



# Raman-laitteen käyttöönotto

Emma Kaikkonen

OPINNÄYTETYÖ  
Huhtikuu 2022

Laboratoriotekniikka

## TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu  
Laboratoriotekniikan tutkinto-ohjelma  
KAIKKONEN, EMMA:  
Raman-laitteen käyttöönotto

Opinnäytetyö 53 sivua, joista liitteitä 6 sivua  
Huhtikuu 2022

---

Opinnäytetyö suoritettiin yhteistyössä Nokian Renkaat Oyj:n kanssa, Nokian toimipisteellä materiaalikehityksen laboratoriossa. Opinnäytetyön tavoitteena oli luoda toimiva menetelmä raaka-aineiden vastaanottotarkastuksiin Raman-spektrometrillä sekä luoda laitteelle helppokäyttöinen työohje.

Opinnäytetyön tarkoituksena oli mitata Raman-spektrometrillä yrityksessä hyväksytyjä raaka-aineita referenssispektreiksi ja luoda niistä sähköinen kirjasto, johon laite vertaa päivittäisissä mittauksissa mitattavan näytteen spektriä. Tarkoituksena oli suorittaa vertailumittauksia Raman-menetelmien ja yrityksessä nykyisin olevan menetelmän välillä mitaten kaikki kiinteät hyväksytyt raaka-aineet, jotka saapuivat yritykseen opinnäytetyön aikana. Tuloksia vertaamalla selvitettiin tulosten yhdenmukaisuutta sekä sitä kummalla menetelmällä saatiin korkeampi tulos. Tarkoituksena oli validoida uusi menetelmä toistettavuuden, toistotarkkuuden ja uusittavuuden osalta. Lopuksi tarkoituksena oli kirjoittaa Raman-laitteelle kirjallinen työohje.

Opinnäytetyön tuloksena saatiin luotua toimiva menetelmä Raman-laitteelle, joka sisältää referenssinäytekirjaston. Menetelmä saatiin validoitua hyvin toistettavuuden ja toistotarkkuuden osalta. Uusittavuutta saatiin validoitua osittain lyhyen aikavälin uusittavuudella. Opinnäytetyössä saatiin luotua työohje.

Tuloksien pohjalta yritys voi siirtyä käyttämään Raman-spektrometriä FTIR-spektrometrin asemasta, sillä laite tunnistaa näytteet oikein ja antaa suurimmalle osalle näytteistä korkeampaa vastetta kuin FTIR-menetelmä. Raman-menetelmän käyttöönottoa tukee myös menetelmän nopeus ja turvallisuus, sillä näytteenkäsittelyvaiheet poistuvat kokonaan mittauksesta, koska näytteet voidaan mitata suoraan näytepussista. Menetelmän kehitysehdotuksina ovat mittaukseen vaikuttavien ympäristöolosuhteiden määrittäminen, näytekirjaston laajentaminen nestemäisiin raaka-aineisiin sekä menetelmän raja-arvojen uusinta opinnäytetyön tulosten pohjalta.

Opinnäytetyössä oli salassa pidettävää tietoa raaka-aineiden kauppanimet sekä osa laiteparametreista. Myös työohje tuli vain yrityksen käyttöön.

## ABSTRACT

Tampereen ammattikorkeakoulu  
Tampere University of Applied Sciences  
Degree Programme in Laboratory Engineering

KAIKKONEN, EMMA:  
Commissioning the Raman Device

Bachelor's thesis 53 pages, appendices 6 pages  
April 2022

---

This thesis work was conducted in the material development department of the Nokia office of Nokian Tyres Plc. The purpose of the thesis was to create a functional method for the acceptance checks of raw materials with a Raman spectrometer. Moreover, the aim was to create an easy-to-use work manual with the device.

The first goal of the thesis was to measure the approved raw materials in the company with a Raman spectrometer as reference spectra and create an electronic library from which the device compares the spectrum of the sample measured in daily measurements. The second goal was to perform comparative measurements between the Raman and FTIR methods, measuring all solid approved raw materials that arrived at the company during the thesis. The results were compared to see if the results were consistent and which method gave higher response when the overall acceptance limit for the raw materials in the company was 95 % or more. The third goal was to validate the new method for repeatability, precision and reproducibility.

As a result of the thesis, a working method was created for the Raman device, which contains a reference sample library. The method was fully validated for repeatability and precision. Reproducibility was partially validated for short-term reproducibility. The work instruction was created successfully.

Based on the results, the company can switch to using a Raman spectrometer instead of a FTIR spectrometer, as the device recognizes the samples correctly and gives a higher response than the FTIR method in most samples. The introduction of the Raman method is also supported by the speed and safety of the method, as the sample processing steps are completely eliminated from the measurement, as the samples can be measured directly from the sample bag. Development proposals include testing the effects of environmental conditions, expanding the sample library and continuing validation for reproducibility.

The thesis contained confidential information on the trade names of raw materials and some of the equipment parameters. The work instruction only became available to the company.

---

Key words: raman, scattering, acceptance inspection

## SISÄLLYS

1	JOHDANTO .....	6
2	TEORIA .....	8
	2.1 Kumin raaka-aineet .....	8
	2.2 Spektrometria.....	9
	2.3 Fourier-muunnos infrapunaspektroskopian periaate .....	11
	2.4 Raman-spektroskopian periaate .....	12
	2.5 Sironta.....	13
	2.6 Raman-laite.....	14
	2.7 Validointi .....	15
	2.7.1 Toistettavuus .....	15
	2.7.2 Toistotarkkuus .....	16
	2.7.3 Uusittavuus.....	17
3	TOIMINNALLINEN OSA .....	18
	3.1 Mittauksissa käytetty laite .....	18
	3.2 Validointiohjelmiston testit.....	19
	3.2.1 Suorituskyvyn pätevyystesti .....	20
	3.2.2 Toiminnan pätevyystesti .....	21
	3.3 Näytekirjaston luominen .....	22
	3.3.1 Referenssinäytteiden mittaaminen .....	22
	3.3.2 Sähköisen kirjaston luominen .....	23
	3.4 Vertailumittausten suoritus .....	25
	3.5 Validoinnin suoritus .....	26
	3.6 Työohjeen luominen.....	27
4	TULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU .....	29
	4.1 Validointiohjelman testien tulokset .....	29
	4.2 Näytekirjasto .....	30
	4.3 Vertailumittausten tulokset .....	33
	4.4 Validoinnin tulokset .....	35
5	POHDINTA .....	42
	LÄHTEET .....	46
	LIITTEET .....	48
	Liite 1. Synteettisen kumin elastomeerit.....	48
	Liite 2. Vertailumittausten tulokset.....	49
	Liite 3. Vaaleiden näytteiden validoinnin tulokset.....	50
	Liite 4. Värillisten näytteiden validoinnin tulokset .....	51
	Liite 5. Tummiin näytteiden validoinnin tulokset.....	52

Liite 6. Uusittavuuden tulokset .....	53
---------------------------------------	----

## 1 JOHDANTO

Opinnäytetyön toimeksiantajana toimi Nokian Renkaat Oyj. Työ suoritettiin Nokian Renkaiden toimipisteellä Nokiolla materiaalikehityksen laboratoriossa. Nokian Renkaat Oyj on kolmella osa-alueella toimiva suomalainen rengasvalmistaja vuodesta 1988 lähtien. Nokian Renkaiden osa-alueet ovat: henkilöautorenkaat, raskaat renkaat ja Vianor (auton huolto- ja rengaspalvelut). Yritys on pohjoisin rengasvalmistaja ja toimii useassa maassa, kuten Suomessa, Venäjällä sekä Yhdysvalloissa ja omistaa testiradan muun muassa Espanjassa. (Nokian Renkaat Oyj n.d.a.)

Suomessa kumiteollisuus on alkanut vuonna 1895 Gummi Teollisuus Tehdas Pohjolan tuottamana. Kuitenkin teollisuuden voidaan sanoa kunnolla alkaneen vasta vuonna 1898 kun perustettiin Gummitehdas Oy. Kumiteollisuus levisi Suomeen Venäjältä ja muualta maailmasta ja ensimmäiset varmistetut luonnonkumi löydökset ovat tehty 1800 luvulta. Kehitys synteettisen kumin valmistukseen aloitettiin vuonna 1905. (Laurila 2007.)

Kumi koostuu pitkistä molekyyliketjuista ja se on ominaisuuksiltaan harvinaista. Ominaisuuksiin sisältyy pieni jäykkyys, suuri kitka, hyvä korroosionkesto, kulumisenkesto, eikä kumi puristu kasaan juuri yhtään. Kumin vulkanointi lisää muun muassa sen kestävyyttä ja kovuutta. Eri raaka-aineilla saadaan säädettyä kumin ominaisuuksia halutuiksi. (Laurila 2007.)

Materiaalikehitys on osa Nokian Renkaiden tuotekehitysorganisaatiota ja keskittyy uusien renkaiden sekä pinnoitteiden materiaalien kehitykseen ja uusiin innovaatioihin. Materiaalina renkaissa käytetään kumiseosta, joka valmistetaan synteettisestä- tai luonnonkumista, öljystä, täyteaineista kuten noesta tai piidioksidista eli silikasta sekä erilaisista kemikaaleista. Lisäksi käytetään vahvikemateriaaleja kuten terästä ja tekstiilejä. (Nokian Renkaat Oyj n.d.b.)

Materiaalikehityksen osana on laadunvalvonta, jossa tehdään raaka-aineiden vastaanottotarkastuksia. Vastaanottotarkastuksia suoritetaan, jotta saadaan var-

mistettua, että tuote on sitä, mitä pakkaus kertoo, sekä tuotteen laatu. Vastaanottomittauksia suoritetaan tällä hetkellä yrityksessä FTIR-spektrometrillä eli Fourier-muunnos infrapunaspektrometrillä. Opinnäytetyössä selvitetään mahdollisuutta korvata FTIR-spektrometri Raman-spektrometrillä. Raman-spektrometri halutaan yrityksessä käyttöön, koska se poistaa työvaiheita ja vähentää näytteille altistumista, sillä näytteen voidaan mitata suoraan näytepussin läpi. Raman-spektrometri antaa suurelta osin korkeampaa vastetta mittauksissa.

Opinnäytetyössä tavoitteena on luoda toimiva menetelmä kumin raaka-aineiden vastaanottotarkastuksiin Raman-spektrometrillä sekä työohje Raman-spektrometrin käyttöön. Työssä selvitetään, onko uuden menetelmän mahdollista korvata nykyisin käytössä oleva FTIR-menetelmä, joko kokonaan tai osittain. Tarkoituksena on mitata Raman-spektrometrillä tunnettuja yrityksessä hyväksytyjä raaka-aineita referenssinäytteiksi. Näytteistä luodaan sähköinen spektrikirjasto, joka sisältää kunkin näytteen spektrin sekä kaupanimen ja tuotteen yksilöllisen numerokoodin. Lisäksi mitataan vertailumittauksia menetelmien välillä, jotta saadaan selville menetelmien yhdenmukaisuus, sekä tehdään validointi mittauksia valituilla aineilla. Lopuksi laitteelle kirjoitetaan työohje.

Raaka-aineiden kaupanimet olivat salassa pidettävää tietoa, joten esimerkki raaka-aineet on uudelleen koodattu. Myös jotkin laiteparametrit ovat salaisia, joten niistä puhutaan vain yleisellä tasolla. Työohjeen teko ja sisältöä käsitellään toiminnallisessa osassa, mutta virallinen työohje tuli vain yrityksen käyttöön eikä sitä löydy opinnäytetyöstä.

## 2 TEORIA

### 2.1 Kumin raaka-aineet

Kumi koostuu useammasta aineesta, jotka muodostavat seoksen, jota kumiteollisuudessa pidetään yhtenä raaka-aineena. Kumiseoksiin tarvittavia raaka-aineita ovat: elastomeerit, täyteaineet, pehmittimet, suoja-aineet, vulkanointisysteemiaineet sekä muut aineet. (Chandrasekaran 2009.)

Elastomeerit ovat synteettisiä polymeerejä tai kemiallisesti muokattuja luonnon polymeerejä, joilla sidotaan kumiseoksen muut aineet toisiinsa, niitä löytyy sekä yleis- että erikoiskäyttöön. Yleisiä elastomeerejä ovat muun muassa luonnonkumi, polyisopreeni sekä styreenibutadieenikumi. Eteenipropeenidieenikumi (EPDM-kumi), nitrilikumi, kloropreenikumi sekä butyylikumi ovat erikoiskäytön elastomeerejä. Elastomeerit vaikuttavat seoksen ja kumituotteen kovuus- ja lujuusalueeseen, elastisuuteen sekä kemikaali- ja lämmönkestävyyteen. (Laurila 2007; Muoviteollisuus ry n.d.) Synteettisten kumien valmistuksessa käytetään monia erilaisia elastomeerejä, näistä esimerkkejä taulukossa 8, liitteessä 1.

Täyteaineet ovat aineita, joilla parannetaan kumin haluttuja fysikaalisia ominaisuuksia kuten kulutuksenkestoa, repimislujuutta sekä lujuutta. Täyteaineet vaikuttavat myös kumin kovuuteen. Täyteaineita löytyy aktiivisia ja puoliaktiivisia täyteaineita sekä täyteteitä. Täytteet ovat aineita, joiden BET-luku eli täyteaineen pinta-ala grammaa kohden käyttäen apuna typen absorptiota on alta  $10 \text{ m}^2/\text{g}$ . Puoliaktiiviset täyteaineet ovat BET-luvultaan  $10\text{--}60 \text{ m}^2/\text{g}$  ja aktiiviset korkeampia kuin  $60 \text{ m}^2/\text{g}$ . Täyteaineita on noki, piidioksidi sekä silikaatti, myös selluloosakuituja ja kumijauhetta voidaan käyttää täyteaineina. Täyteaine valitaan haluttujen ominaisuuksien ja värin perusteella. (Laurila 2007.)

Pehmittimet ovat aineita, joilla säädetään kumiseoksen työstettävyyttä ja kovuutta. Joitakin pehmittimiä käytetään täyteaineiden korvikkeena, jotta tuotanto olisi halvempaa. Pehmittiminä toimivat sekä mineraaliöljyt sekä synteettiset aineet. Yleisesti käytettyjä pehmittimiä ovat muun muassa parafiini ja hartsit. (Chandrasekaran 2009.)

