

Robotic Analyzer SP50 käyttöönotto ja validointi (AMK)

Bio- ja elintarviketekniikan koulutusohjelma

Laboratoriotekniikka

2013

Kuutti Aura

ROBOTIC ANALYZER SP50 KÄYTTÖÖNOTTO JA VALIDOINTI



TURUN AMMATTIKORKEAKOULU
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Kuutti Aura

ROBOTIC ANALYZER SP50 KÄYTTÖÖNOTTO JA VALIDOINTI

Skalar on alankomaalainen yritys, joka valmistaa ja kokoaa laitteita automaattisen kemian analytiikan tarpeisiin. Työn tavoitteena oli käyttöönottaa ja validoida uusi Skalarin kokoama laitteisto, Robotic Analyzer SP50, joka mittaa vesinäytteistä pH-arvoa, sähkönjohtavuutta, alkaliteettiä, asiditeettiä ja sameutta. Kaikki validointitestit suoritettiin toimeksiantajan Lounais-Suomen vesi- ja ympäristötutkimus Oy:n tiloissa.

Validoinnin kohteena oli yhdeksän eri menetelmää. Menetelmistä neljä oli titrausmenetelmiä, neljä elektrodilla tapahtuvaa määrittystä ja yksi nefelometrinen määrittys. Titraukset tehtiin automaattititraattoreilla, pH-arvon ja sähkönjohtavuuden mittaus näytteenvaihtajan avulla liikuteltavilla elektrodeilla ja sameusmäärittys läpivirtauskyvetin avulla. Kaikki menetelmät ovat täysin automaattisia. ja ainoastaan näytteiden esikäsittely ja hävittäminen tehtiin manuaalisesti.

Työssä mitattavat parametrit on tärkeää tuntea useissa eri vesikemian sovellutuksissa. Talousvesistä seurataankin kyseisiä parametreja säännöllisesti. Laboratorioiden- ja menetelmien automatisoinnilla mittaaminen voidaan tehdä entistä nopeammaksi, helpommaksi, taloudellisemmaksi ja luotettavammiksi. Terveydelle haitallisten aineiden kanssa työskennellessä automatisoinnilla voidaan nostaa työturvallisuutta.

Menetelmät validoitiin Suomen ympäristökeskuksen ohjeiden mukaisesti. Kaikki menetelmät pois lukien asiditeetti ja gran-alkaliteetti kuuluvat akkreditoituihin menetelmiin. Validoinnilla todennettiin, että uusi laitteisto antaa luotettavia tuloksia tietyillä mittausepävarmuuksilla. Näytteinä validointimittauksissa käytettiin oikeita vesinäytteitä. Lisäksi mitattiin kontrollinäytteitä, joiden eri mittausparametrien tulokset tunnettiin.

Validoidut menetelmät saivat Finas-akkreditointipalvelulta akkreditointitodistukset, jonka jälkeen laitteisto otettiin käyttöön vaiheittain. Aluksi laitteelle siirrettiin kaikki puhdasvesimenetelmät lukuun ottamatta asiditeetti määrittystä ja myöhemmin laiteelle siirrettiin jätevesimäärittäykset. Asiditeetin määrittys pysyy ainakin toistaiseksi vanhalla laitteistolla.

ASIASANAT:

Validointi, pH-arvo, sähkönjohtavuus, sameus, alkaliteetti, asiditeetti, gran-alkaliteetti, laboratorion automatisointi, vesianalytiikka

Kuutti Aura

IMPLEMENTATION AND VALIDATION OF ROBOTIC ANALYZER SP50

Skalar is a Dutch company which manufactures and assembles devices for the automated chemical industry. The goal of this thesis was to implement and validate Skalar's new assembled equipment, Robotic Analyzer SP50, which measures pH-value, conductivity, alkalinity, acidity and turbidity from water samples. All validation tests were performed in the commissioner Lounais-Suomen vesi ja ympäristötutkimus Oy's office.

Nine different methods were subjected to validation. Four of the methods were titration methods while four others were electrode measurement methods and one was a nephelometric method. The titrations were performed with automated titrators, pH-value and conductivity determination with electrodes moved by an autosampler and turbidity measurement with a flow-through cell. All the methods are entirely automated and only the preparation and disposal of the samples were performed manually.

In different water applications it is important to know the parameters measured in this thesis. These parameters are under constant monitoring in water for household consumption. With laboratory automation and method automation faster, easier, more economical and more reliable measurements are possible. Automation improves occupational safety for those working with hazardous substances.

The methods were validated in compliance with the guidelines of the Finnish Environment Center. All the methods with the exception of acidity and gran-alkalinity are accredited methods. Validation verified that the new equipment provides reliable results with given measurement uncertainties. The samples in the validation measurements were real water samples. Also control samples were measured whose different measurement parameter results were known.

The validated methods were granted accreditation certificates by the Finas accreditation service and after that the equipment was implemented in stages. At first clean water measurements were transferred to the new equipment with the exception of the acidity measurement and later, wastewater measurements were transferred to the new equipment. For the time being, the acidity measurement continues to be performed with the old equipment.

KEYWORDS:

Validation, pH-value, conductivity, turbidity, alkalinity, acidity, gran-alkalinity, laboratory automation, wet chemistry

SISÄLTÖ

KÄYTETYT LYHENTEET	7
1 JOHDANTO	8
2 YLEISET VESIANALYYSIT	9
2.1 pH-arvo	9
2.2 Johtokyky ja sähkönjohtavuus	10
2.3 Alkaliteetti	11
2.4 Asiditeetti	12
2.5 Sameus	13
2.6 pH-arvon, sähkönjohtavuuden, alkaliteetin ja sameuden merkitys vesissä	14
3 ANALYYSIMENETELMÄN VALIDOINTI	17
3.1 Toteamisraja ja määritysraja	17
3.2 Mittausalue ja lineaarisuus	18
3.3 Satunnaisvirhe, systemaattinen virhe ja mittausepävarmuus	18
3.4 Menetelmävertailu	20
4 LABORATORION AUTOMATISOINTI	22
4.1 Laboratorioautomatisoinnin kehitys	22
4.2 Laboratorioanalyysien automatisointi yleisesti	23
4.3 Automaatiikan luokittelu	24
5 TYÖN SUORITUS	26
5.1 Robotic Analyzer SP50 laitteisto	26
5.2 Mittauksen suoritus Robotic Analyzer SP50-laitteistolla	28
5.3 Käyttöönottoon liittyviä testejä ja kalibrointeja	29
5.3.1 Näyteastioiden titraustilavuuden määrittäminen	29
5.3.2 Elektrodien ja mittareiden toiminnan tarkastus	30
5.3.3 Haihtuvuuden testaus	30
5.4 Menetelmien testaus ja optimointi	31
5.5 Validoitavat parametrit	33
5.5.1 Toteamisrajojen ja määritysrajojen määrittäminen	34
5.5.2 Menetelmien mittausalueet ja lineaarisuus	34
5.5.3 Satunnaisvirhe	35

5.5.4 Systemaattinen virhe	36
5.5.5 Mittausepävarmuus	37
5.5.6 Menetelmien vertailu	37

6 TULOKSET **39**

6.1 Määrittämissrajat ja toteamisrajat	39
6.2 Mittausalueet ja lineaarisuus	39
6.3 Satunnaisvirhe, systemaattinen virhe ja mittausepävarmuus	43
6.4 Menetelmien vertailu	47

7 TULOSTEN ARVIOINTI JA YHTEENVETO **50**

7.1 Validointitulosten arviointi	50
7.2 Yhteenveto	52

LÄHTEET **54**

KUVAT

Kuva 1. Robotic Analyzer SP50 mittauslaitteisto.	27
Kuva 2. Skalarin ohjelmisto mittaushetkellä.	27

KUVIOT

Kuvio 1. Kahden pisteen alkaliteettimäärityksen mittausalueen lineaarisuus.	40
Kuvio 2. Gran-alkaliteetin mittausalueen lineaarisuus.	40
Kuvio 3. Yhden pisteen alkaliteetti määrityksen mittausalueen lineaarisuus.	41
Kuvio 4. Sähkönjohtavuuden mittausalueen lineaarisuus.	42
Kuvio 5. Sameuden mittausalueen lineaarisuus.	42
Kuvio 6. Satunnaisvirheen muutos pH-arvon muuttuessa.	44
Kuvio 7. Puhdasvesi pH-määrityksen vertailu vanhalla ja uudella laitteella.	48

TAULUKOT

Taulukko 1. Sosiaali- ja terveysministeriön asettamat laatuvaatimukset talousveden mitattavista osoitinmuuttujista.	15
Taulukko 2. Robotic Analyzer SP50 mittauslaitteisto.	26
Taulukko 3. Validoitavat ominaisuudet eri menetelmille.	33
Taulukko 4. Menetelmien mittausalueet.	35

Taulukko 5. Toteamisrajat ja määrittäysrajat eri menetelmille.	39
Taulukko 6. Satunnaisvirheet eri menetelmille ja niiden mittausalueille.	43
Taulukko 7. H1-kontrollinäytteen avulla lasketut systemaattiset virheet.	45
Taulukko 8. Sameuskontrollien S1 ja S2 avulla laskettu systemaattinen virhe.	45
Taulukko 9. Mittausepävarmuus eri menetelmille eri pitoisuusalueilla.	46
Taulukko 10. Menetelmien vertailu uusilla ja vanhoilla menetelmillä.	47

KÄYTETYT LYHENTEET

FAU	Formazine attenuation unit ⁸
FIA	Flow Injection Analyzer ¹⁵
FNU	Formazine nephelometric unit ⁸
JV	Jätevesi
LIMS	Laboratory Information Management System ¹⁸
LOD	Limit of detection ¹²
LOQ	Limit of quantitation ¹²
NTU	Nephelometric turbidity unit ⁸
pH	The power of hydrogen ¹
PV	Puhdasvesi

1 JOHDANTO

Opinnäytetyön tavoitteena oli alankomaalaisen yrityksen Skalarin kokoaman uuden Robotic Analyzer SP50 laitteiston käyttöönotto ja validointi. Laitteistolla oli tarkoitus mitata erilaisista vesinäytteistä pH-arvoa, sähkönjohtavuutta, alkaliteettia, gran-alkaliteettia, asiditeettia ja sameutta automaattisesti.

Automaattisella laitteistolla voidaan ehkäistä ihmisestä johtuvaa virhettä näytteen analysoinnissa. Menetelmille suoritettiin validointi, jonka tulosten avulla Finas myöntää akkreditointitodistuksen. Validoinnissa otetaan kantaa määritys- ja toteamisrajoihin, systemaattiseen virheeseen ja satunnaiseen virheeseen ja niiden kautta laskettuun mittausepävarmuuteen, mittausalueeseen ja sen lineaarisuuteen sekä menetelmienvertailuun samoja parametreja mittaavien menetelmien kanssa.

Työn toimeksiantaja oli Lounais-Suomen vesi- ja ympäristötutkimus Oy, joka on erikoistunut vesianalyysien tekoon. Menetelmät lukuun ottamatta asiditeetti- ja gran-alkaliteettimäärityksiä tullaan akkreditoimaan Finaksen toimesta.

Teoriaosassa käsitellään laboratorion ja menetelmien automatisointia. Automatisoinnilla pyritään yleisesti leikkaamaan tuotannon kustannuksia, nostamaan työturvallisuutta ja varmistamaan saatujen tulosten tasainen luotettava laatu. Teoriaosassa kerrotaan myös pH-arvosta, sähkönjohtavuudesta, alkaliteetista, asiditeetista ja sameudesta sekä niiden merkityksestä vesistöissä ja veden käsittelyssä, sekä validoinnista. Työn loppuosa koostuu työn suorituksesta, tuloksista ja tulosten arvioinnista sekä lopputuloksen pohdinnasta.

2 YLEISET VESIANALYYSIT

Vesianalyseja tehdään erilaisille vesinäytteille monesta eri syystä. Talousvesillä on tiettyjä laatuvaatimuksia muun muassa pH-arvon ja sameuden, vesistöillä alkaliteetti- ja asiditeettipitoisuuden ja jätevesillä sähkönjohtavuuden suhteen. Tässä kappaleessa keskitytään pH-arvon, sähkönjohtavuuden, alkaliteetin, asiditeetin ja sameuden teoriaan sekä määrittämiseen, jotta voidaan paremmin ymmärtää työssä validoitavan Robotic Analyzer SP50 laitteiston toimintaa.

2.1 pH-arvo

Tanskalainen kemisti Søren Peder Lauritz Sørensen esitteli vuonna 1909 pH:lle määritelmän, mikä perustuu vetyionikonsentraatioon tai tarkemmin ottaen vetyionin aktiivisuuteen ja antoi tälle kaavan:

$$pH = -\log_{10}[H^+] \quad \text{tai} \quad pH = \log_{10} \left[\frac{1}{[H^+]} \right] \quad (1)$$

jossa $[H^+]$ = vetyionien konsentraatio (mol/l)

Puhtaassa vedessä vesimolekyylien törmäillessä toisiinsa vesimolekyylit protolysoituvat vetyioneiksi (H^+) ja hydroksidi-ioneiksi (OH^-).¹ Puhtaassa vedessä vetyionien konsentraatio on noin 10^{-7} mol/l. Hydroksidi-ionien konsentraatio on tällöin sama, kuin vetyionien konsentraatio eli noin 10^{-7} mol/l. Näiden avulla voidaan laskea veden ionitulo K_w kaavasta (2).

$$K_w = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]} \quad (2)$$

jossa K_w = veden ionitulo (mol/l)

$[OH^-]$ = hydroksidi-ionien konsentraatio (mol/l)

$[H_2O]$ = veden konsentraatio (mol/l)

Koska puhtaassa vedessä vesimolekyylien konsentraatio on erittäin suuri ja konsentraatio pienentyy erittäin vähän ionisoitumisessa, konsentraation olet-

taan olevan vakio ja se voidaan jättää pois kaavasta. Tällöin kaava (2) on muotoa:²

$$K_w = [H^+][OH^-] = 1,008 * 10^{-14}(\text{mol/l})^2 \quad (3)$$

Näin ollen, $[H^+]$ ollessa suurempi kuin $[OH^-]$, pH on pienempi kuin 7. Ja päinvastoin, jos $[OH^-]$ on suurempi kuin $[H^+]$, pH on suurempi kuin 7.¹ Logaritmisen asteikon takia yhden pH-yksikön hyppäys pH-asteikossa (esim. pH 7 → pH 6) tarkoittaa happamuuden kymmenkertaistumista³.

Useimmiten pH:ta mitataan potentiometrisella lasielektrodilla. pH-elektrodi tunnistaa selektiivisesti vain vetyionit. Vetyionien aktiivisuuden muuttuessa yhden pH yksikön verran, potentiaalissa se tarkoittaa 59,16 mV muutosta 25 °C lämpötilassa. pH-elektrodi kalibroidaan ennen mittausta kahdella tai useammalla eri puskuriliuoksella, joiden pH-arvo tunnetaan tarkasti.⁴ Elektroodin kuntoa ja toimivuutta seurataan elektrodin herkkyyden eli slope-arvon avulla. Herkkyyden arvo on yhden pH-arvon muutos mV jaettuna teoreettisella arvolla 59,16 mV prosentteina. Arvon tulisi olla lähellä 100 %.

