2021.

- 23 Al-Saleh, Mohsin. Laboratory Automation. Verkkoaineisto. Clinical Biochemistry Department. <<https://mohsinalsaleh.com/wp-content/uploads/2018/05/Automation-27-03-2018.pdf>>. Luettu 26.5.2021.
- 24 SFS-ISO 15681-2. Water quality - Determination of orthophosphate and total phosphorus contents by flow analysis (FIA and CFA) - Part 2: Method by continuous flow analysis (CFA). 2018. Helsinki: Suomen Standardisoimisliitto.
- 25 Mäkelä, Hanna. 2014. FIA-ravinneanalysaattorin optimointi ja validointi fosfaattifosforimittauksiin. Opinnäytetyö. Tampereen Ammattikorkeakoulu. Theseus-tietokanta.
- 26 Low level Phosphate analysis on the San++ Continuous Flow Analyzer. Verkkoaineisto. Skalar. <<https://www.skalar.com/news/low-level-phosphate-analysis-on-the-san-continuous-flow-analyzer>>. Luettu 1.6.2021.
- 27 Discrete or Continuous Flow Analysis- which is better? Verkkoaineisto. SEAL Analytical. <<https://seal-analytical.com/News/Is-Discrete-or-Continuous-Flow-Analysis-Best>>. Luettu 1.6.2021.
- 28 Lipps, William. 2009. Flow Injection or Segmented Flow Analysis - What Are the Similarities and Differences? Verkkoaineisto. EzineArticles. <<https://ezinearticles.com/?Flow-Injection-Or-Segmented-Flow-Analysis---What-Are-the-Similarities-and-Differences?&id=2492372>>. 18.6.2009. Luettu 2.6.2021.
- 29 Asaoka, Satoshi; Kiso, Yoshiaki; Nagai, Masahiro & Okamura, Hideo. 2015. A membrane extraction method for trace level phosphate analysis. Verkkoaineisto. Royal Society of Chemistry. <<https://pubs.rsc.org/en/content/article-landing/2015/ay/c5ay02019k/unauth#!divAbstract>>. 8.10.2015. Luettu 5.6.2021.
- 30 Principle of ICP Mass Spectrometry (ICP-MS). Verkkoaineisto. Hitachi. <<https://www.hitachi-hightech.com/global/products/science/tech/ana/icp/descriptions/icp-ms.html>>. Luettu 6.6.2021.
- 31 Guo, Zhong-Xian; Cai, Qiantao & Yang Zhaoguang. 2005. Determination of glyphosate and phosphate in water by ion chromatography--inductively coupled plasma mass spectrometry detection. Verkkoaineisto. National Library of Medicine. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16185703/>>. Luettu 6.6.2021.
- 32 Castren, Merja. Thermo Scientific Gallery Plus -analysaattori. Luentomoniste. ThermoFisher Scientific.

- 33 Hovind, Håvard; Krysell, Mikael; Magnusson, Bertil; Näykki, Teemu & Sahlin, Eskil. 2017. Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories. Verkkoaineisto. Nordtest. <http://nordtest.info/images/documents/nt-technical-reports/NT_TR_537_edition4_English_Handbook_for_calculation_of_measurement_uncertainty_in_environmental_laboratories.pdf>. Luettu 3.7.2021.

Kalibrointisuorien konsentraatiot sekä absorbanssit

Sokeanäytesuora

Kal/Ktrl	Responssi	Laskettu kons.	Annettu kons.
std 0	0.000	0.597	0.000
std 0	0.000	2.215	0.000
PO4P 0.1mg	0.001	4.684	5.000
PO4P 0.1mg	0.001	4.460	5.000
PO4P 0.1mg	0.003	8.790	10.000
PO4P 0.1mg	0.003	8.651	10.000
PO4P 0.1mg	0.009	19.715	20.000
PO4P 0.1mg	0.026	50.385	50.000
PO4P 0.1mg	0.026	50.684	50.000
PO4P 0.1mg	0.058	99.686	100.000
PO4P 0.1mg	0.058	100.118	100.000

0–100 µg/l kalibrointisuora

Kal/Ktrl	Responssi	Laskettu kons.	Annettu kons.
std 0	-0.001	1.203	0.000
PO4P 0.1mg	0.001	4.562	5.000
PO4P 0.1mg	0.001	4.394	5.000
PO4P 0.1mg	0.003	9.307	10.000
PO4P 0.1mg	0.004	10.820	10.000
PO4P 0.1mg	0.009	19.473	20.000
PO4P 0.1mg	0.009	19.768	20.000
PO4P 0.1mg	0.026	50.205	50.000
PO4P 0.1mg	0.026	50.359	50.000
PO4P 0.1mg	0.058	99.121	100.000
PO4P 0.1mg	0.059	100.783	100.000

0–500 µg/l kalibrointisuora

Kal/Ktrl	Responsi	Laskettu kons.	Annettu kons.
std 0	0.000	2.832	0.000
std 0	0.000	2.981	0.000
PO4P 2 mg	0.013	24.441	25.000
PO4P 2 mg	0.013	24.626	25.000
PO4P 2 mg	0.022	39.431	40.000
PO4P 2 mg	0.022	39.450	40.000
PO4P 2 mg	0.059	98.984	100.000
PO4P 2 mg	0.059	98.792	100.000
PO4P 2 mg	0.121	198.539	200.000
PO4P 2 mg	0.121	199.062	200.000
PO4P 2 mg	0.152	249.266	250.000
PO4P 2 mg	0.152	249.105	250.000
PO4P 2 mg	0.246	400.575	400.000
PO4P 2 mg	0.245	400.102	400.000
PO4P 2 mg	0.307	500.813	500.000
PO4P 2 mg	0.308	501.001	500.000

