



Kokonaistypen ja kokonaishii- len määritysmenetelmän kehi- tys ja validointi jätevesinäyt- teille

Mari Savolainen

OPINNÄYTETYÖ
Huhtikuu 2022

Laboratoriotekniikka

TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Laboratoriotekniikka

SAVOLAINEN, MARI:

Kokonaistypen ja kokonaishiilen määrittämenetelmän kehitys ja validointi jätevesinäytteille

Opinnäytetyö 75 sivua, joista liitteitä 32 sivua
Huhtikuu 2022

Opinnäytetyön toimeksiantaja Tampereen Vesi hankki jätevesilaboratorioon Analytik Jenan multi N/C® 2100S-laitteen, jolla voidaan määrittää kokonaishiiltä ja -tyypeä. Työn tavoitteena oli validoida jätevesinäytteiden määrittäykset kyseiselle laitteelle sekä laatia menetelmälle ohjeet. Tarkoituksena oli muokata standardissa kuvattua menetelmää toimivaksi jätevesinäytteille ja arvioida menetelmän sopivuutta käyttötarkoitukseen validointiparametrien avulla. Työhön kuului menetelmäohjeen ja validoinnin tekeminen sekä käyttöohjeet laitteen ohjelmistolle.

Opinnäytetyön kokeellisen osuuden alussa testattiin ja kalibrointiin laite. Kalibroinnin jälkeen aloitettiin validointi, jossa useilla eri mittauksilla määritettiin parametrit. Validointiparametreinä toimi selektiivisyys, lineaarisuus, toteamis- ja määrittärajat sekä tarkkuus ja toistettavuus. Kaikista parametreistä saatiin luotettavat tulokset ja validointi katsottiin onnistuneen. Menetelmäohje tehtiin standardien mukaan pienillä muutoksilla. Molemmat määrittäykset, kokonaishiili ja -typpi, kirjattiin samaan ohjeeseen.

Mittauksien perusteella menetelmä todettiin toimivaksi. Opinnäytetyön jälkeen tehtäväksi jää kalibroinnin uusiminen hiilen osalta, koska määrittärajaja jäi suuremmaksi kuin kalibrointisuoran pienin pitoisuus. Kalibroinnin uusiminen ei vaikuta muihin validoinnin parametreihin. Tulevaisuudessa voitaisiin tutkia, voidaanko kokonaishiilen määrittäksen tuloksia käyttää biologisen hapenkulutuksen (BOD) ennusteessa.

Luottamuksellinen aineisto on poistettu julkisesta raportista.

ABSTRACT

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

SAVOLAINEN, MARI:

Development and Validation of a Method for the Determination of Total Nitrogen and Total Carbon in Wastewater Samples

Bachelor's thesis 75 pages, appendices 32 pages
April 2022

The objective of this thesis was to validate the determination of total nitrogen and total carbon in wastewater samples and to develop the method. The purpose of this thesis was to modify the method, which is shown in the standards, and make it work for wastewater samples. The purpose was also to evaluate the suitability of the method for intended use using validation parameters. The validation parameters were selectivity, linearity, limits of detection and determination, accuracy, and reproducibility.

The device, Analytik Jenan multi N/C® 2100S, was tested and calibrated at the beginning of the experimental phase. After the calibration the validation was started. The validation was determined by many different measurements. Data collection was made by the device, and it took about two months to complete.

The results of the validation were reliable, and the objective of the thesis was successful. The method guide was made according to the standards with minor changes. Both total nitrogen and total carbon were recorded in the same guide.

Renewal of the calibration for carbon remains to be completed in future, because the limit of determination was greater than the minimum concentration of the calibration line. This does not affect other validation parameters. In the future, it could be investigated whether the results of total carbon can be used to predict biological oxygen demand (BOD).

Key words: validation, carbon, nitrogen, wastewater

SISÄLLYS

1	JOHDANTO	6
2	JÄTEVESI.....	7
	2.1 Puhdistusprosessi.....	7
	2.2 Tampereen Vesi.....	8
3	TYPPI JA HIILI JÄTEVEDESSÄ	9
	3.1 Typpi	9
	3.2 Hiili	10
	3.3 Menetelmät ja laitetypit.....	10
4	VALIDOINTI.....	15
	4.1 Selektiivisyys.....	16
	4.2 Lineaarisuus.....	16
	4.3 Toteamis- ja määrittämissrajat.....	17
	4.4 Tarkkuus	18
	4.5 Toistettavuus.....	18
5	TYÖN SUORITUS	20
	5.1 Näytteet.....	20
	5.2 Menetelmäohjeen laadinta	20
	5.3 Laitteen kalibrointi	21
	5.4 Validoinnin suoritus	22
6	TULOKSET	26
	6.1 Kalibrointi	26
	6.2 Selektiivisyys.....	26
	6.3 Lineaarisuus.....	28
	6.4 Toteamis- ja määrittämissrajat.....	34
	6.5 Tarkkuus	37
	6.6 Toistettavuus.....	38
7	POHDINTA	39
	LÄHTEET.....	42
	LIITTEET	44
	Liite 1. Menetelmäohje 1(5).....	44
	Liite 2. MultiWin-ohjelmiston käyttöohje 1(15)	45
	Liite 3. Kalibrointisuorat 1(3).....	46
	Liite 4. Lineaarisuuden tulokset 1(6).....	49
	Liite 5. Toistettavuuden tulokset 1(3).....	55

LYHENTEET JA TERMIT

BOD	Biochemical Oxygen Demand, biologinen hapenkulutus
ChD	Charge Detector, latausdetektori
CLD	ChemiLuminescence Detector, kemiluminesensside- tektori
COD	Chemical Oxygen Demand, kemiallinen hapenkulutus
IC	Inorganic Carbon, epäorgaaninen hiili
NDIR	NonDispersive Infrared absorption detector, ei-dispersi- ivinen infrapuna-absorptiodetektori
NPOC	Non-Purgeable Organic Carbon, ei-kuplittuva orgaani- nen hiili
POC	Purgeable Organic Carbon, kuplittuva orgaaninen hiili
TC	Total Carbon, kokonaishiili
TIC	Total Inorganic Carbon, epäorgaanisen hiilen kokonais- määrä
TKN	Total Kjeldahl Nitrogen, Kjeldahl-kokonaistyyppi
TNb	Total bound Nitrogen, kokonaistyyppi
TOC	Total Organic Carbon, orgaanisen hiilen kokonais- määrä

1 JOHDANTO

Tämän opinnäytetyön toimeksiantajana toimi Tampereen Vesi. Tampereen Vesi on kunnallinen vesihuoltoalan liikelaitos, josta toimitetaan talousvettä Tampereelle sekä naapurikuntiin tarpeen mukaan. Tampereen Vedellä käsitellään syntyneet jätevedet neljällä eri puhdistamolla. Työ toteutettiin Ruskon jätevesilaboratoriossa.

Opinnäytetyön tavoitteena oli validoida jätevesinäytteiden kokonaistypen ja -hiilen määrittäminen Analytik Jenan multi N/C® 2100S laitteelle sekä laatia menetelmälle ohjeet. Tarkoituksena oli muokata standardissa kuvattua menetelmää toimivaksi jätevesinäytteille ja arvioida menetelmän sopivuutta käyttötarkoitukseen validointiparametrien avulla. Käytettävät validointiparametrit olivat selektiivisyys, lineaarisuus, toteamis- ja määrittämissrajat sekä tarkkuus ja toistettavuus. Työssä tehtiin menetelmäohje ja validointi sekä lyhyet käyttöohjeet laitteelle. Huolto-ohjeiden teko ei sisällynyt opinnäytetyöhön.

Jätevedellä tarkoitetaan vettä, joka syntyy yhdyskuntajätteenä tai teollisuudesta. Jätevedestä määritetään erilaisia analyyseja, jotta voidaan varmistaa niiden oikeanmukainen puhdistaminen. Analyyseilla selvitetään myös vesistöihin aiheuttavaa kuormitusta. Tärkeimpiä analyyseja ovat biologinen ja kemiallinen hapenkuutus, kiintoaine ja ravinteet.

2 JÄTEVESI

Jätevedellä tarkoitetaan vettä, joka syntyy yhdyskuntajätteenä tai teollisuudesta. Jätevedeksi lasketaan myös esimerkiksi kaatopaikan suotovesi. 99,9 % jätevedestä on vettä ja loput 0,1 % erilaisia yhdisteitä, kuten orgaanisia ja epäorgaanisia aineita sekä mikro-organismeja. (Tuser 2020.) Yhdyskuntajätevesi, joka virtaa viemäreihin, koostuu käytetystä juomakelpoisesta vedestä sekä teollisuusvedestä ja hulevesistä (Gillberg, Hansen, Karlsson, Nordström Enkel & Pålsson 2003, 5).

Jätevesistä tehdään useita analyyseja eri puhdistusvaiheissa. Tämä kertoo puhdistuksen toimivuudesta ja helpottaa mitoittamaan puhdistusta. Tärkeimpiä analyysejä ovat biologinen hapenkulutus BOD (Biochemical Oxygen Demand), kemiallinen hapenkulutus COD (Chemical Oxygen Demand), kiintoaine ja ravinteet. Muita analyysejä ovat pH, sähkönjohtavuus, kokonaistyyppi, kokonaisfosfori, ammoniumtyppi, KMnO_4 -luku ja alkaliteetti. (Tchobanoglous, Burton & Stensel 2003, 182–191.)