2.2 Johtokyky ja sähkönjohtavuus

Johtokyky ilmaisee numeerisesti vesiliuoksen kykyä johtaa sähköä. Johtavuus riippuu liuoksessa olevista ioneista, niiden liikkuvuudesta, valenssista, suhteellisesta konsentraatiosta ja mittauslämpötilasta. Epäorgaaniset hapot, emäkset ja suolaliuokset hajoavat vedessä ioneiksi ja ovat siksi suhteellisen hyviä johtimia. Orgaaniset molekyyliyhdisteet, jotka eivät hajoa liuoksessa ioneiksi, ovat taas huonoja johtamaan sähköä.²

Sähkönjohtavuus mittaa vedessä olevien ionien kuljettaman sähkövirran määrää. Mittauksessa kahden vesiliuokseen upotetun jännitelähteeseen kytketyn elektrodin välillä kulkee ionien kuljettama sähkövirta. Sähkönjohtavuus määritetään tietyissä olosuhteissa mitatun vastuksen (R) käänteislukuna (γ). Yksikkönä ominaisjohtokyvyille käytetään yleensä Siemensiä (S) metriä (m) kohti (S/m).⁵

Mitattaessa johtokykyä on otettava huomioon myös mittauskennosta aiheutuva kennovakio (K). Yleensä laitteet ottavat kennovakion huomioon, jolloin sähkönjohtavuus voidaan lukea laitteelta suoraan. Mikäli laite ei toimi näin, johtokykyarvo kerrotaan kennovakiolla, josta saadaan sähkönjohtavuus (γ). Kennovakio voidaan määrittää kokeellisesti tai laskea kaavasta (4), kun tiedetään sähköjohtimen pituus (l) metreinä ja sähköjohtimen poikkileikkauksen tehollinen pinta-ala (A) neliömetreinä.⁵

$$K = \frac{l}{A} \quad (4)$$

jossa K = kennovakio

l = sähköjohtimen pituus (m)

A = sähköjohtimen poikkileikkauksen tehollinen pinta-ala (m²)

Sähkönjohtavuutta mitattaessa näytteen lämpötilan tulee olla (25 ± 0,1) °C, tai mittauslämpötila tulee tuntea tarkasti (laitteet yleensä sisältävät lämpötilakompensointilaitteen). Tarkimmissa mittauksissa tulisi käyttää lämpömittaria ja termostaattihaudetta, joiden tarkkuus on ± 0,1 °C. Rutiinimittauksissa lämpömittarin ja termostaattihautteen tarkkuudeksi riittävät ± 0,5 °C. Tarkimmat johtokyky-mittaukset tehdään platinaelektrodeilla. Platinoimattomia elektrodeja käytetään vain kenttämittauksissa tai rutiinimittauksissa.⁵

Häiriöitä johtokyvyn mittauksessa aiheuttaa runsas suspendoituneen aineen määrä sekä öljy ja rasva, jotka likaavat elektrodia. Lisäksi häiriötä aiheuttavat ilmakuplat, joita ilmaantuu elektrodien pinnalle, kun näytettä lämmitetään 25 °C lämpötilaan. Myös näytteiden, joiden sähkönjohtavuus on alle 1 mS/m, tulokseen vaikuttavat ilman hiilidioksidi ja ammoniakki. Mitattaessa erittäin pieniä johtokykyjä, puhtaan veden sähkönjohtavuus saattaa vaikuttaa tulokseen.⁵

2.3 Alkaliteetti

Alkaliteetilla tarkoitetaan vedessä olevien yhdisteiden määrää, jotka vastustavat pH:n muutosta emäksisestä happamaan. Alkaliteettia nostavia yhdisteitä ovat

muun muassa hydroksidien, karbonaattien ja vetykarbonaattien lisäksi fosfaatit, boraatit, silikaatit sekä aluminaatit. Humusaineella voi olla alkaliteettia lisääviä ominaisuuksia. Yleisesti alkaliteettiarvon katsotaan tarkoittavan vedessä olevan hiilihapon suolojen määrää ja sen yksikkönä käytetään mmol/l.⁶

Yhden pisteen alkaliteetti määritetään titraamalla vesinäyte pH-arvoon 4,5 vahvalla hapolla (esim. HCl tai H₂SO₄). Mikäli näytteen pH-arvo on määrittämisen alussa yli 8,3, sille määritetään ensin karbonaattialkaliteetti titraamalla näyte ensiksi pH-arvoon 8,3. Tämän jälkeen titrausta jatketaan, kunnes pH-arvo on 4,5. Eli mikäli alkaliteetti on 0,1 mmol/l, vesi pystyy sitomaan 0,1 millimoolia yksiprotonista happoa litraa kohti.⁶

Tutkittaessa pieniä alkaliteettipitoisuuksia titrauksella pH-arvoon 4,5 saadaan usein liian suuria alkaliteettiarvoja, sillä ilmasta imeytyy hiilidioksidia näytteeseen. Tämän takia titrauksen loppupisteen (ekvivalenttipisteen) detektoimiseksi on kehitetty muutama muu keino. Kahden pisteen alkaliteetissa, titrauksen ekvivalenttikohda saadaan titraamalla näyte ensiksi arvoon 4,3–4,7 ja tämän jälkeen tasan 0,3 pH-arvoa happamampaan lukemaan. 0,3 pH-asteikon muutos vastaa vetyionikonsentraation kaksinkertaistumista, jonka jälkeen yksinkertaisen ekstrapoloinnin avulla saadaan tarkemmin titrauksen loppupiste selville.⁷

Paras keino pienien alkaliteettipitoisuuksien määrittämiseksi on Gran'in kehittämä menetelmä, jossa myös käytetään ekstrapolointia hyödyksi ekvivalenttipisteen selvittämisessä. Aluksi näyte titrataan pH-arvoon noin 4,5. Tämän jälkeen titrausta jatketaan ja hapon kulutus luetaan vähintään kolme kertaa pH-arvojen 4,4–3,7 välillä. Tällöin ei tarvitse titrata ekvivalenttikohdan, jossa virheet ovat suurimmat, vaan ekvivalenttikohda määritetään laskennallisesti tai kuvaajan avulla.⁷

2.4 Asiditeetti

Asiditeetti tarkoittaa vedessä olevien yhdisteiden määrää, jotka vastustavat pH:n muutosta happamasta emäksiseksi. Tällaisia yhdisteitä ovat muun muassa mineraalihapot, orgaaniset hapot, vahvojen happojen ja heikkojen emästen

muodostamat suolat ja eräät metalli-ionit kuten rauta ja alumiini, jotka hydrolysoituessaan aiheuttavat asiditeettia. Yleisesti katsotaan asiditeettiarvon tarkoittavan vedessä olevan hiilidioksidin (hiilihapon) määrää ja sen yksikkönä käytetään mmol/l.⁶

Asiditeetti määritetään titraamalla vesinäyte pH-arvoon 8,3 vahvalla emäksellä (NaOH). Mikäli näytteen pH-arvo on määrittämisen alussa jo 8,3, näytteen asiditeettipitoisuus on 0 mmol/l. Mikäli näytteen pH-arvo on määrittämisen alussa alle 4,5, näyte sisältää mineraalihappoja (vahvoja happoja), jolloin sille määritetään ensin mineraaliasiditeetti titraamalla näyte vahvalla emäksellä pH-arvoon 4,5.⁶

2.5 Sameus

Sameus on nesteen läpinäkyvyyden heikkeneminen, joka johtuu nesteessä olevista liukenemattomista partikkeleista. Sameutta aiheuttaa muun muassa savi-nen pohja, lieju, hienojakoiseksi hajonnut orgaaninen ja epäorgaaninen aines, värikkäät liukenevat orgaaniset yhdisteet, planktonit ja mikroskooppiset organismit. Veden sameutta lisäävät myös teollisuuden jätevedet ja maanviljelystä aiheutuva valuma.³

Veden sameutta voidaan mitata useammalla eri tavalla. Kenttäolosuhteissa nopeita ja yksinkertaisia mittausmenetelmiä ovat näkösyvyyden mittaus testiputken avulla ja näkösyvyyden mittaus testilevyn avulla. Kyseiset sameudenmittausmenetelmät ovat puolikvantitatiivisia. Kvantitatiivisia menetelmiä, joissa käytetään optisia sameusmittareita, ovat muun muassa hajaantuneen säteilyn mittaukseen perustuva menetelmä ja säteilyvirran vaimenemiseen perustuva menetelmä. Mittausta saattavat häiritä ilmakuplat ja valoa absorboivat liuenneet väri-liset aineet.⁸

Hajaantunutta säteilyä mitattaessa, sameuden yksikkönä toimii FNU (formazine nephelometric unit) tai NTU (nephelometric turbidity unit). Yleisesti kyseinen menetelmä sopii parhaiten lievästi sameille vesille, mutta laitteistosta riippuen menetelmä voi olla käytössä mitattaessa melko sameita vesiä. Hajaantuneen säteilyn intensiteetti riippuu säteilyn aallonpituudesta, mittauskulmasta sekä

neesteeseen suspensoituneiden hiukkasten muodosta, optisista ominaisuuksista ja hiukkasten koon jakautumisesta. Hajaantunutta säteilyä mitattaessa valon aallonpituutena käytetään usein 860 ± 10 nm, sillä mittaukset tällä aallonpituudella ovat osoittaneet pienempää hajaantuneen säteilyn intensiteettiä verrattuna lyhyemmillä aallonpituuksilla tehtyihin mittauksiin.⁸

Vaimentuneen säteilyn mittauksessa käytetään yksikköä FAU (formazine attenuation unit). Kyseinen menetelmä sopii hajaantunutta säteilyä mittaavaa laitetta paremmin voimakkaasti sameille vesille. Mittausintensiteetti riippuu detektoriin saapuvan säteilytehon aukkukulmasta.⁸

2.6 pH-arvon, sähkönjohtavuuden, alkaliteetin ja sameuden merkitys vesissä

Suomessa vesistöt ovat lievästi happamia (6,5–6,8) johtuen vesistöissä olevasta humuksesta. Runsas leväkukinto voi kuitenkin nostaa veden pH-arvon 8-10. Vesielistö on sopeutunut parhaiten elämään pH-arvon ollessa noin 6-8.⁹ Vesistöjen matala pH (alle 5,5) vaikeuttaa esimerkiksi lohikalojen lisääntymistä. Veden pH-arvon tunteminen on erittäin tärkeää myös lähes kaikessa ympäristötekniikan sovelluksissa, kuten vedenjakelussa, -pehmentämisessä, -desinfioinnissa tai korroosion ehkäisemisessä. Matala pH-arvo aiheuttaa korroosioita putkistoissa, kun taas korkea pH-arvo aiheuttaa veteen makuja ja saippuamaista tuntua.³ Esimerkiksi veden koaguloimiselle (partikkelien koon kasvattamiselle) paras pH-alue on 6,5–8,5. Desinfioinnissa käytetyt klooriyhdisteet toimivat taas parhaiten pH-arvon ollessa alle 8.⁹

Sähkönjohtavuus mittaa veteen liuenneiden suolojen määrää. Suomessa vesistöt ovat yleisesti vähäsuolaisia johtuen heikosti rapautuvasta kallioperästä. Järvivesien sähkönjohtavuus on yleensä 5-10 mS/m. Jätevedet nostavat sähkönjohtavuutta. Voimakkaasti viljellyillä alueilla sähkönjohtavuus voi kohota 15–20 mS/m arvoon.⁹ Kohonnut sähkönjohtokyky indikoi vedessä olevan epäpuhtauksia. Veden sähkönjohtokyvyllä mitataan myös kvantitatiivisesti liuenneiden ionien määrää.³

Alkaliteettiarvo ilmaisee veden kykyä puskuroida sen hapettumista. Alhaiset alkaliteettipitoisuudet ilmaisevat vesistölle suurta riskiä happamoitua nopeasti, mikäli veteen joutuu hapanta ainesta esimerkiksi kevään sulamisvaluman seurauksena. Pelkän veden pH-arvon seuraaminen ei kerro luotettavasti veden happamuuden kehityksestä, vaan on myös hyvä seurata alkaliteetin muutosta.⁹

Sameus vaikuttaa veden ulkonäköön. Esteettisistä syistä yleinen juomavesi ei voi olla sameaa, sillä samea vesi yhdistetään suoraan mahdollisesti likaantuneeksi ja epäterveelliseksi. Mikäli vesi on veden puhdistuksessa sameaa, sen suodattaminen on hankalampaa ja kalliimpaa. Lisäksi sameutta aiheuttavat partikkelit saattavat kapseloida patogeenisiä mikrobeja sisälleen ja näin antaa mikrobeille suojan desinfiointiaineilta.³

Sosiaali- ja terveysministeriön asettamat talousveden laatuvaatimukset ja valvontaan liittyvät seikat (19 päivänä elokuuta 1994 annetun terveydensuojelulain (763/1994) 21 §:n nojalla) työssä mitattavista osoitinmuuttujista ovat taulukossa 1.¹⁰

Taulukko 1. Sosiaali- ja terveysministeriön asettamat laatuvaatimukset talousveden mitattavista osoitinmuuttujista.

Osoitinmuuttujat	Enimmäispitoisuus	Jatkuvassa valvonnassa
pH	6,5–9,5	Kyllä
Sähkönjohtavuus	< 2500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (= 250 mS/m)	Kyllä
Sameus	Käyttäjien hyväksyttävissä *	Kyllä
Asiditeetti	Ei raja-arvoa	ei
Alkaliteetti	Ei raja-arvoa	ei

*pintavesilaitokselta lähtevän veden sameudessa tulisi pyrkiä arvoon alle 1 NTU (= 1 FNU)¹¹

Taulukosta 1. nähdään, että mitattavat osoitinmuuttujat ovat tärkeitä parametreja ja veden laadun seurannassa, jonka takia ne ovat jatkuvassa seurannassa. Alkaliteetti- ja asiditeettipitoisuuden tunteminen ei ole talousvesissä niin tärkeää, kuin vesistöjen laadun seurannassa.

Vesistöille yleisesti ei ole annettu numeraalisia enimmäisarvoja osoitinmuuttujille, vaan veden laatua määritetään sanallisesti. Yleinen käyttökelpoisuusluokitus on jaettu viiteen eri kategoriaan; erinomainen, hyvä, tyydyttävä, välttävä ja huono. Erityisesti pH-arvon laskua happamalle pidetään vesien pilaantumisen kannalta oleellisena parametrina.¹²Jätevesille on annettu tiettyjä vesiparametrien raja-arvoja ympäristölupaviraston tai alueellisen ympäristökeskuksen toimesta. Niiden avulla ohjataan jätevesipuhdistamoiden käyttöä ja selvitetään vesistöihin menevän jäteveden kuormitusta.

3 ANALYYSIMENETELMÄN VALIDOINTI

Validoinnilla tarkoitetaan analyysimenetelmän luotettavuuden osoittamista ja sillä varmistetaan, että menetelmä soveltuu käyttötarkoitukseensa. Validointi, joka koostuu suunnitelman teosta, validointimittausten suorittamisesta, tulosten tilastollisesta arvioinnista ja käsittelystä sekä tulosten raportoinnista ja dokumentoinnista osoittaa, millä varmuudella menetelmän antamat tulokset voidaan ilmoittaa.¹²

Tässä työssä validoitiin seuraavia ominaisuuksia: toteamis- ja määritysrajat, mittausalueen lineaarisuus, satunnais- ja systemaattinen virhe, mittausepävarmuus ja menetelmän vertailu toiseen menetelmään. Validoinnissa ei huomioitu spesifisyyttä, selektiivisyyttä ja häiriökestävyyttä, sillä kyseessä oli standardoitujen menetelmien käyttöönottovalidointi.

