



Heli Santapakka

**FOSFORIMENETELMIEN VALIDOINTI SHIMADZU UV-1800
STAND-ALONE -SPEKTROFOTOMETRILLÄ**

**FOSFORIMENETELMIEN VALIDOINTI SHIMADZU UV-1800
STAND-ALONE -SPEKTROFOTOMETRILLÄ**

Heli Santapakka
Opinnäytetyö
Kevät 2013
Laboratorioalan koulutusohjelma
Oulun seudun ammattikorkeakoulu

TIIVISTELMÄ

Oulun seudun ammattikorkeakoulu
Laboratorioalan koulutusohjelma, bioteknologian suuntautumisvaihtoehto

Tekijä: Heli Santapakka

Opinnäytetyön nimi: Fosforimenetelmien validointi Shimadzu UV-1800 Stand-alone -spektrofotometrillä

Työn ohjaajat: Satu Haapanen, Eija Hakala

Työn valmistumislukukausi ja -vuosi:

Sivumäärä: 47 + 8 liitettä

Kevät 2013

Opinnäytetyön aiheena oli siirtää valitut menetelmät uudelle UV/VIS-spektrofotometrille ja validoida laitetta. Opinnäytetyö tehtiin Raahen Ruukki Metals Oy:lle. Työssä validoidut menetelmät olivat ortofosfaatin ja kokonaisfosforin määritykset 1 ja 5 cm:n kyveteillä, eli menetelmiä oli validoitavana yhteensä neljä. Validointiin sisällytettiin standardisuorien mittaukset, standardien ja vertailumateriaalin toistettavuus, toteamis- ja määrittämissrajat, mittausepävarmuus ja vertailu uuden ja vanhan laitteen välillä. Vertailua kyvettimenetelmän ja läpivirtauskyvetin välillä ei ehditty tehdä.

Aluksi jokaiselle menetelmälle ajettiin standardisuora, jolle standardit ja näytteet mitattiin. Standardipisteistä tehtiin kymmenen toistoa jokaisesta. Tämän jälkeen vertailunäyte ja nollanäyte mitattiin samoin kymmenellä toistolla. Lopuksi standardit, vertailunäyte sekä nollanäyte mitattiin vanhalla spektrofotometrillä. Näytteiden nopean pilaantumisen vuoksi näytteet ajettiin vanhalla laitteella vanhalla kalibroitamisuoralle. Näistä tuloksista voitiin laskea muun muassa toistettavuus ja mittausepävarmuus. Toteamis- ja määrittämissrajoja ei voitu laskea väärän mittauksen vuoksi lainkaan.

Validoinnin perusteella menetelmät ovat luotettavia ja käytettäviä. Näytteiden toistettavuus oli hyvä ja suhteelliset keskihajonnat olivat pieniä. Jokaisen menetelmän mittausepävarmuudet olivat pieniä, ja niistä voitiin päätellä mittausten olevan sitä varmempia, mitä suurempi pitoisuus oli kyseessä. Toteamis- ja määrittämissrajat jäivät määrittämättä, mutta laboratorion työntekijöillä on nyt hyvä pohja jatkaa validointia eteenpäin.

Asiasanat: spektrofotometri, menetelmä, validointi, fosfori, kestävä kehitys

SISÄLLYS

TIIVISTELMÄ	3
SISÄLLYS	4
1 JOHDANTO	7
2 FOSFORI	8
2.1 Ortofosfaatti	8
2.2 Esimerkkejä fosfaateista	9
2.3 Kokonaisfosfori	10
2.4 Menetelmiä kokonaisfosforin määrittämiseen	10
3 VALIDOINTI	12
3.1 Toteamisraja	12
3.2 Määrittämisraja	12
3.3 Toistotarkkuus	13
3.4 Mittausepävarmuus	14
3.4.1 Systemaattinen virhe	14
3.4.2 Satunnaisvirhe	14
3.5 Varmennetut vertailumateriaalit	15
3.6 Mittausalue	16
4 RUUKKI	17
4.1 Historiaa	17
4.2 Konsernirakenne	18
4.2.1 Ruukki Construction	18
4.2.2 Ruukki Metals	19
4.2.3 Ruukki Engineering	19
4.3 Tutkimus ja kehitys	19
4.4 Raahen tehdas	20
4.4.1 Laboratoriot	20
4.4.2 Fosforimääritykset	20
5 LAITTEET, VÄLINEET JA ALKUVALMISTELUT	21
5.1 Shimadzu UV-1800 stand-alone -UV/VIS-spektrofotometri	21
5.2 Pipetit	22

5.3 Autoklaavi	23
5.4 Reagenssit	23
5.5 Liuosten valmistus	23
5.6 Ortofosfaatti, 5 cm:n kyveti -menetelmä	24
5.6.1 Kalibrintiliuosten valmistus	24
6 VALIDOINTI	25
6.1 Mittaukset	25
6.2 Ortofosfaatti, 1 cm:n kyveti -menetelmä	25
6.2.1 Kalibrintiliuosten valmistus	25
6.2.2 Mittaukset	26
6.3 Kokonaisfosfori, 5 cm:n kyveti -menetelmä	26
6.3.1 Kalibrintiliuosten valmistus	27
6.3.2 Mittaukset	27
6.4 Kokonaisfosfori, 1 cm:n kyveti -menetelmä	27
6.4.1 Kalibrintiliuosten valmistus	28
6.4.2 Mittaukset	28
6.5 Vertailu vanhan ja uuden laitteen välillä	28
7 VALIDOINNIN TULOKSET	30
7.1 Ortofosfaatti, 5 cm kyveti	30
7.1.1 Menetelmän toistotarkkuus	30
7.1.2 Toteamis- ja määritysraja	31
7.1.3 Saanto-, tarkkuus- ja systemaattinen virhe-%	32
7.1.4 Mittausalue, mittausepävarmuus	33
7.1.5 Vertailu	33
7.2 Ortofosfaatti, 1 cm kyveti	34
7.2.1 Menetelmän toistotarkkuus	34
7.2.2 Toteamis- ja määritysraja	35
7.2.3 Saanto-, tarkkuus- ja systemaattinen virhe-%	35
7.2.4 Mittausalue, mittausepävarmuus	35
7.2.5 Vertailu	36
7.3 Kokonaisfosfori, 5 cm kyveti	37
7.3.1 Menetelmän toistotarkkuus	37
7.3.2 Toteamis- ja määritysraja	37

7.3.3 Saanto-, tarkkuus- ja systemaattinen virhe-%	37
7.3.4 Mittausalue, mittausepävarmuus	38
7.3.5 Vertailu	38
7.4 Kokonaisfosfori, 1 cm:n kyveti	39
7.4.1 Menetelmän toistotarkkuus	39
7.4.2 Toteamis- ja määritysraja	40
7.4.3 Saanto-, tarkkuus- ja systemaattinen virhe-%	40
7.4.4 Mittausalue, mittausepävarmuus	40
7.4.5 Vertailu	41
8 YHTEENVETO	42
LÄHTEET	45
LIITTEET	48

1 JOHDANTO

Opinnäytetyö tilattiin Raahen Ruukki Metals Oy:lta. Työn suoritukseen oli varattu tilat Tutkimuskeskuksesta. Laite sijaitsi väliaikaisesti huoneessa, joka oli tarkoitettu öljyjen ja tervojen määrittämiseen. Alkuvalmistelut oli tarkoitettu tehtäväksi Ympäristölaboratoriossa.

Opinnäytetyön tarkoituksena oli luoda menetelmät uudelle UV/VIS-spektrofotometrille ja validoida niitä alustavasti. Tavoitteena oli saada edes yksi menetelmä toimimaan kunnolla, ja kaikki muu olisi hyvä lisä. Tästä työntekijät jatkaisivat sitten laitteen käyttöönottoa.

Menetelmiksi valittiin ortofosfaatin ja kokonaisfosforin määritykset. Menetelmiä oli molemmille määrityksille kaksi erilaista, joista toinen oli pienemmille ja toinen suuremmille pitoisuuksille.

Validointiin haluttiin sisällyttää kalibroitaisuoran näytteiden toistettavuus ja käytössä olevan referenssimateriaalin toistettavuus. Menetelmälle haluttiin laskea toteamis- ja määritysrajat. Standardit ja referenssimateriaalit mitataan myös vanhaa UV/VIS-spektrofotometriä käyttäen ja suoritetaan vertailua uuden ja vanhan laitteen välillä. Tarkoituksena oli myös kokeilla verrata kyvettimenetelmää ja läpivirtauskyvettä, jos aikaa jäisi.

2 FOSFORI

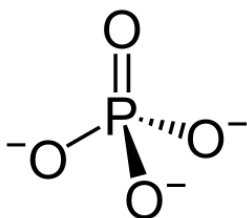
Fosfori on alkuaine, joka luetaan epämetalleihin. Fosforin kemiallinen merkki on P, joka tulee latinankielen sanasta *phosphorus*. Fosforia ei löydy luonnosta vapaana, koska se on erittäin reaktiivinen aine. Luonnossa fosfori on yleisimmin fosfaattina. Fosforia on mukana kaikissa elävissä soluissa, joissa sitä löytyy esimerkiksi DNA:ssa, RNA:ssa sekä ATP-molekyyleissä. (1.)

Fosforilla on useita allotrooppisia muotoja, joista yleisimmät ovat valkoinen ja punainen fosfori. Valkoinen fosfori on vapaana erittäin myrkyllistä. Noin 50 mg:n annos voi olla jo tappava. Valkoista fosforia ei saa käsitellä paljain käsin, koska se aiheuttaa palovammoja. Punainen fosfori ei ole yhtä vaarallista kuin valkoinen fosfori, mutta sitäkin tulisi käsitellä varoen. Tietyssä lämpötilassa punainen fosfori saattaa muuttua takaisin valkoiseksi, ja hapen läsnä ollessa punaisesta fosforista voi muodostua myrkyllisiä höyryjä. (2.)

Yleisimmät fosforin käyttökohteet ovat lannoitteet, joissa fosfori on fosfaattimuodossa. Tunnetuin käyttökohde on luultavasti tulitikut, joissa punainen fosfori tulitikkuaskin raapaisupinnalla aiheuttaa kipinöintiä, jonka seurauksena tikut syttyvät. Fosforyhdisteitä käytetään myös esimerkiksi räjähteissä, pesuaineissa ja hammastahnoissa. (2.)

2.1 Ortofosfaatti

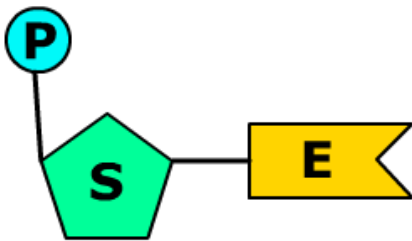
Ortofosfaatti (myös pelkkä fosfaatti) on anioni eli negatiivisesti varautunut ioni. Ortofosfaatti merkitään PO_4^{3-} , ja siinä fosfori on viidenarvoisena. Kuvassa 1 on yksinkertaistettu fosfaatti-ionin rakenne. (3.)



KUVA 1. Kuva fosfaatti-ionin rakenteesta (4)

2.2 Esimerkkejä fosfaateista

Ihmisen elimistön keskeisin fosfaatti löytyy DNA:sta eli deoksiribonukleiinihapposta. DNA on solujen tumassa oleva nukleiinihappo, joka sisältää ihmisen perimän eli kromosomit. DNA muodostuu nukleotideista. Nukleotidit taas koostuvat orgaanisista emäksistä, deoksiriboosi-sokereista ja fosfaatti-osasta. (5.) Kuvassa 2 on yksinkertaistettu malli nukleotidin rakenteesta. Kuvassa P tarkoittaa fosfaattia, S sokeriosaa ja E emästä. Myös RNA rakentuu samoin kuin kuvassa, sokerina vain on riboosisokeri.



KUVA 2. Nukleotidin rakenne (6)

Fosfaatti on kivennäisaine, jota ihminen tarvitsee elimistönsä. Fosfaatteja saadaan syömällä eläin- ja kasvikunnan tuotteita. Eläinperäisistä tuotteista maito- ja lihavalmisteet ovat hyviä fosfaatin lähteitä. Fosfaattia löytyy myös kananmunasta. Kasvikunnan tuotteista pähkinät, palkokasvit ja viljavalmisteet sisältävät fosfaatteja. Elintarviketeollisuudessa fosfaatteja käytetään lisäaineina esimerkiksi lihavalmisteissa ja hiilihapotetuissa juomissa. Suomalaiset saavat ravinnostaan runsaasti fosfaatteja suosituksiin nähden maitotuotteiden suuren kulutuksen vuoksi. Suurin hyväksytty saanti (5000 mg/vrk) ei kuitenkaan ylity. (7.)

Fosfaattia on enimmäkseen ihmisen luustossa, jossa siitä on noin 80 %. Fosfaatin puute voi heikentää normaalia luuston mineralisaatiota ja aiheuttaa osteomalasian eli luun pehmenystaudin. Rungas fosfaatin saanti voi sitoa ravinnosta saatua kalsiumia imeytymättömään muotoon. Lisäaineina käytettävät fosfaatit voivat suurina määrinä kuitenkin heikentää luustoa, jos kalsiumin saanti on niukkaa. (8.)

2.3 Kokonaisfosfori

Kokonaisfosforilla tarkoitetaan vedessä olevien kaikkien fosforiyhdisteiden kokonaismäärää. Kokonaisfosfori on vesien rehevöitymisen kannalta tärkein ravinne. Siitä on hyötyä myös vesien tuotannossa. Kokonaisfosfori rajoittaa planktonlevästön kasvua vesistöissä. Jos vesistö on karu, on kokonaisfosforin pitoisuus alle 10 µg/l. Ylirehevissä vesistöissä kokonaisfosforia on yli 100 µg/l. (9.)

Luonnossa fosfori on lähtöisin fosforipitoisista kivilajeista, joista fosforia rapautuu irti. Fosforia päätyy luontoon myös ihmisen toiminnan seurauksena. Maa- ja metsätalouden sekä asutusten jätevedet huuhtoutuvat vesistöihin ja aiheuttavat rehevöitymistä. Myös teollisuuden jätevedet, turvetuotanto ja kalankasvatus ovat luonnon fosforikuormittajia. (10.)

2.4 Menetelmiä kokonaisfosforin määrittämiseen

Kokonaisfosforia voidaan määrittää usealla tavalla ja työ suoritetaan yleensä kahdessa vaiheessa. Ensin valitaan sopiva näytteiden hajotusmenetelmä, minkä jälkeen määrittäminen tehdään halutulla kolorimetrisellä menetelmällä.

Hajotusmenetelmiä on seuraavanlaisia:

1. Perkloorihappohajotusta suositellaan ainoastaan erittäin vaikeasti määritettävien näytteiden hajotukseen
2. Typpihappo-rikkihappohajotusta käytetään useimmille näytteille
3. Peroksidisulfaattihajotus on helppo menetelmä, mutta vaatii tarkistuksen toisen menetelmän kanssa

Kolorimetrinen määrittäminen

1. Askorbiinihappomenetelmässä ammoniummolybdaatti ja antimonikaliumtartraatti reagoivat ortofosfaatin kanssa ja muodostavat heteropolymolybdeenihapon, joka pelkistyy molybdeenisisiniseksi askorbiinihapon vaikutuksesta. Määrittämissä rajat vaihtelevat kyvetin leveyden mukaan. (11.) Rajat ovat näkyvissä taulukossa 1.

3 VALIDOINTI

Validoinnilla tarkoitetaan jonkin menetelmän, laitteen tai sovelluksen toteamista kelvolliseksi. Validoinnin tarkoituksena on varmistaa menetelmän soveltuvuus ja oikeellisuus niissä olosuhteissa, joissa sitä käytetään. Menetelmän suorituskykyyn liittyvät ominaisuudet kuuluvat kattavasti tehtyyn validointiin. Tällaisia ovat esimerkiksi toteamisraja ja mittausepävarmuus. (13.)