2.1 Puhdistusprosessi

Jäteveden puhdistusprosessissa on yleisesti kolme vaihetta, joista jokaista seurataan ja ohjataan tarkasti. Vaiheet ovat mekaaninen, kemiallinen ja biologinen käsittely. (Suomen ympäristökeskus 2019.)

Mekaaninen vaihe tapahtuu puhdistusprosessin alussa joko useammilla seuloilla tai pyörivällä seulalla. Rasva, öljy ja liete erotellaan vedestä kolmivaiheisella sedimentaatiolla. Kemiallisessa vaiheessa jätevedestä poistetaan raskasmetallit, öljy ja orgaaniset liuottimet, jotka eivät liukene veteen. On kaksi eri tapaa tehdä kemiallista puhdistamista: kolloidiaineen epävakauttaminen neutraloinnin avulla ja metallikompleksien pelkistys saostamalla. Biologisessa vaiheessa käytetään yleisesti aktiivilietemenetelmää, jolloin jätevesi puhdistuu biohajoavista materiaaleista. Aktiivilietemenetelmässä mikrobit sitovat lika-aineita itseensä. (Gillberg ym. 2003, 109–111.)

2.2 Tampereen Vesi

Tampereen vesilaitos on perustettu vuonna 1898. Kaupungissa oli tuolloin 18 kilometriä vesijohtoa, pumppaamo ja yläsäiliö. Vuosien aikana kaupungin kasvaessa myös vesilaitos laajeni. Nykyään Tampereen Vedellä on kaksi suurempaa jätevesipuhdistamo: Rahola ja Viinikanlahti, ja kaksi pienempää: Polso ja Kämmenniemi. Palsossa ja Kämmenniemessä on myös pintavesilaitokset, kuten myös Ruskossa ja Kaupinajalla. Pohjavesilaitoksia on Messukylässä, Mustalamessa, Julkujärvellä ja Pinsiössä. (Tampereen Vesi n.d.)

Tampereen Vedellä on Ruskon vedenpuhdistuslaitoksella talous- ja jätevesilaboratoriot. Talousvesilaboratoriossa tutkitaan puhtas- ja raakavesiä erilaisilla analyyseilla, joita ovat esimerkiksi pH, sameus sekä haju ja maku. Jätevesilaboratoriossa tutkitaan jätevesiä jätevesipuhdistamoilta. Näiden laboratorioden lisäksi Ruskossa on mikrobiologian laboratorio.

3 TYPPI JA HIILI JÄTEVEDESSÄ

3.1 Typpi

Typpi esiintyy luonnossa monessa eri muodossa. Ilmassa se on typpikaasuna ja maaperässä typpi kierrätetään ammoniakkinä, nitriittinä ja nitraattinä. Maaperän ammoniakki hapettuu nitrifioivien bakteerien avulla nitriitiksi ja edelleen nitraatiksi. Kasvit valmistavat typen eri muodoista aminohappoja tai muita pelkistettyjä typpiyhdisteitä. Kierto jatkuu, kun eläimet syövät kasveja ja saavat näin typen elimistöön. Typpi palaa maaperään kuolleista eläimistä, kun mikrobit hajottavat kuolleiden eläinten proteiineja. (Bernhard 2010.)

Typpi on yksi kasvien pääravinteista ja vesistöissä se edesauttaa rehevöitymistä. Rehevöityminen vaikuttaa vesistöjen perustuotantoon ja lajikoostumukseen. (Luonnontila 2014.) Vesistöihin typpeä pääsee jätevesistä. Jätevesien puhdistamoissa typpeä poistetaan tehostetusti silloin, kun se on vesistön tilan kannalta tarpeellista. Vähintään noin kolmannes tyypestä poistetaan. Suurin osa typpijätteestä tulee maataloudesta. (Vesilaitosyhdistys 2014.)

Jätevesistä määritetään kokonaistyyppi TN (total nitrogen), joka koostuu ammoniumtypestä, nitraatista, nitriitistä ja orgaanisesta tyypestä (Pesälä 2016). Kokonaistypen määrittämistä ohjeistaa standardi SFS-EN 12260: Water quality. Determination of nitrogen. Determination of bound nitrogen (TNb), following oxidation to nitrogen oxides. Standardissa määrittämisen periaate on hapettaa typpeä sisältävä näyte katalyyttisellä poltolla happiatmosfäärissä >700 °C:ssa typen oksideiksi. (SFS-EN 12260 2004, 5) Kokonaistypen määrittäksessä typen oksidit voidaan detektoida kahdella eri detektorilla: CLD (ChemiLuminescence Detector) ja ChD (Charge Detector) (Analytik Jena AG 2020, 27.).

3.2 Hiili

Hiili on elinehto luonnolle ja ihmisille. Suurin osa hiilestä esiintyy kivissä, mutta sitä on myös meressä, ilmassa, kasveissa, maaperässä ja fossiilisissa polttoaineissa. Hiilen kierto jaetaan kahteen osaan hitaaseen ja nopeaan. Hitaassa kierrossa hiili siirtyy kivien, maaperän, vesien ja ilman välillä noin 100–200 miljoonan vuoden aikana. Nopealla kierrolla tarkoitetaan fotosynteesiä, jossa hiilidioksidi ja vesi muuttuvat kasveissa sokeriksi ja hapeksi auringon energian avulla. Kierto tapahtuu myös toisinpäin. Kasvit hajottavat sokerit kasvaakseen ja eläimet syövät kasveja saadakseen energiaa. Kasvien kuihtuessa happi reagoi sokerien kanssa ja tuloksena saadaan vettä, hiilidioksidia ja energiaa. (Riebeek 2011.)

Hiili mitataan jätevedestä orgaanisena kokonaishiilenä TOC (Total Organic Carbon). Se kuuluu orgaanisen aineen kokonaisuuteen biokemiallisen ja kemiallisen hapenkulutuksen kanssa. Orgaaninen aine jätevesissä aiheuttaa hapettomia olosuhteita, kun mikro-organismit hajottavat sitä. Hapettomat olosuhteet voivat aiheuttaa hajuhaittoja, räjähdysvaarallisen metaanin muodostumista ja korroosiota. (Makkonen 2015, 13.)

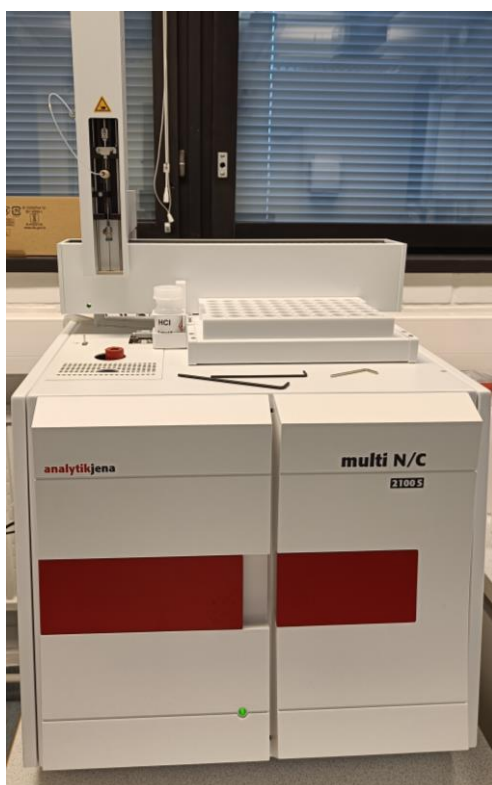
Standardissa SFS-EN 1484 (Vesianalyysi. Ohjeita orgaanisen hiilen kokonaismäärän (TOC) ja liuenneen orgaanisen hiilen (DOC) määrittämiseen.) annetaan ohjeita orgaanisen hiilen määrittämiseen erilaisista vesistä. Hiilestä voidaan määrittää kokonaishiiltä tai esimerkiksi ei-kuplittuvaa orgaanista hiiltä NPOC (Non-Purgeable Organic Carbon), jossa happamaksi tehdyt näytteet kuplitetaan kaasulla. (SFS-EN 1484 2000, 5.)

3.3 Menetelmät ja laitetypit

Kokonaistypen, joka sisältää orgaanisen ja epäorgaanisen typen sekä ammoniumin, lisäksi voidaan mitata Kjeldalh-kokonaistyyppi TKN (Total Kjeldalh Nitrogen). TKN koostuu orgaanisesta tyypestä ja ammoniumista. (ThermoFisher n.d.)

Kokonaishiilen määrittämisessä kaikki hiili muuttuu polttamalla hiilidioksidiksi, joka määritetään joko spektrometrisesti, gravimetrisesti, infrapunadetektorilla tai kulometrisesti. Hiilen mittauksissa käytetään NDIR-detektoria (NonDispersive Infrared absorption Detector). Tulokseksi saadaan hiilen määrä. (Nyman 2011, 4–5.)