3.1 Toteamisraja ja määritysraja

Toteamisraja (LOD) on se pitoisuus, jota suuremmilla pitoisuuksilla voidaan todeta, että näytteessä on määritettävää yhdistettä. Toteamisrajan kaava on muotoa:¹²

$$LOD = x_{nollanäyte} + 3 * s_{nollanäyte} \quad (5)$$

jossa LOD = toteamisraja

x = nollanäytteiden mittaustulosten keskiarvo

3 = kerroin

s = nollanäytteiden mittausten keskihajonta

Määritysraja (LOQ) on se pitoisuus, jolla voidaan hyväksyttävällä tarkkuudella ja täsmällisyydellä määrittää tulos. Määritysrajan kaava on muotoa:¹²

$$LOQ = x_{nollanäyte} + 9 * s_{nollanäyte} \quad (6)$$

jossa LOQ = määrittäysraja

x = nollanäytteiden mittaustulosten keskiarvo

9 = kerroin

s = nollanäytteiden mittausten keskihajonta

3.2 Mittausalue ja lineaarisuus

Mittausalue kertoo, millä määritettävän yhdisteen pitoisuusvälillä menetelmää voidaan käyttää. Mittausalueen alaraja riippuu määrittäysrajasta (LOQ) ja alueen yläraja muun muassa mittalaitteen detektio-ominaisuuksista ja lineaarisen alueen laajuudesta.¹²

Mittausalueen selvittämiseen käytettävien kalibrointinäytteiden lukumäärä vaihtelee menetelmäkohtaisesti ja näytteiden lukumäärä voidaan määrittää tilastollisesti. Kyseisiä keinoja ei ole tarpeen sisällyttää normaalivalidointiin, joten lukumääräksi voidaan valita esimerkiksi viisi kalibrointinäytettä. Pienemmillä näyttemäärillä lineaarisuusnäytteiden luotettavuusväli kasvaa liian suureksi.¹²

3.3 Satunnaisvirhe, systemaattinen virhe ja mittausepävarmuus

Satunnaisvirhe voi johtua mittaustulosten epätarkkuudesta tai satunnaisvaihtelusta. Satunnaisvirhe jakaantuu kahteen eri osaan; sarjan sisäiseen hajontaan ja sarjojen väliseen hajontaan. Sarjojen välistä hajontaa aiheuttavat kalibroinnissa tapahtuvat virheet. Näytteiden kontaminoituminen aiheuttaa puolestaan sarjan sisäistä hajontaa.¹²

Tässä työssä satunnaisvirheen arvioinnissa käytetään hyväksi rinnakkaisnäytteiden tuloksia. Rinnakkaismäärittäyksistä laskettiin mittaustulosten keskiarvo, keskihajonta ja suhteellinen keskihajonta. Pienillä pitoisuuksilla lisäksi varianssi, jota käytettiin suhteellisen keskihajonnan sijaan satunnaisvirheen laskennassa.

Kaavan (7) avulla laskettiin varianssin tai suhteellisten keskihajontojen kautta satunnaisvirhe¹².

$$u_{\text{satunnaisvirhe}} = \sqrt{\frac{1}{n} * \sum(s^2)} \quad (7)$$

jossa $u_{\text{satunnaisvirhe}}$ = satunnaisvirhe

n = rinnakkaismääritysten lukumäärä

s = joko yksittäisen mittauksen varianssi [mittausyksikköä] tai suhteellinen keskihajonta [%]

Systemaattinen virhe johtuu laitteistosta ja sen tulisi olla mahdollisimman pieni. Systemaattista virhettä esiintyy, kun kalibrointi on virheellinen, nollanäyte on virheellinen, määritysolosuhteet ja/tai näyte on muuntunut ennen analysointia. Systemaattinen virhe määritetään usein standardinlisäysmenetelmällä, jossa lisäysmenettelyllä on tarkoitus osoittaa, löytyykö analysoitavasta yhdisteestä aineita, jotka häiritsevät määrittystä.¹²

Tässä työssä systemaattisen virheen suuruutta arvioidaan kontrollinäytteiden avulla. Kontrollinäytteiden pH-arvo, sähkönjohtavuus, alkaliteetti, asiditeetti tai sameus tunnetaan joko tarkasti tai tulos on toisella menetelmällä tehtyjen pitkän ajan määritysten keskiarvo. Systemaattinen virhe laskettiin kaavan (8) mukaan.

$$u_{\text{systemaattinen virhe}}(\%) = \sqrt{\frac{\sum[d(\%) - \bar{d}(\%)]^2}{n-1}} \quad (8)$$

jossa $u_{\text{systemaattinen virhe}}$ = suhteellisten erotusten keskihajonta

d = määritysten ja teoreettisen arvon suhteellinen erotus

\bar{d} = määritysten ja teoreettisen arvon suhteellisten erotusten keskiarvo

n = mittaustulosten lukumäärä

Mittausepävarmuus kertoo, minkä rajojen sisällä oikea tulos on ja sen suuruus riippuu monesta eri seikasta, kuten systemaattisesta virheestä ja satunnaisvirheestä. Ympäristönäytteiden kemiallisten analyysimenetelmien validointi ohjeen

mukaan kokonaisepävarmuus saadaan laskemalla kaavan (9) avulla yhdistetty mittausepävarmuus.¹²

$$u_c = \sqrt{\sum u_i^2} = \sqrt{u(\text{satunnaisvirhe})^2 + u(\text{systemaattinen virhe})^2} \quad (9)$$

jossa u_c = mittausepävarmuus

$u(\text{satunnaisvirhe})$ = satunnaisvirhe

$u(\text{systemaattinen virhe})$ = systemaattinen virhe

Tästä voidaan edelleen laskea laajennettu mittausepävarmuus U . Tämä saadaan kertomalla mittausepävarmuus kertoimella k , joka riippuu luottamustasosta, jolle laajennettu mittausepävarmuus annetaan. Esimerkiksi kerroin k on 2, kun luottamustasoksi on valittu 95 %. Tällöin kaava on muotoa:¹²

$$U = k * u_c \quad (10)$$

jossa U = laajennettu mittausepävarmuus

k = luottamustasosta riippuva korjauskerroin

u_c = mittausepävarmuus

3.4 Menetelmävertailu

Menetelmän vertailua on hyvä käyttää kun uusi menetelmä korvaa vanhan menetelmän eikä uuden menetelmän validointiin ole saatavilla sopivia referenssimenetelmiä. Menetelmien tuloksia voidaan tilastollisesti tarkastella myös esimerkiksi Grubbin-testillä, F-testillä tai t-testillä.¹²

Tässä työssä menetelmien vertailu tehdään 2-suuntaisella parittaisella t-testillä, sillä kumpaakaan eri menetelmien tuloksista ei voida pitää oikeina ja testillä tutkitaan menetelmien samanlaisuutta. Tuloksien laskemiseen tarvitaan molempien laitteiden tulos, mitattujen tulosten keskiarvojen erotusten keskiarvo ja keski-

hajonta sekä rinnakkaismääritysten lukumäärä. 2-suuntaisen parittaisen t-testin kaava on muotoa:¹²

$$\pm t = \frac{\bar{d}\sqrt{n}}{s} \quad (11)$$

jossa t = t-testin tulos positiivisena lukuarvona

\bar{d} = uudella ja vanhalla menetelmällä mitattujen rinnakkaismääritysten erotusten keskiarvo

n = rinnakkaismääritysten lukumäärä

s = uudella ja vanhalla menetelmällä mitattujen rinnakkaismääritysten erotusten keskihajonta

Saatua t-testin lukuarvoa verrataan taulukkoarvoon. Mikäli saatu t-arvo oli pienempi, kuin taulukon t-arvo, määrittelyn tulokset eivät poikenneet 95 % luottamustasolla.

4 LABORATORION AUTOMATISOINTI

4.1 Laboratorioautomatisoinnin kehitys

Automaattisten mittauslaitteiden kehittyminen alkoi 1800-luvun lopulla, kun sähköä opittiin käyttämään. 1930- ja 1940-luvuilla keksittiin ensimmäisiä puoliautomaattisia laitteita laboratorioihin. Varsinkin toisen maailmansodan tuoma tieteen panostaminen auttoi automatiikan kehittymistä. Automaattisten laitteiden kehittyminen helpottui huomattavasti, kun transistorit ja muut sähkökomponentit yleistyivät ja tulivat markkinoille 1950-luvulla.¹³

Ensimmäinen suuri laitevalmistaja automaattisten laboratoriolaitteiden alalla oli Zymark (nykyisin osa Sotax Corp.), joka perustettiin 1981¹³. Tämän jälkeen markkinoille on tullut myös muita suuria automaattisten laitteiden valmistajia kuten Perkin Elmer ja Fisher Scientific (nykyisin Thermo Fisher Scientific). Internetin myötä tiedon helpompi jakaminen tutkijoiden ja tieteilijöiden kesken on edesauttanut automatiikan kehittämistä. Viimeisen 20 vuoden aikana automatiikka on kehittynyt entisestään ja markkinoille on tullut paljon uusia laitevalmistajia.¹⁴

Ensimmäiset täysin automaattiset laitteet olivat kaivos- ja öljyteollisuudessa. Näitä ovat seuranneet ilmakehän parametrien mittaaminen, juoma- ja jäteveden automaattinen laadunvalvonta sekä jopa potilaiden verianalyysien teko suoraan verisuonista.¹⁵

Nykyisin markkinoilla ja laboratorioissa on paljon automaattisia laitteita. Esimerkiksi näytteenvaihtajilla on korvattu manuaalinen näytteiden syöttämistyö. Esi-käsittelijät voivat esimerkiksi aluksi sekoittaa näytteen homogeeniseksi, pipetoida näytettä ja reagensseja tarvittavan määrän ja lähettää näytteen tämän jälkeen laitteiston mitattavaksi. Näillä toimilla reagenssien kulutusta on mahdollista pienentää ja lisäksi näytteiden käsittelystä saadaan yhtenäisempää kuin manuaalisesti, jolloin laatu paranee.¹⁶ Erittäin yleisesti käytössä on automaattiset titraattorit, jotka elektrodien avulla määrittävät titrauksen ekvivalentti-, eli

päätepisteen. Titraattorit ovat kehittyneet paljon sen jälkeen, kun tietokoneet yleistyivät ja menetelmiä pystyttiin kontrolloimaan tietokoneohjelmien avulla. Uusimmilla titraattoreilla voidaan analysoida useita eri parametreja samasta näytteestä.¹⁷

Oleellinen osa nykypäivän automaatiota ovat myös tietokonejärjestelmät. Toimivaan automaatioon kuuluu, ettei saatuja tuloksia kirjata manuaalisesti tietojärjestelmiin, vaan tulokset siirtyvät järjestelmiin automaattisesti. Laitteiden ohjelmistojen pitää olla yhteensopivia laboratorion oman tietojärjestelmän kuten Laboratory Information Management System (LIMS) kanssa ja tiedon pitää pystyä liikkumaan kaksisuuntaisesti.¹⁸

4.2 Laboratorioanalyysien automatisointi yleisesti

Institute for Laboratory Automation, joka on voittoa tavoittelematon laboratorion automatisointiin erikoistunut organisaatio, määrittelee laboratorion automatisoinnin prosessina, jossa määritellään tarpeita ja vaatimuksia, suunnitellaan projekteja, ohjelmia, tuotteita ja teknologioita sekä kehitetään ja toteutetaan projekteja. Kun automatiikka toimii oikein, tuloksia voivat olla tuotannon kasvu, parantunut tehokkuus, kulujen väheneminen ja laadukkaammat tulokset.¹⁹

Automatisoinnin kenttä kattaa suuren osan laboratorion toiminnasta. Yleisesti voidaan sanoa, että automatiikka kattaa tiedonhankinnan, analyysit, robotiikan, näytteen käsittelyn, laboratorion tietojärjestelmän, tietotekniikan ja tietojenkäsittelyn.¹⁹

Laboratorioiden automatisointiin liittyy useita hyviä ja huonoja puolia. Työturvallisuutta voidaan parantaa, kun vaarallisten aineiden kanssa toimivat työntekijät voidaan korvata automaattisilla laitteilla. Automatiikka minimoi ihmisestä johtuvan virhelähteen ja tekee analyyseista usein toistettavampia kuin ihmisen tekemänä. Kapasiteettia pystytään usein nostamaan, kun laitteet toimivat ympäri vuorokautisesti. Laitteita yhdistämällä hyötyä tulee myös kun samasta näytteestä voidaan samanaikaisesti määrittää eri analyyseja. Näytteiden tunnistaminen

helpottuu, kun näyteastiat merkataan mikrosirulla tai viivakoodilla ja samalla jäljitettävyyys paranee.²⁰

Haittoina voidaan pitää työttömyyttä, jota automatiikka tuo, kun yhdellä laitteella voidaan korvata usean henkilön työt. Uudet laitteet ovat usein kalliita investointeja ja vaativat osaamista, jota ei aina ole saatavilla. Uusien laitteiden käyttöönotto ja menetelmien validointi kuluttavat aikaa ja rahaa. Eikä aina voida olla varmoja kapasiteetin noususta tai muistakaan hyödyistä, joita automatiikalla voidaan saavuttaa.¹⁸

4.3 Automatiikan luokittelu

Automaattiset määrytykset ja analyysit voidaan luokitella kolmeen eri luokkaan, sen mukaan kuinka näyte prosessoidaan. Ensimmäisessä luokassa, eräkohtaisissa menetelmissä, näytteet ovat aina omassa eristetyssä näytteenkuljetusastiasaan. Näyteastiat voivat olla päättymätön ketju peräkkäisiä astioita tai suljettu kehä, joka sisältää tietyn määrän näyteastioita.¹⁵ Esimerkiksi työssä käytönotettava Robotic Analyzer SP50 kuuluu luokkaan yksi. Jokainen näyte on erillisessä näyteastiassa ja analysoidaan erillään muista näyteastioista.

Toinen luokka, virtausmenetelmät, eroaa ensimmäisestä luokasta oleellisesti näytteen kuljetuksessa. Virtausmenetelmissä on vaihteleva määrä linjoja, joita pitkin näytteet ja reagenssit kulkeutuvat detektorille. Virtausmenetelmässä kaikki näytteet kulkevat saman reitin, toisin kuin eräkohtaisessa menetelmässä. Eri-laisia virtausmenetelmiä ovat muun muassa jakautunut virtaus-, jatkuva virtaus- ja pysäytettyvirtausmenetelmä. Esimerkiksi Flow Injection Analyzer (FIA) kuuluu luokkaan kaksi, sillä näytteet ja reagenssit kulkeutuvat samaa reittiä detektorille.¹⁵

Kolmas luokka on robotit. Periaatteessa robotit suorittavat ihmisen toimintaa matkimalla niitä. Robotit liikuttavat näytteen paikasta toiseen ja sen toiminta rajoittuu yleensä melko pienelle alueelle. Laboratoriorobotti koostuu yleensä liikkuvasta raajasta ja tähän liitetystä ”kämmentä”. Robotin tehtäviä voivat olla näytteen sekoittaminen, kuumentaminen, uuttaminen tai vaikka punnitseminen.

Jotkin robotit voivat suorittaa kaiken tarvittavan analyysin tekemiseksi. Kaivos-teollisuudessa on muun muassa olemassa robotteja, jotka aluksi punnitsevat mineraaleja, lisäävät tähän tarvittavan määrän happoa, lähettävät näyteastiat mikroaaltouuniin digestoitavaksi, laimentavat saadun liuoksen ja lähettävät sen mitattavaksi sekä huuhtelevat näyteastiat seuraavaa näytettä varten. Yksinker-taisuudessaan robottikäsi voi toimia injektorina esimerkiksi kromatografiassa.¹⁵

5 TYÖN SUORITUS

Työn suoritus aloitettiin Robotic Analyzer SP50 laitteiston asennuksella. Asennuksen jälkeen laitteistolle suoritettiin käyttöönottotestejä, kalibrointeja ja validointitestejä. Validointitestit suoritettiin kahden kuukauden ajanjakson sisällä.