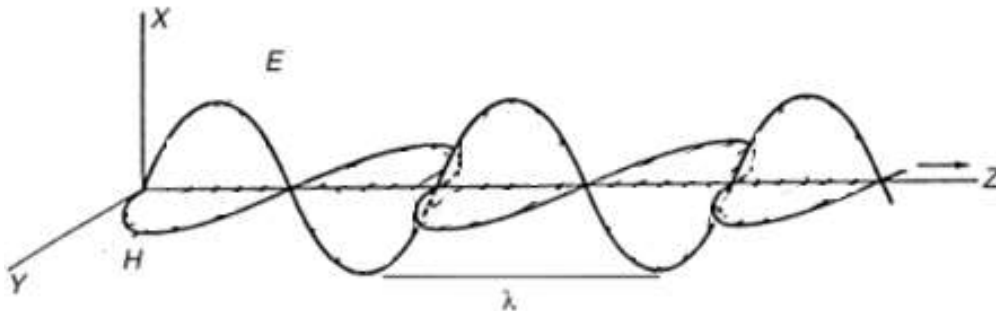


Suoja-aineet parantavat kumituotteen kestävyttä. Suoja-aineita lisätään koska elastomeerit ovat orgaanista ainetta ja tarvitsevat suojaa UV-säteilyä, valo, otsonia ja happea vastaan. Suoja-aineita ovat muun muassa antioksidantit ja antiotsonantit. (Laurila 2007.)

Vulkanointisysteemiaineita ovat rikki, kiihdyttäjät ja aktivaattorit. Niiden avulla suoritetaan vulkanointi eli lämpökäsittely, jossa molekyylietjut sidotaan paikalleen. Pelkällä rikillä tapahtuma ei ole tarpeeksi nopea, joten joukkoon lisätään myös muita kiihdyttäviä aineita. Jotkin vulkanointisysteemiaineet sisällytetään kuuluvaksi kumiseoksen muihin aineisiin, joita ovat myös väriaineet, hajusteet, paistatusaineet sekä lujitteet. (Laurila 2007; Chandrasekaran 2009.)

## 2.2 Spektrometria

Spektrometriassa mitataan sähkömagneettisen säteilyn ja aineen välistä vuorovaikutusta näytteiden tunnistamisessa sekä pitoisuuksien määrittämisessä. Sähkömagneettinen säteily koostuu sähkö- ja magneettikomponenteista, jotka värähtelevät toisistaan kohtisuorassa. Kuviossa 1 havainnollistetaan, kuinka toinen komponentti kulkee x-akselin suuntaisesti ja toinen y-akselin suuntaisesti, muodostaen z-akselille summan molemmista komponenteista.



KUVIO 1. Polarisoituneen sähkömagneettisen säteilyn kulku (Ferraro, Nakamoto & Brown 2003. 3, muokattu)

Kuviossa 1,  $E$  on sähkökomponentti,  $H$  on magneettikomponentti ja  $\lambda$  on aallonpituus. Aallonpituus kuvastaa aallon yhtä heilahdusta tietystä pisteestä takaisin samaan pisteeseen. Aallonpituutta tarvitaan, kun lasketaan fotonin taajuutta  $\nu$  kaavalla 1.

$$\nu = \frac{c}{\lambda} \quad (1)$$

jossa  $\nu$  on fotonin taajuus,  $c$  on valon nopeus ja  $\lambda$  on aallonpituus. Tästä kaavasta saadaan johdettua kaava 2, joka kuvastaa aaltolukua. Aaltoluku on spektroskopiassa aallonpituuden käänteisarvo. Fotonin energiaa voidaan kuvata aaltoluvulla, aallonpituudella tai taajuudella. Sähkömagneettisen säteilyn fotonin energia on suoraan verrannollista sen aaltolukuun ja taajuuteen.

$$\dot{\nu} = \frac{\nu}{c} = \frac{1}{\lambda} \quad (2)$$

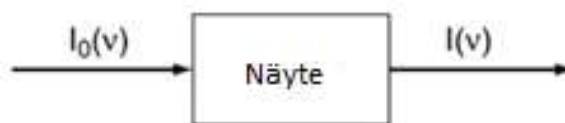
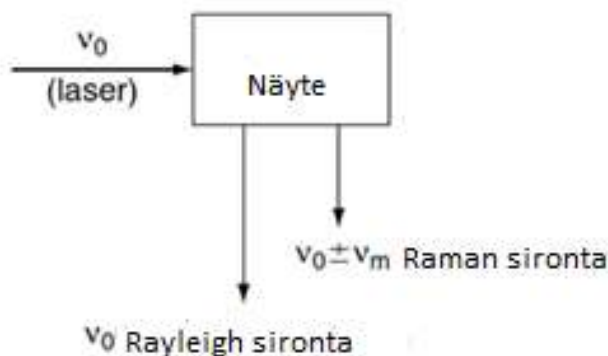
jossa  $\dot{\nu}$  on aaltoluku,  $\nu$  on fotonin taajuus,  $c$  on valon nopeus ja  $\lambda$  on aallonpituus. (Larkin 2011.)

Sähkömagneettista säteilyä aiheuttava valo ohjataan näytteeseen eri tavoilla menetelmän mukaan ja näytteen jälkeinen valon määrä tai sironta mitataan. IR- eli infrapunaspektroskopiassa valo ohjataan näytteelle, jossa osa valosta absorboituu näytteeseen, detektorille edennyt valon määrä mitataan. Menetelmä perustuu Lambert-Beerin lakiin, joka määritetään kaavalla 3.

$$A = \varepsilon cl \quad (3)$$

jossa  $A$  on absorbanssi,  $\varepsilon$  on aallonpituudesta riippuva absorptiokerroin,  $c$  on analyytin konsentraatio ja  $l$  on välin pituus. Absorbanssi on suoraan verrannollinen konsentraatioon. (Smith 2011.)

Toinen mahdollisuus on mitata valon sirontaa, joka muodostuu valon osuessa näytteeseen. Tätä menetelmää hyödynnetään Raman-spektrometrissä. (Ferraro, Nakamoto & Brown. 2003.)

**IR****Raman**

KUVIO 2. IR ja Raman menetelmän ero (Ferraro, Nakamoto & Brown 2003. 14, muokattu)

Kuviossa 2 näytetään IR ja Raman mittausten ero, kuinka IR-menetelmässä valo ohjautuu suoraan näytteen läpi osan absorboituen näytteeseen, mutta Raman-menetelmässä valo siroaa näytteestä sekä Raman- että Rayleigh-sironnalla. Kuviossa huomataan, kuinka fotonin taajuus  $\nu$  muuttuu Raman-sironnassa,  $\nu$ ,  $\nu_0$  ja  $\nu_m$  kuvaavat taajuutta.  $I_0$  ja  $I$  kuvastavat intensiteettiä.

### 2.3 Fourier-muunnos infrapunaspektroskopian periaate

Fourier-muunnos infrapunaspektroskopia eli FTIR perustuu valon absorboitumiseen aineeseen. Menetelmä toimii infrapunavalon (IR) alueella, jonka taajuus alue on  $14300\text{--}20\text{ cm}^{-1}$ . Absorptio tarkoittaa valon imeytymistä aineeseen. IR-spektrometriassa molekyyliä altistetaan infrapunasäteelle, kun säteilyenergia vastaa molekyylin värähtelyenergiaa tapahtuu absorptio. Näytteen absorbanssi voidaan laskea kaavalla 3 tai kaavalla 4.

$$A = \log I_0/I \quad (4)$$

jossa  $A$  on absorbanssi,  $I_0$  on taustaspektrin intensiteetti ja  $I$  on näytespektrin intensiteetti. (Smith 2011; Moore 2017.)

FTIR-laite koostuu valonlähteestä, jona toimii infrapunavaloin. Valo ohjataan pienen aukon kautta interferometriin, jossa valitaan haluttu spektrialue. Valoa ohjataan peilien avulla haluttuun suuntaan. Interferometriltä valo kulkee näytteelle, joka sijaitsee usein ATR-kiteellä (vaimennetun kokonaisheijastuksen kide), jossa tapahtuu valon absorboituminen näytteeseen. Absorption jälkeen jäljelle jäänyt valo ohjataan detektorille, joka mittaa vasteen. Laitteen yhteydessä on tietokone, jolle laite lähettää mitaamansa tiedot ja muodostaa mitatun aineen spektrin sen antavasta vasteesta. (Thermo Scientific n.d.)

## 2.4 Raman-spektroskopian periaate

Raman on molekyyli-spektroskopian muoto, joka perustuu valon sirontaan. Menetelmässä sähkömagneettinen säteily saa aikaan elektronipilven, joka aiheuttaa aineen molekyyli-sidoksissa polarisaation muutoksia. Kun aineen polarisaatio kasvaa, antaa se vasteen Ramanilla. Ramanissa toimivat parhaiten aineet, joilla on heikko dipolimuuutos ja korkea symmetria. (Mettler Toledo n.d.a.)

Menetelmässä valonlähteenä käytetään laseria, joka heijastaa infrapunasäteilyä aallonpituudella  $10^{-2}$ - $10^{-4}$  cm ja aaltolukuna  $10^2$ - $10^4$   $\text{cm}^{-1}$ . Ramanissa näytteeseen ohjataan voimakas lasersäde, joka kattaa aallonpituudeltaan näkyvän valon sekä UV-valon aluetta. (Ferraro, Nakamoto & Brown 2003.)

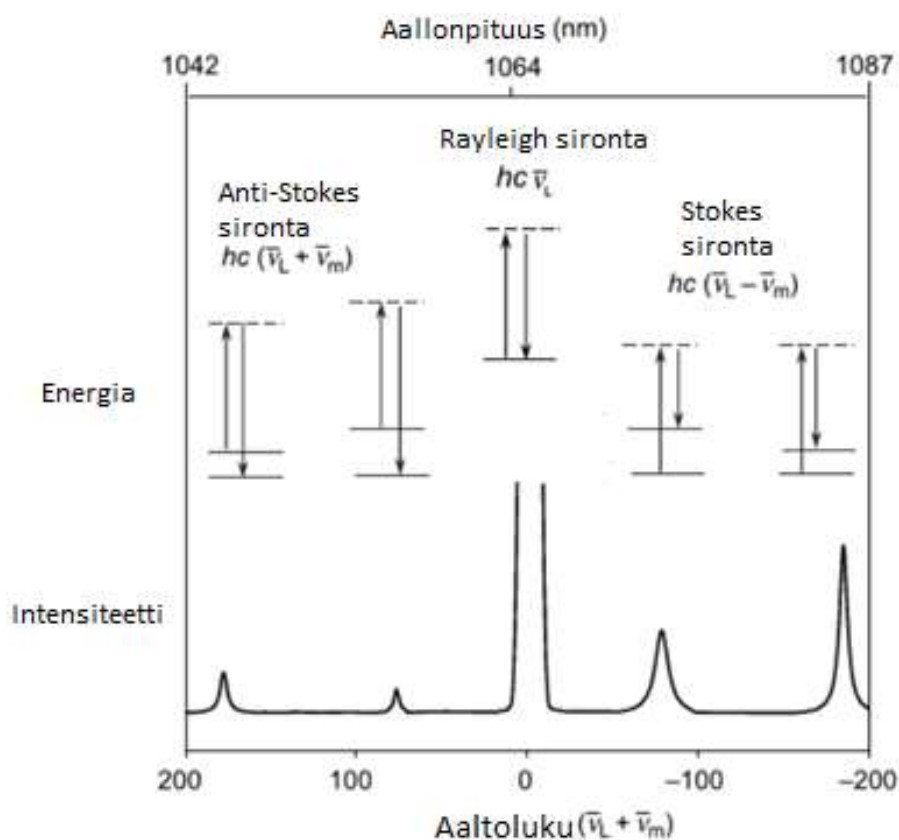
Jotkin aineet muodostavat helposti Raman-aktiivisia tiloja, jolloin fotonin energia muuttuu. Tällaisia ovat muun muassa: hiili-hiili-, rikki-riikki ja typpi-typpi-sidoksia sisältävät aineet. Kyseiset aineet muodostavat Raman-spektrikaistoja, joita on mahdotonta havaita FTIR-menetelmällä. (Mettler Toledo n.d.a.)

Tummat aineet, joista valo ei siroa takaisin ovat menetelmän kannalta ongelma, sillä takaisin heijastuneesta valosta ei saada mitattua tarkkoja spektrin piikkien

kohtia. Tumma näyte saattaa lämmitä ja muuttaa tulosta. Myös fluoresenssi sekä absorptio haittaavat mittausta, sillä ne peittävät alleen heikon Raman-sironnan suuremmalla intensiteetillään. Tausta säteily ja ympäristön olosuhteet voivat omalta osaltaan vaikuttaa tulokseen ja peittää alleen Raman-sironnan (Vandenabeele & Ando 2013.)

## 2.5 Sironta

Sironta on prosessi, jossa valon tai muun sähkömagneettisen säteilyn fotoni vaihtaa suuntaansa osuessaan esteeseen, usein molekyyliin, johon se on ohjattu. Sirontaa on kahdenlaista Raman- sekä Rayleigh-sirontaa, joista Raman-sironta on heikompaa. Raman-sironnassa, fotonin osuessa molekyyliin valon taajuus muuttuu, kun taas Rayleigh-sironnassa taajuus pysyy vakiona. (Ferraro, Nakamoto & Brown 2003; Zhang & Zhang 2012.)