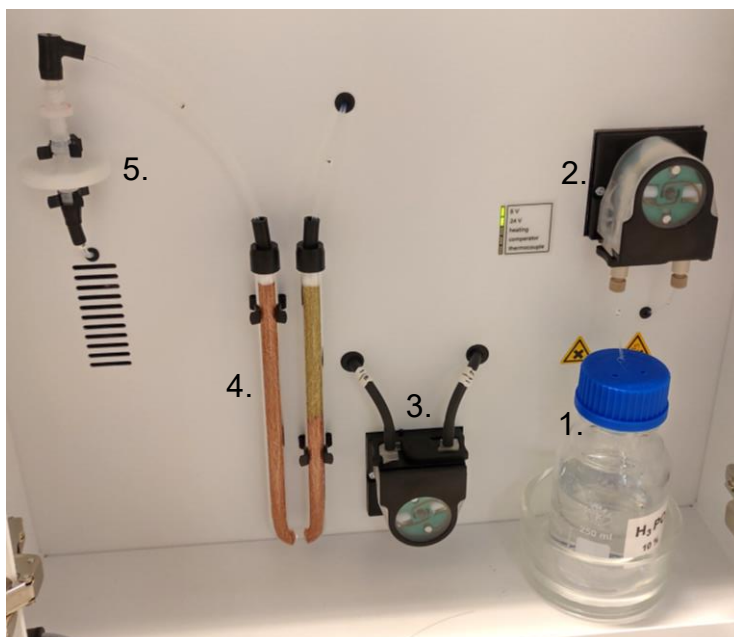
Kokonaistypen ja -hiilen määrittämiseen valmistetaan monia erilaisia laitteita. Valmistajilla on laitteita pelkän hiilen tai typen mittaukseen tai molempien yhdessä. Laitteita valmistaa esimerkiksi Shimadzu, Trace Elemental instruments, Mettler Toledo Thornton ja Analytik Jena. (Berner n.d.) Tampereen Vedellä on käytössä Analytik Jenan multi N/C® 2100S -analysaattori, joka on kuvassa 1. Sillä voidaan määrittää typpi ja hiili vesinäytteistä. Analysaattorilla voidaan mitata kokonaishiili TC (Total Carbon), epäorgaaninen hiili IC (Inorganic Carbon), TOC, NPOC (+), kuplittuva orgaaninen hiili POC (Purgeable Organic Carbon) ja TNb. (Hyxo Oy n.d.)



KUVA 1. Analytik Jenan multi N/C® 2100S -analysaattori.

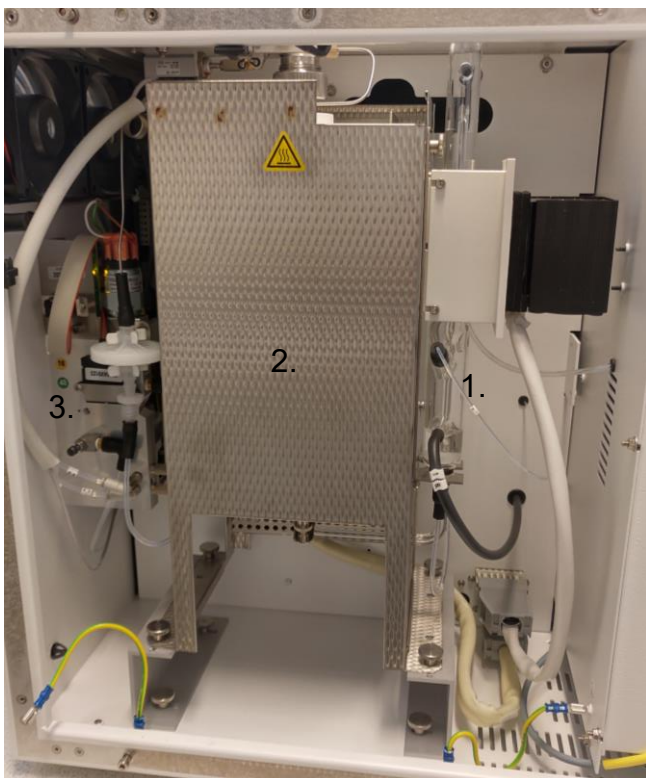
Kuvassa 2 näkyy laitteen etuosa, jossa sijaitsevat fosforihappopullo (1) ja sen pumppu (2), kondensaattipumppu (3), halogeeni- (4) ja vesitrapit (5). Fosforipumppu kuljettaa fosforihappoa TIC-kondesaattisäiliöön. Kondensaattipumpun kautta pumpataan TIC-detektorilta tulleet jätteet pois. Halogeenitrappi sisältää

kupari- ja messinkivillaa. Halogeeni- ja vesitrapit poistavat mahdollisimman paljon häiritseviä komponentteja mittauskaasusta ja suojaavat detektoria. (Analytik Jena AG 2020, 17, 22, 25–26.)



KUVA 2. Laitteen etuosa.

Kuvassa 3 näkyy laitteen sisäpuoli sivuseinän takana. Se sisältää TIC-kondensaatiomodulin (1), polttojärjestelmän (2) ja kaasulaatikon (3). TIC-kondensaatiomoduli koostuu kondensaatiokierukassa, jäähdytyslohkosta ja TIC-kondensaatiোসাঁইল্লóstä. Mittauskaasu jäähtyy nopeasti lasisessa kondensaatiokierukassa ja vesihöyry tiivistyy. Mittauskaasuvesiseos kulkeutuu letkua pitkin TIC-kondensaatiოსাঁইল্লóön. Polttojärjestelmän sisällä ovat katalyyttiputki, jonka läpi näytteet ajetaan, ja uuni. Katalyyttiputken alaosa kiinnittyy kondensaatiokierukkaan. Kaasulaatikko säätelee kaasun tuloa. NPOC-analyysiin tarvittava kuplitus konfiguroidaan kaasulaatikon neulaventtiin kautta. (Analytik Jena AG 2020, 18, 21, 23–24.)



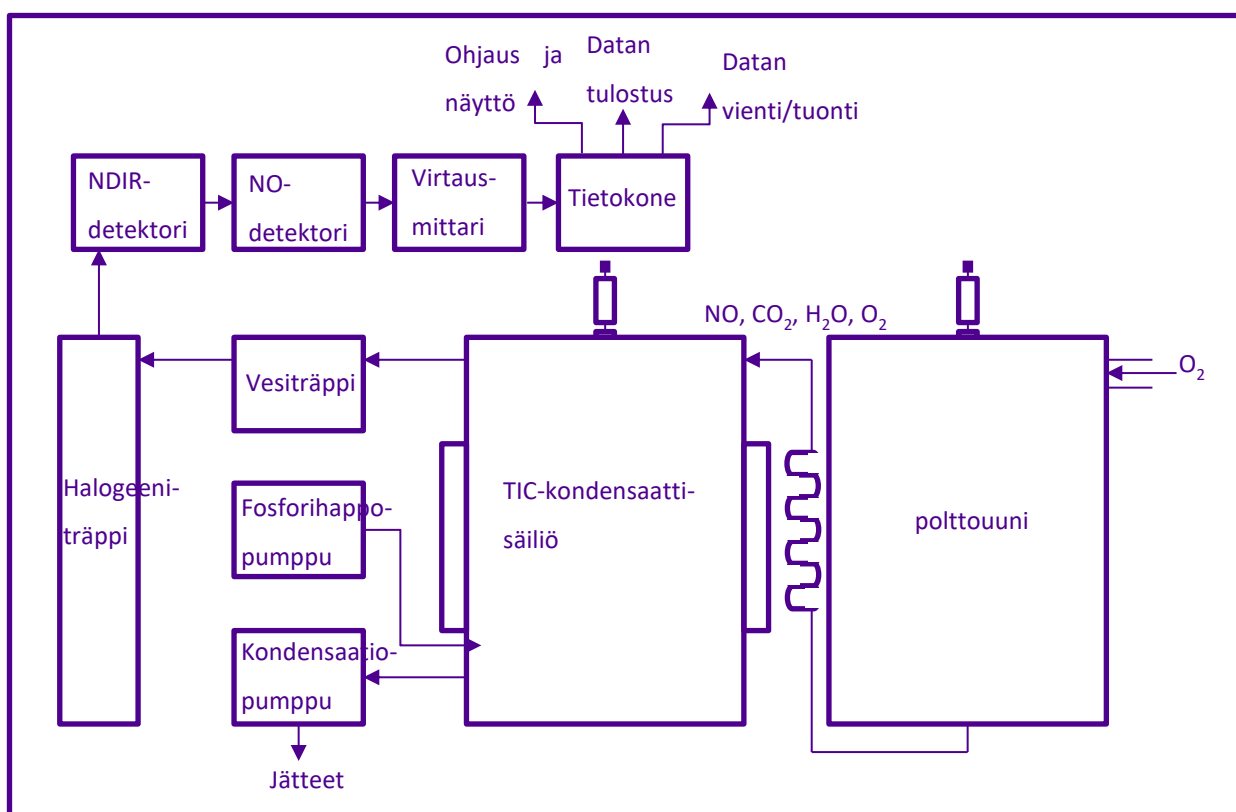
KUVA 3. Laitteen sisäpuoli.

Katalyytiputki, joka on kuvassa 4, on kvartsilasia. Se täytetään lasivillalla, platinakatalyytilla ja korkean lämpötilan kuitumatolla. Katalyytin teho heikkenee ajan myötä, jolloin putkissa oleva katalyytti täytyy vaihtaa. (Analytik Jena AG 2020, 23, 75.)



KUVA 4. Katalyytiputki täytettynä.