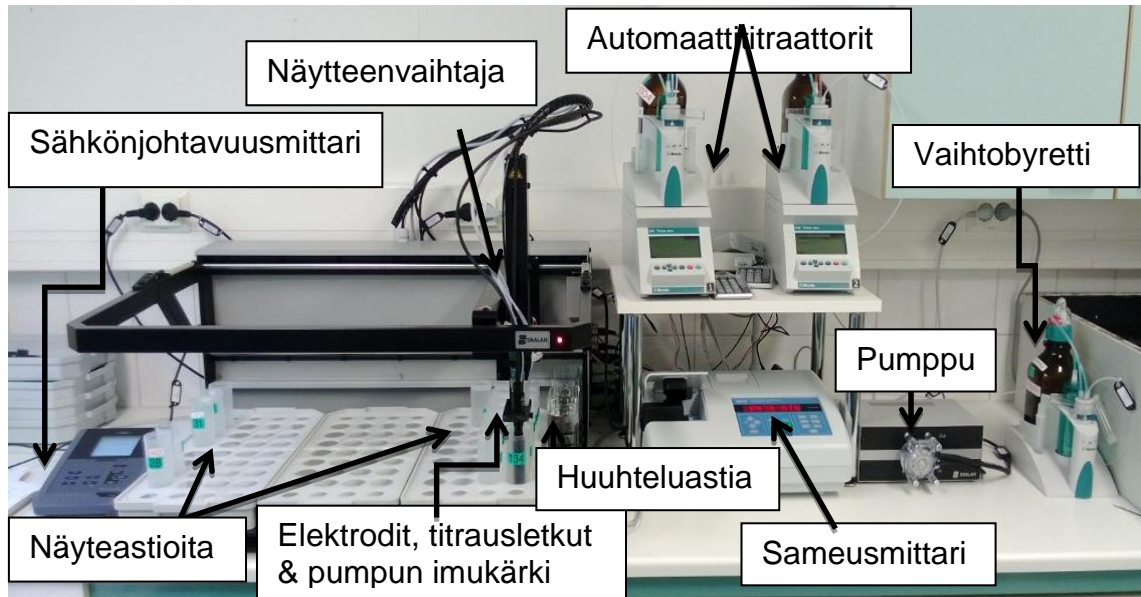
5.1 Robotic Analyzer SP50 laitteisto

Robotic Analyzer SP50 laitteisto sisältää pH-elektrodin, kaksi titrausyksikköä, sähkönjohtavuusmittarin ja -elektrodin, sameusmittarin ja 84 paikkaisen näytteenvaihtajan. Tiedot eri instrumenteista on koottu taulukkoon 2.

Taulukko 2. Robotic Analyzer SP50 mittauslaitteisto.

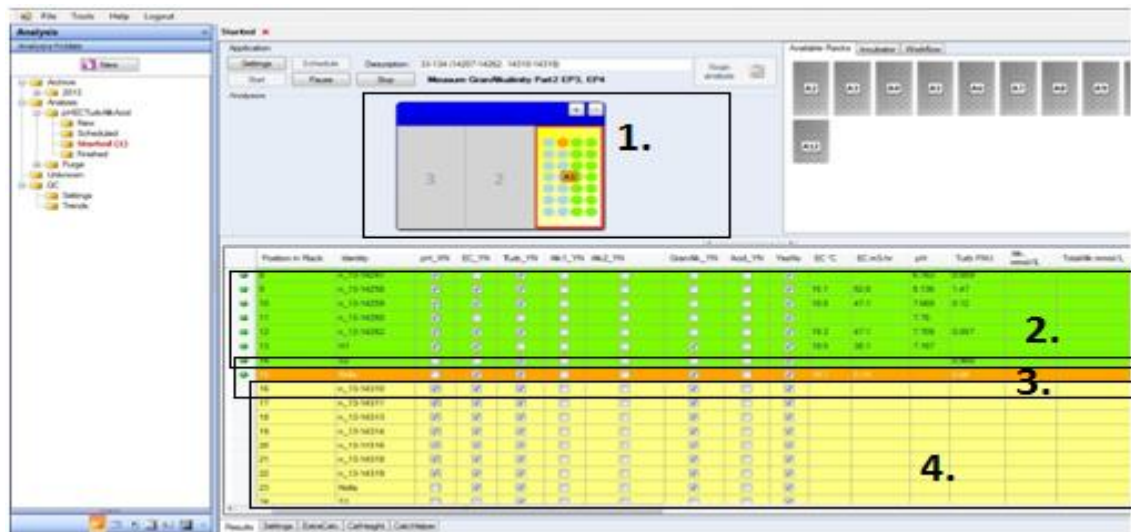
Instrumentti	Valmistaja	Malli	Lisätietoa
pH-elektrodi	Metrohm	AG 9101 Herisau 6.0257.600	Sisältää lämpötila-anturin
Titrausyksikkö	Metrohm	848 Titrino Plus	Kaksi samanlaista yksikköä
Sähkönjohtavuusmittari	WTW	Cond 7319	Sisältää lämpötilakom- pensointi laitteiston
Sähkönjohtavuus elektrodi	WTW	Tetra Cone 325	Sisältää lämpötila-anturin, platinoitu
Sameusmittari	Hach	2100AN Laboratory Turbidimeter	Läpivirtauskyvetti
Näytteenvaihtaja	Skalar	Robotic Analyzer SP50	84 näytepaikkaa

Kuvassa 1 on nähtävissä koko laitteisto. Se on sijoitettu pöytätasolle ja tarvitsee pöytätilaa noin kaksi metriä.



Kuva 1. Robotic Analyzer SP50 mittauslaitteisto.

Kaikki laitteiston yksiköt ovat erillisiä ja niitä ohjailaan Skalarin ohjelmiston avulla. Ohjelmiston näkymä mittaushetkellä on nähtävissä kuvassa 2.



Kuva 2. Skalarin ohjelmisto mittaushetkellä.

Ylhäällä keskellä (kohta 1.) on kuva näyteenvaihtajasta ja siihen sijoitetuista näytteistä. Vihreällä pohjalla (kohta 2.) olevat rivit ovat jo mitattuja näytteitä, joiden tiedot näyttenumerosta tehtäviin analyysihin ja mitattuihin tuloksiin on samalla rivillä. Tummanoranssilla (kohta 3.) pohjalla oleva näyte on juuri mittauk-

nessa. Vaaleanoranssilla (kohta 4.) pohjalla olevat rivit ovat näytteitä, jotka ovat jonossa odottamassa mittausta.

5.2 Mittauksen suoritus Robotic Analyzer SP50-laitteistolla

Mittaukset Robotic Analyzer SP50 mittauslaitteistolla aloitetaan päivittäin pH-mittarin virityksellä. Mittari viritetään käyttäen puskureita 4, 7 ja 9.

Seuraavaksi LIMS-järjestelmästä tulostetaan näytteiden esikäsittelylistat. Listaan lisätään tietokoneella halutut kontrolli- ja rinnakkaisnäytteet ja lista tallennetaan ajolistaksi. Näytteitä ei erikseen käsitellä mitenkään. Ainoastaan erittäin kylmien näytteiden annetaan lämmitä ensin lähelle huoneen lämpötilaan, jotta sähkönjohtavuusmittauksessa lämpötila olisi mahdollisimman lähellä kennovakion määrittämlämpötilaa, jossa lämpötilan korjauskerroin on 1. Kylmät näytteet saattavat myös kerätä kosteutta läpivirtauskyvetin pinnalle sameutta mitattaessa, jolloin mittaustuloksesta tulee virheellinen.

Huoneen lämpöiset näytteet kaadetaan mittauskuppeihin. Puhdasvesinäytteillä ja jätevesinäytteillä on erilliset mittauskupit. Sameutta mitattaessa näyteastia kaadetaan täyteen näytettä (noin 120 ml). Muiden analyysien kohdalla riittää, että näyteastiassa on näytettä vähintään astian puoleen väliin asti (noin 60 ml).

Seuraavaksi näytteet asetetaan näytteenvaihtajaan ja mittausohjelmistoon ladataan LIMS:stä haluttu ajolista. Tässä vaiheessa käynnistetään ajo. Mikäli näytteestä määritetään sähkönjohtavuus, mittaa laitteisto aina sen ensimmäiseksi, sillä pH-elektrodista vuotava kaliumkloridi-sisäliuos voi häiritä sähkönjohtavuusmittausta ja aiheuttaa virhettä. Sähkönjohtavuusmittauksen jälkeen laite käy huuhtelemassa elektrodit, pumpun imupillin ja titrausletkut huuhteluastiasa. Seuraavaksi mitataan määrittäykset seuraavassa järjestyksessä: pH-arvo, sameus ja viimeiseksi alkaliteetti tai asiditeetti. Pumpun avulla näyte siirretään näyteastiasta läpivirtauskyvettiin. Samalla pumpu imee näytettä pois sen verran, että jäljelle jää riippuen näytteen paikasta näytteenvaihtajassa 47–50,5 ml näytettä. Jokaisen mittauksen välissä laite sekoittaa näytettä, jotta se olisi mahdollisimman homogeeninen mittaushetkellä. Titrauksen aikana näytettä sekoite-

taan koko ajan. Elektrodit ja letkut huuhdellaan joka kerta ennen kuin elektrodit menevät uuteen näytteeseen.

Ajon lopuksi tulokset siirretään mittausohjelmistosta takaisin LIMS-järjestelmään, tallennetaan ja jätetään esimiesten hyväksyttäväksi. Tulosten luotettavuutta arvioidaan kontrollinäytteiden (H1, H2, S1, S2, 0) ja rinnakkaisnäytteiden avulla. Jokaisen menetelmän kontrollinäytteelle on asetettu tietyt rajat ja rinnakkaisnäytteiden pitoisuudet saavat erota toisistaan tietyn verran. Mikäli laadunvalvontanäytteen tulos ei ole asetetuissa rajoissa, järjestelmä ilmoittaa asiasta. Jokaista alkavaa 15 yksittäisen parametrin mittausta kohtaan tulee olla yksi kontrolli- ja yksi rinnakkaisnäyte.

5.3 Käyttöönottoon liittyviä testejä ja kalibrointeja

5.3.1 Näyteastioiden titraustilavuuden määrittäminen

Titrausmenetelmien tulos riippuu näytteen määrästä, jonka takia näytteen tilavuus tulee tuntea. Näyteastioiden titraustilavuudet ovat erisuuruisia riippuen paikasta näytteenvaihtajassa. Tämä johtuu pienestä taipuisuudesta näytteenvaihtajan palkissa, johon elektrodit, titrausletkut ja pumpun imupää on kiinnitetty. Tämän takia oli selvitettävä jokaiselle näytepaikalle erikseen näytteen todellinen tilavuus, joka näyteastiassa on ennen titrauksen aloittamista. Titraustilavuuksien määrittäminen aloitettiin punnitsemalla yläkuppivaa'alla jokaiselle näytteenvaihtajan paikalle oma kuppi ja taarat otettiin muistiin. Kuppeihin kaadettiin vettä yli puolen välin näyteastian tilavuudesta (n. 60 ml). Tämän jälkeen ajettiin täysi näytesarja mitaten jokaisesta näytteestä sameus (pumppu vakioi näytetilavuuden noin 50 millilitraan). Mittauksen jälkeen näyteastiat punnittiin uudelleen ja selvitettiin massan avulla näytteen tarkka tilavuus jokaiselle näytepaikalle. Eroa näytteenvaihtajasta katsottuna lähimmän ja kauimmaisen näyteastian lopputilavuuden välillä oli jopa n. 3 ml. Todelliset tilavuudet syötettiin ohjelmistoon, joka käyttää alkaliteettia tai asiditeettia laskiessaan kyseisiä arvoja. Testi suoritettiin kaksi kertaa.

5.3.2 Elektrodien ja mittareiden toiminnan tarkastus

pH-elektrodin viritysluoksina käytettiin puskuriliuoksia 4, 7 ja 9. Mikäli virityksessä saatu herkkyys eli slope-arvo on 97–103 % tavoitearvosta, viritys on hyväksytty. Laskeva herkkyys kertoo elektrodin vanhenemisesta. Kun elektrodin herkkyys laskee pysyvästi lähelle 97 %, vaihdetaan tilalle uusi elektrodi.

Sähkönjohtavuusmittarille määritettiin kennovakio 0,01 mol/l kaliumkloridiliuoksella. Tämän jälkeen toimivuus testattiin 0,001 M, 0,01 M ja 0,1 M kaliumkloridiliuoksilla, joiden sähkönjohtavuudet tunnettiin mittaustilassa. Liuosten lämpötilat kennovakion määrittämisen aikana oli vakioitu $25 \pm 0,5$ °C lämpöhauteen avulla. Samalla varmistettiin, ettei kennovakio muuttunut sähkönjohtavuuden kasvaessa 0-1000 mS/m.

Sameusmittari viritettiin käyttämällä viittä eri sameuksista liuosta: 0 NTU, 20 NTU, 200 NTU, 1000 NTU ja 4000 NTU. Tämän jälkeen laite kalibroitiin neljällä standardikyvetillä (0, 2, 20 ja 200 NTU) ja lisäksi mittaamalla viritysluokset 0, 20, 200 ja 1000 NTU kaksi kertaa.

Sähkönjohtavuusmittarin elektrodin lämpötila-anturin toiminta tarkastettiin laittamalla sähkönjohtavuuselektrodi ja kalibroitu lämpötilamittari 25,0 °C temperoituun veteen. Molemmilla mittareilla mitattiin veden lämpötilaa kolmen tunnin ajan puolen tunnin välein. Eroa mittareiden lämpötilanäyttämällä sai maksimissaan olla 0,1 °C, jonka rajoissa lämpötila-anturi oli.

5.3.3 Haihtuvuuden testaus

Näyteastioista haihtuu näytettä niiden seistessä pöydällä. Haihtumisen seurauksena näytteet konsentroituvat, joka voi vaikuttaa esimerkiksi sähkönjohtavuuden arvoon. Sen vuoksi selvitettiin, kuinka paljon näytettä haihtuu tietyn ajan kuluessa. Näyteastia täytettiin vedellä ja sen massa punnittiin yläkuppivaa'alla aluksi puolen tunnin välein ensimmäiset kaksi tuntia ja tämän jälkeen tunnin välein seuraavat kolme tuntia. Lopuksi näyteastia punnittiin vielä vuorokauden

kuluttua sen täyttämisestä. Haihtuvuutta testattaessa huoneen lämpötila oli noin 20 °C.

Haihtuma oli lineaarinen ajan suhteen. Yhden gramman haihtumiseen kului aikaa hieman yli kolme tuntia. Vuorokaudessa näytteestä haihtui noin 7,5 g. Täyden näytesarjan mittaus voi kestää yli 10 tuntia, joten viimeisestä näytteestä ehtii haihtumaan jopa yli kolme grammaa näytettä joka on noin 2,5–5 % näytteen massasta (60–120 g).

Haihtumalla ei todettu olevan merkitystä saman päivän aikana mitattavien näytesarjojen kohdalla. Mikäli näytteet kaadetaan astioihin vuorokautta ennen mitausta, täytyvät näyteastiat sulkea kierrekorkilla. Korkit on poistettava ennen mittauksen aloittamista, jotta elektrodit ja pumpun imupää pääsevät näyteastiin. Haihtuminen ei ole ainoa syy korkittamiseen, vaan myös hiilidioksidin imeytyminen näytteisiin voi aiheuttaa tuloksiin virhettä.