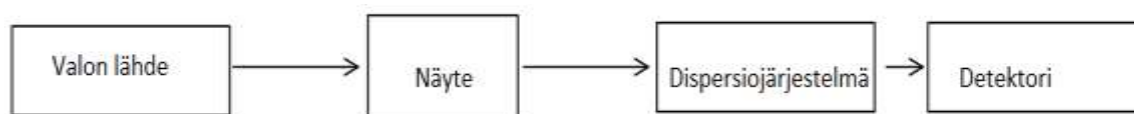


KUVIO 3. Sironnan muodot (Larkin 2011. 16, muokattu)

Kuviossa 3 on havainnollistettu sironnan muodot ja niiden intensiteetit sekä energiat verrattuna toisiinsa sekä energian muutokset Raman-sironnassa. Rayleigh-sironnan intensiteetti on huomattavasti korkeampaa kuin Raman-sironnan intensiteetti, tämä kuvastaa, että suurin osa sironnasta tapahtuu Rayleigh-sirontana, jossa taajuus pysyy samana. Raman-sironta jaetaan anti-Stokes- ja Stokes-sirontaan. Anti-Stokes-sironnassa molekyyli luovuttaa energiaa ja fotonin energia kasvaa, tällöin fotonin taajuus kasvaa ja aallonpituus on pienempi. Stokes-sironnassa molekyyli vastaanottaa energiaa ja fotonin energia pienenee. Kuviossa  $\nu_L$  on laserin taajuus ja  $\nu_m$  on taajuuden muutoksen suuruus. Ylöspäin osoittava nuoli kuvaa laserin taajuutta ja alaspäin osoittava nuoli sironnan taajuutta. Tästä syystä Rayleigh-sironnan nuolet ovat yhtä korkeat. Raman-sironnassa taajuuden muutos voi tapahtua kumpaankin suuntaan tahansa, ja siksi anti-Stokes-sironnan nuoli on pidempi ja Stokes-sironnan nuoli lyhempi kuin laserin taajuuden nuoli. (Larkin 2011.)

## 2.6 Raman-laite

Raman-spektrometri koostuu valonlähteestä, dispersiojärjestelmästä, monokromaattorista tai interferometristä sekä detektorista. Jotkin Raman-spektrometrit sisältävät fluoresenssin lieventimen. Jotta kaikki sironta saataisiin talteen, jotkin laitteet sisältävät kaksinkertaisen monokromaattorin. (Larkin 2011.) Laitteen kokoonpanoa havainnollistetaan kuviossa 4 (Vandenabeele & Ando 2013, 62).



KUVIO 4. Raman laitteen osat

Valonlähteenä Raman-spektrometrissä toimii laser, monissa laitteissa diodilaser, joka lähettää monokromaattista valoa, jota voidaan hyödyntää Raman-spektroskopiassa. Muita laserin hyötyjä Raman-spektrometriassa ovat laserin korkea intensiivisyys eli kyky tuottaa valoa sekä koherenttius eli valoallot ovat taajuudeltaan ja pituudeltaan identtisiä ja värähtelevät samalla tavalla. Koherenttius edistää valon voimakkuutta. Laserin aallonpituus on Ramanissa alle 750 nm. Diodi laserin aallonpituus välillä 660–880 nm. (Vandenabeele & Ando 2013.)

Dispersiojärjestelmä koostuu diffraktiohilasta, joka on korvannut normaalin prisman. Diffraktiohilassa monokromaattinen valo eli yhtä aallonpituutta sisältävä valo kulkeutuu kapean aukon läpi saaden aikaan diffraktiokuvion. Dispersiojärjestelmän tarkoituksena on taittaa valoa kulkemaan haluttuun suuntaan. Diffraktiohilassa hilaan saapunut valo ja sironnut valo ovat hilan samalla puolella. Monokromaattorin ja interferometrin tehtävänä on kasata sironneet aallonpituudet yhdeksi säteeksi, joka johdetaan detektorille. (Vandenabeele & Ando 2013.)

Detektorina voidaan käyttää yksi- tai monikanavaista detektoria. Johtuen Ramanin heikoista signaaleista detektorin tulee olla herkkä vasteelle. Detektorilla tulee olla korkea kvanttitehokkuus eli yhtä fotonia kohden muodostuneiden elektronien lukumäärä sekä matala tausta arvo. (Vandenabeele & Ando 2013; Ferraro, Nakamoto & Brown 2003.)

## **2.7 Validointi**

Validointi on menettely, jolla osoitetaan menetelmän sopivuus sen käyttötarkoitukseen. Validointia suoritetaan, kun otetaan käyttöön uusi menetelmä tai halutaan vertailla kahden eri menetelmän yhdenmukaisuutta. Validointi parametrejä ovat spesifisyys ja selektiivisyys, mittausalue, määrittäminen- ja toteamisraja, lineaarisuus, poikkeama, saanto, täsmällisyys, tarkkuus ja toistettavuus, häiriönkestävyys, uusittavuus sekä mittausepävarmuus. Validointi suoritetaan niiltä osin, mikä on kyseisen menetelmän ja laitteen kannalta olennaista. Validointi suoritetaan uudestaan, jos menetelmän parametrejä muutetaan. (MIKES 2005; Hägg 2016.)

### **2.7.1 Toistettavuus**

Validoinnissa toistettavuus on saman mitattavan suureen peräkkäisten mittaus-ten paikkansapitävyys. Mittaukset suoritetaan samoissa mittausolosuhteissa. Toistettavuudessa toimii samat laitteet, tekijät, reagenssit ja lämpötilat. Toistettavuutta mitataan usean eri näytteen rinnakkaismäärittäyksillä eli näytteestä tehdään

useampia rinnakkaismääryksiä. Sarjojen sisäisellä ja sarjojen välisellä vaihtelulla ei saa olla merkittäviä eroja tai eron syy tulee tutkia. (MIKES 2011, Hägg 2016.)

Toistettavuus voidaan laskea kaavalla 5.

$$r = 2 \cdot \sqrt{2} \cdot s, \quad (5)$$

jossa  $r$  on toistettavuus ja  $s$  on tulosten keskihajonta. Toistettavuuden tuloksien yhdenmukaisuutta seurataan selvittämällä tulosten toistotarkkuutta.

### 2.7.2 Toistotarkkuus

Toistotarkkuus eli täsmällisyys on toisistaan riippumattomien mittaustulosten keskinäinen paikkansapitävyys. Täsmällisyyttä määritetään toistomittausten yhteydessä, olosuhteiden ollessa mittausten välillä yhtäläiset. Toistotarkkuus selvitetään laskemalla tulosten suhteellinen keskihajonta eli *RSD* (MIKES 2005; Hägg 2016.) Mitä pienempi suhteellinen keskihajonta on, sitä lähempänä tulokset ovat toisiaan. *RSD* lasketaan kaavalla 6.

$$RSD = \frac{s}{x} \cdot 100 \% \quad (6)$$

jossa *RSD* on suhteellinen keskihajonta,  $x$  on tulosten keskiarvo ja  $s$  on tulosten keskihajonta.

Suhteellisen keskihajonnan kaavaa 6 varten lasketaan keskiarvo kaavalla 7. Toistettavuuden määrittämisessä lasketaan keskiarvo tuloksiin samalla kaavalla. Keskiarvoa kuvaa suure  $x$ .



$$x = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i, \quad (7)$$

jossa  $x$  on tulosten keskiarvo ja  $n$  on havaintojen lukumäärä.

Suhteellisen keskihajonnan laskemiseen vaaditaan myös tulosten keskihajonta  $s$ . Keskihajonta lasketaan kaavalla 8.

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - x)^2}, \quad (8)$$

jossa  $s$  on keskihajonta,  $n$  on havaintojen lukumäärä ja  $x$  on havainnot.

### 2.7.3 Uusittavuus

Uusittavuus on saman mittasuuren paikkansapitävyys muuttuvissa olosuhteissa. Mittausolosuhteiden muutoksia ovat: aika, käyttöolosuhteet, havainnoitsija, mittausmenetelmä, mittalaite ja referenssinormaali. Laboratorion sisäistä uusittavuutta tutkitaan tekemällä samasta näytteestä useita määrittäyksiä pidemmän ajan kuluessa. (MIKES 2005.)

### 3 TOIMINNALLINEN OSA

#### 3.1 Mittauksissa käytetty laite

Toiminnallisen osan mittauksissa oli käytössä Bruker Bravo Handheld Raman-spektrometri eli käsikäyttöinen Raman-spektrometri (kuva 1). Kyseinen laite koostui diodilaserista, interferometrasta, dispersiojärjestelmästä ja detektorista. Kyseinen laite sisälsi fluoresenssi lieventimen, joka mahdollisti laajemman raaka-aine valikoiman, jota laitteella voitiin mitata.



KUVA 1. Bravo Handheld Raman-spektrometri

Raman-spektrometriin kuului kaksi erilaista mittapäätä (kuva 2). Mittapäistä vasemmanpuoleinen oli tarkoitettu pussissa tai suuressa mittapullossa oleville näytteille ja oikeanpuoleinen mittapäätä pienissä mittapulloissa oleville näytteille. Mittapäätä vaihdettiin näytteen mukaan. Mittapäähän johdettiin laser valo ja näytteestä mitattiin sironta, joka palasi kohtisuoraa lähetettyyn valoon nähden.



KUVA 2. Mittapää pusseille ja mittapää mittapulloille

Käsi­käyt­toisen spek­tro­metrin lisä­ksi laitteelle oli käytössä telakka sekä tietokone tiedon siirtoa varten. Tietokoneella oli käytössä laite­val­mistajan OPUS 8.2-ohjelma laitteen käyttöä varten.

### 3.2 Validointiohjelmiston testit

Toiminnallinen osa aloitettiin laitteen kunn­to­testeillä, jolla varmistettiin laitteen toiminta aallon­pituuden ja tarkkuuksien osalta. Mit­tau­kset suoritettiin Bruker Bravo Handheld Raman-spek­tro­metrillä (kuva 1), jossa käytössä mittapulloille tarkoi­tettu mittapää (kuva 2, oikealla). Mit­tau­kset suoritettiin laite­val­mistajan menetel­mällä, jossa on laitteeseen arkistoidut mää­ri­tys­ra­jat.

Opus-validointiohjelma (Opus validation program, OVP) on ohjelma, joka sisältää kaksi eri testiä: suoritus­ky­vyn pätevyys (performance qualification, PQ) ja toimin­nan pätevyys (operation qualification, OQ), joilla varmistetaan laitteen toimivuus oikein. Testit toimivat laitteen kalibroit­ti­na eri osilta. (Bruker 2018.)

### 3.2.1 Suorituskyvyn pätevyystesti

Suorituskyvyn pätevyystesti tulisi laitevalmistajan ohjeen mukaan suorittaa joka päivä. Testi sisältää aallonpituuden tarkkuustestin, aallonpituuden täsmällisyystestin, fotometrisen tarkkuustestin ja laserin tehotestin. Mittaus suoritetaan polystyreenistandardilla.

Aallonpituuden tarkkuustestissä tarkistetaan laitteelle arkistoidun aallonpituuden tarkkuus. Mitatun standardin spektrin piikit tulee sijoittua ASTM E1840 ohjeen hyväksymiin rajoihin, jotta tarkkuustestin tulos on hyväksytty.

Aallonpituuden täsmällisyystesti mittaa laitteen aallonpituuden täsmällisyyden pitävyyttä pitkällä aikavälillä. Testissä polystyreeni näyte mitataan kaksi kertaa ensimmäisellä kerralla laitteen valmistajan mittaamana ja toisella kerralla PQ testin yhteydessä. PQ testin tuloksia verrataan laitteen valmistajan mittaamiin tuloksiin. Polystyreenin piikit ilmenevät  $620,9 \text{ cm}^{-1}$ ;  $1001,4 \text{ cm}^{-1}$ ;  $1602,3 \text{ cm}^{-1}$  ja  $3054,3 \text{ cm}^{-1}$ . PQ-testin aallonpituuden täsmällisyyteen on määritelty rajat, kuinka paljon tulos saa poiketa valmistajan mittaamista polystyreenin piikkien kohdista. Jos tulos on rajojen sisällä, tulos on hyväksytty.

Fotometrisessä tarkkuustestissä varmistetaan fotometrinen vaste halutulle spektrialueelle. Laitteen valmistaja on suorittanut mittauksen ja polystyreenin piikit  $620,9 \text{ cm}^{-1}$ ;  $1001,4 \text{ cm}^{-1}$ ;  $1602,3 \text{ cm}^{-1}$  on otettu arviointiin, joista piikki  $1001,4 \text{ cm}^{-1}$  on voimaikkain Raman laitteella. Testissä piikkien paikat standardi aineella eivät saa poiketa yli 10 % laitteen valmistajan tuloksista.

Laserin tehotesti varmistaa, vastaako laserin sen hetkinen teho arkistoitua tehoa. Testissä mitataan polystyreenin piikkien  $1085,0 \text{ cm}^{-1}$  ja  $3054,3 \text{ cm}^{-1}$  intensiteettiä mittaus hetkellä verrattuna valmistajan mittaamiin arvoihin. Testi on hyväksytty, jos laserin teho ei alita valmistajan asettamaa määritysrajaa. (Bruker 2018.)

PQ- testi suoritettiin laitteen valmistajan ohjeesta poiketen viikoittain, joka viikon maanantaina, jotta pystyttiin takaamaan laadukkaat tulokset koko viikoksi. PQ-testi suoritettiin siten, että Bravo käsikäyttöinen Raman-spektrometri kytkettiin telakkaan ja muodostettiin yhteys kaapelin avulla tietokoneeseen, jossa käytössä

ollut OPUS 8.2 ohjelma avattiin. Opuksella säädettiin OVP testien osalta, kuinka usein testit suoritetaan ja tämän testin osalta valittiin 7 vuorokautta. Ennen testin aloittamista varmistettiin, mitkä testin sisäiset mittaukset laite suorittaa. PQ testissä pidettiin mukana kaikki mittaukset: aallonpituuden tarkkuustesti, aallonpituuden täsmällisyystesti, fotometrinen tarkkuustesti ja lasertehotesti.

Mittaus suoritettiin asettamalla laitteen mukana tullut polystyreeni standardi mittapulloille tarkoitettuun mittapähän ja painamalla testi käyntiin. Testi suoritti mittaukset itsenäisesti ja aukaisi tulokset tietokoneen näytölle. Tuloksissa ilmoitettiin testien tulokset sekä menivätkö kaikki testit hyväksytysti läpi.

Tuloksissa oli kerrottu referenssi piikin arvot ( $\text{cm}^{-1}$ ) ja kuinka paljon ( $\text{cm}^{-1}$ ) mitattu tulos saa poiketa määritetystä referenssi arvosta. Tuloksissa oli myös mitatun piikin arvo ( $\text{cm}^{-1}$ ) sekä kuinka paljon tuloksen poikkeama referenssistä ( $\text{cm}^{-1}$ ). Jokaisessa mittauksessa käytettiin useampaa aallonpituutta, jotta laitteen todellinen kunto saatiin selville.