Analysaattorin mittausperiaate on kuvattuna kuviossa 1. Analysaattorilla hajotus suoritetaan termokatalyyttisella korkean lämpötilan hapetuksella katalyyttien läsnä ollessa. Näyte annostellaan suoraan polttouuniin, jossa hapetus tapahtuu kantokaasuvirrassa katalyytin avulla. Kantokaasu toimii myös hapetusaineena. Pyrolyysikaasu jäähdytetään kondensaatiokierukassa. TIC-kondensaattisäiliössä kondensoitunut vesi erotetaan mittauskaasusta. Seuraavaksi mittauskaasu kuivataan ja siitä poistetaan syövyttävät kaasut vesi- ja halogeenitrappeissa. Lopuksi mittauskaasu kulkeutuu detektoreille. Detektorit havaitsevat CO₂- tai NO-pitoisuudet useita kertoja sekunnissa, josta lasketaan integraali ajan kuluessa. Integraali on verrannollinen mittausliuoksen hiilen ja typen pitoisuuteen. Pitoisuudet lasketaan kalibrointisuoran avulla. Laitetta ohjataan ja tulokset luetaan multi-Win-ohjelmiston avulla. (Analytik Jena AG 2020, 31.)



KUVIO 1. Analysaattorin periaate (Analytik Jena AG 2020, 31, muokattu).

NPOC-analysissa näytteet hapotetaan 2 M HCl ja kuplitetaan ennen analysointia. Jäljelle jäänyt hiili hapetetaan hiilidioksidiksi korkeassa lämpötilassa polttamalla. TNb-analysissa näytteet voidaan analysoida ilman näytteiden esikäsittelyä. (Analytik Jena AG 2020, 33.)

4 VALIDOINTI

Validoinnissa arvioidaan menetelmän ja laitteen soveltuvuutta tarvittavaan käyttötarkoitukseen. Menetelmän luotettavuutta kuvataan validointiparametreilla, joista saadaan vertailuarvoja. Vaatimukset validoinnille vaihtelevat menetelmän mukaan. Testituloksien täytyy olla loogisesti oikeita, käyttötarkoitukseensa sopivia sekä täyttää lain ja säännöksiin vaatimukset. Mikäli menetelmä koskettaa asiakkaita, täytyy myös heidän näkökulmansa ottaa huomioon. (Hägg 2016, 7.)

Validointi on monesti osa menetelmän kehitystä, sillä monet validoinnin parametrit arvioidaan osana menetelmän kehitystä. Ehder (2005, 25–26) listaa validoinnin parametreiksi seuraavat:

- selektiivisyys ja spesifisyys
- lineaarisuus
- mittausalue
- toteamis- ja määrittäysraja
- poikkeama
- saanto
- häiriökestävyys, toimintavarmuus
- tarkkuus
- toistettavuus
- uusittavuus
- mittausepävarmuus.

Mittausmenetelmän validointi tulee suorittaa, kun otetaan uusi menetelmä käyttöön tai vanhaa menetelmää muutetaan. Validointi voi myös olla tarpeen uuden laitteen saapuessa. Validoinnin laajuus riippuu, kuinka paljon muutoksia menetelmään on tehty käyttötarkoituksen, laitteiston henkilökunnan tai olosuhteiden johdosta. (Ehder 2005, 26.)

Validointi on dokumentoitava kaikista vaiheista. Lopullinen dokumentti on validointiraportti, johon kirjataan työn tavoite ja toteutus sekä laitteisto, välineistö ja materiaalit. Validointiraportista ilmenevät validointisuunnitelman mukaiset toimenpiteet ja tulokset. Raportissa tarkastellaan tuloksia, mittausepävarmuutta ja

mahdollisia häiriötekijöitä. Laboratorion vastuuhenkilö hyväksyy ja allekirjoittaa validointiraportin. (Ehder 2005, 38.)

4.1 Selektiivisyys

Selektiivisyys kertoo, missä määrin menetelmällä voidaan määrittää analysoitava aine ilman, että muut komponentit vaikuttavat tulokseen. Selektiivisyys vaikuttaa eniten, kun näyte on monikomponenttinen seos. Täysin selektiivinen menetelmä on myös spesifinen, mutta harvat menetelmät ovat. Jokaiselle eri laitteelle tai yhdisteelle täytyy olla oma selektiivisyyden testaus. (Ehder 2005, 27.)

Selektiivisyyttä tutkitaan määrittämällä tarkasteltavan analyytin saanto ja selvitetään mahdolliset häiritsevät tekijät. Standardimenetelmissä selektiivisyys on usein jo määritelty matriiseille. Myös laitteiston käyttöohjeissa saattaa olla jo ohjeita mahdollista häiriötekijöistä. (Mäkinen, Suortti, Saares, Niemi & Marjanen 1996, 13–14.)

4.2 Lineaarisuus

Lineaarisuudella tarkoitetaan vasteen ja tutkittavan aineen pitoisuuden välistä korrelaatiota, joka voidaan mallintaa suoralla. Suora laaditaan pienimmän neliosumman menetelmällä. Vasteen ja tutkittavan aineen pitoisuuksien riippuvuus ei välttämättä ole lineaarinen pienillä tai suurilla pitoisuuksilla. (Hägg 2016, 23.)

Lineaarisuudesta tehdyistä kuvaajista voidaan tehdä residuaalikuvaajat. Residuaaleja tarkastamalla nähdään, onko suora lineaarinen. Suoran ollessa lineaarinen residuaalit jakautuvat nollatason molemmin puolin, mutta residuaalit eivät saa muodostaa selvää käyrää. (Mäkinen ym. 1996, 18.)

4.3 Toteamis- ja määritysrajat

Toteamisraja on tutkittavan aineen pienin pitoisuus, joka eroaa selvästi nollanäytteen arvosta. Määritys perustuu taustan hajonnan tutkimiseen. Se tehdään mittaamalla nollanäytteitä toistuvasti. Tuloksista lasketaan kaavan 1 avulla toteamisraja. Kaavassa 1 \bar{x}_0 on nollanäytteiden keskiarvo ja s_0 nollanäytteiden keskihajonta. (Ehder 2005, 29–30.)

$$LOD = \bar{x}_0 + 3 \cdot s_0 \quad (1)$$

Aina nollanäytteet eivät anna tulosta, silloin toteamisraja voidaan laskea regressioanalyysin avulla. Määritys tehdään standardiliuoksilla. Toteamisraja voidaan laskea kaavalla 2

$$LOD = \frac{3 \cdot s_0}{b_1}, \quad (2)$$

jossa s_0 on leikkauskohdan otoskeskihajonta ja b_1 regressiosuoran kulmakerroin. (Ehder 2005, 29–30.)

Määritysraja on mitattavan aineen pienin pitoisuus, jolle voidaan suorittaa mitauksia tietyllä luotettavuustasolla. Se on tavallisesti kalibrointikäyrän alhaisin piste, jos nollanäytettä ei oteta huomioon. Määritysraja mitataan nollanäytteillä. Tulokset lasketaan kaavalla 3

$$LOQ = \bar{x}_0 + 10 \cdot s_0, \quad (3)$$

jossa \bar{x}_0 on nollanäytteiden keskiarvo ja s_0 nollanäytteiden keskihajonta. (Ehder 2005, 29–30.)

4.4 Tarkkuus

Tarkkuus kertoo mittaustulosten ja todellisen arvon yhteensopivuudesta. Menetelmän tarkkuutta tarkastellaan tutkimalla mittauksen todenmukaisuutta ja täsmällisyyttä, jolloin voidaan arvioida systemaattisia ja satunnaisia virheitä. (Ehder 2005, 35.)

Menetelmän todenmukaisuutta selvitetään mittaamalla menetelmän avulla suuretta, jonka arvo tunnetaan tarkasti etukäteen. Tulosten keskiarvoa verrataan tunnettuun arvoon laskemalla harha. Kaavalla 4 saadaan prosentuaalinen harha E , jossa on itseisarvon suhde todelliseen arvoon. Kaavassa 4 \bar{x} on tulosten keskiarvo ja μ todellinen arvo. (Jaarinen & Niiranen 2005, 34.)

$$E = \frac{|\bar{x} - \mu|}{\mu} \cdot 100 \% \quad (4)$$

Menetelmän täsmällisyyttä mitataan rinnakkaisnäytteitä useita kertoja ja katsotaan, onko tulokset lähellä toisiaan. Jos tulosten keskihajonta on pieni, menetelmä on täsmällinen. Tuloksista lasketaan suhteellinen keskihajonta RSD kaavalla 5

$$RSD = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100 \%, \quad (5)$$

jossa s on otoskeskihajonta ja \bar{x} otoskeskiarvo. (Jaarinen & Niiranen 2005, 34.)

4.5 Toistettavuus

Toistettavuus tarkoittaa saman mitattavan aineen peräkkäisten tulosten paikkansapitävyyttä, kun mittaukset suoritetaan samoissa olosuhteissa. Toistettavuuden mittaukset tehdään lyhyellä aikavälillä ja niissä on samat tekijät, laitteet, reagenssit ja lämpötilat. Mitattavien näytteiden tulisi olla erityyppisiä ja eri pitoisuuksilla. Jos sarjojen välillä on suuria vaihteluita, tulee syy selvittää. (Ehder 2005, 37.)

Toistettavuutta voidaan mitata joko sarjan sisäisesti tai sarjojen välillä. Sarjan sisäinen toistettavuus tarkoittaa samassa sarjassa peräkkäiset eli rinnakkaiset mittaukset. Sarjojen välillä oleva toistettavuus taas tarkoittaa eri päivinä mitattujen sarjojen mittaukset. (Ehder 2005, 37.) Toistettavuutta sarjojen välillä voidaan arvioida keskihajonnan avulla, joka ilmoitetaan usein prosentteina keskiarvosta (Mäkinen ym. 1996, 40).