5.4 Menetelmien testaus ja optimointi

Titrausohjelmien menetelmien testauksella tarkoitetaan lähinnä titrantin lisäykseen liittyvien parametrien muokkaamisella. Kaukana ekvivalenttikohdasta titrantin maksimi lisäyksen tulee olla riittävän suuri, jotta suuren alkaliteetin tai asiditeetin omaavat näytteet titrautuvat järkevässä ajassa. Kun ollaan lähellä titrauksen päätepistettä, titrantin minimilisäys ei saa olla liian suuri, jotta loppupisteen määrittäminen olisi riittävän tarkka. Liian pieni lisäystilavuus on myös huono, sillä loppupisteen määrittämiseen kuluu tällöin liikaa aikaa. Vaikka tulos onkin tällöin tarkka, voidaan riittävän tarkkaan tulokseen päästä huomattavasti nopeammassa ajassa.

Jokaiselle eri titrausmenetelmälle, kahden pisteen alkaliteetille, yhden pisteen alkaliteetille, gran-alkaliteetille ja asiditeetille, tehtiin 10 rinnakkaisnäytteen testiajosarja vähintään kahdella eri titrausohjelmalla (hitaalla ja nopealla). Näytteinä alkaliteettimäärittämissä toimivat kanisteriin laskettu ja siellä temperoitu hanavesi. Asiditeettiä mitattaessa normaali hanavesi ei käynyt, sillä sen pH-arvo on noin 8,6 ja asiditeetti määritetään titraamalla näyte natriumhydroksidilla pH-

arvoon 8,3. Asiditeettimäärityksen näytteenä toimi hanavesi, johon oli lisätty hiilihapollista vettä.

Rinnakkaisilla sarjoilla käytettiin aina samaan aikaan kanisteriin otettua vettä, jotta näyte oli mahdollisimman tasalaatuista. Mikäli nopea titrausohjelma antoi samoja tuloksia kuin hidas titrausohjelma, voitiin nopeampi titrausohjelma ottaa käyttöön. Koska eri nopeuksilla ohjelmilla saatiin keskiarvoiltaan samankaltaisia tuloksia, tarvitsi menetelmien toistettavuutta arvioida F-testin avulla. Kun tulos oli alle taulukoidun F-testin arvon 95 % luottamustasolla, voitiin olettaa, etteivät nopean ja hitaan titrausohjelman tulosten toistettavuudet poikenneet toisistaan.

Ajoaikaa pystyttiin jokaisella eri titrausmenetelmällä lyhentämään ensimmäisistä titrausohjelmista selkeästi (poikkeuksena yhden pisteen alkaliteetti, joka muutoinkin on nopea noin neljän minuutin titraus). Esimerkiksi neljän titrauspisteen gran-alkaliteettiajon ero kymmenellä näytteellä lyheni kahdesta tunnista puoleentoista tuntiin, joka tarkoittaa kolmea minuuttia näytettä kohden. kahden pisteen alkaliteetin ja asiditeetin ajoajat nopeutuivat noin kaksi minuuttia näytettä kohden.

Sameuden mittausaika oli aluksi kaksi minuuttia. Näytteen sameusarvon stabiiloitumista varten suoritettiin testi, jossa seurattiin sameuden muutosta ajan suhteen viiden minuutin ajan joka kymmenes sekunti. Näytteinä testissä oli kahdeksan erilaista vesinäytettä, joiden sameudet vaihtelivat 0-200 NTU. Näytteiden koostumukset olivat toisistaan poikkeavia (toiset värillisiä, ei näkyvää kiintoainesta, toiset värittömiä, mutta sisälsivät selvästi kiintoainesta). Oikeiden vesinäytteiden lisäksi mitattiin myös viritysliuoksilla sama testi. Liuoksina käytettiin 0, 0,2, 2, 20, 200 ja 1000 NTU liuoksia. Samalla voitiin määrittää huuhtelun riittävyys sameutta mitattaessa. Näytesarjassa oli vuorotellen viritysliuos ja milliQ-vesi. Mikäli milliQ-veden sameusarvot olisivat nousseet selkeästi sameampien näytteiden jälkeen, olisi ollut syytä harkita huuhtelun tehostamista tai puhtaamman huuhteluveden käyttöä.

Testin tuloksena päätettiin säilyttää kahden minuutin näytteen seisotusaika. Ensimmäisen minuutin aikana näytteistä katosi ilmakuplista johtuva häiriö, mutta kiintoainesta sisältävillä näytteillä stabiloituminen kesti selvästi yli minuutin.

5.5 Validoitavat parametrit

Tässä työssä menetelmien validointi suoritettiin Lounais-Suomen vesi- ja ympäristötutkimus Oy:n ja Suomen ympäristökeskuksen validointiohjeiden mukaisesti. Validoitavia menetelmiä oli yhteensä yhdeksän: puhdasvesi eli PV-pH, jätevesi eli JV-pH, PV- ja JV-sähkönjohtavuus, yhden pisteen alkaliteetti, kahden pisteen alkaliteetti, gran-alkaliteetti, asiditeetti ja sameus.

Robotic Analyzer SP50 laitteistolle siirretään vanhalta laitteelta yhdeksän eri menetelmää, jotka validoidaan. Validoitavia ominaisuuksia ovat mittausalueen lineaarisuuden määrittäminen, toteamis- ja määritysrajan määrittäminen, mittausepävarmuuden määrittäminen satunnais- ja systemaattisen virheen avulla ja menetelmien vertailu uusien ja vanhojen menetelmien välillä. Taulukossa 3. on eritelty validoitavat ominaisuudet eri analyyseille.

Taulukko 3. Validoitavat ominaisuudet eri menetelmille.

Validoitavat ominaisuudet	Mittausalueen lineaarisuus	LoD, LoQ	Mittausepävarmuus (satunnaisvirhe & systemaattinen virhe)	Menetelmien vertailu
Menetelmä				
pH-mittaus (PV/JV)	Ei	Ei	Kyllä	Kyllä
Sähkönjohtavuus (PV/JV)	Kyllä	Kyllä	Kyllä	Kyllä
Kahden pisteen alkaliteetti	Kyllä	Kyllä	Kyllä	Kyllä
Yhden pisteen alkaliteetti	Kyllä	Kyllä	Kyllä	Kyllä
Gran-alkaliteetti	Kyllä	Kyllä	Kyllä	Kyllä
Asiditeetti	Ei	Kyllä	Kyllä	Kyllä
Sameus	Kyllä	Kyllä	Kyllä	Kyllä

pH-määrittämiselle ei tehdä mittausalueen lineaarisuutta eikä toteamis- ja määrittämisrajan validointeja, sillä kyseisiä mittauksia ei voi pH-määrittämiselle tehdä. Asiditeetin mittausalueen lineaarisuutta ei määritetä, sillä oikeanlaisia standardinäytteitä ei ole saatavilla. Mittausepävarmuus selvitetään satunnaisvirheen ja systemaattisen virheen avulla. Menetelmien vertailussa käytetään uudella ja vanhalla laitteella saatujen rinnakkaismäärittäysten tuloksia. Menetelmien vertailu tehdään kaksisuuntaisen parittaisen t-testin avulla.

5.5.1 Toteamisrajojen ja määrittämisrajojen määrittäminen

Toteamis- ja määrittämisrajat määritettiin sähkönjohtavuudelle, sameudelle, yhden pisteen alkaliteetille, kahden pisteen alkaliteetille, gran-alkaliteetille ja asiditeetille. Määrittämis- ja toteamisrajat lasketaan nollanäytteiden keskiarvojen ja keskihaajontojen avulla. Nollanäytteinä työssä toimi kaikilla määrittämisillä MilliQ-vesi. Mittauksia riippuen menetelmästä oli minimissään 22 kappaletta ja maksimissaan 66 kappaletta.

5.5.2 Menetelmien mittausalueet ja lineaarisuus

Työssä ei ole tarpeellista selvittää menetelmien mittausaluetta ja sen lineaarisuutta mahdollisimman laajaksi, vaan mittausalueet määritetään pitoisuuksilla, joiden sisään aiemmin tulokset ovat jääneet. Määrittämisalueet on koottu taulukkoon 4.

Jokaiselle menetelmälle oli määrittämisalue lineaarinen mittausalue, pH-arvon ja asiditeetin mittauksista lukuun ottamatta. Alkaliteettimenetelmien lineaarinen alue määritettiin mittaamalla tunnetun konsentraation natriumkarbonaattiliuoksia, joiden konsentraatiot vaihtelivat 0 ja 5 mmol/l välillä riippuen alkaliteettimenetelmästä.

Sähkönjohtavuuden lineaarisuus määritettiin kaliumkloridiliuoksilla, joiden konsentraation vaihtelivat 0 ja 0,1 mol/l välillä. Liuokset laitettiin vesihauteeseen (+25 °C) ja liuosten sähkönjohtavuus mitattiin välittömästi hauteesta pois noston

jälkeen, jotta lämpötila mittaushetkellä olisi mahdollisimman lähellä +25 °C lämpötilaa, jossa lämpötilan korjauskerroin on 1.

Sameuden lineaarisuus tarkistettiin tunnetun sameuspitoisuuden omaavilla liuoksilla. Liuosten sameuskonsentraatiot vaihtelivat 0 ja 1000 NTU välillä.

Taulukko 4. Menetelmien mittausalueet.

Menetelmä	Mittausalueen alaraja (LOQ)	Mittausalueen yläraja
Kahden pisteen alkaliteetti	0,18 mmol/l	5 mmol/l
Gran-alkaliteetti	0,05 mmol/l	2 mmol/l
Yhden pisteen alkaliteetti	0,11 mmol/l	10 mmol/l
Sähkönjohtavuus (PV/JV)	0,8 mS/m	1290 mS/m
Sameus	0,15 NTU	1000 NTU

Taulukosta 4. nähdään että eri alkaliteettimenetelmillä on hieman toisistaan poikkeavat mittausalueet. Tämä johtuu oletetuista tuloksista, joita tullaan kyseisillä menetelmillä saamaan. Esimerkiksi gran-alkaliteettipitoisuus on todella harvoin lähellä 2 mmol/l, kun taas yhden pisteen alkaliteettia mitattaessa tulos saattaa olla lähellä 10 mmol/l.

5.5.3 Satunnaisvirhe

Satunnaisvirheen määrittämisessä käytettiin hyväksi rinnakkaistuloksia, jotka pyrittiin analysoimaan samoissa olosuhteissa saman päivän aikana. Rinnakkaistuloksella tarkoitetaan samalla laitteella yhdestä näytteestä vähintään kaksi kertaa määritettyä tulosta. Rinnakkaistulosten lukumäärä vaihteli menetelmästä ja sen pitoisuusalueesta riippuen 8-75 rinnakkaistuloksen välillä. Rinnakkaistuloksia määritettiin sekä saman sarjan sisällä, että useamman sarjan välillä. Rinnakkaistulokset on määritetty kahden kuukauden aikana.

Rinnakkaismäärittämisestä laskettiin mittaustulosten keskiarvo, keskihajonta ja suhteellinen keskihajonta sekä osalla menetelmistä pienillä pitoisuuksilla lisäksi varianssi. Varianssin tai suhteellisen keskihajonnan avulla laskettiin menetelmän tietyille alueelle satunnaisvirhe. Lisäksi virhettä arvioitiin kuvaajien perus-

teella, joissa tutkittiin suhteellisen keskihajonnan riippuvuutta pitoisuudesta. Kuvaajiin lisättiin trendiivaksi toiseen asteen funktio, jonka maksimiarvo kertoi satunnaisvirheen suuruuden. Kuvaajien avulla voitiin myös päätellä onko satunnaisvirhe riippuvainen pitoisuudesta mittausalueella. Eli antoivatko suuret tai pienet tulokset toisistaan eroavan satunnaisvirheen. Katso esimerkki kuviosta 6.

Yhden pisteen alkaliteetilla, gran-alkaliteetilla, asiditeetilla, puhdasvesi sähkönjohtavuudella ja sameudella pitoisuusalueet oli jaettu kahteen osaan siksi, että satunnaisvirhe oli kyseisillä menetelmillä riippuvainen pitoisuusalueesta. Myös jätevesi sähkönjohtavuudella ja kahden pisteen alkaliteetilla alueet oli jaettu pieniin ja suuriin pitoisuusalueisiin vanhoilla menetelmillä, mutta validoinnin aikana ei tullut näytteitä, jotka olisivat olleet kyseisten menetelmien pienellä alueella tai edes lähellä tätä aluetta.

Suurilla pitoisuuksilla suhteellinen keskihajonta voi olla pieni, vaikka absoluuttinen ero rinnakkaistulosten välillä olisi suuri. Pienillä pitoisuuksilla tilanne on päinvastainen. Tämän takia pienillä pitoisuuksilla näytteiden satunnaisvirhe laskettiin varianssin avulla, kun taas suuremmilla pitoisuuksilla suhteellisen keskihajonnan avulla.

Satunnaisvirheen suuruutta olisi myös mahdollista arvioida kontrollinäytteiden pitkän aikajakson keskihajonnasta. Johtuen kontrollinäytteiden mittaustuloksien melko pienestä kappalemäärästä (30–100 kpl) ja tulosten lyhyestä aikavälistä (kaksi kuukautta), oli parempi käyttää rinnakkaistuloksia satunnaisvirheen laskennassa. Ongelmana kontrollinäytteillä oli myös helpompi mittausräjäys, jonka takia satunnaisvirhe jäi pienemmäksi kontrollinäytteillä, kuin oikeita puhdas- tai jätevesien rinnakkaisnäytteillä mitattaessa. Tässä työssä kontrollitulosten keskihajontaa käytettiin apuna tarkistamaan satunnaisvirheen suuruusluokkaa.

5.5.4 Systemaattinen virhe

Systemaattista virhettä arvioitiin kontrollinäytteillä, joiden mittauseräparametrien teoreettinen pitoisuus tunnetaan. H1-kontrollinäytettä käytetään laadunvarmistusnäytteenä pH-, sähkönjohtavuus-, alkaliteetti- ja asiditeettimäärityksissä. H1-

kontrollin pitoisuudet (teoreettiset pitoisuudet) olivat toisella menetelmällä mitattujen tulosten pitkän ajan keskiarvo. Sameuskontrollit S1 ja S2 valmistettiin laimentamalla kaupallisesta liuoksesta, jonka sameuspitoisuus tunnettiin. H1- ja S2-kontrollinäytteet valmistettiin päivittäin, S1-kontrollinäyte viikoittain.

Systemaattisen virheen arvioinnissa määritystulosten lukumäärä vaihteli 7-32 mittaustuloksen välillä. Jokaisesta mittaustuloksesta vähennettiin teoreettinen tulos, jonka jälkeen laskettiin määrityksen ja teoreettisen arvon suhteellinen erotus. Määrityksen ja teoreettisen arvon suhteellisten erotusten keskiarvon avulla saatiin laskettua suhteellisten erotusten keskihajonta eli systemaattinen virhe.

5.5.5 Mittausepävarmuus

Mittausepävarmuus laskettiin satunnaisvirheen ja systemaattisen virheen avulla. Mittausepävarmuus laskettiin menetelmille tietylle pitoisuusalueelle. Pienillä pitoisuuksilla mittausepävarmuus oli sama kuin satunnaisvirhe, sillä satunnaisvirhe oli pienillä pitoisuuksilla niin iso, ettei systemaattisella virheellä ollut merkittävää vaikutusta epävarmuuteen. Poikkeuksena oli sameusmääritys, jossa toinen kontrolli, S2 oli pienten pitoisuuksien ylärajalla. Pienillä pitoisuuksilla mittausepävarmuus ilmoitettiin mittausyksikköinä, suurilla pitoisuuksilla prosentteina. Laajennettu mittausepävarmuus laskettiin kertoimella kaksi, jolloin epävarmuus oli 95 % luottamustasolla.