Gallery Plus – analysaattorilta saadut nollanäytteiden pitoisuudet

Päiväys	Nollanäytteen pitoisuus (µg/l)
17.5.2021	1,21
17.5.2021	1,2
17.5.2021	1,01
17.5.2021	0,71
17.5.2021	0,75
17.5.2021	0,98
17.5.2021	0,83
18.5.2021	1,07
18.5.2021	0,7
18.5.2021	0,7
18.5.2021	0,9
19.5.2021	0,8
19.5.2021	0,66
19.5.2021	0,62
20.5.2021	0,85
24.5.2021	0,7
24.5.2021	0,66
25.5.2021	0,8
25.5.2021	0,81
25.5.2021	0,85
25.5.2021	0,85
25.5.2021	0,67
27.5.2021	0,75
27.5.2021	1,18
27.5.2021	1,06
27.5.2021	1,11
27.5.2021	0,79
27.5.2021	0,67
27.5.2021	0,86
27.5.2021	0,94
27.5.2021	1,28
27.5.2021	0,78
27.5.2021	0,78
27.5.2021	0,99
27.5.2021	0,71
27.5.2021	1,06
27.5.2021	1,01
27.5.2021	1,09
28.5.2021	1
28.5.2021	0,87

28.5.2021	1,23
28.5.2021	0,96
28.5.2021	1,06
28.5.2021	1,09
28.5.2021	0,98
28.5.2021	0,74
28.5.2021	0,94
28.5.2021	0,77
28.5.2021	0,89
28.5.2021	1,02
28.5.2021	0,93
28.5.2021	0,92
28.5.2021	0,97
28.5.2021	0,63
28.5.2021	1,25
28.5.2021	0,88
28.5.2021	0,75
28.5.2021	1,12
28.5.2021	0,73
28.5.2021	1,06
28.5.2021	0,95
28.5.2021	1,16
28.5.2021	1,07
28.5.2021	1,07
28.5.2021	1,03
31.5.2021	0,73
31.5.2021	0,94
31.5.2021	0,89
31.5.2021	0,94
31.5.2021	0,88
31.5.2021	1,1
31.5.2021	0,68
31.5.2021	1,13
1.6.2021	1,05
1.6.2021	1,14
1.6.2021	0,97
1.6.2021	0,74
1.6.2021	0,89
1.6.2021	1,28
1.6.2021	1,07
1.6.2021	0,76

1.6.2021	1,09
1.6.2021	1,03
1.6.2021	1,09
2.6.2021	1,07
2.6.2021	0,78
2.6.2021	1,2
2.6.2021	1,11
2.6.2021	1,35
2.6.2021	0,66
2.6.2021	0,89
2.6.2021	0,88

Toistettavuus- ja uusittavuusmittausten tulokset

Synteettinen näyte, SYKE (A1P)	24.5.2021 (µg/l)	25.5.2021 (µg/l)	26.5.2021 (µg/l)	Keskiarvo (µg/l)	Keskihajonta	Päivien välinen uusittavuus
3425-7	22,73	25,43	22,5	23,55333333	1,629304555	9,78
3425-7	22,68	22,25	23,03	22,65333333	0,390683162	2,44
3425-7	22,24	22,52	22,78	22,51333333	0,270061721	1,70
3425-7	22,42	22,67	22,61	22,56666667	0,130511813	0,82
3425-7	22,5	22,32	22,85	22,55666667	0,26950572	1,69
3425-7	22,6	23,59	22,77	22,98666667	0,529370696	3,26
3425-7	22,87	22,91	22,76	22,84666667	0,077674535	0,48
Keskiarvo (µg/l)	22,57714286	23,09857143	22,75714286			
Keskihajonta	0,194401226	1,039043909	0,156544315			
Päivän sisäinen toistettavuus, RSD %	0,86	4,50	0,69			
				Päivien välinen uusittavuus (keskiarvo)		2,88

Murtovesi, SYKE (B2P)	24.5.2021 (µg/l)	25.5.2021 (µg/l)	26.5.2021 (µg/l)	Keskiarvo (µg/l)	Keskihajonta	Päivien välinen uusittavuus
3425-8	26,77	27,04	27,16	26,99	0,199749844	1,05
3425-8	27,35	26,96	27,12	27,14333333	0,196044213	1,02
3425-8	26,41	28,59	26,87	27,29	1,149086594	5,95
3425-8	27,26	28,61	28,08	27,98333333	0,680171547	3,44
3425-8	27,99	27,39	27,25	27,54333333	0,39310728	2,02
3425-8	28,35	27	26,77	27,37333333	0,853600219	4,41
3425-8	28,58	28,24	27,68	28,16666667	0,454459386	2,28
Keskiarvo (µg/l)	27,53	27,69	27,27571429			
Keskihajonta	0,748694101	0,705124103	0,425771808			
Päivän sisäinen toistettavuus, RSD %	2,72	2,55	1,56			
				Päivien välinen uusittavuus (keskiarvo)		2,88

Jokivesi, SYKE (N3P)	24.5.2021 (µg/l)	25.5.2021 (µg/l)	26.5.2021 (µg/l)	Keskiarvo (µg/l)	Keskihajonta	Päivien välinen uusittavuus
3425-9	34,62	34,09	34,3	34,33666667	0,266895735	1,10
3425-9	34,85	34,6	34,93	34,79333333	0,172143351	0,70
3425-9	34,46	34,85	34,3	34,53666667	0,282901632	1,16
3425-9	34,44	34,38	34,38	34,4	0,034641016	0,14
3425-9	34,57	34,38	34,65	34,53333333	0,138684294	0,57
3425-9	34,69	34,25	34,46	34,46666667	0,220075745	0,90
3425-9	34,14	34,5	33,87	34,17	0,316069613	1,31
Keskiarvo (µg/l)	34,53857143	34,43571429	34,41285714			
Keskihajonta	0,207806818	0,227712673	0,304054238			
Päivän sisäinen toistettavuus RSD %	0,60	0,66	0,88			
				Päivien välinen uusittavuus (keskiarvo)		0,84

Purovesi (12222-1)	24.5.2021 (µg/l)	25.5.2021 (µg/l)	26.5.2021 (µg/l)	Keskiarvo (µg/l)	Keskihajonta	Päivien välinen uusittavuus
12222-1	70,48	67,28	67,29	68,35	1,844640886	3,82
12222-1	70,15	66,3	67,01	67,82	2,048828934	4,27
12222-1	69,99	67,16	66,23	67,79333333	1,958375177	4,09
12222-1	70,64	66,71	67,46	68,27	2,086456326	4,32
12222-1	69,97	66,29	66,25	67,50333333	2,136289618	4,48
12222-1	70,12	66,34	67,1	67,85333333	1,999433253	4,17
12222-1	70,31	66,33	66,69	67,77666667	2,201302645	4,59
Keskiarvo (µg/l)	70,23714286	66,63	66,86142857	Päivien välinen uusittavuus (keskiarvo)	4,25	
Keskihajonta	0,233098035	0,39792318	0,450854065			
Päivän sisäinen toistettavuus RSD %	0,33	0,60	0,67			