3.1 Toteamisraja

Toteamisrajalla tarkoitetaan pienintä analyysimenetelmällä havaittavaa pitoisuutta. Yleisimmin toteamisraja määritetään rinnakkaisten nollanäytteiden keskihajonnan avulla. Toteamisraja lasketaan kuvan 4 kaavalla. (13.)

$$\text{LOD} = \mu_B + 3s_0$$

missä: s_0 = mittaussarjan keskihajonta
 μ_B = nollanäytteen tulosten keskiarvo

KUVA 4. Toteamisrajan määritelmä (13, s.102)

Toteamisrajan arvo riippuu merkittävästi esimerkiksi käytettävän laitteen kunnosta. Jos työskennellään lähellä toteamisrajaa, se tulisi määrittää jokaisena mittauskertana. (13.)

3.2 Määritysraja

Määritysrajalla tarkoitetaan pienintä analyytin pitoisuutta, joka voidaan määrittää hyväksyttävällä tarkkuudella ja täsmällisyydellä. Määritysraja lasketaan yleensä nollanäytteiden keskihajonnan avulla kuten toteamisraja. Määritysraja kannattaa laskea mahdollisimman laimealle standardille. Määritysraja lasketaan kuvan 5 kaavalla. (13.)

$$LOQ = \mu_B + 10s_0$$

missä: s_0 = mittaussarjan keskihajonta

μ_B = nollanäytteen tulosten keskiarvo

KUVA 5. Määritysrajan määritelmä (13, s.102)

3.3 Toistotarkkuus

Toistotarkkuudella tarkoitetaan toisistaan riippumattomien tulosten vastaavuutta. Toistotarkkuus ilmoitetaan yleensä suhteellisena keskihajontana. Toistotarkkuuden laskemiseen vaadittavia kaavoja on kuvassa 6. (13.)

Toistettavuus kuuluu toistotarkkuuteen. Siinä määrittäminen on tehty samalla menetelmällä käyttäen samoja materiaaleja, saman analysoijan toimesta ja lyhyellä aikavälillä. (13.)

Analyysissä tarvittavat kaavat:

- Keskiarvo

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

- Keskihajonta (s)

$$s = \frac{\sqrt{\sum (x - \bar{x})^2}}{n - 1}$$

- Suhteellinen keskihajonta (s%)

$$s\% = \frac{s}{\bar{x}} * 100$$

x = yksittäinen mittaustulos
 n = tulosten lukumäärä

KUVA 6. Kaavoja toistotarkkuuden määrittämiseen (13, s.109)

3.4 Mittausepävarmuus

Mittausepävarmuudella tarkoitetaan tulokseen liittyvää arviota, joka ilmoittaa rajoista, joiden välissä testin todellisen arvon voidaan tietyllä todennäköisyydellä katsoa olevan. Mittausepävarmuutta tarvitaan esimerkiksi verrattaessa tuloksia ja eri menetelmiä keskenään. Mittausepävarmuus ilmoitetaan yleensä tulosten suhteellisena keskihajontana. Myös laajennettua mittausepävarmuutta voidaan käyttää, jolloin suhteellinen keskihajonta kerrotaan tietyllä luvulla. (13, s.119.) Mittausepävarmuutta voidaan arvioida esimerkiksi käyttämällä vertailumateriaaleista saatuja tuloksia, hyödyntämällä pätevyyskokeiden tuloksia tai käyttämällä valmistajien spesifikaatioita (13, s.120).

Analytiikassa on monia epävarmuutta luovia tekijöitä. Näytteenotto ja sen epähomogeenisuus voivat luoda epävarmuutta, samoin näytteenotossa tai käsittelyssä sattunut kontaminaatio. Välineet ja laitteet saattavat luoda omalta osaltaan epävarmuutta, koska mikään väline ei ole täysin tarkka. Mittausvaiheessa voi tulla häiriöitä tai kalibroinnissa on ongelmia. Tulosten tulkinta voi myös luoda epävarmuutta, sillä jokainen voi tulkita tuloksia hieman eri tavalla, eli myös inhimilliset syyt saattavat tuoda epävarmuutta työhön. Kuvassa 7 on mittausepävarmuuden laskemiseen tarvittava kaava. (13.)

3.4.1 Systemaattinen virhe

Systemaattinen virhe tarkoittaa virhettä, joka toistuu samanlaisena samoissa olosuhteissa (14). Systemaattista virhettä voidaan arvioida esimerkiksi interkalibrointikokeiden ja saantokokeiden tulosten avulla (13).

3.4.2 Satunnaisvirhe

Satunnaisvirhe kertoo rinnakkaismääritysten hajonnasta (14). Satunnaisvirhe saadaan menetelmän validoinnissa tehtävistä täsmällisyyskokeista (13).

$$u = \sqrt{(S_{err})^2 + (R_{err})^2}$$

u	= mittausepävarmuus
S _{err}	= systemaattisen virheen estimaatti
R _{err}	= satunnaisvirheen estimaatti

KUVA 7. Mittausepävarmuuden määrittäminen (13, s.122)

3.5 Varmennetut vertailumateriaalit

Menetelmälle saattaa olla olemassa sertifioituja vertailumateriaaleja. Jos vertailumateriaalin ilmoitettuun arvoon voidaan luottaa, voidaan mittausepävarmuus laskea kuvien 8 ja 9 osoittamalla tavalla.

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

$u(R_w)$ = satunnaisvirhe (esim. laboratorion sisäinen uusittavuus, toistotarkkuuskokeet, X-kortit jne.)

$u(bias)$ = systemaattinen virhe (bias, poikkeama)

KUVA 8. Mittausepävarmuuden laskeminen vertailumateriaalin tuloksista (13)

Kuvassa 9 olevaa laskentakaavaa käytetään, kun käytettävissä olevia vertailumateriaaleja on vain yksi.

$$u(bias) = \sqrt{(bias)^2 + \left(\frac{S_{bias}}{\sqrt{n}}\right)^2 + u(C_{ref})^2}$$

$u(C_{ref})$ = varmennetun pitoisuuden standardiepävarmuus

S_{bias} = harhan hajonta ($n > 10$, eri päivä, eri tekijä jne.)

KUVA 9. Mittausepävarmuuden laskeminen yhdestä vertailumateriaalista (13)

Jos käytävissä olevia vertailumateriaaleja on enemmän kuin yksi, voidaan käyttää kaavaa kuvassa 10.

$$u(\text{bias}) = \sqrt{RMS_{\text{bias}}^2 + u(\text{Cref})^2}$$
$$RMS_{\text{bias}} = \sqrt{\frac{\sum (\text{bias}_i)^2}{n}}$$

KUVA 10. Mittausepävarmuuden laskeminen useammasta vertailumateriaalista
(13)

3.6 Mittausalue

Mittausalueeksi kutsutaan sitä pitoisuusaluetta, jolla menetelmä pystyy tuottamaan tuloksia hyväksyttävällä tarkkuudella ja toistotarkkuudella. Kvantitatiivisessa työskentelyssä mittausalue voi olla huomattavasti laajempi kuin lineaarisessa työskentelyssä. Kvantitatiivisessa saadun vasteen suhde pitoisuuteen ei tarvitse olla täysin lineaarinen. Riittää, että käyrän kaartuminen voidaan määrittää luotettavasti. Jos lineaarisuus on huono, tulee kalibrointistandardien määrää lisätä. Lineaarista mittausaluetta käytettäessä sopiva standardien lukumäärä on viisi. (13.)

Mittausalueen tulisi kattaa menetelmässä käytettyjen näytteiden pitoisuudet. Mittausalue voidaan alussa todeta toistotarkkuus- ja tarkkuustutkimuksissa mittaamalla näytteitä laajalla pitoisuusalueella, joka voidaan sitten tarpeen mukaan supistaa halutulle alueelle. (13.)

4 RUUKKI

Rautaruukki Oyj on teräkseen ja teräsrakentamiseen erikoistunut suomalainen yhtiö. Ruukki-markkinointinimeä käyttävä yritys pyrkii tuottamaan asiakkailleen energiatehokkaita teräsratkaisuja. (15.)

4.1 Historiaa

Rautaruukki on perustettu vuonna 1960. Yhtiötä olivat perustamassa muun muassa Suomen valtio, Valmet, Wärtsilä, Rauma-Repola, Outokumpu ja Fiskars. Yritys perustettiin alun perin turvaamaan Suomen telakka- ja metalliteollisuuden raaka-ainehuolto hyödyntämällä kotimaisia malmivaroja. (15.)

Raahen terästehdas oli ensimmäinen länsimainen terästehdas, joka alkoi valmistaa terästä jatkuvavalumenetelmällä. Menetelmä oli tehokkaampi kuin perinteinen valannevalumenetelmä. (15.)

Rautaruukki keskittyi tuotannon jatkojalostukseen 1970-luvulla. Toimintaa laajennettiin ohutlevy- ja putkituotantoon. Raahen toinen masuuni käynnistettiin vuonna 1976. Hämeenlinnassa aloitettiin kylmävalssaus ja putkituotanto. Yritys haki kasvumahdollisuuksia Länsi-Euroopasta 1980-luvulla. Rautaruukki osti yhtiöitä kuten tanskalaisen muovipinnoittamo Metalcolour A/S:n, sekä perusti myyntiyhtiöitä. Rautaruukki Oyj kansainvälistyi voimakkaasti 1990-luvulla. Itä-Euroopan markkinat avautuivat yhtiölle. Rautaruukki alkoi kehittää omia merkkituotteitaan ja laajensi rakentamiseen ostamalla kattovalmistaja Rannilan. (15.)

Markkinointinimi Ruukki otettiin käyttöön vuonna 2004. Konepajateollisuus ja rakentaminen olivat panostuksen kohteena ja erikoisterästuotteet valittiin teräsiikennetoiminnan painopisteeksi. Ruukin kansainvälistymisen myötä ympäri maailmaa toteutettiin vaativia rakennus- ja konepajateollisuusprojekteja. (15.)

Ruukki painottaa rakentamisessa tällä hetkellä kasvuun Venäjällä. Myös katto-
liiketoimintaa pyritään painottamaan. (15.)

Perustamisvuonna 1960 Rautaruukki työllisti ainoastaan kuusi ihmistä. 1990-luvulla työntekijöitä oli noin 12 000, joista 5000 oli muualla kuin Suomessa. Työntekijöiden määrä kasvaa jatkuvasti Ruukin laajentaessa ulkomaille. (15.)



KUVA 11. Rautaruukin liikemerkit (15)

4.2 Konsernirakenne

Rautaruukki Oyj on konsernimuotoinen yritys. Se muodostuu kolmesta osaluokasta: Ruukki Construction, Ruukki Metals ja Ruukki Engineering. (16.)

4.2.1 Ruukki Construction

Construction keskittyy rakentamiseen. Elinkaari- ja energiatehokkuus ovat myyntivaltti, jota yritys käyttää. Construction valmistaa teräsrakennusratkaisuja muun muassa liike- ja toimitilarakentamiseen, pientaloihin sekä satamarakentamiseen. Työntekijöitä Construction-puolella on noin 3 300. (16.)

Asiakkaille tarjotaan kilpailukykyisiä tuotteita, jotka perustuvat vahvaan suunnittelu- ja projektinjohto-osaamiseen. Palveluja on suunnittelusta asentamiseen asti. Construction-tuotteet ovat nopeita ja turvallisia asentaa. (16.)

4.2.2 Ruukki Metals

Ruukki Metals huolehtii yhtiön teräsliiketoiminnasta. Metals on yksi johtavista terästuotteiden valmistajista ja jakelijoista Pohjoismaissa ja Baltiassa. Työntekijöitä Metalsin alle kuuluu noin 5 200. (16.)

Teräsliiketoiminnan vastuulla ovat kaikki Ruukin terästuotteet. Vastuualueeseen kuuluvat myös tuotteiden esikäsittely-, logistiikka- ja varastointipalvelut. Teräspalvelukeskuksia Metalsilla on Pohjoismaissa, Venäjällä, Puolassa sekä Kiinassa. (16.)

Tuotantoon kuuluvat esimerkiksi erikoislujut teräkset sekä kulutusta kestävät teräkset. Vahva teknologiaosaaminen ja nykyaikainen valmistuskapasiteetti ovat varmistaneet, että Ruukki Metals on yksi alan huipuista. Erikoislujut teräkset ovat mahdollisimman kevyitä ja kestäviä. Ne vähentävät polttoaineen kulutusta ja lisäävät turvallisuutta. Erikoislujista teräksistä voisi esimerkkinä mainita kuljetuskaluston sekä kuorma-autojen lavarakenteet. Kulutusta kestävät teräkset luovat lopputuotteelle pidemmän käyttöiän. Tuotteiden rakenne on myös keveämpi. Kaivinkoneiden kauhat, maansiirtokoneiden terät ja erilaiset alustarakenteet ovat kulutusta kestävien terästen lopputuotteita. (16.)

4.2.3 Ruukki Engineering

Lokakuussa 2012 uusi Fortaco-niminen yhtiö tuli esiin, kun Ruukki Engineering-divisioonan yksiköitä yhdistettiin Komasin kanssa. Tästä päättivät yhdessä Ruukki ja CapManin hallinnoimat rahastot. (16.)

4.3 Tutkimus ja kehitys

Ruukilla on vahva teräksen asiantuntemus, mikä mahdollistaa edistykselliset ratkaisut. Tutkimus- ja kehitystyö innovoivat uusia tuotteita ja palveluja. Ruukki kehittää ja suunnittelee turvallisia ratkaisuja, jotta rakentamisprosessin tehokkuus parantuisi. Kehitystyötä tehdään myös, jotta rakennusaikaa saataisiin lyhennettyä ja työmaalla tehtävää työosuutta pystyttäisiin vähennettyä. Ruukki kehittää jatkuvasti uusia, parempia teräslaatuja. Tavoitteena ovat lopputuotteen

kevyempi rakenne, pidempi käyttöikä sekä parempi suorituskyky. Pinnoitteista pyritään tekemään mahdollisimman muokattavia, kestäviä ja toiminnallisia. (17.)

Ruukki hyödyntää kaikkein uusinta teknologiaa parantaakseen tuotteitaan ja tuotantoaan. Kiinteä yhteistyö ulkoisen asiantuntijaverkoston (yliopistot, tutkimuslaitokset) kanssa edesauttaa tutkimus- ja kehitystyötä. (17.)

Kehitysprojektien tärkein painopiste on energiatehokkuus. Ruukki pyrkii tuote- ja ratkaisukehityksessä maailmanluokan osaamiseen. Yritys tekee myös pitempiaikaista tutkimusta, jossa etsitään uusia läpimurto-sovelluksia ja testataan futuristisia ideoita. (7.)

4.4 Raahen tehdas

Ruukin Raahen tehdas toimii Ruukki Metalsin alaisena. Päätuotteena ovat siis erilaiset terästuotteet. Raahessa toimii tällä hetkellä kaksi masuunia. Sintraamo ajettiin tehtaalla alas vuoden 2011 lopulla.

4.4.1 Laboratoriot

Raahessa Ruukilla toimii kaksi tutkimuskeskusta: koksaaamon oma laboratorio sekä Tutkimuskeskus, jossa toimii useita laboratorioita. Laboratoriot tekevät tiivistä yhteistyötä keskenään. Työtehtävät on jaettu tiettyihin laboratorioihin, mutta tarpeen vaatiessa työskennellään yli rajojen. Työtä tehdään kokonaisuudessaan koko tehtaan hyväksi. Eri laboratoriot voivat myös tehdä rinnakkaismäärytyksiä samoista näytteistä. Tulokset kirjataan tarkasti LIMS-tietojärjestelmään ja niitä tarkkaillaan sekä verrataan keskenään.