### **3.2.2 Toiminnan pätevyystesti**

Toiminnan pätevyys on testi, joka tulee suorittaa kerran vuodessa, laitteen kunnon selvittämiseksi. Testi sisältää aallonpituuden tarkkuustestin, spektrin resoluutio -testin ja teknisen toiminnan testin. Mittaus suoritetaan polystyreeni standardilla, lisäksi spektrinresoluutiotesti vaatii kalsiitti standardin.

Aallonpituuden tarkkuustestissä selvitetään vastaako aallonpituus laitteelle arkistoitua aallonpituutta. Standardi aineelle on ajettu ennalta spektri, johon mittauksen spektrin piikkejä verrataan. Testi suoritetaan ja raja-arvot tulevat ohjeen ASTM E1840 mukaan.

Spektrin resoluutio -testi varmistaa resoluution halutun tason. Tasoksi on asetettu korkein laitteella saatava taso, joka on esitetty ASTM E2529 ohjeessa. Testissä mitataan kalsiitti piikkiä  $1085 \text{ cm}^{-1}$ , ja sen puoliväliä. Tulos on hyväksytty, jos tulos on sama tai alle kun määritetty resoluutio. Teknisen toiminnan testissä mitataan

laitteen elektroniikan, sähköoptiikan ja järjestelmän prosessoinnin toimivuutta. (Bruker 2018.)

OQ- testi suoritettiin yhden kerran opinnäytetyöjakson aikana. Mittaus suoritettiin samalla tavalla kuin PQ-testi, mutta erona oli, että testi sisälsi eri mittaukset (aallonpituuden tarkkuustesti, spektrin resoluutio -testi ja teknisen toiminnan testi). Spektrin resoluutio -testi jouduttiin poistamaan käytöstä, sillä mittaukseen olisi tarvinnut polystyreenin lisäksi kalsiitti standardin, eikä tätä ollut käytössä opinnäytetyöaikana.

### **3.3 Näytekirjaston luominen**

Näytekirjastoon sisältyi referenssinäytteiden mittaaminen ja sähköisen spektrikirjaston luominen, jotta laitetta pystyi käyttämään virallisia mittauksia varten. Kirjastoon mitattiin referensseiksi hyväksytyjä raaka-aineita, joihin laite vertaa tunnistettavia raaka-aineita myöhemmin. Kirjaston tunnistus kykyä testattiin vanhoilla näytteillä ennen virallisten vastaanottoa ja validointi mittausten alkamista.

#### **3.3.1 Referenssinäytteiden mittaaminen**

Mittaus suoritettiin Bravo Handheld Raman-spektrometrillä (kuva 1). Data kerättiin väliltä 300–2300  $\text{cm}^{-1}$ . Laserin aaltoluku oli 15798  $\text{cm}^{-1}$  eli 633 nm, käytössä oli diodilaser. Raman-spektrometrissä mittausten aikana käytössä oli pusseille tarkoitettu mittapää (kuva 2, vasemmalla).

Mittaus aloitettiin kirjoittamalla laitteeseen näytetietoina tuotteen kauppanimi sekä yksilöllinen numerokoodi. Lisäksi lisättiin vapaaehtoiset viivakooditiedot, jotka pystyttiin lukemaan laitteen viivakoodinlukijalla. Lisäksi lisättiin toinen yksilöllinen numero koodaus sekä pakkaustieto, joko pussi (bag) tai näytepullo (vial). Menetelmää kehitettiin toistaiseksi vain kiinteille aineille, joten kohtaan merkittiin aina ”bag”. Näytteen nimeämisen jälkeen laitteen laser kytkettiin päälle ja näyte pussi sijoitettiin mittapäätä vasten (kuva 3).



KUVA 3. Mittauksen suoritus

Näytteestä riippuen mittaus kesti sekunneista pariin minuuttiin. Mittauksen jälkeen valmis spektri avautui laitteen näytölle. Jos yksittäiset piikit eivät erottuneet spektrissä suoritettiin uusinta mittaus, muussa tapauksessa siirryttiin seuraavaan näytteeseen. Tummillä aineilla valittiin kirjastoon kahdesta mittauksesta parempi spektri, vaikka piikit eivät olisi kunnolla erottuneet.

### 3.3.2 Sähköisen kirjaston luominen

Sähköinen spektrikirjasto luotiin laitevalmistajan OPUS 8.2-tietokoneohjelmalla, joka on tullut laitteen mukana. Bravo- laite kytkettiin sille tarkoitettuun telakkaan (kuva 4), joka oli yhdistetty kaapelilla tietokoneeseen. Ohjelman avulla siirrettiin mitatut näytespektrit tietokoneelle.



KUVA 4. Raman tietokonetelakassa

OPUS-ohjelmassa luotiin näytekirjasto, jolle annettiin nimi, sekä tiedot miltä aallonpituus väliltä spektrien tiedot kerätään. Lisäksi valittiin, mitä tietoja näytteitä halutaan kirjata ylös. Kirjastoon liitettiin mitatut näytteet, jonka jälkeen kirjasto siirrettiin takaisin laitteelle.

Lähetetty kirjasto asetettiin Bravo- laitteella mittausten vertailu kirjastoksi. Tämän jälkeen laite oli valmiina virallisia mittauksia varten. Laitteen toiminta kykyä mitattiin muutamalla vanhalla näytteellä, jotta nähtiin, toimiiko laite oikein ja minkälaista dataa laite antaa tunnistusmittauksen jälkeen.



### 3.4 Vertailumittausten suoritus

Vertailumittauksissa samat näytteen mitattiin sekä Bruker Bravo Handheld Raman-spektrometrillä (kuva 1), sekä Thermo Scientific Nicolet iS10 FTIR-spektrometrillä (kuva 5), jossa käytössä Smart iTX ATR-timantti mittapää. Mittauksista vertailtiin laitteiden antamia korrelaatioita. Korrelaatioista verrattiin ovatko ne yhdenmukaiset ja testattiin saavuttaako Raman-laite FTIR-laitteelle yrityksessä määritetyt raja-arvot.

Mittaus Raman-spektrometrillä suoritettiin valitsemalla laitteelta tunnistusmittaus (identification). Mittauksen jälkeen laite vertasi automaattisesti mittauksen spektriä laitteelle luodun näytekirjaston spektreihin. Menetelmässä oli kolme mahdollista tulosta: tunnistettu (identified), osumia löytyi (matches found) ja ei osumia (no matches).

Tunnistettu kohdassa näytteen spektri tunnistettiin ja se vastasi yhtä spektrikirjaston spektriä melkein täydellisesti, tällöin näyte sai korkean HQ-arvon. Tulos antoi kuitenkin listan referensseistä, joiden kanssa spektrillä oli yhtäläisyyksiä. Jotta tulos sai leiman "tunnistettu", täytyi HQ arvon olla yli 0,95 eli 95 %, ja näitä sai olla vain yksi.

Jos mittauksessa löytyi useampi referenssispektri, joiden HQ-arvo oli yli 95 % tai kaikki yhtäläisyyden olivat alle 95 % sai mittaus leiman "osumia löytyi". Laite ehdotti automaattisesti korkeimman HQ-arvon antaneen referenssin spektriä. Tässä tapauksessa piti tarkistaa, oliko ehdotettu aine sama, kuin mitattu aine, jos ei, selattiin osumalistalta (hit list) kyseisen aineen kohdalle ja katsottiin HQ-arvo. Jos HQ-arvo oli alle 95 % suoritettiin toistomittaus.

"Ei osumia" -leima tuli näytteille, joiden spektri ei vastannut mitään näytekirjaston referenssispektriä. Tässä tapauksessa varmistettiin, oliko kirjastoon ajettu kyseisellä näytteelle referenssiä, jos oli, suoritettiin toistomittaus ja jos referenssinäytettä ei ollut mitattu, mitattiin kyseinen näyte referenssiksi, jos näyte kuului hyväksytyihin raaka-aineisiin.



KUVA 5. Thermo Scientific Nicolet iS10 FTIR-spektrometri

FTIR-mittauksessa oli käytössä valmis menetelmä, johon oli automaattisesti asetettu mittauksen parametrit. Laitteella mitattiin aluksi taustaspektri, jonka jälkeen mitattiin varsinainen näytteen spektri. Joitakin näytteitä tuli käsitellä ennen mitausta murskaamalla näyte. Mittauksesta saaduista spektreistä tarkastettiin, että niissä erottuvat selkeästi piikit sekä katsottiin korrelaatiota verrattuna referenssispektriin. Tuloksen piti olla vähintään 0,95 eli 95 %. Joidenkin näytteiden kohdalla korrelaation oli ohjelman mukaan oltava korkeampi. Jos sitä ei saavutettu suoritettiin uusintamittaus.

### 3.5 Validoinnin suoritus

Validointi suoritettiin neljän viikon aikana erilaisille näytteille. Validoinnissa seurattiin tulosten toistettavuutta, toistotarkkuutta ja uusittavuutta. Validointiin valittiin viikoittain mahdollisimman erityyppisiä näytteitä, joita yritykseen sinä aikana saapui. Kolme validoinnin alussa mitattua ainetta mitattiin uudestaan viimeisellä viikolla, jotta nähtiin uusittavuutta, tämä kuitenkin vain lyhyen ajan uusittavuus.

Mittauksiin valitut aineet mitattiin rinnakkaisnäyttein 15 kertaa. Tuloksista seurattiin, kuinka moni toistoista ylitti hyväksymisrajan ja laskettiin tulosten keskiarvo, keskihajonta ja suhteellinen keskihajonta sekä toistettavuus. Mittaustuloksista saatettiin jättää tuloksia laskujen ulkopuolelle, jos oli selkeä syy, miksi tulos oli huomattavasti matalampi kuin muut tulokset.

Mittaukset suoritettiin samalla tavalla kuin vertailumittaukset, eli käytettiin laitteen tunnistus-mittaustoimintoa, joka antoi korrelaation, kun näytettä verrataan tunnetuihin referenssispektreihin. Mittauksessa näyte nimettiin ja asetettiin mittapään eteen aloittaen samalla mittaus. Jotta mittauksista saatiin vertailukelpoiset, asetettiin mittalaite pöydälle ja pussi tuetusti pöydälle mittapään eteen, jottei ilmassa kädessä pitäen tulisi mahdollisia virhelähteitä, kun pussi pääsee liikkumaan mittauksen aikana. Huoneen valaistus ja muut olosuhteet pyrittiin pitämään tasaisena kaikkina päivinä, kun validointi mittauksia suoritettiin.

Mittauksen tulokset kirjattiin ylös Excel-taulukkoon, josta tuloksista merkattiin ohitettavat tulokset ja laskettiin keskiarvo, keskihajonta, *RSD*-% ja toistettavuus. Validointi spektrit siirrettiin laitteelta tietokoneelle ja 15 rinnakkaisen mittauksen spektrejä vertailtiin.

### **3.6 Työohjeen luominen**

Työohje luotiin yrityksen laiteohjeiden kanssa samalla kaavalla. Työohje sisälsi mittauksen tarkoituksen, laajuuden ja vastuut sekä tiedot mittaukseen käytettävistä laitteista, välineistä ja reagensseista. Työohjeessa kerrottiin työn vaatima työturvallisuus, työn suoritus sekä tulosten laskeminen, tulkinta ja kirjaaminen. Lisäksi työohjeessa selostettiin välineiden puhdistaminen sekä menetelmän validointi.

Työohje perustui pitkälti laitteenvalmistajan laiteohjeeseen, jonka pohjalta kirjoitettiin suomeksi yksinkertaistettu versio kohta kohdalta, miten mittaus suoritetaan. Työohjeessa käsiteltiin sekä referenssi näytteiden mittaaminen sekä vastaanottonäytteiden mittaaminen sekä kirjaston luominen ja näytetietojen siirtäminen laitteelta toiselle.

Työohje laadittiin vastaamaan yrityksen tarpeita ja pidettiin tiiviinä. Työn kannalta tarvittavat tulokset saatiin laitteelta suoraan, joten tulosten laskeminen laskeminen jäi pois ohjeesta, mutta tulosten muu käsittely ohjeesta löytyy. Tarvittaessa tulokset voidaan siirtää koneelle ja käsitellä, mutta tämä ei ole tarpeellista yrityksessä. Tuloksista saadaan näkyville tarvittaessa myös mittausten spektrit rinnakkain, jolloin silmämääräisesti voidaan vertailla spektrejä ja niiden piikkien yhden mukaisuutta, tästä kirjattiin erillinen maininta ohjeeseen, sillä spektrit eivät tule näkyviin automaattisesti tunnistusmittauksen jälkeen.