Purovesi (12223-1)	24.5.2021 (µg/l)	25.5.2021 (µg/l)	26.5.2021 (µg/l)	Keskiarvo (µg/l)	Keskihajonta	Päivien välinen uusittavuus
12223-1	2,63	2,26	2,87	2,586666667	0,307300071	16,80
12223-1	2,88	2,53	2,75	2,72	0,17691806	9,20
12223-1	2,59	2,34	2,61	2,513333333	0,150443788	8,47
12223-1	2,78	2,64	2,75	2,723333333	0,073711148	3,83
12223-1	2,68	2,45	2,39	2,506666667	0,1530795	8,64
12223-1	2,65	2,74	2,99	2,793333333	0,176162803	8,92
12223-1	2,8	2,36	2,74	2,633333333	0,238607069	12,81
Keskiarvo (µg/l)	2,715714286	2,474285714	2,728571429	Päivien välinen uusittavuus (keskiarvo)	9,81	
Keskihajonta	0,097812816	0,159808559	0,176508079			
Päivän sisäinen toistettavuus RSD %	3,60	6,46	6,47			

Kontrolli (5 µg/l)	28.5.2021 (µg/l)	31.5.2021 (µg/l)	1.6.2021 (µg/l)	Keskiarvo (µg/l)	Keskihajonta	Päivien välinen uusittavuus
5 µg/l	5,71	5,51	5,47	5,563333333	0,12858201	3,27
5 µg/l	5,86	5,15	5,58	5,53	0,357631095	9,15
5 µg/l	5,81	5,58	5,28	5,556666667	0,265769324	6,76
5 µg/l	5,81	5,04	5,53	5,46	0,389743505	10,09
5 µg/l	5,79	5,34	5,56	5,563333333	0,225018518	5,72
5 µg/l	5,4	5,14	5,16	5,233333333	0,144683563	3,91
5 µg/l	5,15	5,38	4,89	5,14	0,245153013	6,75
Keskiarvo (µg/l)	5,647142857	5,305714286	5,352857143	Päivien välinen uusittavuus (keskiarvo)	7,00	
Keskihajonta	0,248119458	0,187453396	0,237950432			
Päivän sisäinen toistettavuus RSD %	4,39	3,53	4,45			

Kontrolli (50 µg/l), pienempi kalibrointisuora	24.5.2021 (µg/l)	25.5.2021 (µg/l)	26.5.2021 (µg/l)	Keskiarvo (µg/l)	Keskihajonta	Päivien välinen uusittavuus
50 µg/l	53,82	52,52	53,43	53,25666667	0,667108187	1,77
50 µg/l	53,46	52,2	53,13	52,93	0,653375849	1,75
50 µg/l	53,61	53,2	52,65	53,15333333	0,481698384	1,28
50 µg/l	53,41	52,79	52,89	53,03	0,33286634	0,89
50 µg/l	53,61	52,84	52,74	53,06333333	0,47606022	1,27
50 µg/l	52,9	52,27	52,36	52,51	0,340734501	0,92
50 µg/l	53,68	53,44	53,08	53,4	0,301993377	0,80
Keskiarvo (µg/l)	53,49857143	52,75142857	52,89714286	Päivien välinen uusittavuus (keskiarvo)		1,24
Keskihajonta	0,274820906	0,426628931	0,326440294			
Päivän sisäinen toistettavuus (RSD %)	0,51	0,81	0,62			

QC RW1 (PO ₄ 99,4 µg/l), pienempi kalibrointisuora	27.5.2021 (µg/l)	28.5.2021 (µg/l)	31.5.2021 (µg/l)	Keskiarvo (µg/l)	Keskihajonta	Päivien välinen uusittavuus
QC RW1	102,5	98,9	99,9	100,4333333	1,858314649	2,62
QC RW1	102,83	98,74	99,76	100,4433333	2,128904256	3,00
QC RW1	101,24	98,7	99,68	99,8733333	1,280989201	1,81
QC RW1	102,01	99,43	100,46	100,6333333	1,298704483	1,83
QC RW1	101,15	99,7	100,37	100,4066667	0,725695069	1,02
QC RW1	100,54	99,79	99,82	100,05	0,424617475	0,60
QC RW1	101,16	99,75	100,18	100,3633333	0,722657134	1,02
Keskiarvo (µg/l)	101,6328571	99,28714286	100,0242857	Päivien välinen uusittavuus (keskiarvo)		1,70
Keskihajonta	0,768369596	0,455434307	0,287643487			
Päivän sisäinen toistettavuus (RSD %)	0,76	0,46	0,29			

QC RW1 (PO ₄ 99,4 µg/l), suurempi kalibrointisuora	27.5.2021 (µg/l)	28.5.2021 (µg/l)	31.5.2021 (µg/l)	Keskiarvo (µg/l)	Keskihajonta	Päivien välinen uusittavuus
QC RW1	93,14	93,32	91,56	92,67333333	0,968366322	1,48
QC RW1	92,99	93,25	91,68	92,64	0,841486779	1,28
QC RW1	92,69	92,76	91,14	92,19666667	0,915769258	1,40
QC RW1	92,83	92,46	91,51	92,26666667	0,680906259	1,04
QC RW1	92,81	92,61	91,92	92,44666667	0,466940396	0,71
QC RW1	92,68	92,48	91,69	92,28333333	0,523481932	0,80
QC RW1	92,58	92,45	91,78	92,27	0,429301759	0,66
Keskiarvo (µg/l)	92,81714286	92,76142857	91,61142857	Päivien välinen uusittavuus (keskiarvo)		1,06
Keskihajonta	0,179500441	0,346551525	0,229809149			
Päivän sisäinen toistettavuus (RSD %)	0,19	0,37	0,25			