4.4.2 Fosforimääritykset

Raahen tehtaalla fosforia löytyy Koksaaamon vesistä, joissa ei kuitenkaan ole erillisiä luparajoja fosforin määrille. Biokemian puolella fosforihappoa syötetään veteen lisäravinteeksi ja riittävien pitoisuuksien takaamiseksi tehdään analyysyjä. Tehtaalla lisätään tekniseen kiertoveteen korroosioinhibiittia, jonka fosforihappopitoisuus on 5-10 %. Näitä pitoisuuksia seurataan määrittämällä ortofosfaattia ja kokonaisfosforia. Lisäksi tehtaan ympäristölupa vaatii pitoisuuksien tarkkailua.

5 LAITTEET, VÄLINEET JA ALKUVALMISTELUT

Opinnäytetyö tehtiin Raahen tehtaan Tutkimuskeskuksessa. Tutkimuskeskuksen toisessa kerroksessa sijaitsevat muun muassa Analyysilaboratorio sekä Ympäristölaboratorio. Työ suoritettiin Ympäristölaboratorion tiloissa, sekä öljyjen ja tervojen määrittämiseen varatussa huoneessa. Spektrofotometri oli ostettu Ympäristölaboratorioon. Laite oli väliaikaisesti sijoitettu eri huoneeseen tulevan remontin vuoksi.

5.1 Shimadzu UV-1800 stand-alone -UV/VIS-spektrofotometri

Työssä käytetty spektrofotometri, Shimadzu UV 1800 stand-alone, on kaksisädelaite, joka on valmistettu Japanissa Shimadzun tehtaalla 2012. Laitteen säteilylähteenä toimii 20 W halogeeni – ja deuteriumlampu. Halogeenilamppu on tarkoitettu näkyvän valon alueelle eli 380–780 nm ja deuteriumlampulla mitataan UV-valon aluetta eli 190–380 nm. Laitteen monokromaattori erottelee halutun aallonpituuden tai aallonpituusalueen. Monokromaattorissa on useita komponentteja : raot, joilla säteilyä ohjataan, prisma/hila, joka hajottaa säteilyn spektriin ja erilaiset peilit, jotka ohjaavat säteen kulkua. Spektrofotometriin kuuluu myös detektori, joka muuttaa aineen läpi kulkeneen säteilyn sähkövirraksi. UV 1800 -laitteen detektori on silikoni-fotodiodidetektori. Laite on pöytämallia ja huomattavasti pienempi kuin vanhempi spektrofotometri. Kuvassa 12 spektrofotometri on väliaikaisessa sijoituspaikassaan tervojen ja öljyjen määrittämishuoneessa.



KUVA 12. Uusi spektrofotometri

UV-Probe on 32-bittinen Shimadzun UV/VIS-spektrofotometriä ohjaukseen ja datan käsittelyyn kehitetty tietokoneohjelma. Ohjelman avulla voidaan suorittaa kineettisiä ja fotometrisiä mittauksia sekä ajaa spektrejä. Ohjelmalla onnistuu myös raporttien muokkaaminen. (18.)

5.2 Pipetit

Käytetyt pipetit oli kalibroitu viimeisen puolen vuoden sisällä. Pipettien tiedot löytyvät taulukosta 2.

TAULUKKO 2. Pipettien tiedot

valmistaja	malli	tilavuus	pipetin numero	muuta
Thermo Scientific	Finnpipette	0,5-5 ml	DH44695	automaattipipetti
Thermo Scientific	Finnpipette F2	100-1000 µl	GH05446	ilmamäntäpipetti

5.3 Autoklaavi

Autoklaavi oli Metos Instrumentarium Oy:n valmistama pöytämallinen autoklaavi. Malli oli Metos PA 20, ja laitteen sarjanumero oli 11052/51. Autoklaavin maksimi käyttöpaino oli 3 kp/cm² eli kolme baria. Laite oli otettu käyttöön vuonna 1982. lästään huolimatta laite on toimiva ja turvallinen. Laitteelle tehdään virallinen tarkistus kolmen vuoden välein, ja tarkistus oli tehty viimeksi vuonna 2011.

5.4 Reagenssit

Työssä käytettiin valmiina työpaikalla olleita reagensseja, jotka olivat jatkuvasti työntekijöiden käytössä. Reagenssit otettiin avatuista purkeista, eli niissä saattoi olla valmiiksi kontaminaatiota. Päiväystä kemikaaleissa oli vielä jäljellä. Reagenssit löytyvät taulukosta 3.

TAULUKKO 3. Reagenssit

KEMIKAALI	KAAVA	VALMISTAJA	ERÄNUMERO	TUOTENUM.	PUHTAUS
askorbiinihappo	C ₆ H ₈ O ₆	AnalaR	09K300010	20150.231	normapur
kaliumantimoni(III)- oksiditartraattihemi- hydraatti	K(SbO)C ₄ H ₄ O ₆ *0,5 H ₂ O	Merck kGaA	-	K36869492	-
ammoniumhepta- molybdaatti-tetrahyd- raatti	(NH ₄) ₆ MO ₇ O ₂₄ *4 H ₂ O	Merck kGaA	-	A925982 804	-
kaliumvetyfosfaatti	KH ₂ PO ₄	Sigma-Aldrich	7778-77-0	SZBA3580V	
Anion multi-element standard 1	NaF, KH ₂ PO ₄ , NaBr(vedessä)	Merck kGaA	1.11437. 500	HC087301	certipur
kaliumperoksidi- disulfaatti	K ₂ S ₂ O ₈	Merck kGaA	1.05091. 1000	K26188591 918	pro analysi
rikkihappo	H ₂ SO ₄	Merck kGaA	1.00732	-	-

5.5 Liuosten valmistus

Työssä käytetyt liuokset valmistettiin tehtaalta saadun työohjeen mukaan taulukon 3 reagensseista. Liuosten valmistus on kerrottu liitteestä 1.

Liuosten valmistukseen käytettiin laboratorion omia välineitä, jotka ovat jokapäiväisessä käytössä. Samoja välineitä käytetään fosforimäärityksissä. Kaikki liuokset tehtiin Milli-Q-veteen.

5.6 Ortofosfaatti, 5 cm:n kyvetti -menetelmä

Tämä menetelmä on tarkoitettu pienten pitoisuuksien määrittämiseen. Mitattava aallonpituus oli 880 nm.

5.6.1 Kalibrointiliuosten valmistus

Kalibrointiliuokset valmistettiin 50 ml:n mittapulloihin. Pulloihin pipetoitiin ortofosfaatin standardiliuosta taulukon 4 mukaan.

TAULUKKO 4. Ortofosfaatin standardien pipetointi, 5 cm:n kyvetti

pitoisuus (µg/l)	pipetoidaan(ml)	lopputilavuus
50	1	40
100	2	40
150	3	40
200	4	40
250	5	40

Pulloihin laitettiin vettä noin 40 ml, minkä jälkeen lisättiin 1 ml askorbiinihappoa ja 2 ml hapanta molybdaattiliuosta I. Tämän jälkeen pullot täytettiin merkkiin ja sekoitettiin.

6 VALIDOINTI

Validointi tehtiin neljälle eri menetelmälle. Kaksi menetelmistä oli tarkoitettu ortofosfaatin määrittämiseen ja kaksi kokonaisfosforin määrittämiseen. Molempien fosforimuotojen määrittämiseen oli erikseen suurille ja pienille pitoisuuksille kehitetyt menetelmät.

6.1 Mittaukset

Valmiit näytteet mitattiin kymmenen minuutin kuluttua valmistuksesta. Laitteen nollaus tehtiin ilmaa vasten. Nollanäyte laitettiin taaempaan pidikkeeseen ja näyte etummaiseen. Aluksi ajettiin standardisuora, joka on liitteenä 2.

Standardeja ajettiin heti perään näytteinä validointia varten. Mittaukset tulisi tehdä 10–30 minuutin sisällä valmistuksesta. Ortofosfaatti hajoaa nopeasti, eli mittaus ei ole enää täysin luotettava puolen tunnin jälkeen valmistuksesta.

Näytettä kaadettiin kyvetiin, josta pitoisuus mitattiin kymmenen kertaa peräkkäin muutaman sekunnin viiveellä. Viive olisi pitänyt olla 10 sekuntia, mutta hajoamisen vuoksi aikaa päätettiin lyhentää. Kaikki standardit ajettiin näytteinä kymmenen kertaa. Vertailuliuksesta tehty näyte sekä nollanäyte mitattiin myös kymmenen kertaa. Mittauksen tulokset löytyvät liitteestä 3.

Vertailun vuoksi näytteet ajettiin vielä vanhalla spektrofotometrillä. Kaikki mittaukset saatiin tehtyä suunnilleen puolen tunnin sisällä näytteiden valmistamisesta.

6.2 Ortofosfaatti, 1 cm:n kyveti -menetelmä

Yhden senttimetrin kyvetillä tehtävät mittaukset ovat tarkoitettu näytteille, joilla pitoisuus on suuri. Mittausten aallonpituus oli 880 nm.

6.2.1 Kalibrointiliuosten valmistus

Kalibrointiliuokset valmistettiin 50 ml:n mittapulloihin, joihin ortofosfaatin standardiliuosta pipetoitiin taulukon 5 mukaan.

TAULUKKO 5. Ortofosfaatin standardien pipetointi, 1 cm:n kyvetti

pitoisuus ($\mu\text{g/l}$)	pipetoidaan(ml)	lopputilavuus
50	1	40
100	2	40
150	3	40
200	4	40
250	5	40
300	6	40
350	7	40
400	8	40
450	9	40
500	10	40

Standardit tehtiin samoin kuin edellisessä ortofosfaatin määrittämisessä eli noin 40 ml:aan vettä, johon pipetoitiin 1 ml askorbiinihappoa ja 2 ml hapanta molybdaattiliuosta I. Pullot täytettiin merkkiin vedellä ja sekoitettiin.

6.2.2 Mittaukset

Mittaus tapahtui myös samoin kuin edellisellä kerralla. Nollaus tehtiin ilmaa vastaan. Näytteet ajettiin nollanäytettä vastaan. Aluksi ajettiin standardisuora, joka löytyy liitteestä 2.

Validointia varten standardit, nollanäyte ja vertailu mitattiin kymmenen kertaa. Tulokset löytyvät liitteistä 4/1-4/4. Näytteet ajettiin myös vanhalla spektrofotometrillä.

6.3 Kokonaisfosfori, 5 cm:n kyvetti -menetelmä

Kokonaisfosforin määrittäminen vaatii näytteen hapetuksen. Tämä tehdään liisämällä näytteisiin kaliumperoksidisulfaattiliuosta ja autoklavoimalla, jolloin hapetus tapahtuu.

Määrittämisessä käytetään samaa ortofosfaatin standardiliuosta, jolla ortofosfaattia on määritetty. Määrittäminen on tarkoitettu pienille pitoisuuksille.

6.3.1 Kalibrointiliuosten valmistus

Kalibrointiliuokset valmistettiin autoklaavipulloihin. Pulloihin pipetoitiin ortofosfaatin standardiliuosta taulukon 6 mukaan.

TAULUKKO 6. Kokonaisfosforin standardien pipetointi, 5 cm:n kyvetti

pitoisuus($\mu\text{g/l}$)	pipetoidaan(ml)	lopputilavuus
50	1	40
100	2	40
150	3	40
200	4	40
250	5	40

Pulloihin lisättiin 500 μl 4,5 mol/l rikkihappoliuosta ja 4 ml kaliumperoksidisulfaattiliuosta. Pulloja autoklavoitiin 30 minuuttia 120 °C:ssa. Autoklavoinnin jälkeen pullot jäähdytettiin huoneenlämpöön vesihauteessa. Liuokset siirrettiin 50 ml:n mittapulloihin ja autoklaavipulloja huuhdeltiin pienellä määrällä vettä. Mittapulloihin lisättiin 1 ml askorbiinihappoa ja 2 ml hapanta molybdaattiliuosta II. Pullot täytettiin merkkiin ja sekoitettiin hyvin.

6.3.2 Mittaukset

Mittaus suoritettiin samoin kuin ortofosfaatin määrittämisessä. Aallonpituutena käytettiin samaa 880 nm. Myös tässä menetelmässä nollaus tehtiin ilmaa vastaan. Kaikki standardit ajettiin samalla valmistettua nollanäytettä vastaan. Ensin ajettiin standardisuora, joka löytyy liitteestä 2.

Validointia varten tehdyt toistot ovat liitteestä 5. Vertailun vuoksi standardit ajettiin myös vanhalla spektrofotometrillä.

6.4 Kokonaisfosfori, 1 cm:n kyvetti -menetelmä

Menetelmä on tarkoitettu suurten fosforipitoisuuksien mittaamiseen.

6.4.1 Kalibrointiliuosten valmistus

Kalibrointiliuokset tehtiin autoklaavipulloihin. Pulloihin pipetoitiin ortofosfaatin standardiliuosta taulukon 7 mukaan.

TAULUKKO 7. Kokonaisfosforin standardien pipetointi, 1 cm:n kyvetti

pitoisuus($\mu\text{g/l}$)	pipetoidaan(ml)	lopputilavuus
50	1	40
100	2	40
150	3	40
200	4	40
250	5	40
300	6	40
350	7	40
400	8	40
450	9	40
500	10	40

Pulloihin lisättiin 0,5 ml rikkihappoliuosta II ja 4 ml kaliumperoksidisulfaattiliuosta. Pulloja autoklavoitiin 30 minuuttia 120°C:ssa, jonka jälkeen ne jäähdytettiin huoneenlämpöön. Liuokset siirrettiin autoklaavipulloista 50 ml:n mittapulloihin, joihin pipetoitiin 1 ml askorbiinihappoa ja 2 ml hapanta molybdaattiliuosta II. Pulloja täytettiin merkkiin vedellä ja sekoitettiin hyvin.

6.4.2 Mittaukset

Mittaukset aloitettiin kymmenen minuutin kuluttua liuosten valmistuksesta. Ajossa käytettiin 1 cm:n kyvetiä. Spektrofotometrin nollaus tehtiin ilmaa vastaan ja standardit ajettiin nollanäytettä vastaan. Ajettu standardisuora löytyy liitteestä 2.

Validointiin tehdyt toistot löytyvät liitteestä 6. Näytteet mitattiin myös vanhalla spektrofotometrillä vertailua varten.

6.5 Vertailu vanhan ja uuden laitteen välillä

Laitte, jota näytteiden määrittämiseen on käytetty tähän asti, on Perkin Elmer Lambda 40. Tietokoneohjelma on UW Winlab. Spektrofotometri on noin 20

vuotta vanha, mutta toimiva. Laite on jokapäiväisessä käytössä, ja se tarkistetaan päivittäin ennen mittausten aloittamista.

Kun standardisuora ja toistot oli mitattu standardeista, näytteet mitattiin vanhalla UV/VIS-spektrofotometrillä. Mittaukset suoritettiin vanhalla spektrofotometrillä samoin kuin uudella. Laite nollattiin ilmaa vastaan ja näytteet mitattiin nollanäytettä vastaan. Näytteiden valmistuksesta oli ehtinyt kulua melkein puoli tuntia jokaisessa ajossa. Fosfori hajoaa nopeasti näytteissä, ja tulokset eivät välttämättä ole täysin todenpitäviä. Standardien keskiarvoa verrattiin vanhalla laitteella kerran mitattuun tulokseen. Mittausten tulokset löytyvät taulukoista 13, 17, 20 ja 24.

7 VALIDOINNIN TULOKSET

Mittaustulosten perusteella laskettiin validointiin liittyviä suureita käyttämällä Microsoft Exceliä. Tuloksia on eritelty taulukoissa ja liitteissä. Myös uuden ja vanhan laitteen mittaustuloksia verrattiin keskenään.

7.1 Ortofosfaatti, 5 cm kyvetti

Ortofosfaatin määräitys 5 cm:n kyvetillä oli tarkoitettu pienille pitoisuuksille 50–250 µg/l. Standardeja oli viisi, joille jokaiselle tehtiin kymmenisen toistoa. Mittausten tulokset ovat laskuineen liitteestä 3 ja mittausepävarmuus ja – alue liitteessä 7. Liitteeseen 8 on koottu kaikki validointiin liittyvät arvot.