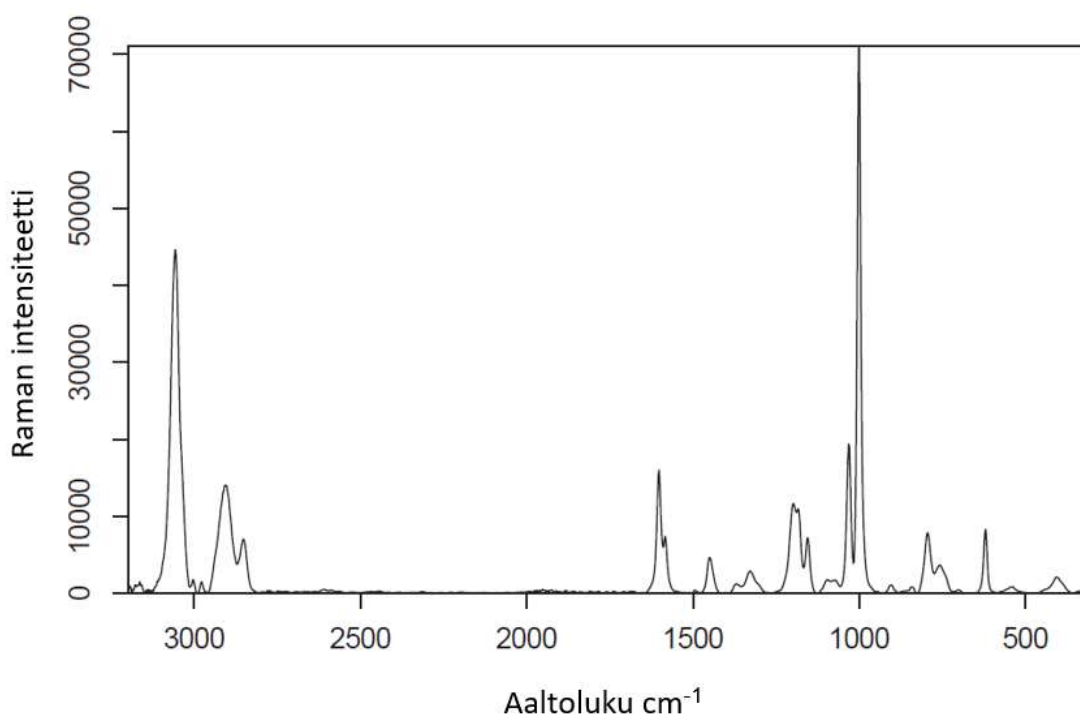
Työohjeeseen liitettiin mukaan validointien tulokset taulukoituna, jotta nähtiin menetelmän toimivuus näytteille ja jatkossa yrityksessä voidaan jatkaa uusittavuuden validointia pidemmällä aikavälillä. Tuloksia voidaan hyödyntää uusien näytteiden kohdalla, sillä saman kaltaisten näytteiden pitäisi antaa samankaltaisia tuloksia.

## 4 TULOKSET JA NIIDEN TARKASTELO

### 4.1 Validointiohjelman testien tulokset

OVP-testeistä OQ-testi suoritettiin opinnäytetyön alussa kerran. Tuloksia ei saatu ensimmäisellä mittauksella läpi ja selvisi, että yhteen mittaukseen käytetään kalsiitti standardia. Koska kalsiitti standardia ei ollut käytössä, poistettiin spektrin resoluution -testi mittauksesta, jonka jälkeen tulokset olivat hyväksyttävät.

PQ-testi ajettiin joka maanantai. Tulokset menivät, joko ensimmäisellä tai toisella kerralla läpi. Usein syynä miksi testi ei mennyt läpi oli, että laser oli unohtunut painaa päälle ennen mittauksen aloitusta. Toinen syy oli, että laite yritti tallentaa spektrin väärään kirjastoon, jolloin laite antoi myös hylätyn tuloksen. PQ-testin polystyreenistandardin kuvaaja nähtävillä kuviossa 5.



KUVIO 5. Polystyreenistandardi

Kuviosta 5 havaitaan, että polystyreenin piikit ovat erottuneet selkeästi. Kuviossa havaintaan polystyreenille tyypilliset funktionaaliset ryhmät: 3057 cm<sup>-1</sup>: aromaattinen CH-venytys, 2852 cm<sup>-1</sup>: alifaattinen CH-venytys, 1602 cm<sup>-1</sup> rengasra-

kenne,  $1582\text{ cm}^{-1}$ : C-C-kaksoissidos,  $1450\text{ cm}^{-1}$ :  $\text{CH}_2$  -ryhmä,  $1155\text{ cm}^{-1}$ : C-C-sidos,  $1031\text{ cm}^{-1}$ : C-H-sidos,  $1001\text{ cm}^{-1}$ : rengasrakenne,  $795\text{ cm}^{-1}$ : C-H sidos ja  $621\text{ cm}^{-1}$ : rengasrakenne.

## 4.2 Näytekirjasto

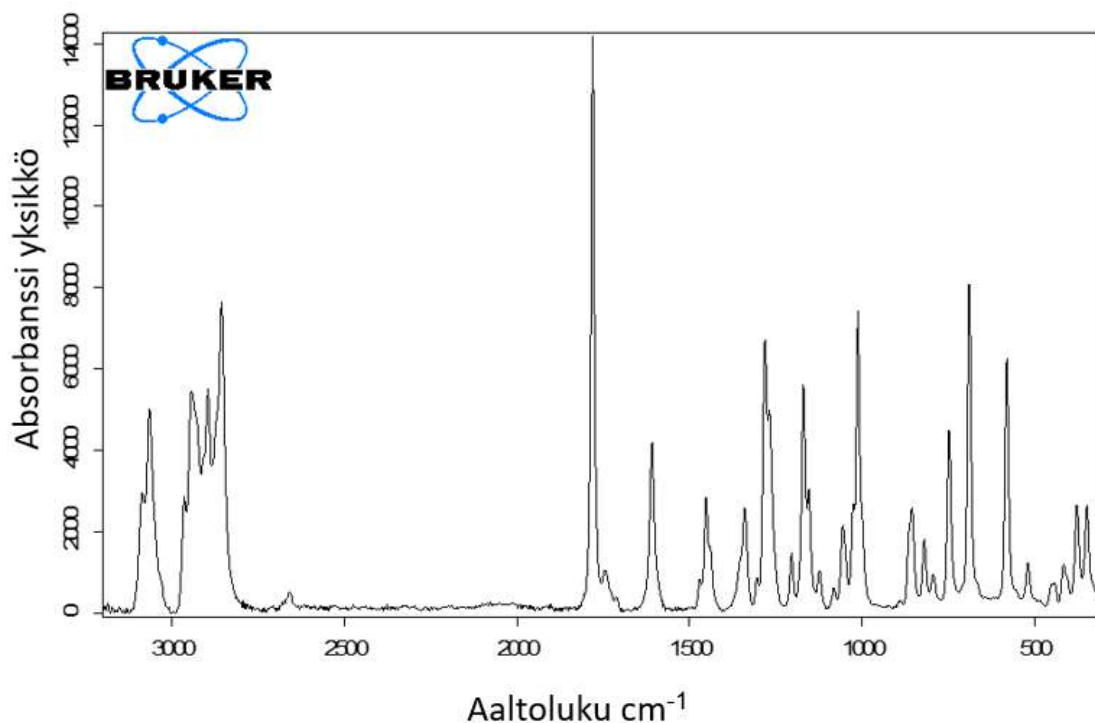
Näytekirjastoon saatiin ajettua 73 näytettä. Vaaleista näytteistä tuli kunnolliset spektrit, joissa näytteen eri tunnistus piikit erottuivat selkeästi ja pohja viiva oli tasainen. Tummissa näytteistä tuli pääsääntöisesti huonot spektrit, joissa piikit eivät erottuneet tai pohja viiva oli noussut. Esimerkki näytteet tummasta ja vaaleasta näytteestä kuvassa 6.



KUVA 6. Tumma ja vaalea esimerkki näyte

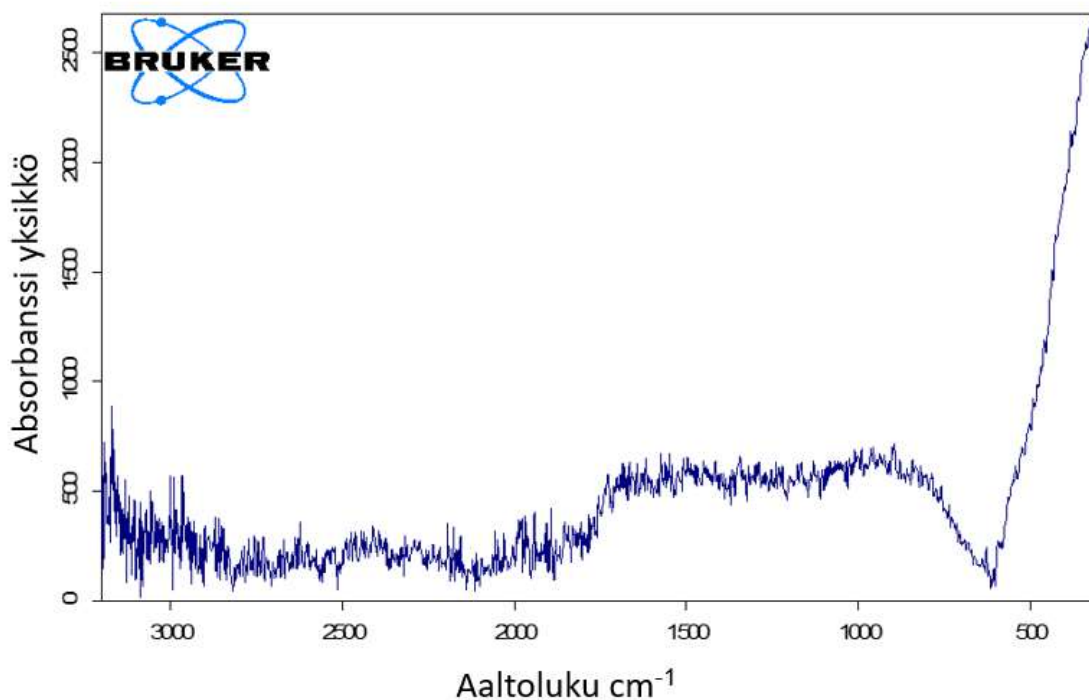
Näytteistä 62 antoi laitteella kunnollisen vasteen ja näin ollen kunnollisen spektrin, esimerkki vaalean näytteen spektristä kuviossa 6. Näytteistä 11 antoi huonon tai kohtalaisen vasteen, joten spektrin piikit eivät erottuneet selkeästi, tästä esimerkki kuviossa 7. Tummat näytteet pidettiin mukana vertailu mittauksissa ja validoinnissa, jotta saatiin dataa, kuinka sopiva menetelmä on kyseisille näytteille.

Yksi hyväksytty raaka-aine jätettiin kokonaan mittausten ulkopuolelle, sillä kyseinen näyte vaati värillisen pussin ja oli muutenkin vaarallista hengitettynä. Kyseisestä aineesta oli poistettu myös FTIR-mittaus.



KUVIO 6. Vaalean näytteen spektri

Kuviossa 6 havaitaan, että piikit ovat erottuneet selkeästi ja häiriön tekijöitä mitauksessa ei ole ollut. Myös spektrin pohjaviiva on kohtalaisen suora. Tämä teki spektristä hyvän. Useimmissa mitatuissa näytteissä spektri oli kyseistä spektriä vastaava. Piikkien erottuminen on menetelmän kannalta olennaista, jotta näytteet tunnistetaan oikein. Jos piikit eivät erotu selkeästi saattaa laite tunnistaa näytteen väärin.



KUVIO 7. Tumman näytteen spektri

Kuviossa 7 spektrin piikit eivät ole kunnolla erottuneet, joten spektri on huono tunnistuksen kannalta. Tämä voi johtua siitä, että näytteellä on korkea fluoresenssi, joka on mittauksen häiritsevä tekijä ja peittää alleen sironnan muodostamat piikit, toinen mahdollinen syy huonolle erottuvuudelle voi olla, ettei tummasta aineesta tullut tarpeeksi sirontaa detektorille. Suurin osa tummista näytteistä antoi kyseisen kuvion mukaisen spektrin, mutta muutamalla näytteellä spektri oli jotain kuvioiden 6 ja 7 väliltä, ja tästä syystä olivat kohtalaisia. Mahdolliset mitausolosuhteiden muutokset voisivat vaikuttaa näiden näytteiden spektrien kuntoon. Tästä lisää pohdinnassa.

Vaikka tummille näytteille tuli huonommat spektrit referensseiksi, kirjaston testaus vaiheessa huomattiin, että laite silti tunnistaa kyseiset näytteet oikein, vaikka korrelaatio oli välillä huomattavasti normaalia tasoa matalampi. Tarkempaa tutkimista suoritettiin työn vertailu- ja validointi mittauksissa.



### 4.3 Vertailumittausten tulokset

Vertailumittauksia tehtiin yritykselle saapuneista raaka-aineista, jotta yritys sai haluamansa datan mittausmenetelmien yhdenmukaisuudesta. Opinnäytetyöhön valittiin yksittäisiä näytteitä, joita käsitellään tuloksissa. Kaikki vertailumittausten tulokset ovat nähtävillä taulukossa 9, liitteessä 2. Taulukossa on esitelty FTIR-menetelmän korrelaatio ja Raman-menetelmän HQ- arvo, joka vastaa korrelaatiota, mutta on nimetty eri tavalla. Molemmat arvot on muutettu prosentteihin ja ovat verrattavissa toisiinsa. Vertailumittauksen esimerkki näytteet, joita käsitellään tuloksissa tarkemmin, on jaoteltu ryhmiin ulkonäön perusteella. Jokaisessa ryhmässä on neljä ainetta.

Liitteessä 2 olevaan taulukkoon 9 on väritetty ruutu sen menetelmän kohdalle, joka antoi kyseisen aineen mittauksen kohdalla korkeamman tuloksen, eli kumman vaste oli parempi. Kohdissa, joissa lukema on punaisella, arvo on jäänyt alle hyväksymisrajan. Joissakin ruuduissa on kaksi tulosta, näissä tapauksissa ensimmäinen arvo on jäänyt raja-arvon alapuolelle, joten on suoritettu rinnakkainen uusintamittaus.

Taulukossa 1 on kuvattu vaaleiden näytteiden vertailumittausten tulokset. Taulukosta löytyy näytteen väri sekä FTIR- ja Raman-spektrometrin antamat korrelaatiot. Vaaleiden näytteiden tuli ylittää 95 % raja-arvo, yksittäisillä aineilla oli korkeammat rajat.

TAULUKKO 1. Vertailumittaukset: vaaleat näytteet

Näyte	Väri	FTIR	Raman
näyte 1	vaalean keller- tävä	95,91	99,55
näyte 2	kermanvalkoinen matta	96,37	99,93
näyte 3	vaalean keller- tävä	97,76	99,31
näyte 4	valkoinen	-	96,70

Taulukosta 1 havaitaan, että vaaleat aineet antavat systemaattisesti Raman-spektrometrillä korkeampaa tulosta. Tämä oli myös huomattavissa muissa vaaleissa näytteissä, jotka mitattiin työn aikana, tulokset taulukossa 9, liitteessä 2. Näytteestä 4 oli poistettu FTIR-mittaus sen huonon vasteen takia eli sen korrelaatio jäi FTIR-mittauksessa alle 50 %. Havaittiin, että Raman-menetelmässä myös näyte 4 sai hyvän tuloksen. Yleisesti yrityksessä FTIR- menetelmien alhaisin raja-arvo oli 95 % ja näytteen 4 Raman-mittauksen tulos menee tämän rajan yli.