Vesistövesi (1460-1)	27.5.2021 (µg/l)	28.5.2021 (µg/l)	31.5.2021 (µg/l)	Keskiarvo (µg/l)	Keskihajonta	Päivien välinen uusittavuus
1460-1	193,83	195,2	191,67	193,5666667	1,779672254	1,30
1460-1	195,25	195,58	192,84	194,5566667	1,495805246	1,09
1460-1	194,7	194,46	192,56	193,9066667	1,172404936	0,86
1460-1	195,28	195,1	192,15	194,1766667	1,757450805	1,28
1460-1	194,31	195,32	193,04	194,2233333	1,142468089	0,83
1460-1	194,18	195,49	192,84	194,17	1,325028302	0,97
1460-1	194,31	195,87	193,58	194,5866667	1,169800553	0,85
Keskiarvo (µg/l)	194,5514286	195,2885714	192,6685714	Päivien välinen uusittavuus (keskiarvo)		1,02
Keskihajonta	0,509325284	0,413086936	0,573869785			
Päivän sisäinen toistettavuus (RSD %)	0,26	0,21	0,30			

Vesistövesi (1460-3)	27.5.2021 (µg/l)	28.5.2021 (µg/l)	31.5.2021 (µg/l)	Keskiarvo (µg/l)	Keskihajonta	Päivien välinen uusittavuus
1460-3	318,16	321,25	319,83	319,7466667	1,546684626	0,68
1460-3	318,92	320,69	313,41	317,6733333	3,79673983	1,69
1460-3	318,3	319,89	318,92	319,0366667	0,801394618	0,36
1460-3	319,65	319,84	318,8	319,43	0,55380502	0,25
1460-3	318,27	318,92	317,62	318,27	0,65	0,29
1460-3	317,2	318,98	320,53	318,9033333	1,666323298	0,74
1460-3	318,33	319,47	316,93	318,2433333	1,272215915	0,57
Keskiarvo (µg/l)	318,4042857	319,8628571	318,0057143	Päivien välinen uusittavuus (keskiarvo)		0,65
Keskihajonta	0,693044157	0,795733521	2,190674111			
Päivän sisäinen toistettavuus (RSD %)	0,22	0,25	0,69			

Kontrolli (50 µg/l), suurempi kalibrointisuora	27.5.2021 (µg/l)	28.5.2021 (µg/l)	31.5.2021 (µg/l)	Keskiarvo (µg/l)	Keskihajonta	Päivien välinen uusittavuus
50 µg/l	46,39	47,58	47,84	47,27	0,7731106	2,31
50 µg/l	47,02	48,41	47,95	47,79333333	0,708119576	2,10
50 µg/l	46,83	47,67	48,01	47,50333333	0,607398826	1,81
50 µg/l	46,69	47,59	47,62	47,3	0,52848841	1,58
50 µg/l	46,61	46,99	47,46	47,02	0,425793377	1,28
50 µg/l	46,73	47,16	47,53	47,14	0,400374824	1,20
50 µg/l	46,36	46,28	46,86	46,5	0,314324673	0,96
Keskiarvo (µg/l)	46,66142857	47,38285714	47,61	Päivien välinen uusittavuus (keskiarvo)		1,60
Keskihajonta	0,217020642	0,614066406	0,362530787			
Päivän sisäinen toistettavuus (RSD %)	0,47	1,30	0,76			

Kontrolli (400 µg/l)	27.5.2021 (µg/l)	28.5.2021 (µg/l)	31.5.2021 (µg/l)	Keskiarvo (µg/l)	Keskihajonta	Päivien välinen uusittavuus
400 µg/l	392,52	385,64	386,59	388,25	3,728310609	1,36
400 µg/l	392,32	386,75	387,49	388,8533333	3,024935261	1,10
400 µg/l	391,68	385,89	386,09	387,8866667	3,286644692	1,20
400 µg/l	389,76	383,12	381,49	384,79	4,380627809	1,61
400 µg/l	386	383,32	382,92	384,08	1,674753713	0,62
400 µg/l	384,87	384,86	381,93	383,8866667	1,694530417	0,62
400 µg/l	384,18	381,95	378,13	381,42	3,05962416	1,13
Keskiarvo (µg/l)	388,7614286	384,5042857	383,52	Päivien välinen uusittavuus (keskiarvo)		1,09
Keskihajonta	3,381962358	1,61346882	3,113376669			
Päivän sisäinen toistettavuus (RSD %)	0,87	0,42	0,81			

Gallery Plus ja Aquakem – analysaattoreiden vertailuajot

Matriisi	Näytenumero	Fosfaattipitoisuus (µg/l)	
		Gallery Plus	Aquakem
Vesistövesi	13903-1	74,2	83,94
Vesistövesi	13903-1	73,93	82,06
Vesistövesi	14251-2	1,44	2,17
Vesistövesi	14251-2	2,34	2,24
Vesistövesi	14251-5	1,11	2,51
Vesistövesi	14251-5	2,14	1,98
Vesistövesi	14251-6	1,41	2,07
Vesistövesi	14251-6	2,11	2,01
Vesistövesi	14251-8	2,3	2,68
Vesistövesi	14251-8	2,96	2,85
Pintavesi	14911-2	2,64	3,76
Pintavesi	14911-2	3,37	2,84
Vesistövesi	14902-1	5,47	6,43
Vesistövesi	14902-1	5,03	7,08
Vesistövesi	14903-1	43,34	43,93
Vesistövesi	14903-1	43,38	44,53
Vesistövesi	14904-1	49,31	49,82
Vesistövesi	14904-1	49,75	49,81
Vesistövesi	14962-4	2,8	2,05
Vesistövesi	14962-4	2,42	1,93
Vesistövesi	14963-1	4,02	3,54
Vesistövesi	14963-1	3,8	3,52
Vesistövesi	14963-4	14,75	15,29
Vesistövesi	14963-4	14,84	15,35
Vesistövesi	14963-5	7,05	7,14
Vesistövesi	14963-5	7,85	6,7
Vesistövesi	14251-9	1,45	2,87
Vesistövesi	14251-9	3,84	2,36
Vesistövesi	14251-7	3,87	1,79
Vesistövesi	14251-7	0,97	2,22
Vesistövesi	14251-10	1,61	2,44
Vesistövesi	14251-10	1,98	2,54