7.1.1 Menetelmän toistotarkkuus

RSD% tarkoittaa suhteellista keskihajontaa, joka on laskettu jakamalla keskihajonta keskiarvolla ja kertomalla tulos sadalla. Suhteellinen keskihajonta kertoo menetelmän toistotarkkuudesta eli täsmällisyydestä. Toistotarkkuus on yleensä suurempi pienillä pitoisuuksilla kuin suurilla pitoisuuksilla.

Menetelmän RSD%:t löytyvät taulukosta 8. Ortofosfaatin kalibrointipisteiden suhteelliset keskihajonnat ovat todella pieniä, sillä kaikki ovat alle 0,05 %. Kun suhteellinen keskihajonta on alle 5 % 95 %:n luottamustasolla, menetelmä on täsmällinen. Ortofosfaatin määräytyksen 5 cm:n kyvetillä voidaan siis sanoa olevan täsmällinen.

TAULUKKO 8. Suhteellinen keskihajonta (ortofosfaatti, 5 cm:n kyvetti)

	RSD%
std1	0,04
std2	0,01
std3	0,01
std4	0,02
std5	0,01
vertailu	0,01
nolla	0,01

7.1.2 Toteamis- ja määrittäysraja

Toteamis- ja määrittäysrajoja laskettaessa huomattiin nollanäytteiden pitoisuuksi- en antavan suuremman tuloksen kuin pienin mitattu standardi. Taulukossa 9 on esimerkki nollanäytteen ja pienimmän standardin pitoisuuksista.

TAULUKKO 9. Nollanäyte ja pienin standardi

std1	nolla	erotus	
50,9827	55,3959	4,4132	µg/l

Taulukosta nähdään, että nollanäyte antaa 4,4132 µg/l suuremman pitoisuuden kuin pienin standardi. Aluksi eron ajateltiin johtuvan siitä, että laite on nollettu ilmaa vastaan ja nolla on mitattu näytteenä. Pitoisuusero johtuu kuitenkin luultavasti siitä, että nolla on mitattu yksin eikä nollaliuoksen kanssa. Standardeja ajettaessa standardikyvetti oli etummaisessa pidikkeessä ja nollanäytettä pidettiin taaemmassa pidikkeessä standardia vastaan. Nollanäyte olisi pitänyt mitata samoin, mutta taaempaan pidikkeeseen ei ymmärretty laittaa nollanäytettä lainkaan. Ero johtuu luultavasti tästä. Jos nollanäyte olisi mitattu toista nollaa vastaan, erot olisivat luultavasti olleet todella pieniä ja todellisempia kuin saadut tulokset.

Työohjeessa on edellisessä validoinnissa laskettu määrittäysraja, joka on ollut 0,5 µg/l. Omilla mittaustuloksilla saatiin toteamis- ja määrittäysrajaksi taulukon 10 luvut.

TAULUKKO 10. Toteamis- ja määrittäysraja

Nolla		
Keskiarvo		55,3959
Keskihajonta, s		0,0071
Toteamisraja		55,417
Määrittäysraja		55,47

Toteamisrajan laskemisessa keskiarvon ja keskihajonnan suhde on kerrottu kolmella. Määritysrajassa se on kerrottu kymmenellä. Omilla tuloksilla rajat olisivat siis suurempia kuin pienin standardi. Tällöin menetelmällä ei voitaisi mitata pitoisuuksia, joissa on alle 55,47 µg/l fosforia. Tämä ei kuulosta järkevältä, joten menetelmälle ei voida laskea toteamis- ja määritysrajoja.

7.1.3 Saanto-, tarkkuus- ja systemaattinen virhe-%

Taulukossa 11 on vertailumateriaalin avulla lasketut validointiarvot.

TAULUKKO 11. Vertailumateriaali

vertailu, todellinen		
Keskiarvo		520,5489
Keskihajonta, s		0,0624
RSD % (s)		0,01
systemaattinen virhe%		0,04
tarkkuus%		4,11
saanto%		104,1098

Vertailumateriaalin systemaattinen virhe on 0,04 %. Samanlaisena tapahtuva virhe samoissa olosuhteissa on siis erittäin pieni. Voidaan tulkita, että virhe ei juuri vaikuta tuloksiin.

Tarkkuusprosentti tarkoittaa sitä, kuinka paljon mitattujen näytteiden keskiarvo eroaa näytteen oikeasta pitoisuudesta prosentteina. Oikealla pitoisuudella tarkoitetaan laskennallista pitoisuutta, joka tässä menetelmässä oli vertailunäytteelle 500 µg/l. Menetelmän tarkkuusprosentiksi saatiin 4,11 %, eli menetelmä on melko tarkka. Saantoprosentiksi saatiin 104,1098 %, eli saanto on suurempi kuin laskettu pitoisuus. Tämä voidaan selittää esimerkiksi välineistä tulevan virheen avulla. Pipetit ja mittavälineet eivät ole täysin tarkkoja, joten liuoksen pitoisuus saattaa antaa hieman suurempaa tai pienempää.

7.1.4 Mittausalue, mittausepävarmuus

Tarkempaa mittausaluetta ei voida määrittää, mutta standardien perusteella voidaan ajatella mittausalueen olevan 50–250 µg/l.

Määrittämissuorituksen laskemiseen käytettiin kolmanneksi suurinta standardia eli standardia 3. Standardin suhteellinen keskihajonta ja systemaattinen virhe olivat molemmat 0,01. Näistä laskettiin mittausepävarmuus ja laajennettu mittausepävarmuus, jotka löytyvät taulukosta 12.

TAULUKKO 12. Mittausepävarmuus, ortofosfaatti 5 cm:n kyvetti

mittausepävarmuus	
u	0,1
2*u	0,2

Mittausepävarmuudet ovat todella pieniä. Menetelmä on siis hyvin varma.

7.1.5 Vertailu

Näytteet mitattiin vanhalla spektrofotometrillä sen jälkeen, kun uudella laitteella oli saatu mittaukset suoritettua. Vertailuun käytettävät arvot löytyvät taulukosta 13.

TAULUKKO 13. Vertailu, ortofosfaatti 5 cm

	uusi	vanha	erotus
std 1	50,9827	49,371	1,6117
std2	100,7026	97,366	3,3366
std 3	149,7125	144,83	4,8825
std 4	200,0781	193,79	6,2881
std 5	250,1948	243,02	7,1748
vertailu	520,5489	504,3263	16,22256
nolla	55,3959	52,02	3,3759

Taulukosta nähdään, että vanhalla spektrofotometrillä saatu tulos on jokaiselle näytteelle hieman pienempi. Suurin ero on vertailunäytteen pitoisuudessa. Pitoisuuksien erotus on 16,2 µg/l, joka on melko paljon. Nollanäytteelle ero on suhteellisen pieni. Standardeille pitoisuusero kasvaa koko ajan. Ero standardeissa saattaa johtua siitä, että näytteiden pitoisuus kasvaa koko ajan, jolloin pitoisuusheittelyt saattavat näkyä selvemmin. Aika on myös vaikuttava tekijä fosforimittauksissa. Mitä myöhemmin näyte mitataan, sitä enemmän siitä ehtii hajota fosforia ja pitoisuus pienenee. Erot mittauksissa voivat johtua myös laitteista. Vanha laite on ollut käytössä jo pitkään, ja sen teho on voinut hieman heikentyä.

7.2 Ortofosfaatti, 1 cm kyveti

Tämä ortofosfaatin määrittäminen oli tarkoitettu suuremmille pitoisuuksille. Standardeja oli kymmenen pitoisuusalueelta 50–500 µg/l. Mittaustulokset ovat liitteessä ja mittausepävarmuuden laskut liitteessä 7. Liitteeseen 8 on kerätty validoinnin tuloksia.

7.2.1 Menetelmän toistotarkkuus

Taulukosta 14 löytyvät näytteiden suhteelliset keskihajonnat prosentteina.

TAULUKKO 14. Suhteellinen keskihajonta (ortofosfaatti, 1 cm kyveti)

	RSD%
std1	0,12
std2	0,08
std3	0,06
std4	0,02
std5	0,03
std6	0,02
std7	0,16
std8	0,02
std9	0,06
std10	0,03
vertailu	0,04
nolla	0,03

Suurin prosenttiluku on standardilla 7 eli 0,16 %. Tämäkin luku on todella pieni 95 %:n luottamustasolla, joten menetelmän voidaan todeta olevan täsmällinen.

7.2.2 Toteamis- ja määrittäysraja

Tässä menetelmässä on tehty samoin kuin ortofosfaatin määrittäyksessä 5 cm kyvetillä. Nollanäyte ei siis anna oikeaa tulosta tässä menetelmässä ja toteamis- ja määrittäysrajoja ei kannata laskea.

7.2.3 Saanto-, tarkkuus- ja systemaattinen virhe-%

Taulukkoon 15 on laitettu vertailumateriaalin avulla lasketut validointiarvot. Taulukon mukaan menetelmän systemaattinen virhe on 0,04 % eli virhettä ei juuri ole. Menetelmä on siis tältä osin hyvä. Tarkkuusprosentiksi on saatu 2,21 % mikä on parempi kuin ortofosfaatin määrittäyksessä 5 cm:n kyvetillä. Tässä menetelmässä on enemmän kalibrointipisteitä, eli ero menetelmien tarkkuusprosentissa voi johtua siitä. Saantoprosentiksi menetelmälle on saatu 102,207 %, eli se on hieman pienempi kuin edellisessä menetelmässä.

TAULUKKO 15. Vertailumateriaali

vertailu, todellinen	
Keskiarvo	511,0344
Keskihajonta, s	0,0405
RSD % (s)	0,04
systemaattinen virhe%	0,04
tarkkuus%	2,21
saanto%	102,207

7.2.4 Mittausalue, mittausepävarmuus

Mittausalue ortofosfaatin määrittäykselle 1 cm:n kyvetillä voidaan standardien perusteella ajatella olevan 50–500 µg/l.

Menetelmän mittausepävarmuudet laskettiin samoin kuin edellisessä menetelmässä. Systemaattinen virhe oli 0,04 ja kahdeksannen standardin suhteellinen keskihajonta 0,02. Mittausepävarmuudet olivat todella pieniä, ja ne löytyvät tau-

lukosta 16. Epävarmuudet olivat melkein kymmenesosan pienemmät kuin 5 cm:n kyvetillä määritettäessä.

TAULUKKO 16. Mittausepävarmuus, ortofosfaatti 1 cm:n kyveti

mittausepävarmuus	
u	0,0447
2*u	0,0894

7.2.5 Vertailu

Kaikkia näytteitä ei ehditty mitata vanhalla spektrofotometrillä puolen tunnin sisällä valmistuksesta. Tämän vuoksi tulokset saattavat erota enemmän kuin 5 cm:n kyvetillä mitatuissa näytteissä. Taulukossa 17 on näytteiden mitatut pitoisuudet ja pitoisuuksien erotukset.

TAULUKKO 17. Vertailu, ortofosfaatti 1 cm

	uusi	vanha	erotus
std 1	47,3385	50,825	3,4865
std2	97,41	102,06	4,65
std 3	149,3057	146,89	2,4157
std 4	196,2309	195,7	0,5309
std 5	246,1264	244,19	1,9364
std 6	295,6063	291,23	4,3763
std 7	344,9825	339,89	5,0925
std 8	398,2874	386,25	12,0374
std 9	451,1895	436,61	14,5795
std 10	498,257	487,2	11,057
vertailu	511,0344	520,6375	9,60306
nolla	115,9027	107,85	8,0527

Standardien erotukset eivät kasva yhtä selvästi kuin edellisessä menetelmässä. Suurimmat erot kuitenkin löytyvät standardeista, joilla on suurin pitoisuus. Tässä menetelmässä standardit 1 ja 2 antavat vanhalla laitteella suuremman pitoisuuden kuin uusi laite. Myös vertailun pitoisuus on suurempi vanhalla laitteella

mitattaessa. Muut näytteet antavat vanhalle laitteelle pienempää pitoisuutta, kuten edellisessä menetelmässä.

7.3 Kokonaisfosfori, 5 cm kyvetti

Menetelmä oli tarkoitettu pitoisuusalueelle 50–250 µg/l eli sillä voitiin määrittää pieniä fosforipitoisuuksia. Mittausten tulokset ja laskut löytyvät liitteestä 5 ja 7. Validoinnin suureet on kerätty liitteeseen 8.

7.3.1 Menetelmän toistotarkkuus

Taulukosta 18 näkyvät standardien suhteelliset keskihajonnat. Menetelmä on laskujen mukaan täsmällinen. Suurin RSD% menetelmälle on 0,22 %, joka on kaukana 5 %:sta.

TAULUKKO 18. Suhteellinen keskihajonta (kokonaisfosfori, 5 cm kyvetti)

	RSD%
std1	0,22
std2	0,02
std3	0,11
std4	0,04
std5	0,02
vertailu	0,11
nolla	0,04

7.3.2 Toteamis- ja määrittämiss raja

Kokonaisfosforin määrittämissä nollanäyte on mitattu samoin kuin ortofosfaatin määrittämissä. Toteamis- ja määrittämissrajojen ei siis voida luottaa olevan oikeassa eikä niitä kannata laskea.

7.3.3 Saanto-, tarkkuus- ja systemaattinen virhe-%

Taulukossa 19 on lueteltuna vertailumateriaalin avulla lasketut validointiarvot. Tulosten perusteella menetelmän systemaattinen virhe on 0,12 % eli virhe on todella pieni. Virhe tuskin vaikuttaa suuresti menetelmään. Tarkkuusprosentti on 3,82, eli menetelmä on tarkka. Menetelmä on hieman tarkempi kuin ortofosfaatin määrittämiss 5 cm:n kyvetillä. Saantoprosentti on 103,8165, eli kokonaisfosfori-

menetelmälläkin saanto on hieman suurempi kuin vertailunäytteen laskettu pitoisuus.

TAULUKKO 19. Vertailunäytteen validointiarvot

vertailu, todellinen	
Keskiarvo	519,0827
Keskihajonta, s	0,5842
RSD % (s)	0,11
systemaattinen virhe%	0,12
tarkkuus%	3,82
saanto%	103,8165

7.3.4 Mittausalue, mittausepävarmuus

Mittausalue menetelmälle on standardien perusteella 50–250 µg/l. Mittausepävarmuus laskettiin taulukkoon 18. Suhteellinen keskihajonta kolmannelle standardille oli 0,11 ja systemaattinen virhe 0,12.

TAULUKKO 19. Mittausepävarmuus, kokonaisfosfori 5 cm:n kyvetti

mittausepävarmuus	
u	0,363
2*u	0,727

7.3.5 Vertailu

Taulukosta 20 nähdään, että kokonaisfosforin näytteiden tulokset ovat hyvin samankaltaiset kuin ortofosfaatin määrittämisessä. Pitoisuuden kasvaessa myös erotus kasvaa. Luultavasti aika on ollut osasy pitoisuuserojen kasvuun. Myös vanhan laitteen kunto saattaa vaikuttaa tuloksiin.

TAULUKKO 20. Vertailu, kokonaisfosfori 5 cm

	uusi	vanha	erotus
std1	50,8235	49,039	1,7845
std2	101,1056	97,282	3,8236
std3	151,244	145,63	5,614
std4	200,1829	194,12	6,0629
std5	250,1626	241,03	9,1326
vertailu	519,0827	501,5976	17,4851
nolla	55,6058	53,121	2,4848

7.4 Kokonaisfosfori, 1 cm:n kyveti

Menetelmä oli tarkoitettu suuremmille pitoisuuksille välillä 50–500 µg/l fosforia. Tulosten tarkasteluun käytetyt arvot löytyvät liitteestä 6 ja 7. Validointiarvot on koottu liitteeseen 8.