Taulukossa 2 on havainnollistettu värillisten näytteiden vertailumittausten tuloksia. Taulukkoon on merkattu korrelaation sekä FTIR- että Raman-spektrometriltä. Osassa näytteistä ei ole tulosta FTIR mittauksessa, sillä näytettä ei mitata kyseisellä laitteella. Näytteiden tuli ylittää 95 % raja-arvo.

TAULUKKO 2. Vertailumittaukset: värilliset näytteet

Näyte	Väri	FTIR (%)	Raman (%)
näyte 5	keltainen	49,16 / 44,74	99,95
näyte 6	keltainen	-	99,49
näyte 7	kirikkaan vaalean sininen	98,21	99,78
näyte 8	vaaleanpunainen	97,44	98,68

Taulukosta 2 havaitaan näytteen 5 tuloksen olevan punaisella FTIR-mittauksen kohdalla. Tämä tarkoittaa, että tulos on jäänyt alle yrityksessä määritetyn raja-arvon ja tulos on mitattu uudelleen, mutta uusinta on myös jäänyt rajan alle. Huomataan myös, että FTIR- ja Raman-menetelmien tuloksilla on yli 50 prosenttiyksikön ero. Näyte on siis soveltuvampi Raman menetelmälle. Kyseinen näyte 5 sekä näyte 6 on yrityksessä poistettu FTIR-mittauksesta niiden huonojen vasteiden takia. Näytteissä ei erotu näytekomenttien piikit vaan näytteisiin lisätty öljy, ja tästä syystä ne eivät erotu FTIR-menetelmässä toisistaan. Kokonaisuutena Raman-spektrometri antaa korkeampaa vastetta värillisille näytteille kuin FTIR-spektrometri.

Taulukko 3 esittää FTIR- ja Raman-spektrometrin vertailumittausten korrelaatioita tummien näytteiden osalta. Kaksi tulosta taulukossa ovat rinnakkaismittauksia, jotka suoritettiin, jos näyte ei läpäissyt ensimmäisellä mittauksella raja-arvoa. Tummiin näytteiden tuli ylittää 95 %.

TAULUKKO 3. Vertailumittaukset: tummat näytteet

Näyte	Väri	FTIR	Raman
näyte 9	kellertävän ruskea läpikuultava	94,65 / 95,26	99,55
näyte 10	punertavan ruskea läpikuultava	99,67	70,80
näyte 11	tumman vihertävä harmaa	94,41 / 93,46	76,52 / 88,58
näyte 12	tummanruskea	99,39	91,25 / 98,54

Taulukosta 3 havaitaan osan tummista näytteistä antavan huonompaa korrelaatiota Raman-spektrometrillä. Ongelmia tummiin näytteiden osalta on myös FTIR-menetelmässä, kuten näytteellä 11, alkuperäinen mittaus sekä uusintamittaus ovat jääneet raja-arvon alapuolelle. Tulokset pysyvät kuitenkin yli 50 %. Tummiin näytteiden kohdalla kaikki taulukon punaiset arvot ovat jääneet raja-arvojen alle. Tummiin näytteiden osalta taulukosta 3, havaitaan, että menetelmien tuloksissa on yhdenmukaisuutta. Yleisesti ottaen, kun FTIR-menetelmän tulos on alhaisempi kuin monella muulla näytteellä on myös Raman-menetelmän tulos alhaisempi. Raman tulokset pysyvät kuitenkin tarpeeksi korkealla, jotta näytteitä voidaan mitata kyseisellä menetelmällä.

#### 4.4 Validoinnin tulokset

Validointia suoritettiin erityyppisille aineille toistettavuuden ja toistotarkkuuden osalta. Kolme alussa mitattua ainetta mitattiin uudestaan viimeisellä viikolla, jotta saatiin kuvaa uusittavuudesta. Mitatut aineet on jaettu kolmeen ryhmään: 1. vaaleat näytteet, 2. värilliset näytteet ja 3. tummat näytteet. Jokaisesta ryhmästä on luotu oma taulukko 4–6. Uusittavuudelle tehtiin erillinen taulukko 7. Mittausten

kaikki taulukot, jotka näyttävät yksittäiset mittaustulokset sekä keskiarvot, keskihajonnat, *RSD*-% ja toistettavuudet ovat nähtävillä liitteissä 3–5, joissa taulukot 10–12. Näytteet ovat samat kuin vertailumittausten tuloksissa näkyvät näytteet. Validointiin valittiin mukaan näytteitä, joilta on poistettu FTIR-mittaus sen antaman huonon vasteen takia. Vertailumittauksissa huomattiin näiden antavan kunnollista vastetta Raman-spektrometrillä, joten validointi haluttiin suorittaa myös tällaisten aineiden osalta. Jos validointiin valitusta näytteestä tuli useampi erä opinnäytetyön aikana, validointi suoritettiin ensimmäisestä erästä. Poikkeuksena on näyte 6, joka lisättiin laitteelle ensimmäisen erän yhteydessä ja validointi suoritettiin toisesta erästä.

Taulukossa 4 esitetään vaaleiden näytteiden toistettavuutta ja toistotarkkuutta. Validoinnissa *RSD*-% eli toistotarkkuus saa olla enimmillään 15 %, että tulos on hyväksyttävä. Alle 10 % tulosta pidetään hyvänä. Samat raja-arvot pätevät toistettavuuden kohdalla. Kuitenkin tavoitellaan mahdollisimman pientä arvoa. (De Bièvre & Günzler 2005.)

Taulukossa 4, toistettavuus on laskettu kaavalla 5, keskihajonta laskuihin on taulukosta 10, liitteestä 3.

$$r = 2 \cdot \sqrt{2} \cdot 1,24501313,$$

$$r = 3,521428906$$

Suhteellinen keskihajonta *RSD*-% on laskettu kaavalla 6, keskiarvo ja keskihajonta ovat taulukosta 10, liitteestä 3.

$$RSD = \frac{1,24501313}{98,159231} \cdot 100 \%,$$

$$RSD = 1,268361$$

Taulukon 4 tulokset on laskettu kaavoilla 5 ja 6, esimerkki laskujen mukaisesti. Keskiarvo ja keskihajonta laskettiin suoraan Excel-ohjelman kaavoilla.

TAULUKKO 4. Vaaleiden näytteiden toistettavuus ja toistotarkkuus

Näyte	Väri	Toistettavuus	Toistotarkkuus (%)
näyte 1	vaalean keller-tävä	3,52	1,27
näyte 2	kermanvalkoinen matta	0,27	0,09
näyte 3	vaalean keller-tävä	0,21	0,07
näyte 4	valkoinen	5,84	2,20

Taulukon 4 mukaan vaaleiden näytteiden tulokset poikkeavat toisistaan, osa vaaleista näytteistä antoi tuloksen, joka oli alle 1, mutta osassa tulos oli korkeampi (näyte 1 ja näyte 4). Samojen näytteiden laskuista jätettiin yksittäisiä huomattavasti alempia arvoja pois, sillä mittauksen aikana pussi pääsi liikkumaan ja siitä seurasi matalampi tulos. Laskuista poistetut tulokset ovat merkattu punaisella liitteestä 3 löytyvään taulukkoon 10.

Taulukossa 5 esitetään värillisten näytteiden antamat toistettavuuden ja toistotarkkuuden arvot. Taulukossa on myös esitetty, minkä värisestä näytteestä on kyse.

TAULUKKO 5. Värillisten näytteiden toistettavuus ja toistotarkkuus

Näyte	Väri	Toistettavuus	Toistotarkkuus (%)
näyte 5	kirikkaan keltainen	0,33	0,12
näyte 6	kirikkaan keltainen	0,16	0,06
näyte 7	kirikkaan vaalean-sininen	0,26	0,09
näyte 8	vaaleanpunainen	5,05	1,83

Taulukon 5 tulokset on laskettu kaavoilla 5 ja 6. Keskiarvo ja keskihajonta laskuja varten on otettu taulukosta 11, liitteestä 4. Taulukosta 5, havaitaan, että värilliset aineet antoivat validoinnissa alle 1 arvoja. Linja on nähtävissä kaikilla mitatuilla

värillisillä näytteillä sekä toistettavuuden että toistotarkkuuden osalta. Poikkeuksena näyte 8, joka antoi korkeampaa tulosta. Kuitenkin kyseiset arvot ovat toistettavuuteen nähden matalia.

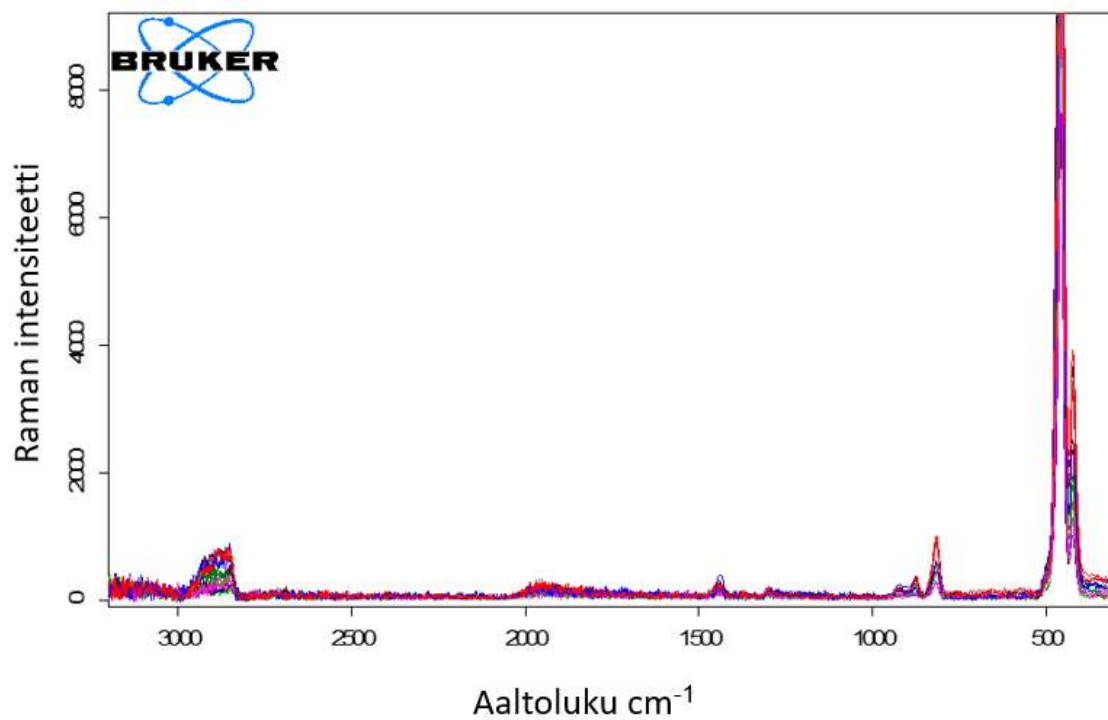
Taulukossa 6 esitetään tummien näytteiden toistettavuuden ja toistotarkkuuden tulokset. Taulukossa on kerrottu näytteen väri, jolla on olennainen osa tummien näytteiden kohdalla, jolloin valo siroaa huonommin näytteestä.

TAULUKKO 6. Tummien näytteiden toistettavuus ja toistotarkkuus

Näyte	Väri	Toistettavuus	Toistotarkkuus (%)
näyte 9	keltaruskea	0,50	0,18
näyte 10	punertavan ruskea	5,98	3,09
näyte 11	tumman vihertävän harmaa	5,99	2,38
näyte 12	tummanruskea	6,59	2,45

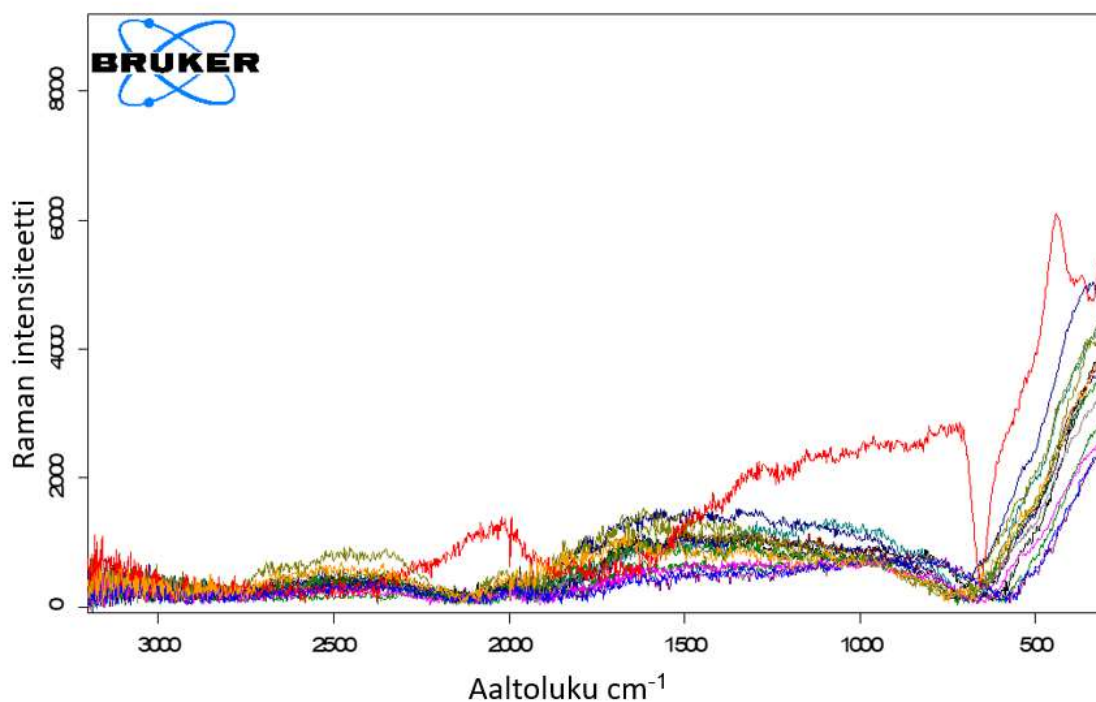
Taulukon 6 tulokset on laskettu liitteen 5, taulukon 12 tulosten perusteella kaavoilla 5 ja 6. Taulukon 6 tuloksista havaitaan toistettavuuden ja toistotarkkuuden saavan korkeampia arvoja kuin vaaleilla ja värillisillä näytteillä. Näytteen 9 arvot olivat matalammat todennäköisesti, koska näyte oli vaaleampi kuin muut tummat näytteet, mutta meni värinsä puolesta silti tummien näytteiden ryhmään. Samasta näytteestä poistettiin myös yksi mittatulos, sillä spektri oli huomattavasti erilainen kuin muiden rinnakkaisnäytteiden spektrit, vaikka tulos ei poikennut paljoa.