Pitoisuustason 0–100 µg/l suoralla analysoidut sertifioidut referenssimateriaalit

Sertifioitu referenssi (PO4 99,4 µg/l), pienempi kalibrointisuora	Pitoisuus (µg/l)
QC RW1	100,83
QC RW1	100,84
QC RW1	100,07
QC RW1	100,1
QC RW1	101,74
QC RW1	100,53
QC RW1	100,08
QC RW1	100,49
QC RW1	98,9
QC RW1	98,74
QC RW1	98,7
QC RW1	99,43
QC RW1	99,7
QC RW1	99,79
QC RW1	99,75
QC RW1	99,9
QC RW1	99,76
QC RW1	99,68
QC RW1	100,46
QC RW1	100,37
QC RW1	99,82
QC RW1	100,18
QC RW1	98,89
QC RW1	102,5
QC RW1	102,83
QC RW1	101,24
QC RW1	102,01
QC RW1	101,15
QC RW1	100,54
QC RW1	101,16
QC RW1	101,14
QC RW1	101,19
QC RW1	101,01
QC RW1	101,5
QC RW1	102,23
QC RW1	101,11
QC RW1	100,92
QC RW1	101,45
QC RW1	101,93
QC RW1	101,17
QC RW1	101,28
QC RW1	101,46
QC RW1	101,12

Kaikkien validoinnissa ajettujen näyteparien saadut tulokset, keskiarvot, keskihajonnat ja suhteelliset keskihajonnat sekä sen neliöt

	Näytenumero	Tulos 1 (µg/l)	Tulos 2 (µg/l)	Keskiarvo (µg/l)	Keskihajonta	RSD %	RSD % neliö
Lähdevesi	12195-2	1,63	0,21	0,92	1,0041	109,1404	11911,6257
Lähdevesi	12195-2	0,6	1,24	0,92	0,4525	49,19	2419,6597
Purovesi	12223-1	1,44	0,51	0,975	0,6576	67,4471	4549,1124
Purovesi	12224-1	2,12	0,09	1,105	1,4354	129,9029	16874,7569
Lähdevesi	12195-2	0,97	1,32	1,145	0,2475	21,6146	467,1917
Lähdevesi	12195-2	1,32	0,97	1,145	0,2475	21,6146	467,1917
Lähdevesi	12195-2	1,4	1,06	1,23	0,2404	19,546	382,0477
Lähdevesi	12195-2	1,1	1,46	1,28	0,2546	19,8874	395,5078
Lähdevesi	12195-2	1,25	1,33	1,29	0,0566	4,3852	19,2296
Lähdevesi	12195-2	1,6	1,05	1,325	0,3889	29,3516	861,5166
Lähdevesi	12195-2	1,57	1,19	1,38	0,2687	19,4711	379,122
Purovesi	12223-1	1,23	1,53	1,38	0,2121	15,3719	236,2949
Lähdevesi	12195-2	1,36	1,48	1,42	0,0849	5,9756	35,7072
Vesistövesi	4528-2	1,2	1,71	1,455	0,3606	24,7852	614,3055
Lähdevesi	12195-2	1,44	1,48	1,46	0,0283	1,9373	3,753
Lähdevesi	12195-2	1,29	1,72	1,505	0,3041	20,2031	408,1633
Vesistövesi	14251-5	1,11	2,14	1,625	0,7283	44,8197	2008,8047
Lähdevesi	12195-2	2,01	1,24	1,625	0,5445	33,506	1122,6509
Purovesi	12223-1	1,95	1,38	1,665	0,4031	24,2073	585,9914
Lähdevesi	12195-2	1,61	1,78	1,695	0,1202	7,0919	50,2954
Lähdevesi	12195-2	1,56	1,84	1,7	0,198	11,6465	135,6401
Lähdevesi	12195-2	1,79	1,67	1,73	0,0849	4,9048	24,0569
Vesistövesi	14251-6	1,41	2,11	1,76	0,495	28,1236	790,9349
Vesistövesi	14251-10	1,61	1,98	1,795	0,2616	14,5755	212,444
Purovesi	12223-1	2,4	1,23	1,815	0,8273	45,5821	2077,7269
Vesistövesi	14251-2	1,44	2,34	1,89	0,6364	33,6718	1133,7868
Purovesi	12223-1	1,25	2,62	1,935	0,9687	50,0639	2506,3932
Lähdevesi	12195-2	1,99	1,9	1,945	0,0636	3,272	10,7057
Purovesi	12223-1	1,71	2,19	1,95	0,3394	17,4057	302,9586
Lähdevesi	12195-2	1,69	2,27	1,98	0,4101	20,7132	429,0379
Purovesi	12224-1	1,82	2,34	2,08	0,3677	17,6777	312,5
Purovesi	12224-1	2,49	1,75	2,12	0,5233	24,682	609,2026
Lähdevesi	12195-2	1,57	2,7	2,135	0,799	37,4253	1400,6549
Lähdevesi	12195-2	2,1	2,22	2,16	0,0849	3,9284	15,4321
Purovesi	12224-1	2,24	2,09	2,165	0,1061	4,8991	24,0014
Pintavesi	14179-1	2,11	2,23	2,17	0,0849	3,9103	15,2902
Purovesi	12223-1	2,39	2,02	2,205	0,2616	11,8653	140,785
Lähdevesi	12195-2	2,24	2,18	2,21	0,0424	1,9197	3,6854
Purovesi	12224-1	1,94	2,51	2,225	0,4031	18,1146	328,1404