7.4.1 Menetelmän toistotarkkuus

RSD%:tit on lueteltu taulukossa 21 kaikille kymmenelle standardille sekä vertailu- ja nollanäytteille.

TAULUKKO 21. Suhteellinen keskihajonta (kokonaisfosfori, 1 cm kyveti)

	RSD%
std1	0,46
std2	0,04
std3	0,04
std4	0,01
std5	0,02
std6	0,07
std7	0,03
std8	0,01
std9	0,01
std10	0,02
vertailu	0,03
nolla	0,05

Tuloksista yksikään ei 95 %:n luottamustasolla ylitä rajaa eli 5 %:a. Menetelmän voidaan siis todeta olevan täsmällinen.

7.4.2 Toteamis- ja määrittäysraja

Toteamis- ja määrittäysrajoja ei voida laskea menetelmälle, koska nollanäyte on mitattu väärin.

7.4.3 Saanto-, tarkkuus- ja systemaattinen virhe-%

Validointisuureet systemaattinen virhe, tarkkuus ja saanto on laskettu prosentteina taulukossa 22. Laskujen mukaan menetelmän systemaattinen virhe on 0,03 % eli todella vähän. Menetelmässä ei siis ole virhettä juuri lainkaan.

TAULUKKO 22. Vertailumateriaali

vertailu, todellinen	
Keskiarvo	521,055
Keskihajonta, s	0,1303
RSD % (s)	0,03
systemaattinen virhe%	0,03
tarkkuus%	4,21
saanto%	104,211

Tarkkuusprosentiksi on saatu 4,21. Menetelmä on koko validointia ajatellen epätarkin, mutta kuitenkin tarkka. Saantoprosentti on myös korkeimmasta päästä tällä menetelmällä. Tämä voidaan edelleen selittää välineiden epätarkkuudella.

7.4.4 Mittausalue, mittausepävarmuus

Muiden menetelmien mittausalueet on määritetty standardien perusteella. Tällä periaatteella menetelmän mittausalue on 50–500 µg/l.

Mittausepävarmuuden tulokset laskettiin luvuista 0,01 ja 0,03 eli suhteellisesta keskihajonnasta ja systemaattisesta virheestä. Mittausepävarmuus ja laajennettu mittausepävarmuus ovat taulukossa 23.

TAULUKKO 23. Mittausepävarmuus, kokonaisfosfori 1 cm kyvetti

mittausepävarmuus	
u	0,173
2*u	0,347

7.4.5 Vertailu

Kokonaisfosforia 1 cm:n kyvetillä määritettäessä standardeja oli kymmenen. Kaikkia näytteitä ei ehditty mitata tarkalleen puolen tunnin sisällä, kuten ohjeessa määritetään. Tämä saattoi osaltaan vaikuttaa pitoisuuksien eroihin. Taulukossa 24 on uudella spektrofotometrillä mitattujen toistojen keskiarvo ja vanhalla laitteella mitattu tulos.

TAULUKKO 24. Vertailu, kokonaisfosfori 1 cm

	uusi	vanha	erotus
std1	48,611	43,53	5,081
std2	96,8102	91,478	5,3322
std3	147,5465	140,73	6,8165
std4	200,5376	(virheellinen tulos)	
std5	247,7218	239,75	7,9718
std6	298,9029	287,42	11,4829
std7	345,9466	333,73	12,2166
std8	399,5449	387,98	11,5649
std9	450,2702	435,06	15,2102
std10	497,8079	484,23	13,5779
vertailu	521,055	515,4866	5,56842
nolla	120,1002	115,33	4,7702

Standardin neljä kohdalla spektrofotometrin luukku aukaistiin epähuomiossa liian aikasin ja tulos oli virheellinen. Muuten mittaustulokset näyttävät noudattavan samaa kaavaa kuin edellisissäkin menetelmissä. Vanhalla laitteella mitatut tulokset ovat pienempiä kuin uudella mitatut pitoisuudet. Tässä menetelmässä erot ovat kuitenkin alusta lähtien suuremmat kuin muissa määrittelyissä. Erojen syyt ovat kuitenkin luultavasti samat kuin muissakin mittauksissa.

8 YHTEENVETO

Opinnäytetyön tarkoituksena oli siirtää menetelmät uudelle UV/VIS-spektrofotometrille ja validoida niitä. Menetelmiä oli neljä, joille kaikille suoritettiin samanlainen validointi. Standardisuorat onnistuivat hyvin. Kolmen suoran korrelaatiokertoimeen saatiin neljä yhdeksikköä ja yhdelle saatiin kolme. Kaikkien suorien korrelaatiokerroin oli lähellä yhtä, joka olisi ollut ihanteellinen tulos. Kuvaajat näyttivät hyviltä ja korrelaatiokertoimen mukaan ne olivat luotettavia käyttää.

Kokonaisuudessaan validointi onnistui kohtalaisesti. Kaikki halutut validoinnin osat suoritettiin jokaiselle menetelmälle. Oman huolimattomuuden takia nollanäyte mitattiin väärin jokaisessa menetelmässä, minkä vuoksi menetelmille ei voitu laskea luotettavia toteamis- ja määrittäysrajoja.

Kaikki validoidut menetelmät olivat täsmällisiä 95 %:n luottamusvälillä. Menetelmien toistotarkkuus oli hyvä kaikilla menetelmillä. Jokaisen menetelmän kaikki RSD%:t olivat alle 1 prosentin, mikä on todella hyvä tulos. Validoidut menetelmät olivat kaikki tarkkoja vertailumateriaalia käytettäessä. 95 %:n luottamustasolla kaikkien menetelmien tarkkuusprosentit pysyivät alle viiden prosentin.

Toteamis- ja määrittäysrajojen kohdalla validointi epäonnistui. Nollanäytteen pitoisuutta mitattaessa olisi molemmissa kyvettelineissä pitänyt olla kyvetit, joissa oli nollaliuosta. Nyt toinen kyveti puuttui ja tulos oli virheellinen. Validointia täytyy tältä osin jatkaa vielä.

Menetelmien systemaattiset virheet olivat vertailumateriaalia käytettäessä todella pieniä. Kaikki virheprosentit olivat alle 0,2 %, eli virhettä ei ole juuri lainkaan. Systemaattinen virhe tarkoittaa virhettä, joka toistuu samoissa olosuhteissa samanlaisena. Tällainen virhe on siis validoiduissa menetelmissä erittäin pieni.

Vertailumateriaalin käytössä saantoprosentit menivät yli 100 %:n. Tämä johtuu luultavasti mittavälineiden, kuten pipettien ja mittapullojen, tuomasta virheestä. Vertailuliuos tehtiin laimentamalla valmista kaupallista liuosta, jota pipetoitiin. Koska vertailuliuosta ei valmistettu punnitsemalla reagenssia, täysin tarkkaa

pitoisuutta ei voida laskea. Tämän vuoksi tehtiin oletus, että liuoksen pitoisuus on 500 µg/l, ja tätä lukua käytettiin laskuissa. Saantoprosentit voisivat siis muuttua, jos liuoksen täysin oikea pitoisuus voitaisiin laskea. Oletuksen perusteella lasketut tulokset ovat kuitenkin aivan hyviä ja luotettavia tuloksia.

Menetelmien mittausepävarmuus laskettiin suhteellisen keskihajonnan ja systemaattisen virheen avulla. Suhteellinen keskihajonta kuvaa satunnaisvirhettä eli rinnakkaisten näytteiden hajontaa. Menetelmissä, joissa käytettiin 5 cm:n kyvettä, mittausepävarmuus on suurempi kuin menetelmissä, joissa käytettiin 1 cm:n kyvettä. Pienempää kyvettä käytettäessä standardeja oli enemmän ja mittausepävarmuus pienempi. Syy pienempään mittausepävarmuuteen johtuu luultavasti mittausalueen laajuudesta. Mitä laajempi on mittausalue, sitä pienempi on mittausepävarmuus. Eroa on myös siinä, onko menetelmä ortofosfaatti- vai kokonaisfosforinmääritys. Ortofosfaattimenetelmien mittausepävarmuus on pienempi kuin kokonaisfosforin. Kokonaisfosforia käsitellään enemmän, kun näytteille tehdään typpihappo-rikkihappohajotus, joten se vaikuttaa menetelmään ja sen tuloksiin.

Vertailu vanhan ja uuden laitteen välillä rajoittui mittaustulosten pitoisuuserojen vertailuun. Vertailussa huomattiin, että jokaisessa menetelmässä laitteiden antamien pitoisuuksien välillä oli eroja. Enimmäkseen uusi laite antoi korkeampia pitoisuuksia, jotka olivat lähempänä näytteiden laskennallista pitoisuutta. Erot kasvoivat, mitä enemmän aikaa kului näytteiden mittaamiseen. Näytteistä mitattiin ensin standardisuora, minkä jälkeen näytteistä mitattiin kymmenen toistoa uudella laitteella. Koska aikaa mittauksen suorittamiseen oli ohjeen mukaan kokonaisuudessaan vain kaksikymmentä minuuttia, vanhalle laitteelle ei voitu ajaa uutta standardisuoraa. Näytteet mitattiin siis vanhalla laitteella vanhalle suoralle, joka saattoi myös vääristää pitoisuutta.

Kaksi käytettyä laitetta olivat myös erilaisia. Koska mikään laite ei ole juuri samanlainen kuin toinen, saattoivat pitoisuuksien erot osaltaan johtua myös siitä. Spektrofotometrit olivat eri valmistajien, jolloin niissä on eroja. Pitoisuudet voivat erota vaikka työ tehtäisiin samoilla välineillä ja asetuksilla. Pitoisuuserot ovat kuitenkin niin pieniä, että molempia laitteita voidaan pitää luotettavina. Tulosten

perusteella uusi laite antaa tuloksen lähemmäs laskettua pitoisuutta, eli sitä voidaan pitää luotettavampana mittausten kannalta.

LÄHTEET

1. Wikipedia. 2013. Vapaa tietosanakirja. Saatavissa:
<http://en.wikipedia.org/wiki/Phosphorus>. Hakupäivä 8.4.2013.
2. Wikipedia. 2013. Vapaa tietosanakirja. Saatavissa:
<http://fi.wikipedia.org/wiki/Fosfori>. Hakupäivä 8.4.2013.
3. Wikipedia. 2013. Vapaa tietosanakirja. Saatavissa:
<http://fi.wikipedia.org/wiki/Ortofosfaatti>. Hakupäivä 8.4.2013.
4. Wikipedia. 2013. Vapaa tietosanakirja. Saatavissa:
<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/7/70/Phosphat-Ion.svg/250px-Phosphat-Ion.svg.png>. Hakupäivä 8.4.2013.
5. Aittomäki, Esa – Eerikäinen, Tero – Leisola, Matti – Ojamo, Heikki - Suominen, Ilari – von Weymarn, Niklas 2002. Bioprosessiteknikka. Porvoo: WS Bookwell Oy.
6. Kemiallinen evoluutio. Etälukio. Saatavissa:
<http://www02.oph.fi/etalukio/biologia/kurssi1/kemiallinen.html>. Hakupäivä 24.4.2013.
7. Kivennäisaineet. Helsingin yliopiston avoin yliopisto. Saatavissa:
http://www.avoin.helsinki.fi/oppimateriaalit/ravitsemustieteen_perusteet/01_rss_kivennaisaineet.shtml. Hakupäivä 25.4.2013.
8. Ravinto ja osteoporoosi. Helsingin yliopiston avoin yliopisto. Saatavissa:
http://www.avoin.helsinki.fi/oppimateriaalit/ravitsemustieteen_perusteet/03_osteob_ravinto.shtml. Hakupäivä 25.4.2013.
9. Mitä vesianalyysit kertovat? 2013. Kymijoen vesi ja ympäristö ry. Saatavissa:
<http://www.kymijoenvesijaymparisto.fi/vesianalyysit.html>. Hakupäivä 9.4.2013.

10. Kokonaisfosfori. 2011. Valtion ympäristöpalvelun verkkopalvelu. Saatavissa: <http://www.ymparisto.fi/default.asp?node=12876&lan=fi>. Hakupäivä 13.4.2013.
11. Phosphorus. Water Resource Characterization DSS. Saatavissa: <http://www.water.ncsu.edu/watershedss/info/phos.html>. Hakupäivä 16.4.2013.
12. Topho kokonaisfosfori-analysaattori. Sintrol Oy. Saatavissa: <http://www.sintrol.com/tuotteet/analysaattorit/99-nesteanalysaattorit/naytettaottavat/149-topho-fosfori-titraattori>. Hakupäivä 16.4.2013.
13. Välimäki, Ilkka 2010. T440203 Laboratorion laatutoiminta, 3 op. Opintojakson oppimateriaali keväällä 2012. Oulu: Oulun seudun ammattikorkeakoulu, tekniikan yksikkö.
14. Hänninen, Hanna – Ruismäki, Mia – Seikola, Aila – Slöör, Sari. 2010. Laboratoriotyön perusteet. Edita Prima Oy, Helsinki
15. Historia. 2013. Ruukki. Saatavissa: <http://www.ruukki.fi/Tietoyhtiosta/Historia>. Hakupäivä 13.4.2013.
16. Konsernirakenne. 2013. Ruukki. Saatavissa: <http://www.ruukki.fi/Tietoyhtiosta/Konsernirakenne>. Hakupäivä 13.4.2013.
17. Tutkimus ja kehitys. 2013. Ruukki. Saatavissa: <http://www.ruukki.fi/Tietoyhtiosta/Tutkimus-ja-kehitys>. Hakupäivä 14.4.2013.
18. Joki, Teuvo 2013. Käyttöohje UV-Probe-ohjelma. Ordior, Helsinki. PDF-tiedosto.
19. UV 1800 UV/VIS Spectrophotometer. 2012. Shimadzu. Saatavissa: <http://www.ssi.shimadzu.com/products/literature/Spectroscopy/C101-E109D.pdf>. Hakupäivä 27.5.2013.

20. Kekkarainen, Pirkko 2009.T420309, Spektrometria 1, 9 op. Opintojakson oppimateriaali keväällä 2010. Oulu: Oulun seudun ammattikorkeakoulu, tekniikan yksikkö.

LIITTEET

Liite 1 Liuosten valmistus

Liite 2 Standardikuvaajat

Liite 3 Toistot ortofosfaatti, 5 cm kyvetti

Liite 4 Toistot ortofosfaatti, 1 cm kyvetti

Liite 5 Toistot kokonaisfosfori, 5 cm kyvetti

Liite 6 Toisto kokonaisfosfori, 1 cm

Liite 7 Mittausepävarmuudet

Liite 8 Validoinnin tulokset

Rikkihappoliuos I, 9 mol/l

Litran teflondekanteriin lisättiin 500 ml vettä. Veteen lisättiin varovasti 500 ml väkevää rikkihappoa. Mittauksiin käytettiin ½ litran mittalasia. Liuosta sekoitettiin teflonsauvalla. Dekanteri pidettiin kylmässä vesihauteessa koko ajan. Liuoksen annettiin jäähtyä huoneenlämpöön, jonka jälkeen se siirrettiin säilöpulloon.

Rikkihappoliuos II; 4,5 mol/l

Yhden litran teflondekanteriin kaadettiin 500 ml Milli-Q-vettä, johon lisättiin 500 ml rikkihappoliuosta I. Mittaukset tehtiin 500 ml:n mittalasia. Liuos sekoitettiin teflonsauvalla ja jäähdytettiin huoneenlämpöön vesihauteessa. Valmis liuos siirrettiin säilöpulloon.

Rikkihappoliuos III, 2mol/l

Puolen litran mittapulloon kaadettiin noin 300 ml Milli-Q-vettä. Veteen lisättiin 110 ml rikkihappoliuosta II, joka mitattiin mittalasia. Mittapulloa pidettiin kylmässä vesihauteessa. Liuoksen annettiin jäähtyä huoneenlämpöön, jonka jälkeen pullo täytettiin merkkiin. Liuos sekoitettiin ja annettiin jäähtyä jälleen huoneenlämpöön. Liuos siirrettiin säilöpulloon.