Toistettavuutta ja toistotarkkuutta kuvaamaan otettiin parhaan toistettavuuden ja huonoimman toistettavuuden saaneet aineet ja niistä muodostettiin kuviot 8 ja 9. Kuvioihin on laitettu jokaisen viidentoista rinnakkaisen mittauksen spektrit samaan kuvaajaan. Mitä yhdenmukaisempia spektrit ovat sitä parempi on toistettavuus ja toistotarkkuus.



KUVIO 8. Paras toistettavuus ja toistotarkkuus

Kuviossa 8 havainnollistetaan parasta toistettavuutta ja toistotarkkuutta. Kuviossa kaikkien 15 rinnakkaismittauksen spektrit ovat lähellä toisiaan, suurin muutos spektrien välillä on piikkien korkeudessa, mutta sivu suunnassa spektrit ovat kohdakkain.



KUVIO 9. Huonoin toistettavuus ja toistotarkkuus

Kuviosta 9 havaitaan toistomittausten spektrien eroavan toisistaan. Suurin ero spektrien välillä on piikkien korkeuksissa. Piikkien korkeuksien erot menevät lukemiltaan suuriksi. Tämä aiheuttaa myös laskennallisesti suuremman toistettavuuden ja toistotarkkuuden arvot. Kuviosta havaitaan myös, että yksi mittaus on antanut erilaisen spektrin kuin muut mittaukset. Tässä tapauksessa pussi on mahdollisesti päässyt liikkumaan. Kyseisen mittauksen tulokset poistettiin laskuista.

Uusittavuus mitattiin kolmelle näytteelle, jotka olivat tulleet ensimmäisten viikkojen aikana. Mittaukseen valittiin yksi kutakin ryhmää, vaaleita näytteistä näyte 1, värillisistä näytteistä näyte 5 ja tummista näytteistä näyte 10. Uusittavuutta varten laskettiin toistettavuuksien keskihajonta. Uusittavuuden laskua varten tulokset on otettu taulukosta 13, liitteestä 6. Liitteen 6 taulukosta 13 löytyy myös kaikki väliarvot, joita on käytetty toistettavuuksien laskentaan. Uusittavuudessa pyritään mahdollisimman matalaan arvoon, mutta arvo saa olla isompi kuin toistettavuuden arvo. Uusittavuudessa arvo yritetään saada alle 15.



TAULUKKO 7. Uusittavuuden tulokset

Näyte	Toistettavuuksien keskihajonta
näyte 1	0,27
näyte 5	0,19
näyte 10	1,25

Taulukosta 7, havaitaan kahden eri mittauskerran toistettavuuksien keskihajonnan olevan pieni. Tarkastellessa liitteen 6 taulukkoa 13 havaitaan kaikkien arvojen olevan yhdenmukaisia näytettä kohden riippumatta siitä, milloin mittaukset olivat tehty. Myös keskihajonnat, *RSD*-% ja toistettavuudet olivat uusinnan mittauksessa yhdenmukaisia alkuperäisiin mittauksiin.

## 5 POHDINTA

Opinnäytetyössä tavoitteena oli luoda toimiva menetelmä Raman-spektrometrille ja työohje mittauksesta. Tarkoituksena oli mitata referenssinäytteitä ja luoda niistä sähköinen kirjasto, johon varsinaisten mittausten tuloksia verrataan. Menetelmälle tuli tehdä validointi sovittujen parametrien osalta.

Näytekirjasto saatiin luotua tarkoituksen mukaisesti kaikista kiinteistä hyväksytyistä raaka-aineista. Näytekirjasto toimi hyvin kaikilla opinnäytetyönäikana mitatuilla aineilla. Laite tunnisti kaikki aineet oikein, vaikka välillä korrelaatio jäi alle FTIR-menetelmälle käytetyn raja-arvon. Validoinnissa havaittiin, että kyseiset aineet pysyvät keskenään samalla tasolla, joten ne saatiin validoitua. Menetelmä voitaisiin ottaa käyttöön, jos kyseisten aineiden korrelaation raja-arvoja laskettaisiin kyseisille aineille sopivalle tasolle.

Tarkoitukseen liittyvät vertailu mittaukset suoritettiin kaikista opinnäytetyönäikana tulleista kiinteistä hyväksytyistä raaka-aineista ja havaittiin, että Raman-spektrometrin korrelaatio on suurimmassa osasta näytteistä korkeampi kuin FTIR-spektrometrilla. Tuloksissa oli myös havaittavissa tulosten yhdenmukaisuutta. Vanhalla FTIR-menetelmällä matalamman rajan omaavat näytteet saivat usein myös Raman-spektrometrillä hieman matalampia arvoja kuin muut näytteet. Tulosten pohjalta voidaan kuitenkin sanoa Raman-spektrometrin antavan herkemmin vasteen ja menetelmän sopivan paremmin raaka-aineiden vastaanottotarkastuksiin. Ramanin käyttöä tukee myös pienempi altistumisriski, sillä näytteet voidaan ajaa läpinäkyvissä pusseissa sekä työvaiheiden vähyys, sillä näytettä ei tarvitse käsitellä eikä laitetta puhdistaa näytteiden välissä.

Laitteelle saatiin luotua myös työohje, jonka avulla kuka tahansa laboratorion henkilökunnasta voi käyttää kyseistä laitetta. Tarvittaessa samaa ohjetta voidaan laajentaa käyttöön muuallakin tehtaalla, jos hankitaan samanlainen laite. Työohjeen avulla pidettiin laitteen käyttökoulutus laboratorion henkilökunnalle.

Validoinnin osalta menetelmä saatiin validoitua hyvin niillä parametreilla ja näytteillä, joita opinnäytetyöhön valittiin. Opinnäytetyön toimeksiantaja velvoitti mittaamaan vain toistettavuuden, mutta työtä tehdessä koettiin tarpeelliseksi myös mitata toistotarkkuus ja uusittavuus, jotta laitteesta saataisiin mahdollisimman paljon dataa sekä voitaisiin varmistua laitteen toimivuudesta kyseisille näytteille. Laitteelle ei voitu määrittää mittausaluetta tai raja-arvoja, sillä laitteella ei määritetä pitoisuuksia.

Validoinnissa *RSD*-% saa enimmillään olla 15 %, mutta suositeltavaa on alle 10 % arvo, jotta tulos on hyvä. Mitä lähempänä tulos on nollaa, sitä parempi on toistotarkkuus. (De Bièvre & Günzler 2005.) Kaikki saadut validoinnin tulokset menivät rajojen sisälle. Suurin *RSD*-%, joka tuloksista saatiin, oli alle 2,45 %, ja muut huomattavasti alempia. Suurin osa tuloksista oli alle 1 %, joten toistotarkkuuden voidaan sanoa olleen mittauksessa hyvä. Toistotarkkuuden lisäksi toistettavuudesta saatiin matalia arvoja, jotka kertovat hyvästä toistettavuudesta. Toistettavuuden korkein arvo validoinnissa oli 6,59. Tummiin näytteiden osalta validointi onnistui myös alle raja-arvon 10, joka oli merkittävä tulos, sillä opinnäytetyön alussa arveltiin, etteivät tummat näytteet välttämättä sovellu menetelmään. Tämä kuitenkin osoitettiin vääräksi ja menetelmä sopii kyseisen yrityksen tummien raaka-aineiden vastaanottoon yhtä hyvin kuin vaaleiden ja värillisten näytteiden. Toistettavuus mittauksessa näytteen 8 kohdalla mittaus kesti, joka saattoi vaikuttaa tuloksiin. Kokonaisvaltaisesti, jos mittaus kesti pidemmän aikaa tuli usein matalampi tulos, joissakin tapauksissa pussi pääsi liikkumaan pidemmän mittauksen aikana. Tämä vaikuttaa laskevasti tulokseen.

Uusittavuuden tuloksissa havaittiin yhdenmukaisuutta opinnäytetyön alussa ja opinnäytetyön lopussa mitattujen arvojen välillä. Uusittavuuden voidaan sanoa olevan hyvä kyseisillä tuloksilla, sillä tulokset pysyivät samassa luokassa toistettavuuden arvojen kanssa. Tulosten mittaamisen välillä oli vain 5 viikkoa, joten tulokset eivät ole täysin tarkkoja uusittavuuden osalta, sillä uusittavuutta saman laboratorion kohdalla mitataan usein pitkällä aikavälillä. Tästä syystä uusittavuus mittauksia tulisi jatkaa tulevaisuudessa, jotta voidaan varmistaa menetelmän uusittavuus. Jos uusittavuutta mitataan tulevaisuudessa, olisi myös hyvä, että työn suorittaa toinen henkilö, jolloin saadaan tietoa tuloksien yhdenmukaisuudesta, vaikka työntekijä muuttuu.

Yrityksellä on käytössä hyväksytyjen kiinteiden raaka-aineiden lisäksi myös koetuotteita ja hyväksytyjä nestemäisiä raaka-aineita. Kehityskohteenä on jatkaa kirjaston laajentamista näihin. Nestemäiset näytteet mitataan mittapulloissa eri mittapäällä. Jatkossa näytekirjasto voidaan laajentaa tapauksissa, joissa yritykselle tulee uusia hyväksytyjä raaka-aineita tai uusia pakkauskokoja, jotka vaativat uuden numeron lisäämisen tunnistustietoihin. Kannattaa miettiä laitteen siirtoa saapuvien tavaroiden varastoon. Silloin mittaus voitaisiin suorittaa suoraan paketista, ilman että vastaanotto näytettä tarvitsee kuljettaa laboratorioon kyseistä mittausta varten. Tämä mahdollistaisi nopeamman tuloksen saannin ja mahdolliset väärät näytteet saataisiin kiinni jo tavarain saapuessa. Tämä on mahdollista, sillä laite on käsikäyttöinen ja latautuu telakassa, joka ei vie paljoa tilaa.

Myös Raman-spektrometrin mittaolosuhteita voidaan kehittää. Raman-menetelmässä virhelähdettä voi tuoda mittaushuoneen valoisuus, sillä näkyvävalo koostuu myös sähkömagneettisesta säteilystä. Suositeltavaa olisikin, että mittaus suoritettaisiin hämärässä, varsinkin tummien näytteiden kohdalla. (Vandenabeele & Ando 2013.) Raman-spektrometri voitaisiin mahdollisesti siirtää laboratorion normaalivalaistusta tilasta tilaan, jossa valaistusta voisi pitää himmeämmällä. Tästä voitaisiin myös tehdä testejä, onko kyseisellä asialla merkittävää vaikutusta mittauksiin yrityksessä.

Vertailumittausten perusteella näytteet 5 ja 6 voitaisiin palauttaa spektrometria pohjaiseen mittaukseen, sillä Raman-spektrometri antoi kyseisille aineille yli 99 % korrelaation, vaikka FTIR antoi huomattavasti matalampia arvoja, joten kyseiset näytteet voitaisiin jatkossa mitata Raman-spektrometrillä. Kyseiset aineet tunnistetaan tällä hetkellä DSC:llä eli differentiaalisella pyyhkäisykalorimetri menetelmällä, joka vie huomattavasti enemmän aikaa eikä muiden näytteiden vastaanottotarkastuksia tehdä kyseisellä laitteella. Myös näyte 4 voitaisiin mitata Raman-spektrometrillä, sillä se antoi yli 95 % korrelaation.

Menetelmään olisi hyvä luoda omat raja-arvot, näihin voitaisiin ottaa suuntaa vertailumittausten ja validoinnin tuloksista. Osassa tummissa näytteissä FTIR-menetelmän raja-arvoa tulisi hieman laskea, jotta tulokset menisivät rajoihin, sillä validoinnissa huomattiin, että tulokset tulevat aina samalle alueelle. Joidenkin

vaaleiden ja värillisten kohdalla rajaa voitaisiin nostaa, sillä näytteet saivat korkeampaa korrelaatiota Raman-laitteella kuin FTIR-laitteella.

Opinnäytetyön tavoitteen voidaan sanoa täyttyneen, koska referenssinäytteitä mittaamalla saatiin luotua kirjasto, jota käytettiin vertailukirjastona. Lisäksi Raman-menetelmää saatiin verrattua FTIR-menetelmään ja havaittiin menetelmien tulosten yhdenmukaisuus. Menetelmä saatiin validoitua sovittujen parametrien osalta ja menetelmälle kirjoitettiin toimiva työohje, jonka mukaan pidettiin käyttökoulutus henkilökunnalle. Yritys tekee oman päätöksensä, siirretäänkö vastaanottomittaukset suoraan Raman-spektrometrilla mitattavaksi vai jatketaanko vertailumittauksia Raman- ja FTIR-menetelmien välillä vielä pidempään. Tulokset viittaavat, että Raman-spektrometri antaa korkeampaa vastetta suurimmalle osalle yrityksen raaka-aineista. Raman-laite poistaa työvaiheita ja sillä on parempi työturvallisuus, sillä näytepusseja ei tarvitse avata. Nämä tukevat Raman-laitteen käyttöönottoa.

## LÄHTEET

ASTM E1840. 2014. Standard Guide for Raman Shift Standards for Spectrometer Calibration. <https://www.astm.org/>

ASTM E2529. 2014. Standard Guide for Testing the Resolution of a Raman Spectrometer. <https://www.astm.org/>

Bruker. 2018. Bravo software, user manual.

Chandrasekaran, V.C. 2009. Tank Linings for Chemical Process Industries. Shrewsbury: iSmithers.

De Bièvre, P. Günzler, H. 2005. Validation in Chemical Measurement. Berlin: Springer.