5 TYÖN SUORITUS

5.1 Näytteet

Opinnäytetyö tehtiin Ruskon jätevesilaboratoriossa, jossa analysoidaan näytteet viikoittain Raholan ja Viinikanlahden puhdistamoista, sekä kuukausittain Palsosta ja Kämmenniemestä. Työssä käytettiin tulevista, esiselkeytetyistä ja lähtevistä vesistä tulleita näytteitä. Näytteet kestävästiin H_2SO_4 :lla 1 ml/100 ml, jolloin saatiin pH laskettua, ja säilytettiin muovipulloissa jääkaapissa. Tarvittavat laimennokset tehtiin säilytyistä näytteistä 50 – 100 ml mittapulloihin.

NPOC- ja TN-analyysille tehtiin omat standardiliuokset. Liuoksien laimennokset tehtiin samaan mittapulloon, koska laite mittaa molemmat parametrit samasta näytteestä samaan aikaan. Standardeista tehtiin 1000 mg/l varastoliuokset, jotka säilöttiin ruskeisiin lasipulloihin jääkaappiin. Varastoliuoksien reagenssit kuivattiin 105 °C:ssa yhden tunnin ajan ja jäähdytettiin eksikaattorissa ennen punnitsemista. NPOC-varastoliuokseen punnittiin 1,063 g kaliumvetyftalaattia ja liuotettiin MilliQ-vedellä 500 ml mittapulloon. TN-varastoliuokseen punnittiin 1,179 g ammoniumsulfaattia ja 1,805 g kaliumnitraattia, jotka liuotettiin MilliQ-vedellä 500 ml mittapulloon.

5.2 Menetelmäohjeen laadinta

Opinnäytetyössä laadittiin menetelmäohje ”Jäteveden kokonaistypen ja -hiilen määrittäminen”, joka pohjautuu SFS-EN 1484 ja SFS-EN 12260 -standardeihin. Menetelmä soveltuu luonnon- ja jätevesille ja se löytyy liitteestä 1.

Menetelmäohjeeseen kirjattiin menetelmän soveltuvuus, periaate, reagenssit, laitteet ja välineet, näytteen esikäsittely ennen määrittämistä, määrittäminen, tarkistus ja tulokset. Menetelmään lisättiin hiilen SFS-EN 1484 standardista osia, kuten periaate ja liuoksia. Määrittämisen tarkistukseen vaihdettiin system check -liuoksen tilalle tietyt pitoiset standardiliuokset laitteen valmistajan ohjeiden perusteella.

Menetelmäohjeen lisäksi tehtiin laitteen käyttöohje. Käyttöohjeeseen kirjattiin multiWin-ohjelmiston käyttö: laitteen käynnistys ja sammutus, ajon aloitus, tulosten lukeminen ja siirtäminen, kalibrointi ja menetelmän teko sekä yleisiä ohjeita. Käyttöohje löytyy liitteestä 2.

5.3 Laitteen kalibrointi

Laitteelle tehtiin menetelmä, joka soveltuu jätevesille. Menetelmään valittiin parametrit, jotka halutaan mitata. Tässä tapauksessa valittiin NPOC ja TN. Menetelmään muokattiin myös replikaatioiden määrä ja niiden prosentuaalisen vaihtelu sekä ruiskun huuhtomiskerrat, näytetilavuus, sekoituksen nopeus ja uunin lämpötila. Replikaatioiden määräksi laitettiin 2–4 kappaletta ja niiden vaihtelu voi olla enintään 5 %. Ruisku huuhtelee näytteellä kolme kertaa vain ensimmäisen replikaation alussa. Näytetilavuudeksi laitettiin 500 µl, joka on laitteella suurin tilavuus. Sekoituksella tarkoitetaan näytetelineen näyteputkien magneettisekoituksen voimakkuutta. Sen asteikko on 0–10 ja se laitettiin asentoon 3. Uunin lämpötila on määrätty 800 °C:een laitteen ohjeissa.

Kalibrointiliuokset valmistettiin standardien varastoliuoksista. Kalibrointiliuoksien pitoisuudet ja pipetointi määrät ovat taulukossa 1.

TAULUKKO 1. Kalibrointiliuosten pitoisuudet ja pipetointi määrät.

	NPOC mg/l	Pipetointi ml	TN mg/l	Pipetointi ml
KL 1	0,5	0,5	1	1
KL 2	1	1	2,5	2,5
KL 3	2,5	2,5	5	5
KL 4	5	5	10	10
KL 5	10	1	15	1,5
KL 6	25	2,5	20	2
KL 7	50	5	40	4
KL 8	100	10	60	6
KL 9	250	25	80	8
KL 10	500	50	100	10

Kaikki liuokset tehtiin 100 ml:n mittapulloihin. Kalibrointiliuokset 1–4 tehtiin 100 mg/l:n välilaimennoksesta, jossa varastoliuosta pipetoitiin 10 ml ja täytettiin

MilliQ-vedellä 100 ml:n mittapulloon. Muut liuokset tehtiin suoraan varastoliuoksesta. Valmiit kalibrintiliuokset laitettiin laitteen näyteputkiin ja mitattiin kalibrointiohjelmalla.

Kalibrointisuora on jaettu kolmeen osaan pitoisuuksien mukaan. NPOC-analyysille ensimmäinen suora on pitoisuudeltaan 0,5 – 5 mg/l, toinen suora 5 – 50 mg/l ja kolmas suora 50 – 500 mg/l. TN-analyysille suorat ovat pitoisuuksiltaan 1 – 10 mg/l, 10 – 40 mg/l ja 40 – 100 mg/l. Kaikki suorat lisättiin menetelmään.

5.4 Validoinnin suoritus

Validointi tehtiin käyttäen parametrejä, jotka ovat selektiivisyys, lineaarisuus, toteamis- ja määrittämissuorat, tarkkuus ja toistettavuus. Selektiivisyys ja lineaarisuus määritettiin jokaiselle kalibrointisuoralle erikseen.

Selektiivisyyden mittaus tehtiin kolmena eri päivänä. Jokaiselle kalibrointisuoralle tehtiin oma mittaus. Näytteiksi valmistettiin kahdenlaisia standardiliuoksia, joista toiset laimennettiin MilliQ-veteen ja toiset jätevesinäytteisiin. Taulukossa 2 näkyy ajolista kaikille suorille. Standardin 1 nimi st0,5/1 tarkoittaa veteen laimennettua standardia, jonka NPOC pitoisuus on 0,5 mg/l ja TN pitoisuus on 1 mg/l. Lst tarkoittaa jätevesinäytteeseen laimennettua standardia. Ajolistojen lopussa ajettiin laimentamiseen tarvittava näyte ja sen rinnakkaisnäyte pitoisuuden selvittämiseksi.

TAULUKKO 2. Ajolistat ja pitoisuudet selektiivisyyden mittauksessa.

Näytepaikka	Suora 1 Näyte	Suora 2 Näyte	Suora 3 Näyte
1	nolla	nolla	nolla
2	nolla	nolla	nolla
3	nolla	nolla	nolla
4	st0,5/1	st5/10	st50/40
5	st1/2,5	st10/15	st100/50
6	st2,5/5	st25/20	st200/60
7	st5/10	st50/40	st250/80
8	nolla	nolla	nolla
9	nolla	nolla	nolla
10	nolla	nolla	nolla
11	lst0,5/1	lst5/10	lst50/40
12	lst1/2,5	lst10/15	lst100/50
13	lst2,5/5	lst25/20	lst200/60
14	lst5/10	lst50/40	lst250/80
15	nolla	nolla	nolla
16	nolla	nolla	nolla
17	näyte VL 591	näyte RL 603	näyte VL 617
18	näyte VL 591	näyte RL 603	näyte VL 617
19	nolla	nolla	nolla
20	nolla	nolla	nolla
21	nolla	nolla	nolla

Standardit valmistettiin 1000 mg/l varastoliuoksista, joista pipetoitiin 10 ml väli-
laimennokseen 100 ml mittapulloihin. Kaikki suoran 1 ja 2 standardit tehtiin väli-
laimennoksella. Ensimmäinen standardi valmistettiin 100 mg/l mittapulloon, jo-
hon pipetoitiin NPOC-välilaimennosta 0,5 ml ja TN-välilaimennosta 1 ml ja täytet-
tiin merkkiin MilliQ-vedellä. Samalla periaatteella tehtiin myös muut suorien stan-
dardit. Näytteeseen laimennetut standardit pipetoitiin samalla lailla, mutta MilliQ-
veden tilalla käytettiin jätevesinäytettä. Suoran 3 standardit valmistettiin NPOC:n
osalta suoraan varastoliuoksesta ja TN:n osalta välilaimennoksen kautta lukuun
ottamatta viimeistä standardia. Tämän suoran ensimmäinen standardi valmistet-
tiin pipetoimalla 5 ml NPOC-varastoliuosta ja 40 ml TN-välilaimennosta 100 ml
mittapulloon ja täytettiin MilliQ-vedellä tai jätevesinäytteellä. Valmiit standardit lai-
tettiin näytetelineen näyteputkiin taulukon 2 mukaan. Nollanäytteinä käytettiin Mil-
liQ-vettä.