5.5.6 Menetelmien vertailu

Menetelmien vertailu suoritettiin vanhan ja uuden laitteen eri menetelmien rinnakkaistuloksien vertaamisella 2-suuntaisen parittaisen t-testin avulla. Rinnakkaisnäytteet pyrittiin ajamaan samoissa olosuhteissa saman päivän aikana kaikilla eri menetelmillä. Erityisesti asiditeettimääritykset antavat erilaiset tulokset, mikäli rinnakkaismääritysten välissä on pitkä aikaväli. Luottamustasoksi t-testille valittiin 95 % luottamustaso.

Rinnakkaismääritysten lukumäärät vaihtelivat menetelmäkohtaisesti 5-300 näytteen välillä joiden tarkat lukumäärät löytyvät taulukosta 5. Sameudella, PV-sähkönjohtavuudella, kahden pisteen alkaliteetilla, gran-alkaliteetilla ja asiditeetilla menetelmien vertailu tehtiin kahdella eri pitoisuusalueella, sillä pienet pitoisuudet antavat hieman erilaisia tuloksia ja tulosten toistettavuus poikkeaa suurempien pitoisuuksien toistettavuuksista.

Tuloksien laskemiseen tarvittiin molemmilla laitteilla saatu tulos, tulosten keskiarvojen erotusten keskiarvo ja keskihajonta sekä rinnakkaismittausten lukumäärä. Saatua t-testin lukuarvoa verrattiin lopuksi teoreettiseen t-testin arvoon. Mikäli saatu t-arvo oli pienempi, kuin teoreettinen t-arvo, määrittämisen tulokset eivät poikenneet 95 % luottamustasolla.

Menetelmiä vertailtiin lisäksi kuvaajien perusteella, joissa x-akselille tuli uuden menetelmän tulos ja y-akselille vanhan menetelmän tulos. Pisteille lisättiin trendiviiva, jonka korrelaatiokerroin kertoo osaltaan tulosten eroavaisuudesta. Kyseisiä kuvaajia käytettiin tässä työssä vain apuna menetelmien vertailun arvioinnissa.

6 TULOKSET

6.1 Määrittämisrajat ja toteamisrajat

Taulukossa 5 on sähkönjohtavuudelle, kahden pisteen alkaliteetille, yhden pisteen alkaliteetille, gran-alkaliteetille, asiditeetille ja sameudelle määritetyt toteamis- ja määrittämisrajat. Nollanäytteiden mittaukset suoritettiin menetelmille kahden kuukauden ajanjakson aikana. Toteamisraja on laskettu kaavan (5) avulla ja määrittämisraja kaavan (6) avulla.

Taulukko 5. Toteamisrajat ja määrittämisrajat eri menetelmille.

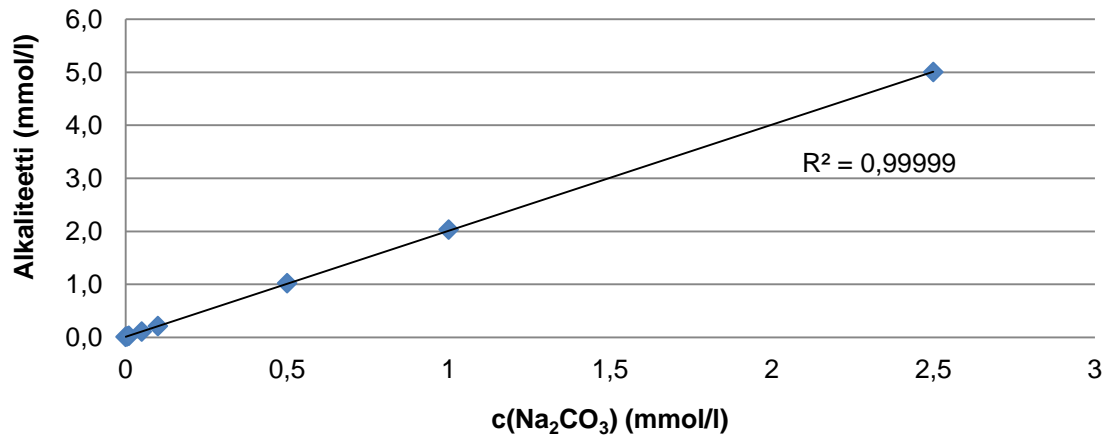
Määrittämis	Nollanäytteiden keskiarvo	Nollanäytteiden keskihajonta	Toteamisraja	Määrittämisraja
Sähkönjohtavuus	0,218	0,060	0,4	0,8
Kahden pisteen alkaliteetti	0,014	0,019	0,07	0,18
Yhden pisteen alkaliteetti	0,050	0,007	0,07	0,11
Gran-alkaliteetti	0,009	0,005	0,025	0,05
Asiditeetti	0,017	0,003	0,025	0,04
Sameus	0,049	0,010	0,08	0,15

Sähkönjohtavuudella yksikkönä on mS/m, alkaliteettimenetelmillä ja asiditeettimenetelmällä mmol/l ja sameudella NTU. Mikäli sameusmittauksessa tulokseksi saadaan alle 0,15 NTU, tulos ilmoitetaan < 0,15 NTU.

6.2 Mittausalueet ja lineaarisuus

Kuviossa 1 on kuvaaja puhdasvesialkaliteetin lineaarisuusmittauksen tuloksista. Puhdasvesialkaliteetilla tarkoitetaan kahden pisteen avulla määritettävää alkaliteettiä 0,005 M rikkihapon ollessa titranttina.

Kahden pisteen alkaliteetin mittausalueen lineaarisuus

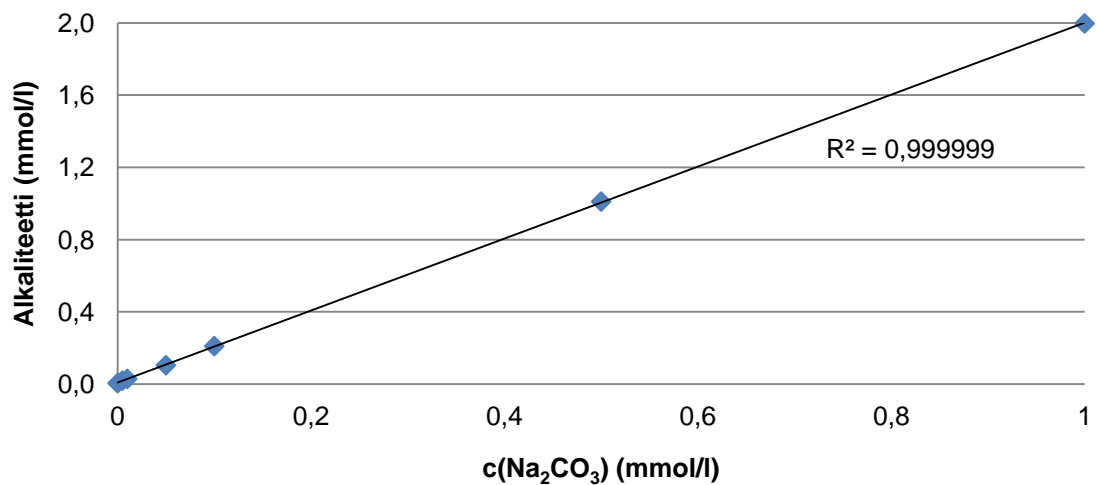


Kuvio 1. Kahden pisteen alkaliteettimäärityksen mittausalueen lineaarisuus.

Kuviosta 1 nähdään, että kahden pisteen alkaliteetti määrittely on lineaarinen alkaliteetin ollessa 0,18 – 5 mmol/l. Tavanomaisesti näytteiden alkaliteetti on kuitenkin alle 2 mmol/l.

Kuviossa 2 on kuvaaja gran-alkaliteetin lineaarisuusmittauksen tuloksista. Gran-alkaliteetilla tarkoitetaan neljän pisteen avulla määritettävää alkaliteettia 0,005 M rikkihapon ollessa titranttina.

Gran-alkaliteetin mittausalueen lineaarisuus

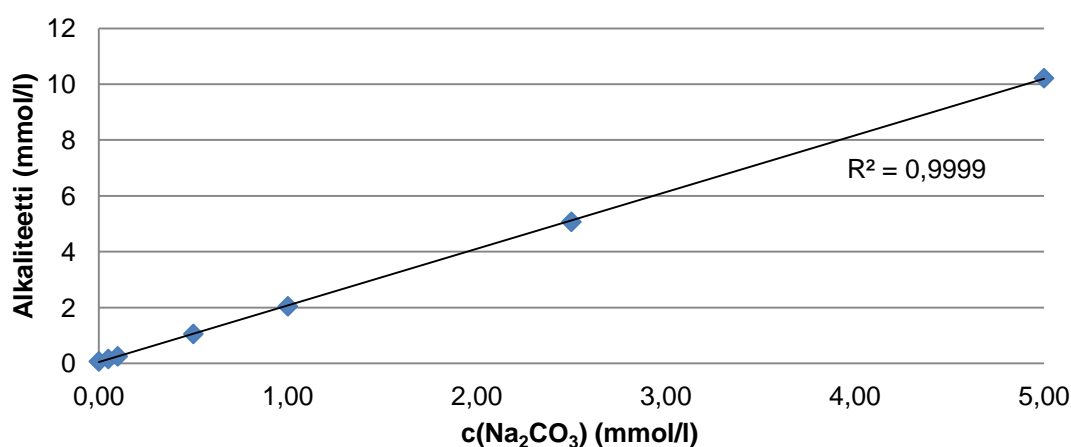


Kuvio 2. Gran-alkaliteetin mittausalueen lineaarisuus.

Kuviosta 2 nähdään, että gran-alkaliteettimääritys on lineaarinen alkaliteetin ollessa 0,05 – 2 mmol/l. Tavanomaisesti näytteiden gran-alkaliteetti on kuitenkin alle 1,5 mmol/l.

Kuviossa 3 on kuvaaja jätevesialkaliteetin lineaarisuusmittauksen tuloksista. Jätevesialkaliteetilla tarkoitetaan yhden pisteen avulla määritettävää alkaliteettia 0,025 M rikkihapon ollessa titranttina.

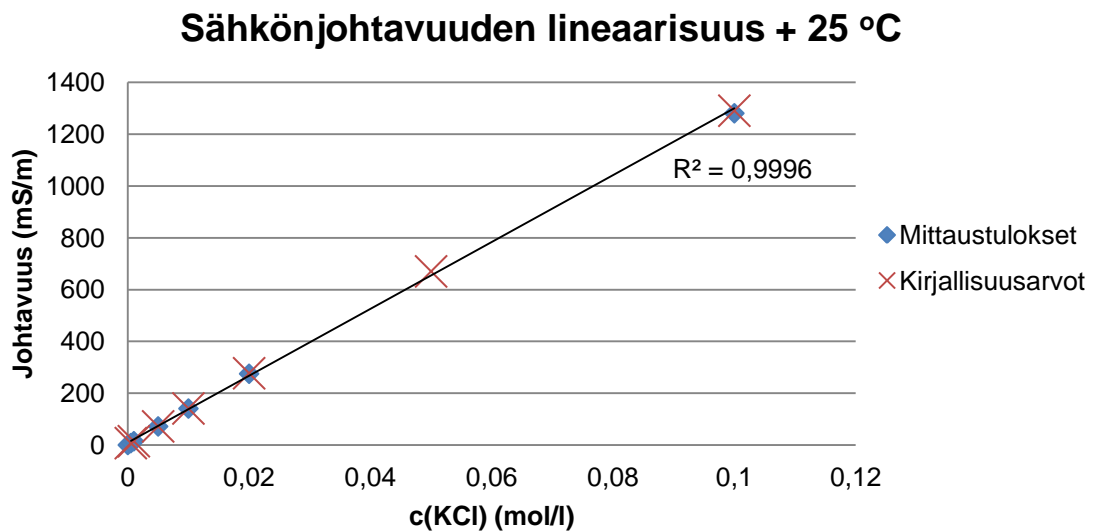
Yhden pisteen alkaliteetin mittausalueen lineaarisuus



Kuvio 3. Yhden pisteen alkaliteetti määrittämisen mittausalueen lineaarisuus.

Kuviosta 3 nähdään, että yhden pisteen alkaliteettimääritys on lineaarinen alkaliteetin ollessa 0,11 – 10 mmol/l. Tavanomaisesti näytteiden alkaliteetti on kuitenkin alle 5 mmol/l, mutta alkaliteetti voi joillakin jätevesinäytteillä olla jopa yli 10 mmol/l.

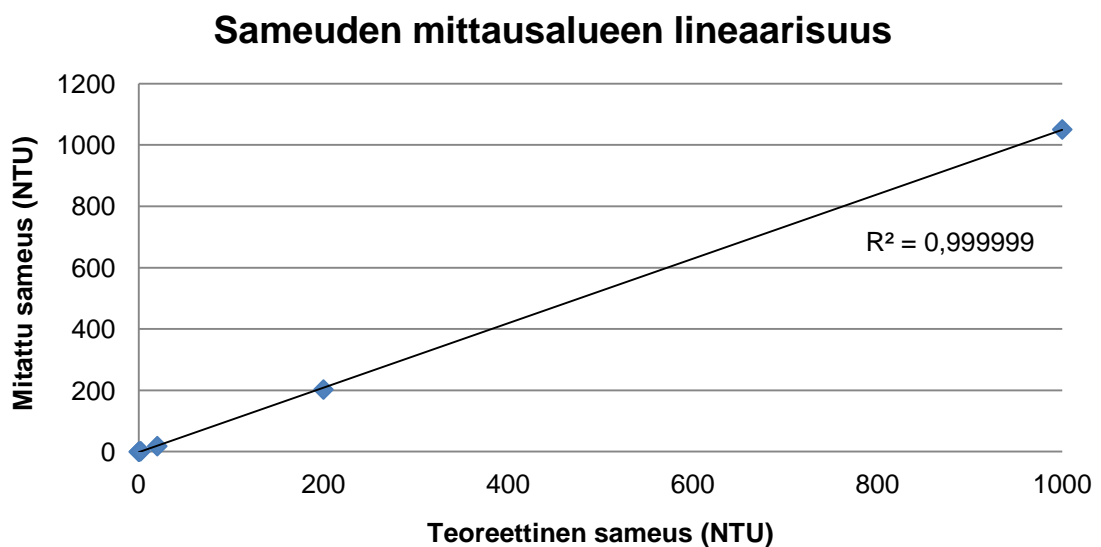
Kuviosta 4 on sähkönjohtavuuden mittausalueen lineaarisuussuora. Suoraan on lisätty teoreettiset arvot mitatuille kaliumkloridiliuoksille +25,0 °C lämpötilassa.²¹



Kuvio 4. Sähkönjohtavuuden mittausalueen lineaarisuus.

Kuviosta 4 nähdään, sähkönjohtavuusmääritys on lineaarinen mittausalueella 0,8 – 1290 mS/m. Mitatut johtavuudet vastaavat hyvin teoreettisia sähkönjohtavuusarvoja +25 °C lämpötilassa, sillä kuvaajassa mittaustulokset ja kirjallisuusarvot menevät lomittain.

Kuviossa 5 on esitetty sameuden lineaarisuus sameuden ollessa 0 – 1000 NTU. Lineaarisuus on mitattu kuuden pisteen avulla (0, 0,2, 2, 20, 200 ja 1000 NTU).



Kuvio 5. Sameuden mittausalueen lineaarisuus.