Askorbiinihappoliuos, 100 g/l

Sadan millilitran mittapulloon laitettiin jonkin verran Milli-Q-vettä. Askorbiinihappoa ($C_6H_8O_6$) punnittiin 10 g, joka liuotettiin mittapullossa veteen. Käytettiin magneettisekoitusta, jotta askorbiinihappo liukenisi nopeammin. Mittapullo täytettiin merkkiin vedellä. Liuos siirrettiin tummaan säilöpulloon ja sitä säilytettiin jääkaapissa. Liuoksen säilymisaika oli noin kaksi viikkoa.

Hapan molybdaattiliuos I (ortofosfaatin määritys)

Ammoniumheptamolybdaattitetrahydraattia punnittiin 13 g ja se liuotettiin Milli-Q-veteen 100 ml:n mittapullossa. Antimonikaliumtartraattihemihydraattia punnittiin 350 mg:aa, joka liuotettiin veteen 100 ml:n mittapullossa. Pullot täytettiin

merkkiin vedellä. Puolen litran teflondekanteriin mitattiin mittalasilla 300 ml rikkihappoliuosta I ja dekanteria pidettiin kylmässä vesihauteessa koko ajan. Ammoniumheptamolybdaattiliuos lisättiin rikkihappoliuokseen koko ajan sekoittaen. Seokseen lisättiin antimonikaliumtartraattihemihydraattiliuos ja sekoitettiin hyvin. Liuoksen annettiin jäähtyä huoneenlämpöön ja se siirrettiin ruskeaan säilöpulloon. Seoksen säilymisaika oli vähintään kaksi kuukautta jääkaappisäilytyksessä.

Hapan molybdaattiliuos II (kokonaisfosforin määrittäminen)

Rikkihappoliuosta I lisättiin 230 millilitraa 70 ml:aan Milli-Q-vettä. Seos tehtiin teflondekanterissa, jota pidettiin vesihauteessa. Ammoniumheptamolybdaattitetrahydraattia punnittiin 500 mg ja se liuotettiin 100 millilitraan vettä mittapullossa. Antimonikaliumtartraattihemihydraattia punnittiin 350 mg, joka myös liuotettiin 100 ml:n vettä. Liuokset lisättiin rikkihappoliuokseen koko ajan sekoittaen. Seos jäädytettiin huoneenlämpöön ja siirrettiin ruskeaan säilöpulloon. Liuoksen säilymisaika oli vähintään kaksi kuukautta jääkaapissa.

Ortofosfaatin perusliuos, $1 \text{ ml} = 0,050 \text{ mg P} = 0,15 \text{ mg PO}_4$ (myös kokonaisfosforin määrittämiseen)

Kaliumvetyfosfaatin piti olla kuivaa analyysia varten. Reagenssia kuivattiin vakiomassaan lämpökaapissa 105°C :ssa reilun kahden tunnin ajan. Kuivattua reagenssia säilytettiin pienessä säilytysrasiassa.

Liuos tehtiin liuottamalla 43,94 mg:aa kuivattua kaliumvetyfosfaattia (KH_2PO_4) noin 180 ml:aan vettä 200 ml:n mittapullossa. Liuokseen lisättiin 2 ml rikkihappoliuosta I ja pullo täytettiin merkkiin vedellä. Liuoksen säilymisaika oli kolme kuukautta jääkaapissa.

Ortofosfaatin standardiliuos, $1 \text{ ml} = 2,0 \text{ } \mu\text{g P} = 6,0 \text{ } \mu\text{g PO}_4$

250 millilitran mittapulloon pipetoitiin täyspipetillä 10,0 ml ortofosfaatin perusliuosta. Pullo täytettiin merkkiin vedellä ja sekoitettiin. Liuos ei säilynyt, vaan se piti joka päivä tehdä uudelleen.

Ortofosfaatin vertailuliuos, 500 µg PO₄/l

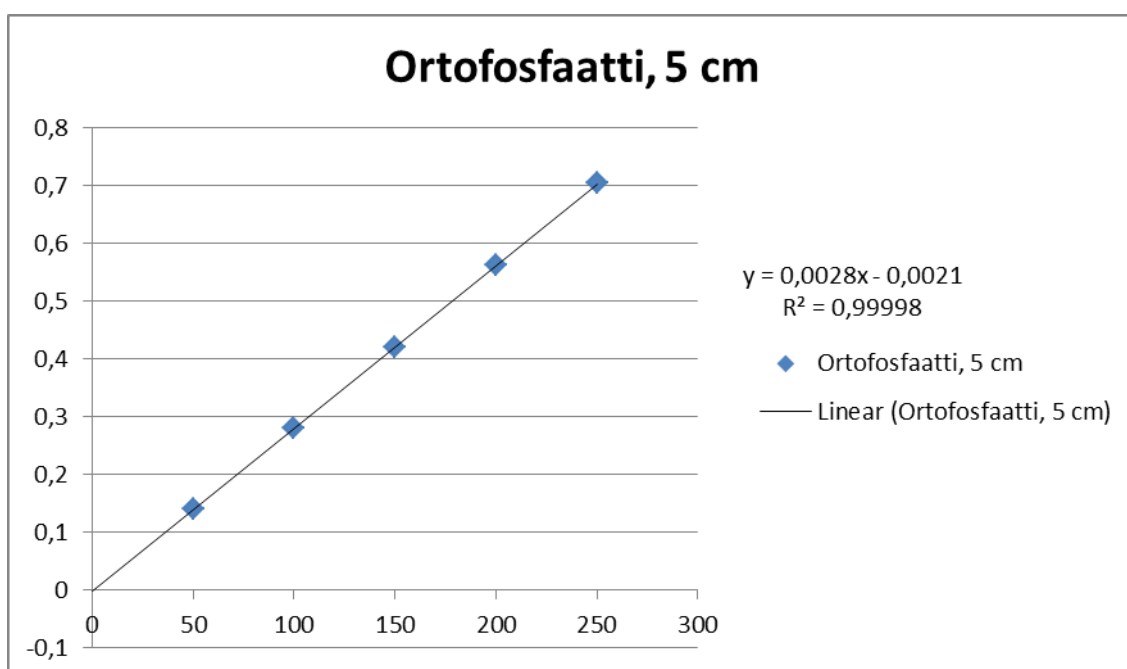
Liuos tehtiin pipetoimalla kaupallista Anion multi-element standard I, jonka pitoisuus oli 1000 mg PO₄/l. Aluksi kaupallisesta liuoksesta tehtiin välilaimennos 10/100. 100 millilitran mittapulloon pipetoitiin 10 ml kaupallista liuosta ja pullo täytettiin merkkiin Milli-Q-vedellä. Liuoksen pitoisuudeksi tuli 100 mg/l. Tästä välilaimennoksesta pipetoitiin 5 ml litran mittapulloon, joka täytettiin vedellä merkkiin. Näin vertailuliuoksen pitoisuudeksi saatiin haluttu 0,5 mg/l. Liuos säilyi jääkaappisäilytyksessä vähintään kaksi kuukautta.

Kaliumperoksidisulfaattiliuos

Kaliumperoksidisulfaattia punnittiin 5 g ja liotettiin veteen 100 ml:n mittapullossa. Pullo täytettiin merkkiin vedellä. Liuos siirrettiin ruskeaan säilöpulloon. Liuoksen säilyvyys oli vähintään kaksi viikkoa valolta suojattuna.

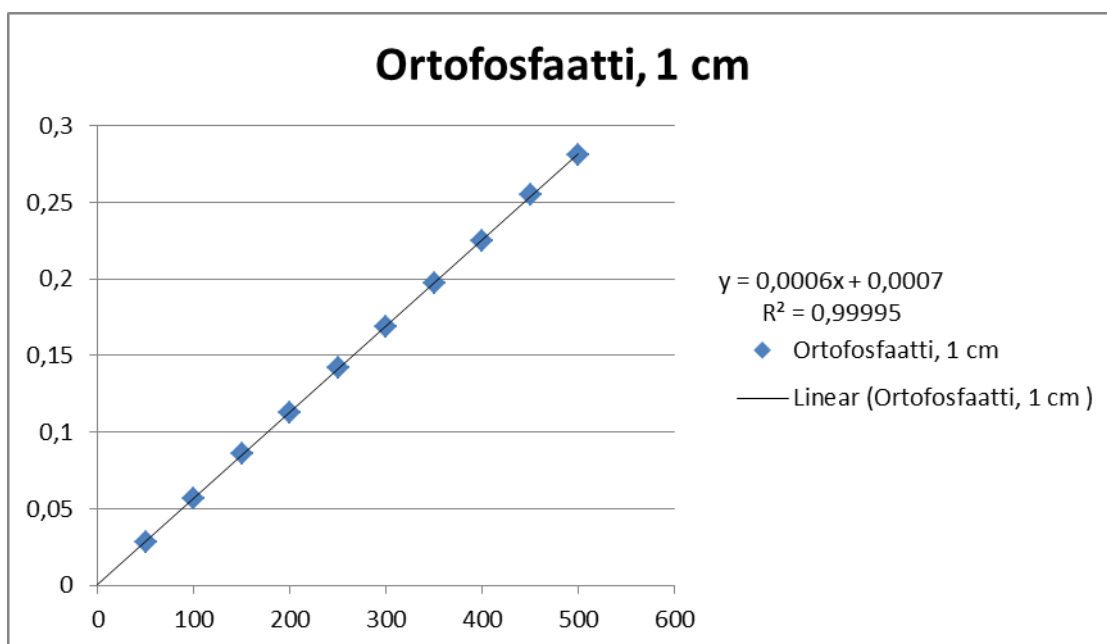
Ortofosfaatti, 5 cm

	konsentraatio	abs 880 nm
std1	50	0,139
std2	100	0,281
std3	150	0,420
std4	200	0,562
std5	250	0,704



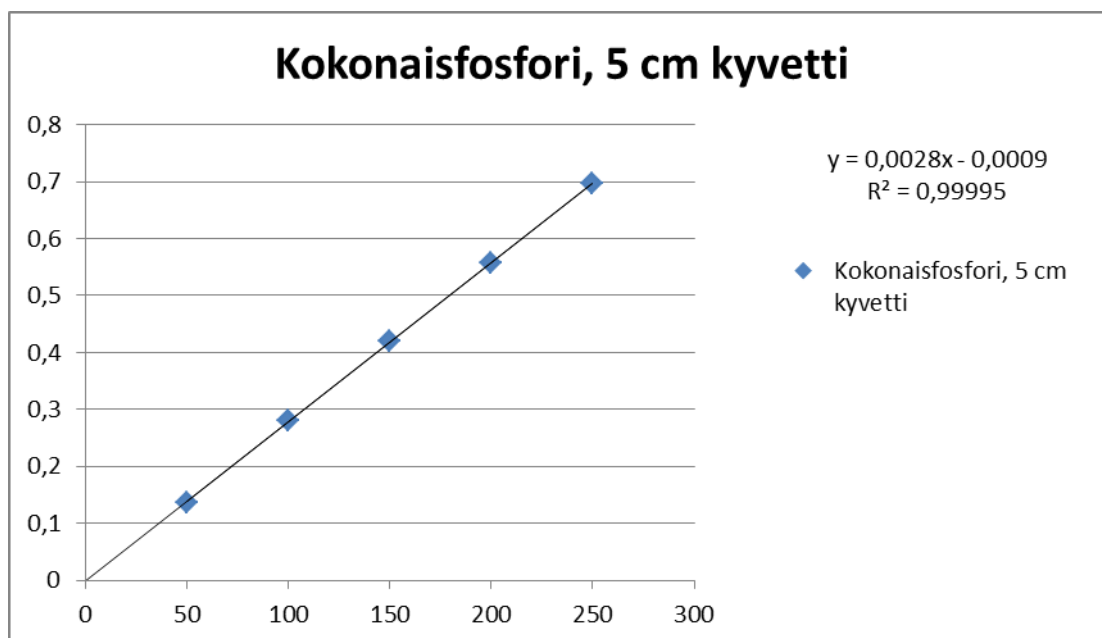
Ortofosfaatti, 1 cm

	konsentraatio	abs 880 nm
std1	50	0,028
std2	100	0,057
std3	150	0,086
std4	200	0,113
std5	250	0,142
std6	300	0,169
std7	350	0,197
std8	400	0,225
std9	450	0,255
std10	500	0,281



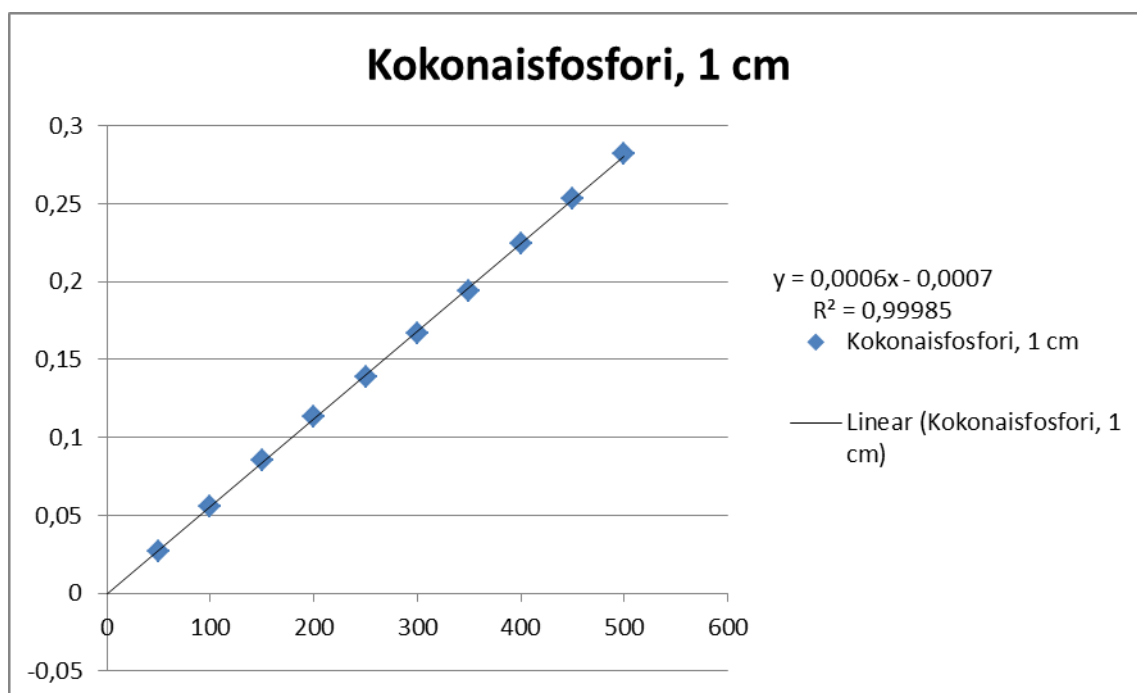
Kokonaisfosfori, 5 cm

	konsentraatio	abs 880 nm
std1	50	0,137
std2	100	0,280
std3	150	0,420
std4	200	0,557
std5	250	0,697



**Kokonaisfosfori, 1 cm
kyveti**

	konsentraatio	abs 880 nm
std1	50	0,027
std2	100	0,056
std3	150	0,085
std4	200	0,113
std5	250	0,139
std6	300	0,167
std7	350	0,194
std8	400	0,224
std9	450	0,253
std10	500	0,282



Ortofosfaatti, 5 cm kyvetti
Kalibrointisuora, toistettavuus

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std1	1	0,142	50,979
std1	2	0,142	50,989
std1	3	0,142	51,006
std1	4	0,142	51,000
std1	5	0,142	51,016
std1	6	0,142	50,989
std1	7	0,142	50,962
std1	8	0,142	50,962
std1	9	0,142	50,962
std1	10	0,142	50,962