Lineaarisuutta mitattiin kolmena eri päivänä. Jokaisesta kalibrointisuorasta tehtiin viisi eripitoista standardia ja jokaista standardia ajettiin 10 rinnakkaisnäytettä. Taulukossa 3 näkyy standardien pitoisuudet.

TAULUKKO 3. Standardien pitoisuudet.

	Suora 1		Suora 2		Suora 3	
	NPOC	TN	NPOC	TN	NPOC	TN
	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l
Standardi 1	0,5	1	5	10	50	40
Standardi 2	1	2,5	10	15	100	50
Standardi 3	2	5	20	20	200	60
Standardi 4	2,5	8	40	25	400	80
Standardi 5	5	10	50	40	500	100

Standardit valmistettiin varastoliuoksista. Suorien 1–2 standardit tehtiin 100 mg/l välilaimennoksesta, jossa varastoliuosta pipetoitiin 10 ml ja täytettiin MilliQ-vedellä 100 ml:n mittapulloon. Suora 1 ensimmäinen standardi valmistettiin 100 mg/l mittapulloon, johon pipetoitiin NPOC-välilaimennosta 0,5 ml ja TN-välilaimennosta 1 ml ja täytettiin merkkiin MilliQ-vedellä. Kahden ensimmäisen suoran standardit tehtiin tällä samalla periaatteella. Suoran 3 standardit pipetoitiin varastoliuoksesta. Ensimmäiseen standardiin pipetoitiin NPOC-varastoliuosta 5 ml ja TN-varastoliuosta 4 ml ja tasattiin 100 ml:aan. Muut standardit tehtiin samalla lailla.

Valmiit standardit laitettiin laitteen näyteputkiin. Ensimmäisiin kolmeen ja viimeisiin kolmeen näyteputkeen laitettiin MilliQ-vettä laitteen puhdistusta varten. Jokaisesta standardiliuoksesta tehtiin 10 rinnakkaista näytettä. Lineaarisuuden tuloksista saatiin myös tarkkuus ja hiilen toteamisraja.

Typen toteamis- ja määritysrajojen määrittämiseen käytettiin nollanäytteitä. Nollanäytteitä tehtiin MilliQ-veeseen ja niitä määritettiin 42 rinnakkaisnäytettä. Hiilen määritysrajaan käytettiin 0,1 mg/l pitoisia standardiliuoksia. Liuokset tehtiin NPOC-varastoliuoksesta laimentamalla ensiksi 100 mg/l ja siitä vielä 10 mg/l. Laimennokset tehtiin 100 ml mittapulloihin ja laimennettiin MilliQ-vedellä. 10 mg/l-liuosta pipetoitiin 1 ml ja laimennettiin vedellä 100 ml mittapulloon, jolloin saatiin 0,1 mg/l standardiliuos. Liuosta määritettiin laitteella 24 rinnakkaisnäytettä.

Toistettavuuden mittaukseen käytettiin Tampereen Vedelle tulleita näytteitä ja nollanäytteinä MilliQ-vettä. Näytteitä ajettiin yhdeksänä eri päivänä ja näytteet valmistettiin joka päivä samalla lailla, samanlaisilla välineillä ja samoissa olosuhteissa. Näytelistä on esitetty taulukossa 4. Näytteiden kirjainyhdiste kertoo, miltä puhdistamolta näyte on peräisin: V on Viinikanlahdesta, R on Raholasta ja P on Pilsosta. T, E tai L kertoo, onko kyseessä tuleva, esiselkeytetty vai lähtevä vesi. Numero kirjainyhdisteen perässä on näytenumero ja kerroin on laimennuskerroin.

TAULUKKO 4. Toistettavuuden näytelistä

	Näyte
1	nolla
2	nolla
3	nolla
4	VT 1, 10x
5	VL 3
6	nolla
7	RL 76
8	nolla
9	VT 88, 10x
10	VL 90
11	nolla
12	PL 103
13	PT 102, 10x
14	nolla
15	VT 141, 10x
16	VE 142, 5x
17	VL 143
18	nolla
19	nolla
20	nolla
21	nolla

Laimennokset tehtiin 50 ml:n mittapulloihin säilötyistä näytteistä. Kymmenkertaisissa laimennoksissa näytettä pipetoitiin 5 ml ja viisinkertaisissa 10 ml. Laimennoksiin käytettiin MilliQ-vettä.

6 TULOKSET

6.1 Kalibrointi

Laitteelle tehdyn kalibroinnin tulokset ovat liitteessä 3. Liitteestä näkyvät kalibroitiliuosten syötetyt ja mitatut pitoisuudet. Taulukkoon 5 kirjattiin jokaisen suoran korrelaatiokertoimet.

TAULUKKO 5. Kalibrointisuorien korrelaatiokertoimet.

Korrelaatiokerroin	
NPOC	
Suora 1	0,99985
Suora 2	0,99996
Suora 3	0,99999
TN	
Suora 1	0,99977
Suora 2	0,99997
Suora 3	0,99935

6.2 Selektiivisyys

Selektiivisyyden tuloksiksi saatiin taulukoiden 6–8 arvot ilman nollanäytteitä. Taulukossa 6 on esitetty kalibrointisuoran 1 arvot, taulukossa 7 suoran 2 arvot ja taulukossa 8 suoran 3 arvot. Taulukoissa näytteen nimissä on todelliset pitoisuudet NPOC/TN-muodossa.

TAULUKKO 6. Selektiivisyyden tulokset kalibrintisuoralle 1.

Näyte	NPOC		TN	
	Tulos mg/l	Laskettu tulos mg/l	Tulos mg/l	Laskettu tulos mg/l
st0,5/1	0,65		1,26	
st1/2,5	1,04		2,62	
st2,5/5	2,59		5,07	
st5/10	5,07		9,99	
lst0,5/1	13,51	0,56	43,50	1,57
lst1/2,5	13,79	1,11	43,85	2,77
lst2,5/5	14,89	2,73	43,78	4,40
lst5/10	16,47	5,29	45,45	9,26
näyte VL 591	13,06		42,57	
näyte VL 591	13,24		42,58	

TAULUKKO 7. Selektiivisyyden ajon tulokset kalibrintisuoralle 2.

Näyte	NPOC		TN	
	Tulos mg/l	Laskettu tulos mg/l	Tulos mg/l	Laskettu tulos mg/l
st5/10	5,11		10,25	
st10/15	10,27		15,21	
st25/20	25,69		20,43	
st50/40	49,76		39,28	
lst5/10	15,80	5,01	67,17	10,09
lst10/15	19,95	10,42	65,22	14,86
lst25/20	32,46	25,47	55,39	18,46
lst50/40	56,97	49,99	76,71	39,77
näyte RL 603	12,49		67,39	
näyte RL 603	12,90		66,91	

TAULUKKO 8. Selektiivisyyden ajon tulokset kalibrintisuoralle 3.

Näyte	NPOC		TN	
	Tulos mg/l	Laskettu tulos mg/l	Tulos mg/l	Laskettu tulos mg/l
st50/40	49,61		40,26	
st100/50	101,63		51,94	
st200/60	200,14		63,55	
st250/80	252,16		84,60	
lst50/40	57,49	50,26	65,37	40,89
lst100/50	106,77	101,50	69,16	51,36
lst200/60	203,98	201,35	70,38	61,48
lst250/80	262,50	253,69	108,47	78,65
näyte VL 617	13,12		44,51	
näyte VL 617	13,19		44,49	

Tulokset laskettiin käyttäen laimennuskaavaa $c_1V_1 = c_2V_2$ muokattuna. Alla oleva laskuesimerkki on taulukosta 6 oleva hiilen standardi Ist0,5/1.

$$c_2 = \text{saatu pitoisuus} - \frac{c_1 \cdot V_1}{V_2}$$

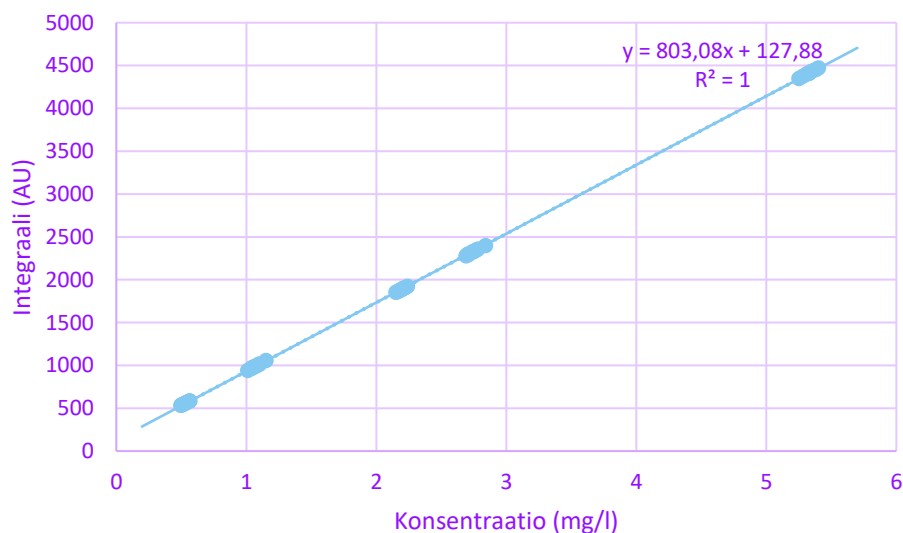
$$c_2 = 13,51 \text{ mg/l} - \frac{13,15 \text{ mg/l} \cdot 98,5 \text{ ml}}{100 \text{ ml}}$$

$$= 0,5582 \text{ mg/l} \approx 0,56 \text{ mg/l}$$

Laskussa c_1 on näytteiden, joihin standardit laimennettiin, pitoisuuksien keskiarvo, V_1 näytteen määrä standardiliuoksessa ja V_2 lopputilavuus.