Kuviosta 5 nähdään, että sameuden mittausalue on lineaarinen välillä 0,15 – 1000 NTU. Sameusarvot ovat mitattavilla vesinäytteillä yleensä kuitenkin alle 200 NTU. Suurimmillaankin sameudet ovat alle 1000 NTU.

6.3 Satunnaisvirhe, systemaattinen virhe ja mittausepävarmuus

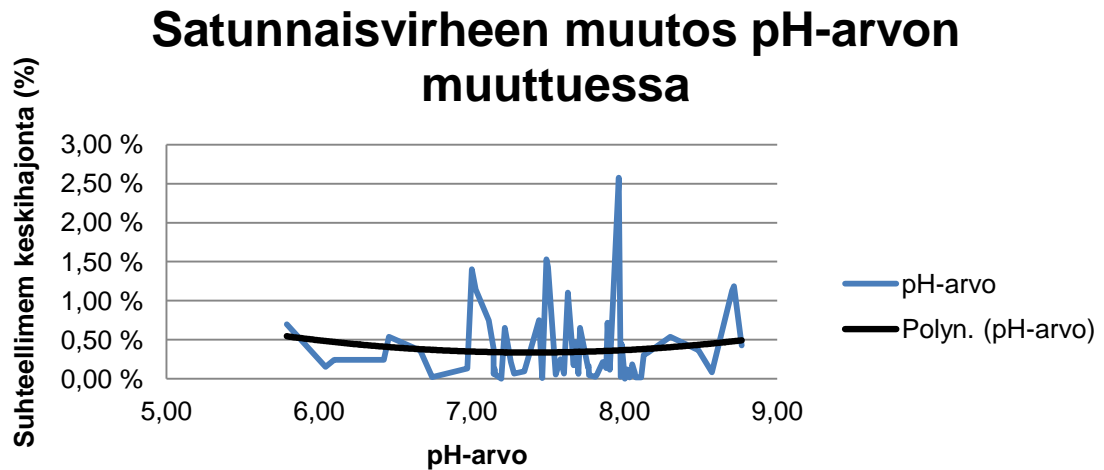
Taulukkoon 6 on koottu jokaisen menetelmän ja menetelmien mittausalueiden satunnaisvirheet. Taulukosta löytyy rinnakkaismääritysten lukumäärä, varianssien tai suhteellisten keskihajontojen summa, satunnaisvirhe ja satunnaisvirheen yksikkö. Satunnaisvirhe on laskettu kaavan (7) avulla.

Taulukko 6. Satunnaisvirheet eri menetelmille ja niiden mittausalueille.

Menetelmä	Mittausten lukumäärä	$\sum s^2$	Satunnaisvirhe	Yksikkö
pH (PV*)	66	23,87	0,60	%
pH (JV*)	29	0,87	0,17	%
Sähkönjohtavuus PV (> 17 mS/m)	31	28,72	0,96	%
Sähkönjohtavuus PV (< 17 mS/m)	20	0,14	0,08	mS/m
Sähkönjohtavuus (JV)	20	10,32	0,72	%
Kahden pisteen alkaliteetti (> 0,2 mmol/l)	15	24,34	1,27	%
Yhden pisteen alkaliteetti (> 1 mmol/l)	18	18,37	1,01	%
Yhden pisteen alkaliteetti (< 1 mmol/l)	8	0,00046	0,01	mmol/l
Gran- alkaliteetti (> 0,2 mmol/l)	16	14,72	0,96	%
Gran- alkaliteetti (< 0,2 mmol/l)	8	0,00013	0,004	mmol/l
Asiditeetti (> 0,2 mmol/l)	10	11,95	1,09	%
Asiditeetti (< 0,2 mmol/l)	11	0,00045	0,01	mmol/l
Sameus (> 1 NTU)	75	383,12	2,26	%
Sameus (< 1 NTU)	25	0,056	0,05	NTU

* PV = puhtasvesimenetelmä, JV = jätevesimenetelmä

Tulos on ilmoitettu menetelmäkohtaisesti joko absoluuttisena arvona tai prosentteina riippuen menetelmästä ja sen pitoisuusalueesta. Satunnaisvirheestä saa tarkemman kuvan, kun mittaustuloksia tulee lisää pidemmältä aikaväliltä. Kuviossa 6 on esimerkki kuvaaja puhtasvesi pH-menetelmän satunnaisvirheen suuruuden määrittämisestä kuvaajan avulla.



Kuvio 6. Satunnaisvirheen muutos pH-arvon muuttuessa.

Kuvaajassa 6 x-akselilla on kahden tai useamman rinnakkaisen pH-määrittelyn keskiarvo. Y-akselilla on rinnakkaismäärittelysten avulla laskettu suhteellinen keskihajonta. Kuvaajaan on piirretty toisen asteen polynomi trendiviivaksi. Trendiviivan maksimiarvo kertoo satunnaisvirheen suuruuden eli puhtasvesinäytteiden pH-arvoa mitattaessa satunnaisvirhe on kuvaajan mukaan hieman yli 0,5 %. Suuruusluokka on siis samaa, kuin laskennallisesti saatu 0,6 % satunnaisvirhe.

H1-kontrollinäytettä käytetään laadunvarmistusnäytteenä pH-arvon, sähkönjohtavuuden, alkaliteetin ja asiditeetin määrittelyssä. Taulukossa 7 on H1-kontrollinäytteelle mitattujen tulosten keskiarvo, keskihajonta ja mittausten lukumäärä sekä systemaattinen virhe prosentteina. pH-arvon ja sähkönjohtavuuden mittauksessa H1-kontrollinäyte toimii sekä puhtasvesi- että jätevesimittauksissa. Tämän takia kyseisiä menetelmiä ei ole eroteltu taulukkoon puhtas- ja jätevesimenetelmiin. Systemaattinen virhe on laskettu kaavalla (8).

Taulukko 7. H1-kontrollinäytteen avulla lasketut systemaattiset virheet.

Menetelmä	Teoreettinen arvo	Mittausten keskiarvo	Mittausten keskihajonta	Mittausten lukumäärä	Syst. virhe (%)
pH	7,137	7,138	0,011	32	0,15 %
Sähkönjohtavuus	30,020	30,247	0,166	31	0,35 %
Kahden pisteen alkaliteetti	1,029	1,011	0,013	24	1,27 %
Yhden pisteen alkaliteetti	1,052	1,093	0,059	15	2,87 %
Gran-alkaliteetti	1,020	1,010	0,017	14	1,66 %
Asiditeetti	0,883	0,878	0,010	11	1,09 %

Taulukossa 7 nähdään, että titrausmenetelmien systemaattinen virhe on suurempaa, kuin elektrodien avulla mitattavien pH- ja sähkönjohtavuus menetelmien. Tämä johtuu siitä, että titrausmenetelmien systemaattiseen virheeseen tulee elektrodista johtuvan virheen lisäksi muita virhelähteitä, kuten byretistä johtuvat virheet ja titrantin konsentraatiosta johtuva virhe.

Taulukossa 8 on sameuskontrollien S1 ja S2 teoreettisen arvon lisäksi mitattujen tulosten keskiarvo, keskihajonta ja mittausten lukumäärä sekä systemaattinen virhe absoluuttisena arvona tai prosentteina. Mittaukset suoritettiin kahden viikon aikana.

Taulukko 8. Sameuskontrollien S1 ja S2 avulla laskettu systemaattinen virhe.

Menetelmä	Teoreettinen arvo	Mittausten keskiarvo	Mittausten keskihajonta	Mittausten lukumäärä	Syst. virhe (NTU)	Syst. virhe (%)
Sameus S1 (> 1 NTU)	40,00	40,067	0,9903	12	-	2,47 %
Sameus S2 (< 1 NTU)	1,00	1,035	0,0143	30	0,0143	-

Taulukosta 8 nähdään, että sameuden systemaattinen virhe on melko pieni. On kuitenkin huomioitava, että mittausten lukumäärät ovat melko pieniä ja S1-kontrollin systemaattinen virhe on laskettu vain kolmen eri S1-kontrollin valmis-

tuserän tuloksista. Pitkällä aikavälillä systemaattinen virhe saadaan luotettavammin selville, kun mittausten lukumäärä ja aikaväli kasvavat.

Taulukkoon 9 on koottu kaikkien menetelmien eri mittausalueiden satunnaisvirheet ja/tai systemaattiset virheet. Näiden avulla on laskettu mittausepävarmuus ja laajennettu mittausepävarmuus (95 % luottamustaso) jokaiselle menetelmälle. Mittausepävarmuus on laskettu kaavalla (9) ja laajennettu mittausepävarmuus kaavalla (10).

Taulukko 9. Mittausepävarmuus eri menetelmille eri pitoisuusalueilla.

Menetelmä	Sat.virhe	Syst. virhe	Mittausepävarmuus	Laajennettu mittausepävarmuus
pH (PV)	0,60 %	0,15 %	0,7 %	1,4 %
pH (JV)	0,17 %	0,15 %	0,3 %	0,6 %
Sähkönjohtavuus PV (> 17 mS/m)	0,96 %	0,35 %	1,1 %	2,2 %
Sähkönjohtavuus PV (< 17 mS/m)	0,08 mS/m	-	0,1 mS/m	0,2 mS/m
Sähkönjohtavuus JV	0,72 %	0,35 %	0,8 %	1,6 %
Kahden pisteen alkaliteetti (> 0,2 mmol/l)	1,27 %	1,27 %	1,8 %	3,6 %
Yhden pisteen alkaliteetti (> 1 mmol/l)	1,01 %	2,87 %	3,1 %	6,2 %
Yhden pisteen alkaliteetti (< 1 mmol/l)	0,008 mmol/l	-	0,01 mmol/l	0,02 mmol/l
Gran- alkaliteetti (> 0,2 mmol/l)	0,96 %	1,66 %	2,0 %	4,0 %
Gran- alkaliteetti (< 0,2 mmol/l)	0,004 mmol/l	-	0,01 mmol/l	0,02 mmol/l
Asiditeetti (> 0,2 mmol/l)	1,09 %	1,09 %	1,6 %	3,2 %
Asiditeetti (< 0,2 mmol/l)	0,006 mmol/l	-	0,01 mmol/l	0,02 mmol/l
Sameus (>1 NTU)	2,26 %	2,47 %	3,4 %	6,7 %
Sameus (<1 NTU)	0,05 NTU	0,0143 NTU	0,06 NTU	0,12 NTU

Menetelmien pienten pitoisuuksien alueella tulos ilmoitetaan mitattavaa yksikköä kohden, suurilla pitoisuusalueilla käytetään prosentuaalista mittausepävar-

muuden ilmoitustapaa. Taulukosta 9 nähdään, että sameuden mittausepävarmuus on suurin.

6.4 Menetelmien vertailu

Taulukkoon 10 on koottu vanhalla ja uudella laitteella mitattujen rinnakkaismäärittysten keskiarvot, keskihajonnat ja mittausten lukumäärät sekä t-testillä saatu lukuarvo ja 95 % luottamustasolla vapausastetta vastaava taulukkoarvo t-testille. t-testin arvo on laskettu kaavalla (11).

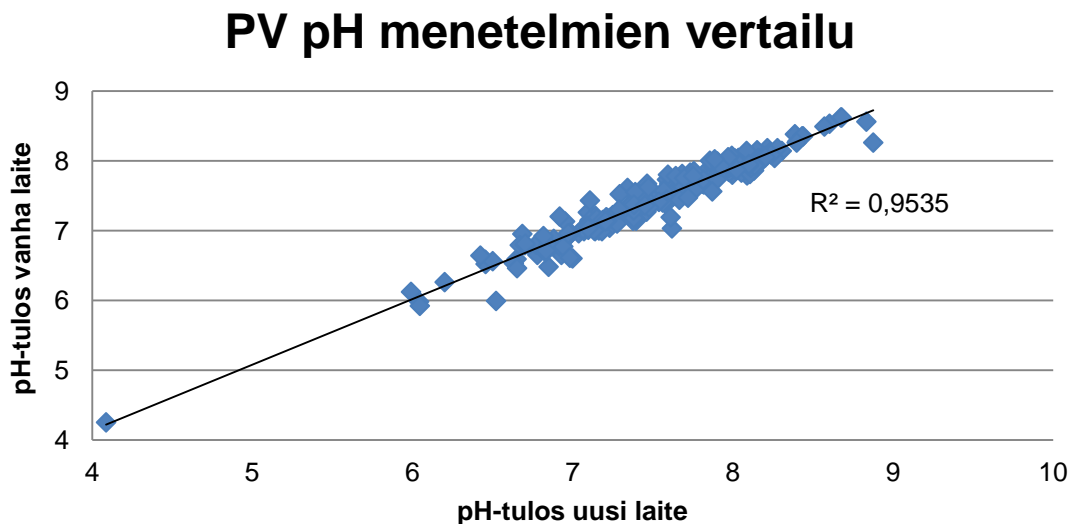
Taulukko 10. Menetelmien vertailu uusilla ja vanhoilla menetelmillä.

Menetelmä	Erojen keskiarvo	Erojen keskihajonta	Mittausten lukumäärä	t	Taulukkoarvo (95 %)
pH (PV)	0,076	0,123	288	10,528	1,970
pH (JV)	-0,062	0,060	44	6,817	2,010
Sähkönjohtavuus PV (>17 mS/m)	6,515	9,095	272	11,814	1,970
Sähkönjohtavuus PV (<17 mS/m)	0,136	0,221	61	4,803	2,000
Sähkönjohtavuus (JV)	-1,981	1,214	23	7,826	2,069
Kahden pisteen alkaliteetti (> 0,2 mmol/l)	0,017	0,039	25	2,262	2,060
Yhden pisteen alkaliteetti (> 1 mmol/l)	0,020	0,054	26	1,845	2,056
Yhden pisteen alkaliteetti (<1 mmol/l)	0,005	0,010	10	1,474	2,228
Gran- alkaliteetti (> 0,2 mmol/l)	0,004	0,035	65	0,919	2,000
Gran- alkaliteetti (< 0,2 mmol/l)	0,012	0,006	5	4,495	2,571
Asiditeetti (> 0,2 mmol/l)	0,0375	0,0463	12	2,806	2,179
Asiditeetti (< 0,2 mmol/l)	-0,0002	0,0069	10	0,092	2,228
Sameus (>1 NTU)	-0,402	1,777	254	3,603	1,970
Sameus (<1 NTU)	-0,018	0,094	272	3,228	1,970

Erojen keskiarvo kohdassa on laskettu kaikkien rinnakkaismääritysten erojen keskiarvo jokaista määrittystä kohtaan. Erojen keskihajonta taas on kaikkien rinnakkaismääritysten erojen keskihajonta eri määrittäyksillä. Mittausten lukumäärä kertoo kuinka monta eri rinnakkaismäärittystä tehtiin eri menetelmillä. t on t -testin laskettu arvo. Taulukkoarvo on lukuarvo, jonka alle lasketun t -testin arvon tulisi mennä, jotta voitaisiin 95 % luottamustasolla sanoa, etteivät vanha ja uusi menetelmä eroa toisistaan.

Taulukosta 10 nähdään, etteivät kaikki menetelmät anna 95 % luottamustasolla tilastollisesti toisistaan eroamattomia tuloksia. t -testin mukaan yhden pisteen alkaliteetti, gran-alkaliteetti suurilla pitoisuuksilla ja asiditeetti pienillä pitoisuuksilla eivät anna toisistaan eroavia tuloksia 95 % luottamustasolla vanhalla ja uudella menetelmällä. Muilla menetelmillä t -testin mukaan vanhan ja uuden menetelmän tulokset eroavat toisistaan.