Purovesi	12223-1	1,98	2,5	2,24	0,3677	16,415	269,4515
Lähdevesi	12195-2	3,38	1,15	2,265	1,5768	69,618	4846,6685
Purovesi	12224-1	2,38	2,22	2,3	0,1131	4,919	24,1966
Purovesi	12223-1	2,7	1,9	2,3	0,5657	24,595	604,9149
Purovesi	12223-1	1,48	3,19	2,335	1,2092	51,7838	2681,5658
Purovesi	12224-1	2,77	1,99	2,38	0,5515	23,1741	537,0383
Purovesi	12223-1	2,26	2,53	2,395	0,1909	7,9716	63,5457
Vesistövesi	14251-7	3,87	0,97	2,42	2,0506	84,7359	7180,1789
Purovesi	12223-1	2,34	2,64	2,49	0,2121	8,5194	72,5795
Purovesi	12223-1	2,36	2,74	2,55	0,2687	10,5373	111,0342
Purovesi	12223-1	2,45	2,74	2,595	0,2051	7,9022	62,4441
Vesistövesi	14962-4	2,8	2,42	2,61	0,2687	10,295	105,9879
Purovesi	12224-1	2,71	2,54	2,625	0,1202	4,5794	20,9705
Vesistövesi	14251-8	2,96	2,3	2,63	0,4667	17,7449	314,8809
Vesistövesi	14251-9	1,45	3,84	2,645	1,69	63,8936	4082,3896
Purovesi	12223-1	2,68	2,65	2,665	0,0212	0,796	0,6336
Purovesi	12223-1	2,61	2,75	2,68	0,099	3,6938	13,6445
Purovesi	12223-1	2,59	2,78	2,685	0,1344	5,0037	25,0374
Purovesi	12223-1	2,39	2,99	2,69	0,4243	15,7719	248,7528
Purovesi	12223-1	2,63	2,88	2,755	0,1768	6,4166	41,1725
Purovesi	12223-1	2,54	3,02	2,78	0,3394	12,209	149,0606
Purovesi	12223-1	2,87	2,75	2,81	0,0849	3,0197	9,1184
Purovesi	12224-1	2,85	2,79	2,82	0,0424	1,5045	2,2635
Purovesi	12224-1	3,67	2,03	2,85	1,1597	40,6897	1655,6479
Purovesi	12224-1	3,64	2,27	2,955	0,9687	32,783	1074,7221
Pintavesi	14911-2	2,64	3,37	3,005	0,5162	17,1776	295,0712
Vesistövesi	13421-2	3,83	2,68	3,255	0,8132	24,9823	624,1137
Pintavesi	14178-1	3,24	3,52	3,38	0,198	5,8577	34,3125
Purovesi	12224-1	4,84	2,36	3,6	1,7536	48,7118	2372,8395
Vesistövesi	14963-1	4,02	3,8	3,91	0,1556	3,9786	15,8293
Purovesi	12221-1	4,92	3,4	4,16	1,0748	25,8366	667,5296
Vesistövesi	11841-5	4,73	4,11	4,42	0,4384	9,9187	98,3805
Purovesi	12221-1	3,53	5,41	4,47	1,3294	29,7396	884,4446
Purovesi	12221-1	4,86	4,31	4,585	0,3889	8,4822	71,9477
Purovesi	12221-1	4,68	4,84	4,76	0,1131	2,3768	5,6493
Purovesi	12221-1	5,36	5,05	5,205	0,2192	4,2114	17,7358
Vesistövesi	14902-1	5,47	5,03	5,25	0,3111	5,9262	35,1202
Purovesi	12221-1	5,21	5,29	5,25	0,0566	1,0775	1,161
Purovesi	12221-1	5,86	4,79	5,325	0,7566	14,2085	201,8823
Purovesi	12221-1	5,69	5	5,345	0,4879	9,1282	83,3245
Purovesi	12221-1	5,71	5,38	5,545	0,2333	4,2082	17,709

Purovesi	12221-1	6,01	5,17	5,59	0,594	10,6256	112,9029
Purovesi	12218-1	6,13	5,31	5,72	0,5798	10,1368	102,7556
Purovesi	12218-1	6,34	5,22	5,78	0,792	13,7017	187,7372
Purovesi	12218-1	6,58	5,1	5,84	1,0465	17,9198	321,1203
Purovesi	12221-1	6,72	5,04	5,88	1,1879	20,2031	408,1633
Pintavesi	14181-1	6,33	5,61	5,97	0,5091	8,5279	72,7254
Purovesi	12218-1	6,69	5,63	6,16	0,7495	12,1677	148,0541
Vesistövesi	13430-2	6,77	5,59	6,18	0,8344	13,5014	182,2876
Purovesi	12221-1	5,5	7,41	6,455	1,3506	20,9229	437,7682
Purovesi	12218-1	5,99	6,99	6,49	0,7071	10,8953	118,7082
Purovesi	12218-1	6,45	6,56	6,505	0,0778	1,1957	1,4298
Purovesi	12218-1	6,93	6,39	6,66	0,3818	5,7333	32,8707
Purovesi	12218-1	6,66	6,66	6,66	0	0	0
Purovesi	12218-1	6,7	6,76	6,73	0,0424	0,6304	0,3974
Lähdevesi	12195-1	9,04	4,85	6,945	2,9628	42,6606	1819,9252
Purovesi	12218-1	7,33	6,59	6,96	0,5233	7,5181	56,5217
Lähdevesi	12195-1	5,15	8,89	7,02	2,6446	37,6721	1419,1849
Purovesi	12218-1	7,13	7,03	7,08	0,0707	0,9987	0,9975
Vesistövesi	14963-5	7,05	7,85	7,45	0,5657	7,5931	57,6551
Purovesi	12218-1	6,51	9,16	7,835	1,8738	23,9162	571,9838
Lähdevesi	12195-1	8,43	8,1	8,265	0,2333	2,8233	7,971
Lähdevesi	12195-1	8,43	8,44	8,435	0,0071	0,0838	0,007
Lähdevesi	12195-1	9,65	8,23	8,94	1,0041	11,2314	126,1455
Lähdevesi	12195-1	8,18	9,76	8,97	1,1172	12,4552	155,1313
Lähdevesi	12195-1	8,43	9,69	9,06	0,891	9,8339	96,7063
Lähdevesi	12195-1	8,76	9,52	9,14	0,5374	5,8797	34,5704
Lähdevesi	12195-1	8,17	10,48	9,325	1,6334	17,5165	306,8289
Lähdevesi	12195-1	10,36	9,56	9,96	0,5657	5,6796	32,2575
Lähdevesi	12195-1	10,09	9,83	9,96	0,1838	1,8459	3,4072
Lähdevesi	12195-1	9,8	10,85	10,325	0,7425	7,1909	51,7093
Purovesi	12220-1	13,14	12,16	12,65	0,693	5,478	30,0083
Purovesi	12220-1	12,1	14,44	13,27	1,6546	12,469	155,4748
Purovesi	12220-1	13,14	13,72	13,43	0,4101	3,0538	9,3255
Purovesi	12220-1	14,88	12,1	13,49	1,9658	14,572	212,3419
Purovesi	12220-1	13,68	13,48	13,58	0,1414	1,0414	1,0845
Purovesi	12220-1	13,75	13,62	13,685	0,0919	0,6717	0,4512
Purovesi	12220-1	13,39	14,06	13,725	0,4738	3,4518	11,915
Purovesi	12220-1	13,6	13,92	13,76	0,2263	1,6444	2,7042
Purovesi	12220-1	14,4	13,14	13,77	0,891	6,4703	41,8642
Purovesi	12220-1	13,66	14,45	14,055	0,5586	3,9745	15,7966
Purovesi	12220-1	14,08	14,99	14,535	0,6435	4,427	19,5985