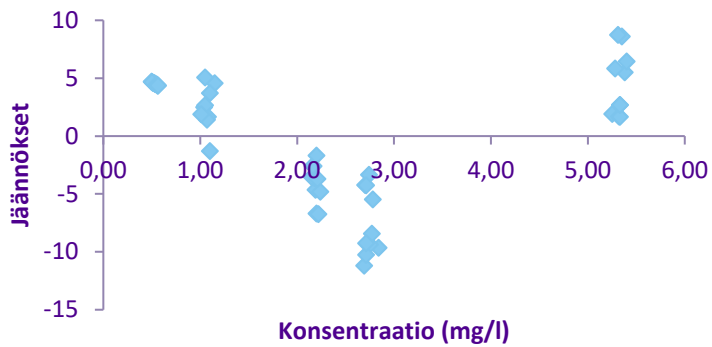
6.3 Lineaarisuus

Lineaarisuuden ajojen tulokset löytyvät liitteestä 4, joissa näytteen nimessä on todellinen pitoisuus yksikössä mg/l, laitteen antama integraali pinta-alana ja konsentraatio mg/l. Tuloksista tehtiin jokaiselle kalibroitisuoralla oma kuvaaja integraali konsentraation funktiona. Kuvaajille on esitetty kaavat ja korrelaatiokerroimet. Kuvioissa 2 on esitetty hiilen kuvaaja kalibroitisuoralle 1. Kuvaajan kulmakerroin on 803,08, korrelaatiokerroin $R^2 = 1,0000$ ja leikkauskohdan otoskeskihajonta $s_0 = 1,3285$.



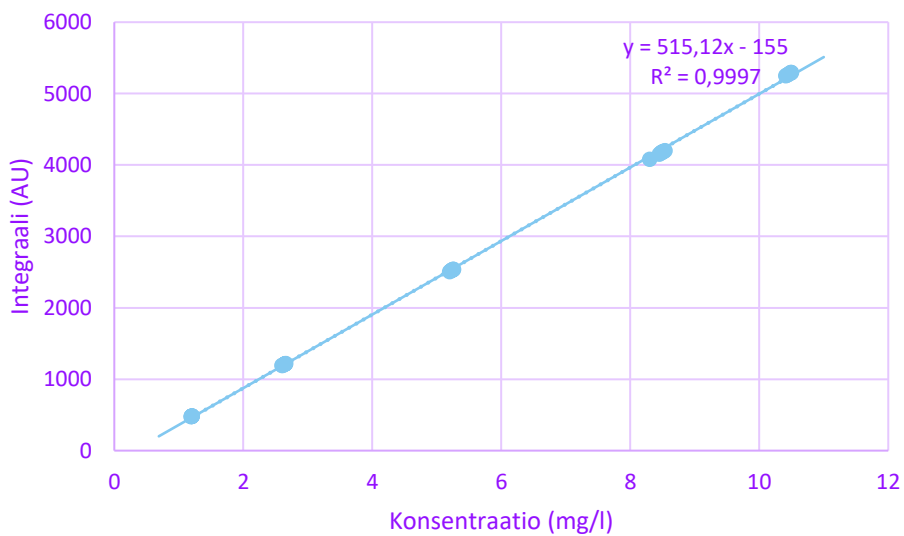
KUVIO 2. Kalibroitisuoran 1 kuvaaja hiillelle.

Kuviossa 3 on jäännöskaavio hiilen kalibrintisuoralle 1.



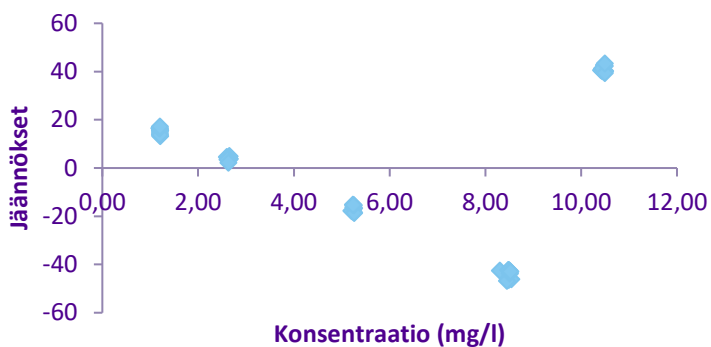
KUVIO 3. Kalibrintisuoran 1 hiilen jäännöskaavio.

Kuvioissa 4 on esitetty typen kuvaaja kalibrintisuoralle 1. Kuvaajan kulmakerroin on 515,12, korrelaatiokerroin $R^2 = 0,9997$ ja leikkauskohdan otoskeskihajonta $s_0 = 7,9129$.



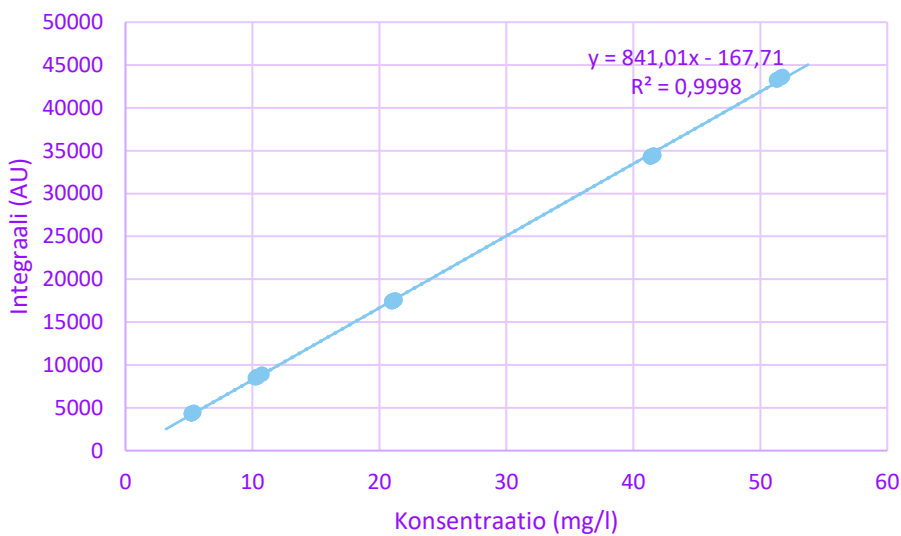
KUVIO 4. Kalibrintisuoran 1 kuvaaja typelle.

Kuviossa 5 on jäännöskaavio typen kalibrintisuoralle 1.



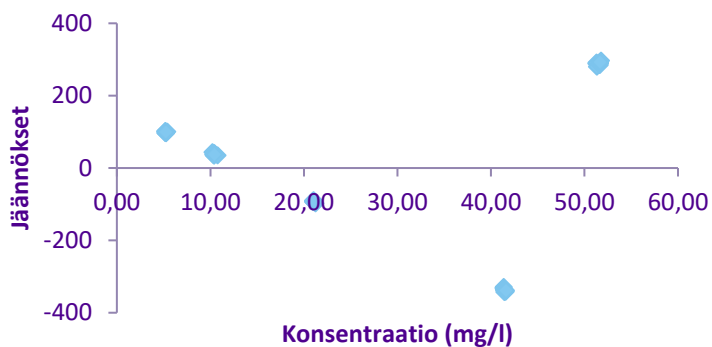
KUVIO 5. Kalibrintisuoran 1 typen jäännöskaavio.

Kuvioissa 6 on esitetty hiilen kuvaaja kalibrintisuoralle 2. Kuvaajan kulmakerroin on 841,01, korrelaatiokerroin $R^2 = 0,9998$ ja leikkauskohdan otoskeskihajonta $s_0 = 53,0655$.



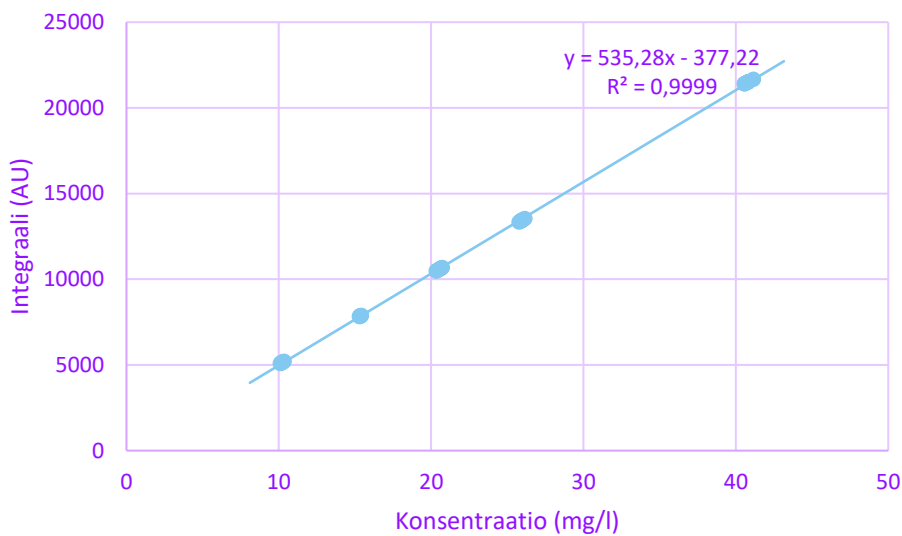
KUVIO 6. Kalibrintisuoran 2 kuvaaja hiillelle.