Kuvioihin piirrettynä rinnakkaismäärittäykset harvoin poikkeavat toisistaan selvästi (tulos pyöristyi usein samaan arvoon). Kuviossa 7 on esimerkki kuvaajasta, johon on asetettu molemmilla laitteilla mitattu tulos.



Kuvio 7. Puhdasvesi pH-määrittäksen vertailu vanhalla ja uudella laitteella.

Vanhan ja uuden laitteen antamat tulokset menevät kuviossa (7) hyvin yhteen. Regressiokerroin on melko hyvä. Vain muutamat rinnakkaismäärittäksen tulok-

set eroavat selvästi toisistaan. t-testin mukaan kyseiset menetelmät erosivat selvästi toisistaan.

Vaikka t-testi antaakin suurelle osalle menetelmistä eroavaisuuden vanhaan menetelmään, otetaan uudet menetelmät käyttöön. Kuvaajien antamat tulokset riittävät vakuuttamaan, etteivät uudet menetelmät eroa vanhoista merkittävästi.

7 TULOSTEN ARVIOINTI JA YHTEENVETO

7.1 Validointitulosten arviointi

Toteamis- ja määrittäysrajat ovat titrausmenetelmillä hieman korkeammat kuin vanhoilla menetelmillä. Syytä uudella laitteella saataviin korkeampiin nollanäytteiden alkaliteetti- ja asiditeettipitoisuuksiin on hankala selvittää ja sitä on vain pysytty arvailemaan. Ensinäkin MilliQ-vedellä ei ole pH-arvoa, jonka perusteella näyte titrataan. Sen takia aloitus pH-arvo voi jostain syystä olla uudella laitteella korkeampi kuin vanhalla laitteella ja siitä johtuen alkaliteetti- ja asiditeettiarvot korkeampia. Korkeampi tulos voi myös johtua kontaminoitumisesta. Vanhalla laitteella ainoastaan titrantin letku oli titrattavassa näytteessä, nyt kaikkien kolmen eri titrantin letkut olivat samassa näytteessä. Todella pieniä alkaliteetti- ja asiditeettiarvoja mitattaessa pienikin pisara happoa tai emästä vääristää tulosta merkittävästi. Nollanäytteiden pitoisuuksilla ei todellisuudessa ole merkitystä kunhan nollanäytteiden tulokset ovat toistettavia sarjojen välillä. Pitkällä aikavälillä nollanäytteiden tulosten muutokset saattavat indikoida menetelmässä tapahtuvista muutoksista, kuten elektrodin ikääntymisestä tai muutoksista byretin tai pumpun toiminnassa.

Jo ennen validointia tiedettiin, että kaikki menetelmät ovat mittausalueella lineaarisia. Sähkönjohtavuudessa uuden elektrodin kohdalla selvitettiin, onko kenovakio sama pienillä ja suurilla (alle 1 mS/m – 1000 mS/m) pitoisuuksilla, vai pitääkö käyttää kenovakion korjauskerrointa tulosta laskettaessa. Saatujen tulosten perusteella kenovakion korjauskerrointa ei tarvita. Mittaustulokset olivat hyvin lähellä kirjallisuusarvoja pienillä ja suurilla sähkönjohtavuuksilla.

Satunnaisvirhettä tarkasteltiin rinnakkaistulosten lisäksi kuvaajien ja kontrollinäytteiden hajonnan avulla. Kontrollinäytteiden hajontaa ei lopulta haluttu satunnaisvirheen arviointiin suoraan mukaan, sillä mittausaikaväli näytteillä oli melko lyhyt, mitattuja näytteitä ja sitä myöten kontrollinäytteiden valmistuseriä melko vähän ja lisäksi kontrollinäytteiden näytematriisi on vähemmän virhettä tuottavaa kuin luonnonvesien rinnakkaistuloksilla. Toisin sanoen esimerkiksi

alkaliteetin määrittäminen kontrollinäytteistä oli huomattavasti helpompaa, toistettavampaa ja varmempaa kuin todellisten luonnonvesinäytteiden tai jätevesinäytteiden.

Systemaattisen virheen tulisi olla selvästi pienempää kuin satunnaisvirheen. Osalla titrausmenetelmistä systemaattinen virhe oli suurempaa kuin satunnaisvirhe. H1-kontrollinäytteen todellisia alkaliteetti- ja asiditeettipitoisuuksia ei tunneta, vaan ne ovat vanhoilla menetelmillä mitattujen tulosten keskiarvo. Uusissa ja vanhoissa titrausmenetelmissä automaattiset titraattorit ovat eri valmistajilta, joten virhe voi johtua pelkästään eri titraustavasta laitteiden välillä.

Mittausepävarmuus suurilla pitoisuuksilla ilmoitettiin prosentteina ja pienillä pitoisuuksilla mittausyksiköillä. Mitattaessa pitoisuuksia lähellä määritysrajaa, prosentuaalinen ero voi olla jopa 100 %, vaikka absoluuttinen ero olisikin selvästi alle mittausepävarmuuden. Suurilla pitoisuuksilla esimerkiksi merivesien sähkönjohtavuutta mitattaessa (noin 1000 mS/m) rinnakkaisnäytteiden erotus voi hyvin olla 10 mS/m, mutta prosentuaalinen ero on tällöin vain n. 1 %.

Yllätyksenä tuli sameuden oletettua pienempi mittausepävarmuus. Ennen validoinnin aloittamista, oletettiin että sameusmenetelmän mittausepävarmuus voi olla jopa 20 %. Erityisesti systemaattista virhettä ei sameusmittauksessa juurikaan ole.

Satunnaisvirhettä ja systemaattista virhettä seurataan tulevaisuudessa, sillä kaikki kontrollitulokset ja rinnakkaistulokset kerätään laadunvalvontanäytteinä talteen. Aikavälin pidentyessä tulosten luotettavuus kasvaa. Tämän hetkinen mittausepävarmuus on laskettu ainoastaan kesän aikana tehdyillä mittauksilla, jolloin laboratorion lämpötila on korkeampi kuin talvella. Jo pelkästään muutamman asteen lämpötilamuutos voi aiheuttaa kontrollinäytteissä tulosten vaihtelua.

Tuloksiin saattaa tulla myös muutosta, kun mittaajana ja liuosten valmistajana toimii toinen henkilö. Tähän menneessä kaikki tulokset ovat yhden henkilön mitaamia. Uudelle laitteistolle tullaan tekemään vertailukokeita eri määrityksille, jossa tutkitaan laboratorion henkilökunnan mitaamien tulosten keskiarvoa, keskihajontaa, suhteellista keskihajontaa ja eroavaisuutta t-testin avulla. Vertailu-

kokeeseen osallistuu useampi henkilö, jotta vertailumateriaalia saadaan riittävästi.

Uusien ja vanhojen menetelmien vertailu toisiinsa antoi t-testeillä tulkittaessa paikoin suuria eroja kahden menetelmän välillä. t-testi ei kuitenkaan ole hyvä testi kahden menetelmän vertailuun, kun rinnakkaismääritysten lukumäärät ovat suuria ja mittauksen keskihajonnat pieniä. Tällöin t-testin tulos kasvaa helposti huomattavasti suuremmaksi kuin t-testin taulukkoarvo.

Kun tuloksien yhtäläisyyttä arvioitiin kuvaajien avulla (x-akselilla uusi menetelmä, y-akselilla vanha menetelmä), suorien korrelaatiokertoimet olivat pääsääntöisesti suurempaa kuin 0,95. Poikkeuksena pienten pitoisuuksien granalkaliteetti ja sameus, joissa korrelaatiokerroin oli hieman alle 0,9. Granalkaliteetilla pieni korrelaatiokerroin (0,84) saattoi johtua pienestä näytemäärästä, sillä rinnakkaistuloksia oli vain viisi kappaletta. Sameudella taas pieni (0,87) korrelaatiokerroin johtui luultavasti herkän menetelmän aiheuttamasta melko suuresta mittausepävarmuudesta lievästi sameilla näytteillä. Vanha sameuslaite antaa systemaattisesti suurempia tuloksia, kuin uusi laite.

7.2 Yhteenveto

Tiukan aikataulun vuoksi erityisesti käyttöönotossa näyteastioiden titraustilavuuksien määrittämiseen ja titrausparametrien optimointiin olisi voitu käyttää enemmän aikaa. Validointituloksia oli toisilla menetelmillä paljon, kun taas osassa testeistä tuloksia tuli alle 10 kappaletta.

Sameuden laadunvalvontanäytteenä toimi työn alkaessa H1-kontrollinäytteen ja kaupallisen sameusliuoksen yhdistelmäliuos. Sameusliuos vääristi alkaliteettipitoisuuksien titrauskäyriä, joten kontrollinäytteet täytyi erottaa kahdeksi erilliseksi kontrollinäytteeksi. Tämän takia sameutta varten täytyi kehittää omat kontrollinäytteet. Sen seurauksena sameuskontrollien mittausaikaväli jäi tässä työssä liian lyhyeksi, jotta systemaattiseen virheeseen voitaisiin luottaa riittävästi. Toisaalta vaikka systemaattinen virhe kaksinkertaistuisi, mittausepävarmuus pysyisi silti vielä alle 20 %, joka oli käytössä vanhalla menetelmällä.

Uudessa laitteistossa on paljon hyviä puolia vanhaan laitteeseen verrattuna. Uusi laitteisto nopeuttaa hieman työskentelyä vanhaan laitteistoon verrattuna. Erityisesti tulosten tallentaminen toimii paremmin kuin vanhalla laitteistolla, jolla tulokset syötettiin käsin. Vanhalla laitteistolla näytteistä voitiin mitata vain tiettyjä parametreja kerrallaan. Esimerkiksi gran-alkaliteettimäärityksen yhteydessä ei saatu muita tuloksia ja näytteiden määrä oli rajoitettu 11 näytteeseen ja neljään laadunvalvontanäytteeseen. Sameusmäärityksen automatisointi poisti yhden manuaalisen määrityksen. Yhden pisteen alkaliteettia määrittäessä vanhalla laitteella titrausta varten näytettä piti mitata aina mittalasilalla näyteastiaan, joka oli melko hidasta. Uudella laitteella titraustilavuus vakioidaan pumpun avulla.

Vanhan laitteiston hyvä puoli uuteen verrattuna oli jäte- ja puhdasvesi puolen erottelu. Laitteistolla pystyttiin samanaikaisesti ajamaan sekä jätevesiä että puhdasvesiä, jolloin kiireelliset mittaukset oli helpompaa suorittaa kuin uudella laitteistolla. Lisäksi näytteiden kontaminoitumisen riski oli vanhalla laitteistolla pienempi, sillä puhdas- ja jätevesimittaukset tehtiin eri elektrodeilla.

Huuhteluvetenä käytettiin ensimmäiset kuukaudet hanavettä. Virtaus letkuissa oli kuitenkin niin hiljaista, että letkuihin ja huuhteluastiaan alkoi tulla kasvustoa. Huuhteluastian ja letkujen putsaaminen ei ollut helppoa. Ainut vaihtoehto tuntui olevan huuhteluveden vaihto tislattuun veteen, mutta tätä ei vielä tämän työn aikana tehty. Tislattu vesi saattaa alentaa nollanäytteiden mittaustuloksia, jolloin toteamis- ja määritysrajat saattavat pienentyä joillakin menetelmillä.

Kaikkiin ongelmiin löydettiin ratkaisut ja kaikki näytteet saatiin mitattua ajallaan. Tällä hetkellä Robotic Analyzer SP50 toimii hyvin ja sillä suoritetaan kaikki vesi- näytteiden pH-arvon, sähkönjohtavuuden ja alkaliteetin määritykset yrityksessä.

LÄHTEET

- ¹ Lester, J.N. & Birkett, J.W., 1999, *Microbiology and Chemistry for Environmental Scientists and Engineers* 2. painos, ss. 97-100., E & FN Spon, London, GBR
- ² Gaur, R.C., 2008, *Environmental Engineering Laboratory Manual*, ss. 1-17., New Age International, Delhi, India
- ³ Maiti, S.K., 2004, *Handbook of Methods in Environmental Studies, Volume 1* 2. painos, ss. 30-169., ABD Publisher, Jaipur, India
- ⁴ Harris, D.C., 2009, *Exploring Chemical Analysis* 4. painos, ss. 343-344., W.H. Freeman and Company, New York, USA
- ⁵ SFS-EN 27888, 1994, Veden laatu. Sähkönjohtavuuden määrittäminen, ss. 3-11., Suomen Standardoimisliitto SFS ry, Helsinki, Suomi
- ⁶ SFS 3005, 1981, Veden alkaliteetin ja asiditeetin määrittäminen 2. painos, ss. 1-5., Suomen Standardoimisliitto SFS ry, Helsinki, Suomi
- ⁷ Mäkinen, I., 1987, *Alkaliteetin määrittäminen Gran'in menetelmällä*, Vesi- ja ympäristöhallitus, Helsinki, Suomi
- ⁸ SFS-EN ISO 7027, 2000, Veden laatu. Sameuden määrittäminen, Suomen Standardoimisliitto SFS ry, Helsinki, Suomi
- ⁹ Oravainen, R., 1999, *Opasvihkonen vesistötulosten tulkitsemiseksi*, Kokemäenjoen vesistön vesiensuojeluyhdistys, Tampere, Suomi, Internet lähteisiin viittaaminen. Viitattu 5.4.2013 www.kvvy.fi/cgi-bin/tietosivu_kvvy.pl?sivu=opasvihkonen.html
- ¹⁰ Talousveden laatuvaatimukset ja valvontatutkimukset, 200, Sosiaali- ja terveysministeriö. Viitattu 5.4.2013 <http://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2000/20000461>
- ¹¹ Suomen Ympäristökeskus, 2009, Yleinen käyttökelpoisuusluokitus Vedenlaatuoluokituksen kriteerit. Viitattu 5.4.2013 <http://www.ymparisto.fi/default.asp?contentid=109719&lan=fi>
- ¹² Mäkinen ym., 1996, Ohjeita ympäristönäytteiden kemiallisten analyysimenetelmien validointiin, ss. 16–63., Suomen ympäristökeskus, Helsinki, Suomi
- ¹³ Olsen, K., 2005, *A Short History of Laboratory Robotics*. Viitattu 23.5.2013 <http://msuweb.montclair.edu/~olsenk/robot.htm>
- ¹⁴ Cleaves, K.S., 2004, *Automating R&D, Modern Drug Discovery*, s. 37. Viitattu 23.5.2013 http://pubs.acs.org/subscribe/journals/mdd/v07/i06/pdf/604feature_cleaves.pdf
- ¹⁵ Martinez Calatayud J., 1996, *Flow Injection Analysis of Pharmaceuticals: Automation in the Laboratory*, ss. 3-15., CRC Press, London, GBR
- ¹⁶ Skalar, 2011, *Skalar's Robotic Analyzer Series for Automatic Sample Preparation & Analysis*. Viitattu 23.5.2013 <http://www.skalar.com/news/skalars-robotic-analyzer-series-for-automatic-sample-preparation-analysis>
- ¹⁷ Felton M.J., Willis F.M., 2004, *Titration, Today's Chemist at Work*, ss. 47-48., ACS Publications, Washington DC, USA
- ¹⁸ Boone T., 2010, *Total Laboratory Automation – Overview and Lessons Learned*, New Jersey, USA

¹⁹ Institute for Laboratory Automation, 2010, A Publication of the Institute for Laboratory Automation, Groton, USA

²⁰ Thermo Scientific, 2007, Thermo Scientific Dimension4™ Modular Automation Platform. Viitattu 23.5.2013 <https://static.thermoscientific.com/images/D12841~.pdf>

²¹ Metrohm, 2013, Application Bulletin 102/2 e Conductometry, Herisau, Sveitsi