Keskiarvo		0,142	50,9827
Keskihajontas			0,0204
Keskihajonta, 2s			0,0409
RSD % (s)			0,04
RSD % (2s)			0,08

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std2	1	0,282	100,716
std2	2	0,282	100,695
std2	3	0,282	100,684
std2	4	0,282	100,684
std2	5	0,282	100,711
std2	6	0,282	100,716
std2	7	0,282	100,711
std2	8	0,282	100,706
std2	9	0,282	100,700

Keskiarvo			100,7026
Keskihajontas			0,0126
Keskihajonta, 2s			0,0252
RSD % (s)			0,01
RSD % (2s)			0,03

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std3	1	0,420	149,719
std3	2	0,420	149,708
std3	3	0,420	149,708
std3	4	0,420	149,724
std3	5	0,420	149,735
std3	6	0,420	149,719
std3	7	0,420	149,724
std3	8	0,420	149,681
std3	9	0,420	149,724
std3	10	0,420	149,703
std3	11	0,420	149,692

Keskiarvo			149,7125
Keskihajonta, s			0,0159
Keskihajonta, 2s			0,0318
RSD % (s)			0,01
RSD % (2s)			0,02

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std4	1	0,562	200,111
std4	2	0,562	200,122
std4	3	0,562	200,111
std4	4	0,562	200,106
std4	5	0,562	200,057
std4	6	0,562	200,062
std4	7	0,562	200,079
std4	8	0,562	200,052
std4	9	0,562	200,046
std4	10	0,562	200,035

Keskiarvo			200,0781
Keskihajonta, s			0,0319
Keskihajonta, 2s			0,0638
RSD % (s)			0,02
RSD % (2s)			0,03

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std5	1	0,704	250,135
std5	2	0,704	250,135
std5	3	0,704	250,168
std5	4	0,704	250,184
std5	5	0,704	250,195
std5	6	0,704	250,211
std5	7	0,704	250,211
std5	8	0,704	250,211
std5	9	0,704	250,227
std5	10	0,704	250,271

Keskiarvo			250,1948
Keskihajonta, s			0,0417
Keskihajonta, 2s			0,0833
RSD % (s)			0,02
RSD % (2s)			0,03

Nollanäyte

Kalib.sok	Mittaukset	abs.	konsentraatio
sok	1	0,154	55,402
sok	2	0,154	55,397
sok	3	0,154	55,386
sok	4	0,154	55,392
sok	5	0,154	55,386
sok	6	0,154	55,408
sok	7	0,154	55,397
sok	8	0,154	55,397
sok	9	0,154	55,392
sok	10	0,154	55,402
Keskiarvo			55,3959
Keskihajonta, s			0,0071
Keskihajonta, 2s			0,0142
RSD % (s)			0,01
RSD % (2s)			0,03

Ortofosfaatti, 5 cm kyveti
Referenssimateriaali, toistettavuus

Referenssi- materiaali	Mittaukset	abs.	konsentraatio	(Xi)todellinen konsentraatio
vertailu	1	0,477	169,783	520,555
vertailu	2	0,477	169,799	520,604
vertailu	3	0,477	169,799	520,604
vertailu	4	0,477	169,815	520,653
vertailu	5	0,477	169,772	520,521
vertailu	6	0,477	169,772	520,521
vertailu	7	0,477	169,745	520,438
vertailu	8	0,477	169,761	520,487
vertailu	9	0,477	169,777	520,536
vertailu	10	0,477	169,788	520,570

Keskiarvo			169,7811	520,5489
Keskihajonta, s			0,0204	0,0624
Keskihajonta, 2s			0,0407	0,1248
RSD % (s)			0,01	0,01
RSD % (2s)			0,02	0,02

sertif. pit. T	Ero (=d _i) X _i -T	Tarkkuus % (X _i -T)/T*100	Saanto% Xi/T*100
500,00	20,55468	4,1109	104,1109356
500,00	20,60373	4,1207	104,1207468
500,00	20,60373	4,1207	104,1207468
500,00	20,65279	4,1306	104,130558
500,00	20,52095	4,1042	104,1041904
500,00	20,52095	4,1042	104,1041904
500,00	20,43817	4,0876	104,087634
500,00	20,48723	4,0974	104,0974452
500,00	20,53628	4,1073	104,1072564
500,00	20,57001	4,1140	104,1140016

systemaattinen virhe (sdr%)	tarkkuus(k.a)	saanto
	0,01	4,11

Ortofosfaatti, 1 cm kyvetti
Kalibrintisuora,
toistettavuus

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std1	1	0,028	47,267
std1	2	0,028	47,322
std1	3	0,028	47,349
std1	4	0,028	47,294
std1	5	0,028	47,294
std1	6	0,028	47,349
std1	7	0,028	47,403
std1	8	0,028	47,430

Keskiarvo		0,028	47,3385
Keskihajonta, s			0,0562
Keskihajonta, 2s			0,1124
RSD % (s)			0,12
RSD % (2s)			0,24

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std2	1	0,056	97,220
std2	2	0,056	97,383
std2	3	0,056	97,410
std2	4	0,056	97,410
std2	5	0,056	97,437
std2	6	0,056	97,437
std2	7	0,056	97,464
std2	8	0,056	97,356
std2	9	0,056	97,410
std2	10	0,056	97,4640
std2	11	0,056	97,4100
std2	12	0,056	97,5190

Keskiarvo			97,4100
Keskihajonta, s			0,0732
Keskihajonta, 2s			0,1464
RSD % (s)			0,08
RSD % (2s)			0,15

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std6	1	0,167	295,563
std6	2	0,167	295,590
std6	3	0,167	295,617
std6	4	0,167	295,590
std6	5	0,167	295,590
std6	6	0,167	295,563
std6	7	0,167	295,590
std6	8	0,167	295,590
std6	9	0,167	295,671
std6	10	0,167	295,699

Keskiarvo			295,6063
Keskihajonta, s			0,0447
Keskihajonta, 2s			0,0894
RSD % (s)			0,02
RSD % (2s)			0,03

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std7	1	0,194	344,319
std7	2	0,194	344,374
std7	3	0,194	344,292
std7	4	0,195	344,591
std7	5	0,195	345,271
std7	6	0,195	345,461
std7	7	0,195	345,651
std7	8	0,195	345,542
std7	9	0,195	345,298
std7	10	0,195	345,026

Keskiarvo			344,9825
Keskihajonta, s			0,5389
Keskihajonta, 2s			1,0779
RSD % (s)			0,16
RSD % (2s)			0,31

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std3	1	0,085	149,156
std3	2	0,085	149,211
std3	3	0,085	149,211
std3	4	0,085	149,265
std3	5	0,085	149,319
std3	6	0,085	149,319
std3	7	0,085	149,319
std3	8	0,085	149,428
std3	9	0,085	149,401
std3	10	0,085	149,428

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std8	1	0,225	398,240
std8	2	0,225	398,240
std8	3	0,225	398,158
std8	4	0,225	398,213
std8	5	0,225	398,186
std8	6	0,225	398,213
std8	7	0,225	398,213
std8	8	0,225	398,213
std8	9	0,225	398,322
std8	10	0,225	398,376

Keskiarvo			149,3057
Keskihajonta, s			0,0952
Keskihajonta, 2s			0,1904
RSD % (s)			0,06
RSD % (2s)			0,13

Keskiarvo			398,2374
Keskihajonta, s			0,0647
Keskihajonta, 2s			0,1295
RSD % (s)			0,02
RSD % (2s)			0,03

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std4	1	0,111	196,310
std4	2	0,111	196,228
std4	3	0,111	196,283
std4	4	0,111	196,255
std4	5	0,111	196,228
std4	6	0,111	196,228
std4	7	0,111	196,201
std4	8	0,111	196,201
std4	9	0,111	196,201
std4	10	0,111	196,174

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std9	1	0,255	451,590
std9	2	0,255	451,508
std9	3	0,254	451,427
std9	4	0,254	451,372
std9	5	0,254	451,237
std9	6	0,254	451,128
std9	7	0,254	451,046
std9	8	0,254	451,019
std9	9	0,254	450,938
std9	10	0,254	450,910
std9	11	0,254	450,910

Keskiarvo			196,2309
Keskihajonta, s			0,0415
Keskihajonta, 2s			0,0830
RSD % (s)			0,02
RSD % (2s)			0,04

Keskiarvo			451,1895
Keskihajonta, s			0,2503
Keskihajonta, 2s			0,5007
RSD % (s)			0,06
RSD % (2s)			0,11

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std5	1	0,139	246,072
std5	2	0,139	246,045
std5	3	0,139	246,045
std5	4	0,139	246,072
std5	5	0,139	246,099
std5	6	0,139	246,154
std5	7	0,139	246,126
std5	8	0,139	246,154
std5	9	0,139	246,208
std5	10	0,139	246,289

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std10	1	0,281	498,200
std10	2	0,281	498,172
std10	3	0,281	498,145
std10	4	0,281	498,200
std10	5	0,281	498,227
std10	6	0,281	498,118
std10	7	0,281	498,363
std10	8	0,281	498,417
std10	9	0,281	498,471

Keskiarvo			246,1264
Keskihajonta, s			0,0778
Keskihajonta, 2s			0,1557
RSD % (s)			0,03
RSD % (2s)			0,06

Keskiarvo			498,2570
Keskihajonta, s			0,1270
Keskihajonta, 2s			0,2541
RSD % (s)			0,03
RSD % (2s)			0,05

Nollanäyte

Kalib.sok	Mittaukset	abs.	konsentraatio
sok	1	0,066	115,891
sok	2	0,066	115,891
sok	3	0,066	115,837
sok	4	0,066	115,945
sok	5	0,066	115,864
sok	6	0,066	115,918
sok	7	0,066	115,981
sok	8	0,066	115,891
sok	9	0,066	115,918
sok	10	0,066	115,891

Keskiarvo			115,9027
Keskihajonta, s			0,0405
Keskihajonta, 2s			0,0810
RSD % (s)			0,03
RSD % (2s)			0,07

Ortofosfaatti, 1 cm kyveti
Referenssimateriaali, toistetta-
vuus

Referenssi- materiaali	Mittaukset	abs.	konsentraatio	(Xi)todellinen konsentraatio
vertailu	1	0,095	166,795	511,393
vertailu	2	0,095	166,713	511,142
vertailu	3	0,095	166,632	510,894
vertailu	4	0,095	166,604	510,808
vertailu	5	0,095	166,659	510,976
vertailu	6	0,095	166,604	510,808
vertailu	7	0,095	166,632	510,894
vertailu	8	0,095	166,686	511,059
vertailu	9	0,095	166,795	511,393
vertailu	10	0,095	166,659	510,976

Keskiarvo			166,6779	511,0344
Keskihajonta, s			0,0704	0,2158
Keskihajonta, 2s			0,1407	0,4315
RSD % (s)			0,04	0,04
RSD % (2s)			0,08	0,08

sertif. pit. T	Ero (=d _i) X _i -T	Tarkkuus % (X _i -T)/T*100	Saanto% X _i /T*100
500,00	11,39347	2,2787	102,279
500,00	11,14206	2,2284	102,228
500,00	10,89371	2,1787	102,179
500,00	10,80786	2,1616	102,162
500,00	10,97649	2,1953	102,195
500,00	10,80786	2,1616	102,162
500,00	10,89371	2,1787	102,179
500,00	11,05928	2,2119	102,212
500,00	11,39347	2,2787	102,279
500,00	10,97649	2,1953	102,195

systemaattinen virhe (sdr%)	tarkkuus(k.a)	saanto
0,04	2,21	102,207

Kokonaisfosfori, 5 cm kyvetti
Kalibrintisuora, toistettavuus

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std1	1	0,141	50,738
std1	2	0,141	50,738
std1	3	0,141	50,842
std1	4	0,141	50,831
std1	5	0,141	50,782
std1	6	0,141	50,700
std1	7	0,141	50,722
std1	8	0,141	50,875
std1	9	0,142	50,968
std1	10	0,142	51,039

Keskiarvo		0,141	50,8235
Keskihajonta, s			0,1117
Keskihajonta, 2s			0,2234
RSD % (s)			0,22
RSD % (2s)			0,44

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std2	1	0,281	101,058
std2	2	0,281	101,096
std2	3	0,282	101,107
std2	4	0,281	101,102
std2	5	0,282	101,118
std2	6	0,281	101,085
std2	7	0,282	101,113
std2	8	0,282	101,135
std2	9	0,282	101,118
std2	10	0,282	101,1240

Keskiarvo			101,1056
Keskihajonta, s			0,0220
Keskihajonta, 2s			0,0440
RSD % (s)			0,02
RSD % (2s)			0,04

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std3	1	0,420	150,847
std3	2	0,421	151,154
std3	3	0,422	151,307
std3	4	0,422	151,421
std3	5	0,422	151,394
std3	6	0,421	151,148
std3	7	0,421	151,247
std3	8	0,422	151,296
std3	9	0,422	151,318
std3	10	0,422	151,312

Keskiarvo			151,2444
Keskihajonta, s			0,1652
Keskihajonta, 2s			0,3303
RSD % (s)			0,11
RSD % (2s)			0,22

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std4	1	0,558	200,095
std4	2	0,558	200,101
std4	3	0,558	200,134
std4	4	0,558	200,117
std4	5	0,558	200,145
std4	6	0,558	200,221
std4	7	0,558	200,232
std4	8	0,558	200,243
std4	9	0,558	200,260
std4	10	0,558	200,281

Keskiarvo			200,1829
Keskihajonta, s			0,0712
Keskihajonta, 2s			0,1424
RSD % (s)			0,04
RSD % (2s)			0,07

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std5	1	0,698	250,213
std5	2	0,698	250,213
std5	3	0,698	250,191
std5	4	0,698	250,175
std5	5	0,697	250,120
std5	6	0,697	250,109
std5	7	0,697	250,125
std5	8	0,697	250,142
std5	9	0,698	250,158
std5	10	0,698	250,180

Keskiarvo			250,1626
Keskihajonta, s			0,0378
Keskihajonta, 2s			0,0757
RSD % (s)			0,02
RSD % (2s)			0,03

Nollanäyte			
Kalib.sok	Mittaukset	abs.	konsentraatio
sok	1	0,154	55,571
sok	2	0,154	55,582
sok	3	0,155	55,621
sok	4	0,155	55,615
sok	5	0,155	55,653
sok	6	0,154	55,588
sok	7	0,155	55,615
sok	8	0,155	55,621
sok	9	0,154	55,599
sok	10	0,154	55,593
Keskiarvo			55,6058
Keskihajonta, s			0,0240
Keskihajonta, 2s			0,0479
RSD % (s)			0,04
RSD % (2s)			0,09

**Kokonaisfosfori,
5 cm kyvetti**

Referenssi- materiaali	Mittaukset	abs.	(X _i) konsentraatio	todellinen konsentraatio
vertailu	1	0,471	169,015	518,200
vertailu	2	0,471	169,026	518,234
vertailu	3	0,472	169,201	518,770
vertailu	4	0,472	169,222	518,835
vertailu	5	0,472	169,255	518,936
vertailu	6	0,472	169,337	519,187
vertailu	7	0,472	169,469	519,592
vertailu	8	0,472	169,512	519,724
vertailu	9	0,472	169,518	519,742
vertailu	10	0,472	169,474	519,607