Purovesi	12220-1	14,95	14,49	14,72	0,3253	2,2097	4,8828
Vesistövesi	14963-4	14,75	14,84	14,795	0,0636	0,4301	0,185
Vesistövesi	12019-1	15,61	15,58	15,595	0,0212	0,136	0,0185
Ojavesi	4260-1	16,28	16,84	16,56	0,396	2,3912	5,7178
Vesistövesi	5746-1	18,59	18,62	18,605	0,0212	0,114	0,013
Vesistövesi	12016-1	20,47	21,33	20,9	0,6081	2,9096	8,4659
Vertailunäyte	3425-7	22,24	22,42	22,33	0,1273	0,57	0,3249
Vertailunäyte	3425-7	22,5	22,6	22,55	0,0707	0,3136	0,0983
Vertailunäyte	3425-7	22,52	22,67	22,595	0,1061	0,4694	0,2204
Vertailunäyte	3425-7	22,78	22,61	22,695	0,1202	0,5297	0,2805
Vertailunäyte	3425-7	22,73	22,68	22,705	0,0354	0,1557	0,0242
Vertailunäyte	3425-7	22,5	23,03	22,765	0,3748	1,6462	2,7101
Vertailunäyte	3425-7	22,85	22,77	22,81	0,0566	0,248	0,0615
Vertailunäyte	3425-7	22,87	22,91	22,89	0,0283	0,1236	0,0153
Vertailunäyte	3425-7	22,32	23,59	22,955	0,898	3,9121	15,3046
Pintavesi	14180-1	22,66	24,09	23,375	1,0112	4,3258	18,7128
Vertailunäyte	3425-7	25,43	22,25	23,84	2,2486	9,432	88,9635
Vesistövesi	11841-1	25,58	22,77	24,175	1,987	8,2191	67,5538
Vertailunäyte	3425-8	26,41	27,26	26,835	0,601	2,2398	5,0165
Vertailunäyte	3425-8	27,04	26,96	27	0,0566	0,2095	0,0439
Vertailunäyte	3425-8	27,25	26,77	27,01	0,3394	1,2566	1,5791
Vertailunäyte	3425-8	26,77	27,35	27,06	0,4101	1,5156	2,297
Vertailunäyte	3425-8	27,16	27,12	27,14	0,0283	0,1042	0,0109
Vertailunäyte	3425-8	27,39	27	27,195	0,2758	1,0141	1,0283
Vertailunäyte	3425-8	26,87	28,08	27,475	0,8556	3,1141	9,6976
Vertailunäyte	3425-8	27,99	28,35	28,17	0,2546	0,9037	0,8166
Vertailunäyte	3425-8	28,58	28,24	28,41	0,2404	0,8462	0,7161
Vertailunäyte	3425-8	28,59	28,61	28,6	0,0141	0,0494	0,0024
Vertailunäyte	3425-9	34,38	34,25	34,315	0,0919	0,2679	0,0718
Vertailunäyte	3425-9	34,14	34,5	34,32	0,2546	0,7417	0,5501
Vertailunäyte	3425-9	34,3	34,38	34,34	0,0566	0,1647	0,0271
Vertailunäyte	3425-9	34,09	34,6	34,345	0,3606	1,05	1,1025
Vertailunäyte	3425-9	34,46	34,44	34,45	0,0141	0,0411	0,0017
Vertailunäyte	3425-9	34,65	34,46	34,555	0,1344	0,3888	0,1512
Vertailunäyte	3425-9	34,3	34,93	34,615	0,4455	1,2869	1,6562
Vertailunäyte	3425-9	34,85	34,38	34,615	0,3323	0,9601	0,9218
Vertailunäyte	3425-9	34,57	34,69	34,63	0,0849	0,245	0,06
Vertailunäyte	3425-9	34,62	34,85	34,735	0,1626	0,4682	0,2192
Purovesi	12219-1	36,34	38,14	37,24	1,2728	3,4178	11,6814
Purovesi	12219-1	36,45	38,13	37,29	1,1879	3,1857	10,1485
Purovesi	12219-1	37,65	37,65	37,65	0	0	0