Ferraro, J.R. Nakamoto, K. Brown, C. 2003. 2.painos. Introductory Raman spectroscopy. San Diego: Elsevier Science.

Hägg, M. 2016. Validoinnin suunnittelun opas. Espoo: Teknologian tutkimuskeskus VTT Oy.

Larkin, P. 2011. Infrared and Raman spectroscopy: Principles Spectral Interpretation. Amsterdam: Elsevier

Laurila, T. 2007. Kumitekniikka, Lyhyt johdatus kumitekniikan perusteisiin. Opetushallitus.

Mettler Toledo.n.d.a. Raman spectroscopy. Luettu 26.1.2022  
[https://www.mt.com/int/en/home/applications/L1\\_AutoChem\\_Applications/Raman-Spectroscopy.html](https://www.mt.com/int/en/home/applications/L1_AutoChem_Applications/Raman-Spectroscopy.html)

Mettler Toledo. n.d.b Raman Scattering. Luettu 2.2.2022  
[http://www.mt.com/int/en/home/applications/L1\\_AutoChem\\_Applications/Raman-Spectroscopy/raman-scattering.html](http://www.mt.com/int/en/home/applications/L1_AutoChem_Applications/Raman-Spectroscopy/raman-scattering.html)

MIKES. 2005. Kemian metrologian opas. Luettu 8.2.2022  
<https://www.vttresearch.com/sites/default/files/pdf/MIKES/2005-J6.pdf>

MIKES. 2011. Laadukkaan mittaamisen perusteet. Luettu 8.2.2022  
<https://www.vttresearch.com/sites/default/files/pdf/MIKES/2011-J4.pdf>

Moore, E. 2017. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) methods, analysis, and research insights. New York: Novinka.

Muoviteollisuus ry. n.d. Muovisanastoa. Luettu 8.2.2022 [Muovisanastoa | Muoviteollisuus ry \(plastics.fi\)](https://www.muoviteollisuus.fi/)

Nokian Renkaat Oyj. n.d.a Yritys. Luettu 14.1.2022 [Yritys - Mielenrauhaa kaikissa olosuhteissa / Nokian Renkaat](https://www.nokianrenkaat.fi/)

Nokian Renkaat Oyj. n.d.b Vastuullista turvallisuutta. Luettu 14.1.2022 [Tuotekehitys / Nokian Renkaat](#)

Smith, B.C. 2011. 2.painos. Fundamentals of Fourier transform infrared spectroscopy. Boca Raton: CRC Press.

Thermo Scientific. n.d. Introduction to Fourier Transform Infrared Spectroscopy. PDF- tiedosto. Luettu 9.2.2022.

Vandenabeele, P. Ando, D. 2013. Practical Raman Spectroscopy: An Introduction. Chichester: Wiley.

Zhang, SL. Zhang, S. 2012. Raman Spectroscopy and Its Application in Nanostructures. Chichester: Wiley.

**LIITTEET**

Liite 1. Synteettisen kumin elastomeerit

TAULUKKO 8. Synteettisen kumin elastomeerit (Chandrasekaran 2009 48, muokattu)

Lyhenne	Elastomeeri
BR	Butadieenikumi
CR	Kloropreenikumi
CSM	Kloorisulfonoitu polyeteeni
EPDM	Eteenipropeenidieenikumi
IIR	Butyylikumi
IR	Polyisopreeni
NBR	Nitriilikumi
SBR	Styreenibutadieenikumi



## Liite 2. Vertailumittauksien tulokset

## TAULUKKO 9. Vertailumittauksien tulokset

## Raman- spektrometrin ja FTIR-spektrometrin vertailumittaukset

	Korkeampi tulos	Alle raja-arvon	
Näyte	FTIR tulos %	Raman tulos %	Väri
1	95,91	99,55	vaalean kellertävä
2	96,37	99,93	Kerman valkoinen matta
2 (toinen erä)	96,13	99,92	Kerman valkoinen matta
3	97,32	99,25	kellertävän valkoinen
3 (toinen erä)	97,76	99,31	Kellertävän valkoinen
4	ei mitattu	96,70	valkoinen
4 (toinen erä)	ei mitattu	96,62	valkoinen
4 (kolmas erä)	ei mitattu	95,75	valkoinen
4 (neljäs erä)	ei mitattu	95,82	valkoinen
4 (viides erä)	ei mitattu	96,13	valkoinen
4 (kuudes erä)	ei mitattu	95,67	valkoinen
4 (seitsemäs erä)	ei mitattu	95,92	
5	49,16 / 44,74	99,93	Keltainen
5 (toinen erä)	ei mitattu	99,95	Keltainen
5 (kolmas erä)	ei mitattu	99,78	keltainen
5 (neljäs erä)	ei mitattu	99,95	keltainen
5 (viides erä)	ei mitattu	99,95	keltainen
5 (kuudes erä)	ei mitattu	99,94	keltainen
6	92,52 / 91,45	Lisättiin laitteelle	Keltainen
6 (toinen erä)	ei mitattu	99,94	keltainen
6 (kolmas erä)	ei mitattu	99,89	keltainen
6 (neljäs erä)	ei mitattu	99,88	keltainen
7	98,21	99,78	vaalean sininen
8	97,44	98,68	Vaaleanpunainen
9	94,65 / 95,26	54,91 / 99,55	Kelta-ruskea läpikuultava
9 (toinen erä)	93,36 / 95,32	92,22 / 94,12	Kelta-ruskea läpikuultava
10	99,67	70,8	punertavan ruskea läpikuultava
10 (toinen erä)	99,36	70,69 / 67,76	punertavan ruskea läpikuultava
10 (kolmas erä)	98,23	72,90	punertavan ruskea läpikuultava
10 (neljäs erä)	99,67	70,86	punertavan ruskea läpikuultava
10 (viides erä)	99,77	66,86	punertavan ruskea läpikuultava
11	94,41 / 93,46	76,52 / 88,58	tumman vihertävän harmaa
12	99,39	91,25 / 98,54	tummanruskea
13	97,11	99,38	vaalean vihreä
13	95,59	99,56	vaalean vihreä
14	99,63	98,68	valkoinen kiiltävä
15	99,26	99,72	valkoinen
16	95,55	99,64	Kellertävän valkoinen
17	97,98	99,78	valkoinen
18	95,05	Lisättiin laitteelle	Kirkkaan keltainen
19	97,5	99,71	Valkoinen matta
20	99,42	Lisättiin laitteelle	Ruskea matta
21	99,1	99,77	Valkoinen
21 (toinen erä)	99,04	99,76	Valkoinen
21 (kolmas erä)	99,02	99,75	valkoinen
21 (neljäs erä)	98,99	97,62	valkoinen
22	97,29	99,01	valkoinen läpi kuultava
22 (toinen erä)	97,15	99,37	valkoinen läpi kuultava
22 (kolmas erä)	97,97	99,29	valkoinen läpi kuultava
22 (neljäs erä)	96,69	99,41	valkoinen läpi kuultava
22 (viides erä)	97,48	99,25	valkoinen läpi kuultava
23	89,12 / 88,11	84,76 / 99,15	vaalean kellertävä läpikuultava
24	99,19	21,68/ei arvoa	tumman harmaa
25	ei mitattu	99,98	keltainen
26	98,91	Lisättiin laitteelle	tummanruskea
26 (toinen erä)	98,94	98,20	tumman ruskea
27	95,48	97,17	läpinäkyvä kellertävä
27	92,56/92,81	99,86	läpinäkyvä kellertävä
28	98,12	99,38	norsuniulun valkoinen matta
29	98,49	99,73	luonnonvalkoinen matta
30	ei mitattu	98,51	keltainen
31	98,64	Lisättiin laitteelle	beige
32	99,80	99,59	valkoinen
33	99,47	99,74	valkoinen matta
34	98,95	98,84	valkoinen

## Liite 3. Vaaleiden näytteiden validoinnin tulokset

## TAULUKKO 10. Vaaleiden näytteiden validoinnin tulokset

<b>Vaaleiden aineiden toistettavuuden ja toistotarkkuuden validointi</b>				
Väri	Vaalean kellertävä	Kermanvalkoinen matta	Vaalean kellertävä	Valkoinen
	näyte 1	näyte 2	näyte 3	näyte 4
1	96,23	99,92	99,28	95,00
2	98,77	99,94	99,32	91,70
3	72,85	99,91	99,32	92,56
4	99,38	99,95	99,39	97,18
5	98,94	99,92	99,36	95,72
6	96,04	99,57	99,38	87,96
7	97,49	99,94	99,32	92,75
8	99,03	99,82	99,31	93,60
9	99,17	99,92	99,35	96,72
10	98,42	99,92	99,26	91,42
11	96,10	99,90	99,29	95,94
12	98,70	99,93	99,24	94,66
13	98,85	99,93	99,25	93,17
14	99,36	99,93	99,24	91,00
15	98,97	99,91	99,09	96,14
Keskiarvo	98,25	99,89	99,29	94,11
Keskihajonta	1,24	0,09	0,07	2,07
RSD-%	1,26	0,09	0,07	2,20
Toistettavuus	3,51	0,27	0,21	5,84

## Liite 4. Värillisten näytteiden validoinnin tulokset

TAULUKKO 11. Värillisten näytteiden validoinnin tulokset

<b>Värillisten aineiden toistettavuuden ja toistotarkkuuden validointi</b>				
Väri	Keltainen	Keltainen	Kirkkaan vaalean sininen	Vaaleanpunainen
	näyte 5	näyte 6	näyte 7	näyte 8
1	99,92	99,87	99,82	98,04
2	99,92	99,92	99,62	98,94
3	99,95	99,76	99,75	96,51
4	99,88	99,89	99,73	96,56
5	99,93	99,82	99,68	99,28
6	99,93	99,98	99,66	99,26
7	99,88	99,86	99,79	98,18
8	99,93	99,89	99,79	92,97
9	99,93	99,96	99,53	84,78
10	99,88	99,89	99,76	62,92
11	99,92	99,96	99,71	98,17
12	99,90	99,90	99,77	96,50
13	99,48	99,91	99,82	95,69
14	99,94	99,96	99,63	98,56
15	99,81	99,90	99,56	98,43
Keskiarvo	99,88	99,90	99,71	97,47
Keskihajonta	0,12	0,06	0,09	1,78
RSD-%	0,12	0,06	0,09	1,83
Toistettavuus	0,33	0,16	0,26	5,05

## Liite 5. Tummiä näytteiden validoinnin tulokset

## TAULUKKO 12. Tummiä näytteiden validoinnin tulokset

<b>Tummiä aineiden toistettavuuden ja toistotarkkuuden validointi</b>				
Väri	Keltaruskea	Punertavan ruskea	Tumman vihertävän harmaa	Tummanruskea
	näyte 9	näyte 10	näyte 11	näyte 12
1	99,58	64,60	92,8	95,98
2	99,67	71,08	88,90	74,85
3	99,48	64,98	87,33	97,64
4	99,53	69,86	87,58	93,69
5	98,93	68,65	88,86	92,87
6	99,59	66,21	57,00	91,98
7	99,50	68,38	90,38	94,34
8	99,65	68,20	88,71	90,93
9	99,39	68,72	93,93	95,02
10	99,51	68,01	88,43	96,49
11	99,50	70,87	87,45	96,02
12	99,51	68,50	88,16	94,64
13	97,27	65,80	86,75	98,73
14	99,47	70,50	87,41	95,62
15	99,59	70,57	90,36	98,62
Keskiarvo	99,49	68,33	89,08	95,18
Keskihajonta	0,18	2,11	2,12	2,33
RSD-%	0,18	3,09	2,38	2,45
Toistettavuus	0,50	5,98	5,99	6,59

## Liite 6. Uusittavuuden tulokset

TAULUKKO 13. Uusittavuuden tulokset kaikista näyteryhmistä

Uusittavuuden validointi										
	Vaalean kellertävä		Vaalean kellertävä näyte 1		Keltainen		Keltainen näyte 5		Punertavan ruskea	
	näyte 1	näyte 1	näyte 1	näyte 1	näyte 5	näyte 5	näyte 5	näyte 5	näyte 10	näyte 10
1	96,23	98,30	99,92	99,94	99,92	99,94	99,92	99,94	64,60	69,91
2	98,77	95,89	99,92	99,92	99,92	99,92	99,92	99,92	71,08	68,01
3	72,85	99,28	99,95	99,94	99,95	99,94	99,95	99,94	64,98	70,54
4	99,38	97,63	99,88	99,90	99,88	99,90	99,88	99,90	69,86	71,29
5	98,94	97,66	99,93	99,93	99,93	99,93	99,93	99,93	68,65	71,37
6	96,04	98,44	99,93	99,92	99,93	99,92	99,93	99,92	66,21	69,25
7	97,49	92,22	99,88	99,92	99,88	99,92	99,88	99,92	68,38	71,90
8	99,03	99,32	99,93	99,87	99,93	99,87	99,93	99,87	68,20	68,39
9	99,17	94,86	99,93	99,94	99,93	99,94	99,93	99,94	68,72	71,11
10	98,42	96,56	99,88	99,95	99,88	99,95	99,88	99,95	68,01	71,54
11	96,10	98,03	99,92	99,89	99,92	99,89	99,92	99,89	70,87	72,71
12	98,70	97,81	99,90	99,91	99,90	99,91	99,90	99,91	68,50	71,74
13	98,85	98,72	99,48	99,95	99,48	99,95	99,48	99,95	65,80	71,80
14	99,36	98,96	99,94	99,92	99,94	99,92	99,94	99,92	70,50	72,56
15	98,97	99,67	99,81	99,92	99,81	99,92	99,81	99,92	70,57	72,70
Keskiarvo	98,25	97,94	99,88	99,92	99,88	99,92	99,88	99,92	68,33	70,99
Keskihajonta	1,24	1,37	0,12	0,02	0,12	0,02	0,12	0,02	2,11	1,49
RSD-%	1,26	1,40	0,12	0,02	0,12	0,02	0,12	0,02	3,09	2,10
Toistettavuus	3,51	3,88	0,33	0,06	0,33	0,06	0,33	0,06	5,98	4,21
Toistettavuuskeskiarvo		3,70		0,20		0,20		0,20		5,09
Toistettavuuskeskihajonta		0,27		0,19		0,19		0,19		1,25