Keskiarvo			169,3029	519,0827
Keskihajonta, s			0,1906	0,5842
Keskihajonta, 2s			0,3811	1,1685
RSD % (s)			0,11	0,11
RSD % (2s)			0,23	0,23

sertif. pit. T	Ero (=d _i) X _i -T	Tarkkuus % (X _i -T)/T*100	Saanto% X _i /T*100
500,00	18,19999	3,6400	103,639998
500,00	18,23372	3,6467	103,6467432
500,00	18,77027	3,7541	103,7540532
500,00	18,83465	3,7669	103,7669304
500,00	18,93583	3,7872	103,787166
500,00	19,18724	3,8374	103,8374484
500,00	19,59195	3,9184	103,9183908
500,00	19,72379	3,9448	103,9447584
500,00	19,74219	3,9484	103,9484376
500,00	19,60728	3,9215	103,9214568

systemaattinen virhe (sdr%)	tarkkuus(k.a)	saanto
	0,12	3,82

Kokonaisfosfori, 1 cm kyvetti
Kalibrointisuora,
toistettavuus

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std1	1	0,027	48,714
std1	2	0,027	49,040
std1	3	0,027	48,958
std1	4	0,027	48,470
std1	5	0,027	48,389
std1	6	0,027	48,443
std1	7	0,027	48,497
std1	8	0,027	48,524
std1	9	0,027	48,578
std1	10	0,027	48,497

Keskiarvo		0,027	48,6110
Keskihajonta, s			0,2229
Keskihajonta, 2s			0,4458
RSD % (s)			0,46
RSD % (2s)			0,92

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std6	1	0,168	299,275
std6	2	0,168	299,220
std6	3	0,168	299,030
std6	4	0,167	298,841
std6	5	0,167	298,813
std6	6	0,167	298,759
std6	7	0,167	298,705
std6	8	0,167	298,759
std6	9	0,167	298,759
std6	10	0,167	298,868

Keskiarvo			298,9029
Keskihajonta, s			0,2026
Keskihajonta, 2s			0,4053
RSD % (s)			0,07
RSD % (2s)			0,14

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std2	1	0,054	96,764
std2	2	0,054	96,791
std2	3	0,054	96,873
std2	4	0,054	96,764
std2	5	0,054	96,791
std2	6	0,054	96,846
std2	7	0,054	96,873
std2	8	0,054	96,791
std2	9	0,054	96,791
std2	10	0,054	96,818

Keskiarvo			96,8102
Keskihajonta, s			0,0408
Keskihajonta, 2s			0,0816
RSD % (s)			0,04
RSD % (2s)			0,08

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std7	1	0,194	345,805
std7	2	0,194	345,860
std7	3	0,194	345,833
std7	4	0,194	345,914
std7	5	0,194	345,887
std7	6	0,194	345,941
std7	7	0,194	345,968
std7	8	0,194	346,050
std7	9	0,194	346,104
std7	10	0,194	346,104

Keskiarvo			345,9466
Keskihajonta, s			0,1084
Keskihajonta, 2s			0,2168
RSD % (s)			0,03
RSD % (2s)			0,06

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std3	1	0,082	147,446
std3	2	0,082	147,500
std3	3	0,082	147,555
std3	4	0,082	147,582
std3	5	0,082	147,500
std3	6	0,082	147,555
std3	7	0,082	147,609
std3	8	0,082	147,582
std3	9	0,082	147,527
std3	10	0,082	147,609

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std8	1	0,224	399,553
std8	2	0,224	399,553
std8	3	0,224	399,472
std8	4	0,224	399,526
std8	5	0,224	399,553
std8	6	0,224	399,526
std8	7	0,224	399,553
std8	8	0,224	399,553
std8	9	0,224	399,580
std8	10	0,224	399,580

Keskiarvo			147,5465
Keskihajonta, s			0,0530
Keskihajonta, 2s			0,1060
RSD % (s)			0,04
RSD % (2s)			0,07

Keskiarvo			399,5449
Keskihajonta, s			0,0313
Keskihajonta, 2s			0,0626
RSD % (s)			0,01
RSD % (2s)			0,02

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std4	1	0,112	200,543
std4	2	0,112	200,516
std4	3	0,112	200,597
std4	4	0,112	200,543
std4	5	0,112	200,570
std4	6	0,112	200,543
std4	7	0,112	200,516
std4	8	0,112	200,516
std4	9	0,112	200,516
std4	10	0,112	200,516

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std9	1	0,253	450,262
std9	2	0,253	450,208
std9	3	0,253	450,235
std9	4	0,253	450,235
std9	5	0,253	450,235
std9	6	0,253	450,208
std9	7	0,253	450,262
std9	8	0,253	450,316
std9	9	0,253	450,316
std9	10	0,253	450,425

Keskiarvo			200,5376
Keskihajonta, s			0,0279
Keskihajonta, 2s			0,0558
RSD % (s)			0,01
RSD % (2s)			0,03

Keskiarvo			450,2702
Keskihajonta, s			0,0665
Keskihajonta, 2s			0,1329
RSD % (s)			0,01
RSD % (2s)			0,03

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std5	1	0,139	247,697
std5	2	0,139	247,670
std5	3	0,139	247,806
std5	4	0,139	247,697
std5	5	0,139	247,670
std5	6	0,139	247,697
std5	7	0,139	247,752
std5	8	0,139	247,779
std5	9	0,139	247,725
std5	10	0,139	247,725

Kalib. piste	Mittausten lukumäärä	abs.	konsentraatio
std10	1	0,279	498,014
std10	2	0,279	497,824
std10	3	0,279	497,824
std10	4	0,279	497,797
std10	5	0,279	497,770
std10	6	0,279	497,770
std10	7	0,279	497,743
std10	8	0,279	497,797
std10	9	0,279	497,770
std10	10	0,279	497,770

Keskiarvo			247,7218
Keskihajonta, s			0,0453
Keskihajonta, 2s			0,0907
RSD % (s)			0,02
RSD % (2s)			0,04

Keskiarvo			497,8079
Keskihajonta, s			0,0769
Keskihajonta, 2s			0,1538
RSD % (s)			0,02
RSD % (2s)			0,03

Nollanäyte

Kalib.sok	Mittaukset	abs.	konsentraatio
sok	1	0,0670	120,016
sok	2	0,0670	119,989
sok	3	0,0670	120,125
sok	4	0,0670	120,097
sok	5	0,0670	120,097
sok	6	0,0670	120,097
sok	7	0,0670	120,125
sok	8	0,0670	120,179
sok	9	0,0670	120,125
sok	10	0,0670	120,152

Keskiarvo			120,1002
Keskihajonta, s			0,0579
Keskihajonta, 2s			0,1159
RSD % (s)			0,05
RSD % (2s)			0,10

Kokonaisfosfori, 1 cm kyvetti
Referenssimateriaali, toistettavaus

Referenssi- materiaali	Mittaukset	abs.	konsentraatio	(Xi)todellinen konsentraatio
vertailu	1	0,095	169,857	520,782
vertailu	2	0,095	169,938	521,030
vertailu	3	0,095	169,911	520,947
vertailu	4	0,095	169,965	521,113
vertailu	5	0,095	169,965	521,113
vertailu	6	0,095	169,938	521,030
vertailu	7	0,095	169,938	521,030
vertailu	8	0,095	169,965	521,113
vertailu	9	0,095	169,965	521,113
vertailu	10	0,095	170,020	521,281

Keskiarvo			169,9462	521,0550
Keskihajonta, s			0,0425	0,1303
Keskihajonta, 2s			0,0850	0,2606
RSD % (s)			0,03	0,03
RSD % (2s)			0,05	0,05

sertif. pit. T	Ero (=d _i) X _i -T	Tarkkuus % (X _i -T)/T*100	Saanto% X _i /T*100
500,00	20,78156	4,1563	104,1563124
500,00	21,02991	4,2060	104,2059816
500,00	20,94713	4,1894	104,1894252
500,00	21,11269	4,2225	104,222538
500,00	21,11269	4,2225	104,222538
500,00	21,02991	4,2060	104,2059816
500,00	21,02991	4,2060	104,2059816
500,00	21,11269	4,2225	104,222538
500,00	21,11269	4,2225	104,222538
500,00	21,28132	4,2563	104,256264

systemaattinen virhe (sdr%)	tarkkuus(k.a)	saanto
	0,03	4,21

Ortofosfaatti, 5 cm kyvet- ti
--

Mittausepävarmuus

Toistettavuus RSD%	0,01	(kalibrintisuora)	Lasketaan kolmanneksi suurim- man kalibrintipisteen mukaan.
$(s_{ri}(\%))^2$	0,0001		
Sisäinen uusittavuus s(%)		(Systemaattinen virhe)	
$(s(\%))^2$	0,01		
$(s_{ri}(\%))^2 + (s(\%))^2$	0,01		
$\sqrt{(s_{ri}(\%))^2 + (s(\%))^2}$	0,10	u(%)	
	0,20	2*u(%)	
Mittausalue	Standardien mukaan menetelmän mittausalueeksi voidaan ajatella 50-250 µg/l.		

Ortofosfaatti, 1 cm kyvet- ti
--

Mittausepävarmuus

Toistettavuus RSD%	0,02	(kalibrintisuora)	Lasketaan kolmanneksi suurim- man kalibrintipisteen mukaan.
$(s_{ri}(\%))^2$	0,0004		
Sisäinen uusittavuus s(%)	0,04	(Systemaattinen virhe)	
$(s(\%))^2$	0,00		
$(s_{ri}(\%))^2 + (s(\%))^2$	0,00		
$\sqrt{(s_{ri}(\%))^2 + (s(\%))^2}$	0,0447	u(%)	
	0,0894	2*u(%)	
Mittausalue	Standardien mukaan menetelmän mittausalueeksi voidaan ajatella 50-500 µg/l.		

Kokonaisfosfori, 5 cm ky- vetti
--

Mittausepävarmuus

Toistettavuus RSD%	0,11	(kalibrointisuora)	Lasketaan kolmanneksi suurimman kalibrointipisteen mukaan.
$(s_{ri}(\%))^2$	0,0121		

Sisäinen uusittavuus s(%)		(Systemaattinen virhe)
$(s(\%))^2$	0,12	

$(s_{ri}(\%))^2 + (s(\%))^2$	0,13
------------------------------	------

$\sqrt{(s_{ri}(\%))^2 + (s(\%))^2}$	0,363	u(%)
	0,727	2*u(%)

Mittausalue

Standardien mukaan menetelmän mittausalueeksi voidaan ajatella 50-250 µg/l.

Kokonaisfosfori, 1 cm ky- vetti
--

Mittausepävarmuus

Toistettavuus RSD%	0,01	(kalibrointisuora)	Lasketaan kolmanneksi suurimman kalibrointipisteen mukaan.
$(s_{ri}(\%))^2$	0,0001		

Sisäinen uusittavuus s(%)		(Systemaattinen virhe)
$(s(\%))^2$	0,03	

$(s_{ri}(\%))^2 + (s(\%))^2$	0,03
------------------------------	------

$\sqrt{(s_{ri}(\%))^2 + (s(\%))^2}$	0,173	u(%)
	0,347	2*u(%)

Mittausalue

Standardien mukaan menetelmän mittausalueeksi voidaan ajatella 50-500 µg/l.

Ortofosfaatti, 5 cm

Standardi 1			
Keskiarvo		0,142	50,9827
Keskihajonta, s			0,0204
RSD % (s)			0,04

Standardi 2			
Keskiarvo			100,7026
Keskihajonta, s			0,0126
RSD % (s)			0,01

Standardi 3			
Keskiarvo			149,7125
Keskihajonta, s			0,0159
RSD % (s)			0,01

Standardi 4			
Keskiarvo			200,0781
Keskihajonta, s			0,0319
RSD % (s)			0,02

Standardi 5			
Keskiarvo			250,1948
Keskihajonta, s			0,0417
RSD % (s)			0,02

Nolla		
Keskiarvo		55,3959
Keskihajonta, s		0,0071
RSD % (s)		0,01

vertailu, todellinen		
Keskiarvo		520,5489
Keskihajonta, s		0,0624
RSD % (s)		0,01

systemaattinen virhe %	
	0,04

tarkkuus%	saanto%
2,21	104,1098

mittausepävarmuus	
u	0,1
2*u	0,2

Ortofosfaatti, 1 cm

Standardi 1	
Keskiarvo	47,3385
Keskihajonta, s	0,0562
RSD % (s)	0,12

Standardi 2	
Keskiarvo	97,410
Keskihajonta, s	0,0732
RSD % (s)	0,08

Standardi 3	
Keskiarvo	149,3057
Keskihajonta, s	0,0952
RSD % (s)	0,06

Standardi 4	
Keskiarvo	196,2309
Keskihajonta, s	0,0415
RSD % (s)	0,02

Standardi 5	
Keskiarvo	240,1264
Keskihajonta, s	0,0778
RSD % (s)	0,03

Standardi 6	
Keskiarvo	295,6063
Keskihajonta, s	0,0447
RSD % (s)	0,02

Standardi 7	
Keskiarvo	344,9825
Keskihajonta, s	0,5389
RSD % (s)	0,16

Standardi 8	
Keskiarvo	398,2874
Keskihajonta, s	0,0647
RSD % (s)	0,02

Standardi 9	
Keskiarvo	451,1895
Keskihajonta, s	0,2503
RSD % (s)	0,06

Standardi 10	
Keskiarvo	498,257
Keskihajonta, s	0,127
RSD % (s)	0,03

Nolla	
Keskiarvo	115,9027
Keskihajonta, s	0,0405
RSD % (s)	0,03

vertailu, todellinen	
Keskiarvo	511,0344
Keskihajonta, s	0,0405
RSD % (s)	0,04

systemaattinen virhe %	
0,04	

mittausepävarmuus	
u	0,0447
2*u	0,0894

tarkkuus%	saanto%
2,21	102,207

Kokonaisfosfori, 5 cm

Standardi 1	
Keskiarvo	50,8235
Keskihajonta, s	0,1117
RSD % (s)	0,22

Standardi 2	
Keskiarvo	101,1056
Keskihajonta, s	0,022
RSD % (s)	0,02

Standardi 3	
Keskiarvo	151,244
Keskihajonta, s	0,1652
RSD % (s)	0,11

Standardi 4	
Keskiarvo	200,1829
Keskihajonta, s	0,0712
RSD % (s)	0,04

Standardi 5	
Keskiarvo	250,1626
Keskihajonta, s	0,0378
RSD % (s)	0,02

Nolla	
Keskiarvo	55,6058
Keskihajonta, s	0,024
RSD % (s)	0,04

vertailu, todellinen	
Keskiarvo	519,0827
Keskihajonta, s	0,5842
RSD % (s)	0,11

systemaattinen virhe %	
0,12	

tarkkuus%	saanto%
3,82	103,8165

mittausepävarmuus	
u	0,363
2*u	0,727

Kokonaisfosfori, 1 cm

Standardi 1		
Keskiarvo		48,6110
Keskihajonta, s		0,2229
RSD % (s)		0,46

Standardi 2		
Keskiarvo		96,8102
Keskihajonta, s		0,0408
RSD % (s)		0,04

Standardi 3		
Keskiarvo		147,5465
Keskihajonta, s		0,053
RSD % (s)		0,04

Standardi 4		
Keskiarvo		200,5376
Keskihajonta, s		0,0279
RSD % (s)		0,01

Standardi 5		
Keskiarvo		247,7218
Keskihajonta, s		0,0453
RSD % (s)		0,02

Standardi 6		
Keskiarvo		298,9029
Keskihajonta, s		0,2026
RSD % (s)		0,07

Standardi 7		
Keskiarvo		345,9466
Keskihajonta, s		0,1084
RSD % (s)		0,03

Standardi 8		
Keskiarvo		399,5449
Keskihajonta, s		0,0313
RSD % (s)		0,01

Standardi 9		
Keskiarvo		450,2702
Keskihajonta, s		0,0665
RSD % (s)		0,01

Standardi 10		
Keskiarvo		479,8079
Keskihajonta, s		0,0769
RSD % (s)		0,02

Nolla		
Keskiarvo		120,1002
Keskihajonta, s		0,0579
RSD % (s)		0,05

vertailu, todellinen		
Keskiarvo		521,055
Keskihajonta, s		0,1303
RSD % (s)		0,03

mittausepävarmuus	
u	0,173
2*u	0,347

systemaattinen virhe %	
0,03	

tarkkuus%	
4,21	

saanto%	
104,211	