Purovesi	12219-1	38,06	37,57	37,815	0,3465	0,9163	0,8395
Purovesi	12219-1	38,47	38,47	38,47	0	0	0
Purovesi	12219-1	38,63	38,63	38,63	0	0	0
Purovesi	12219-1	38,99	39	38,995	0,0071	0,0181	0,0003
Purovesi	12219-1	39,07	39,13	39,1	0,0424	0,1085	0,0118
Purovesi	12219-1	38,75	39,5	39,125	0,5303	1,3555	1,8373
Purovesi	12219-1	38,71	39,73	39,22	0,7212	1,839	3,3819
Purovesi	12219-1	39,11	39,83	39,47	0,5091	1,2899	1,6638
Purovesi	12219-1	39,46	39,84	39,65	0,2687	0,6777	0,4593
Vesistövesi	14903-1	43,34	43,38	43,36	0,0283	0,0652	0,0043
Vesistövesi	4156-1	50,15	48,9	49,525	0,8839	1,7847	3,1852
Vesistövesi	14904-1	49,31	49,75	49,53	0,3111	0,6282	0,3946
Vesistövesi	11935-1	50,18	49,73	49,955	0,3182	0,637	0,4057
Vesistövesi	13418-4	53,55	50,45	52	2,192	4,2154	17,77
Purovesi	12222-1	65,31	67,29	66,3	1,4001	2,1117	4,4594
Purovesi	12222-1	66,29	66,34	66,315	0,0354	0,0533	0,0028
Purovesi	12222-1	65,65	67,08	66,365	1,0112	1,5236	2,3215
Purovesi	12222-1	66,33	66,69	66,51	0,2546	0,3827	0,1465
Purovesi	12222-1	66,25	67,1	66,675	0,601	0,9014	0,8126
Purovesi	12222-1	67,28	66,3	66,79	0,693	1,0375	1,0765
Purovesi	12222-1	66,23	67,46	66,845	0,8697	1,3011	1,6929
Purovesi	12222-1	67,16	66,71	66,935	0,3182	0,4754	0,226
Purovesi	12222-1	67,68	66,45	67,065	0,8697	1,2969	1,6819
Purovesi	12222-1	67,29	67,01	67,15	0,198	0,2948	0,0869
Purovesi	12222-1	67,74	66,62	67,18	0,792	1,1789	1,3897
Purovesi	12222-1	67,55	67,23	67,39	0,2263	0,3358	0,1127
Purovesi	12222-1	67,6	68,54	68,07	0,6647	0,9765	0,9535
Purovesi	12222-1	68,37	68,26	68,315	0,0778	0,1139	0,013
Purovesi	12222-1	70,33	68,62	69,475	1,2092	1,7404	3,029
Purovesi	12222-1	69,97	70,12	70,045	0,1061	0,1514	0,0229
Purovesi	12222-1	70,48	70,15	70,315	0,2333	0,3319	0,1101
Purovesi	12222-1	69,99	70,64	70,315	0,4596	0,6537	0,4273
Purovesi	12222-1	70,01	70,86	70,435	0,601	0,8533	0,7282
Purovesi	12222-1	70,76	70,15	70,455	0,4313	0,6122	0,3748
Purovesi	12222-1	71,73	69,33	70,53	1,6971	2,4061	5,7895
Purovesi	12222-1	70,17	71,57	70,87	0,9899	1,3969	1,9512
Vesistövesi	13903-1	74,2	73,93	74,065	0,1909	0,2578	0,0664
Vesistövesi	11929-1	103,34	101,48	102,41	1,3152	1,2843	1,6493
Vesistövesi	11934-1	104,56	108,55	106,555	2,8214	2,6478	7,0108
Vesistövesi	11931-1	105,93	107,22	106,575	0,9122	0,8559	0,7326
Vesistövesi	11933-1	109,9	109,93	109,915	0,0212	0,0193	0,0004

Vesistövesi	11932-1	112,11	111,98	112,045	0,0919	0,082	0,0067
Vesistövesi	11930-1	117,43	112,35	114,89	3,5921	3,1266	9,7754
Vesistövesi	11928-1	128,52	130,15	129,335	1,1526	0,8912	0,7942
Vesistövesi	1460-1	191,67	192,84	192,255	0,8273	0,4303	0,1852
Vesistövesi	1460-1	192,56	192,15	192,355	0,2899	0,1507	0,0227
Vesistövesi	1460-1	193,04	192,84	192,94	0,1414	0,0733	0,0054
Vesistövesi	1460-1	194,31	194,18	194,245	0,0919	0,0473	0,0022
Vesistövesi	1460-1	193,83	195,25	194,54	1,0041	0,5161	0,2664
Vesistövesi	1460-1	194,46	195,1	194,78	0,4525	0,2323	0,054
Vesistövesi	1460-1	194,7	195,28	194,99	0,4101	0,2103	0,0442
Vesistövesi	1460-1	194,31	195,87	195,09	1,1031	0,5654	0,3197
Vesistövesi	1460-1	195,2	195,58	195,39	0,2687	0,1375	0,0189
Vesistövesi	1460-1	195,32	195,49	195,405	0,1202	0,0615	0,0038
Pintavesi	12698-3	237,99	237,4	237,695	0,4172	0,1755	0,0308
Vesistövesi	1460-3	319,83	313,41	316,62	4,5396	1,4338	2,0557
Vesistövesi	1460-3	318,27	317,2	317,735	0,7566	0,2381	0,0567
Vesistövesi	1460-3	318,16	318,92	318,54	0,5374	0,1687	0,0285
Vesistövesi	1460-3	318,92	318,8	318,86	0,0849	0,0266	0,0007
Vesistövesi	1460-3	318,33	319,47	318,9	0,8061	0,2528	0,0639
Vesistövesi	1460-3	318,92	318,98	318,95	0,0424	0,0133	0,0002
Vesistövesi	1460-3	318,3	319,65	318,975	0,9546	0,2993	0,0896
Vesistövesi	1460-3	317,62	320,53	319,075	2,0577	0,6449	0,4159
Vesistövesi	1460-3	319,89	319,84	319,865	0,0354	0,0111	0,0001
Vesistövesi	1460-3	321,25	320,69	320,97	0,396	0,1234	0,0152
Keskiarvopitoisuus µg/l		44,06				Summa	91602,18
Minimipitoisuus µg/l		0,09				Näyteparien LKM	227
Maksimipitoisuus µg/l		321,25				Yhdistetty RSD%	20,08815104

Kontrollinäytteiden suhteelliset keskihajonnat eri pitoisuustasoilla

	Ctrl 5 µg/l	keskiarvo	5,024545455	
		keskihajonta	0,713083596	
		Suhteellinen keskihajonta RSD%	14,1920021	Käytetään tätä ≤ 10 ug/l arviona
Pienemmän käyrän kontrolli	Ctrl 50 µg/l	keskiarvo	53,71425926	
		keskihajonta	0,815522987	
		Suhteellinen keskihajonta RSD%	1,518261628	Käytetään tätä > 10 ug/l arviona
Suuremman käyrän kontrolli	Ctrl 50 µg/l	keskiarvo	47,3124	
		keskihajonta	0,610998363	
		Suhteellinen keskihajonta RSD%	1,291412745	
	Ctrl 400 µg/l	keskiarvo	386,748	
		keskihajonta	4,503596711	
		Suhteellinen keskihajonta RSD%	1,164478345	