Kuviossa 7 on jäännöskaavio hiilen kalibrintisuoralle 2.



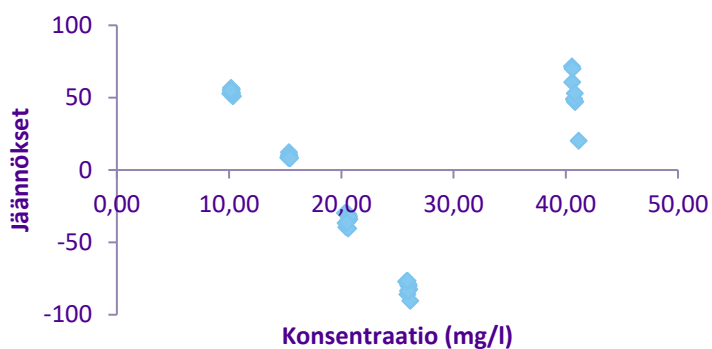
KUVIO 7. Kalibrintisuoran 2 hiilen jäännöskaavio.

Kuvioissa 8 on esitetty typen kuvaaja kalibrintisuoralle 2. Kuvaajan kulmakerroin on 535,28, korrelaatiokerroin $R^2 = 0,9999$ ja leikkauskohdan otoskeskihajonta $s_0 = 17,8865$.



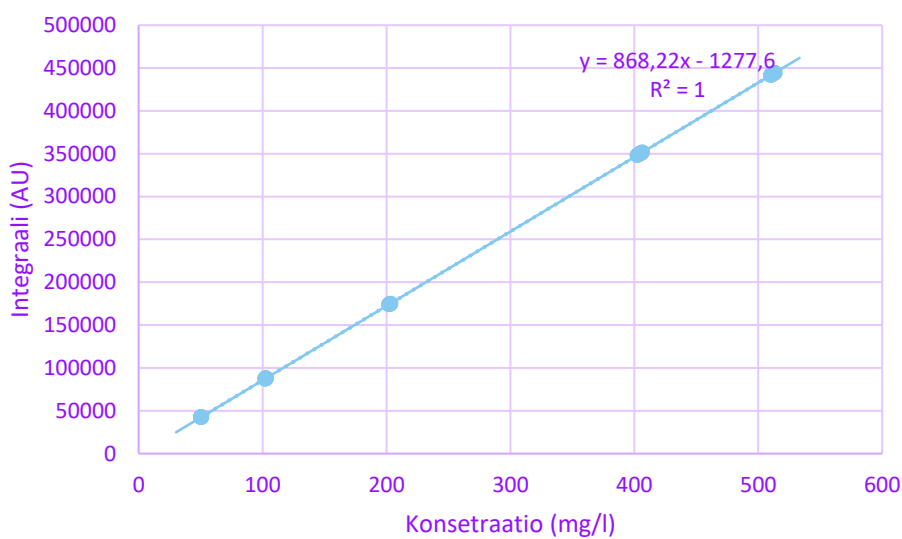
KUVIO 8. Kalibrintisuoran 2 kuvaaja typelle.

Kuviossa 9 on jäännöskaavio typen kalibrintisuoralle 2.



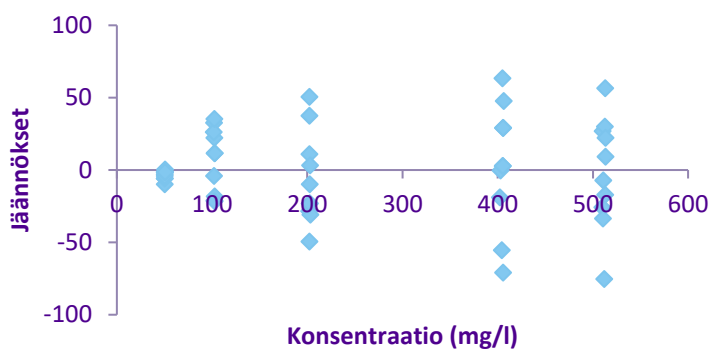
KUVIO 9. Kalibrintisuoran 2 typen jäännöskaavio.

Kuvioissa 10 on esitetty hiilen kuvaaja kalibrintisuoralle 3. Kuvaajan kulmakerroin on 868,22, korrelaatiokerroin $R^2 = 1,0000$ ja leikkauskohdan otoskeskihajonta $s_0 = 7,5297$.



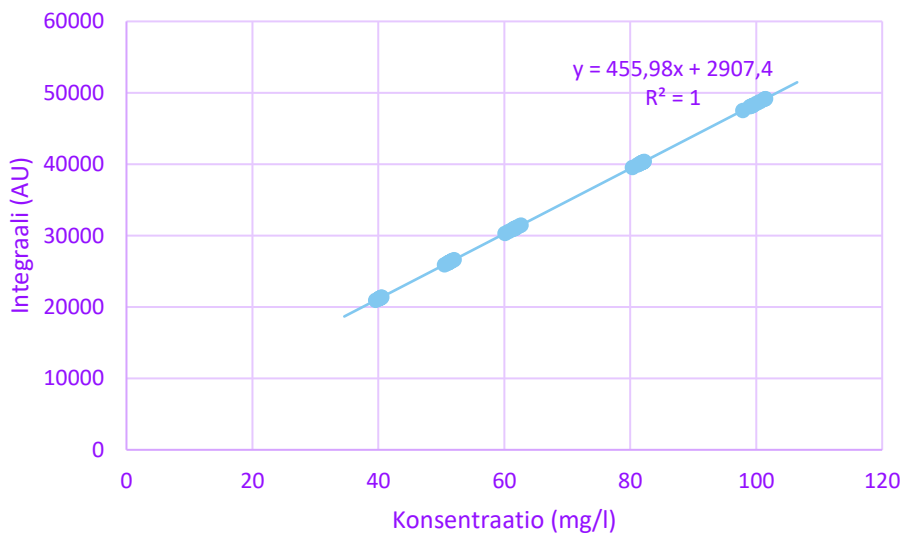
KUVIO 10. Kalibrintisuoran 3 kuvaaja hiilelle.

Kuviossa 11 on jäännöskaavio hiilen kalibrintisuoralle 3.



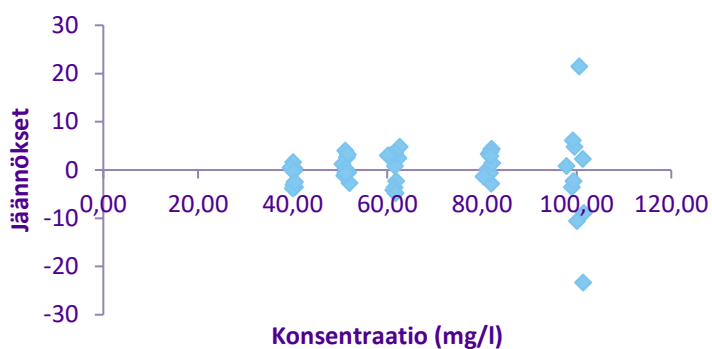
KUVIO 11. Kalibrintisuoran 3 hiilen jäännöskaavio.

Kuvioissa 12 on esitetty typen kuvaaja kalibrintisuoralle 3. Kuvaajan kulmakerroin on 455,98, korrelaatiokerroin $R^2 = 1,0000$ ja leikkauskohdan otoskeskihajonta $s_0 = 2,6602$.



KUVIO 12. Kalibrintisuoran 3 kuvaaja typelle.

Kuviossa 13 on jäännöskaavio typen kalibrointisuoralle 3.



KUVIO 13. Kalibrointisuoran 3 typen jäännöskaavio.

6.4 Toteamis- ja määritysrajat

Hiilen toteamis- ja määritysrajat laskettiin liitteessä 4 olevista lineaarisuuden tuloksista. Hiilen toteamisraja laskettiin kaavalla 2.

$$\begin{aligned} LOD &= \frac{3 \cdot 1,3285 \text{ mg/l}}{803,08} \\ &= 0,004962 \text{ mg/l} \approx 0,0050 \text{ mg/l} \end{aligned}$$

Hiilen toteamisrajaksi saatiin 0,0050 mg/l. Hiilen määritysrajaan tarvittavat tulokset löytyvät taulukosta 9.

TAULUKKO 9. Standardin 0,1 mg/l tulokset hiilelle.

Näyte	NPOC mg/l
st0,1	0,26
st0,1	0,15
st0,1	0,17
st0,1	0,11
st0,1	0,14
st0,1	0,09
st0,1	0,15
st0,1	0,14
st0,1	0,15
st0,1	0,13
st0,1	0,16
st0,1	0,12
st0,1	0,31
st0,1	0,17
st0,1	0,17
st0,1	0,18
st0,1	0,15
st0,1	0,17
st0,1	0,15
st0,1	0,19
st0,1	0,14
st0,1	0,16
st0,1	0,17
st0,1	0,14

Määrittämissärajien määrittämisessä standardista laskettiin keskiarvo ja keskihajonta käyttäen Excel-ohjelmaa. Näillä arvoilla saatiin määrittämissäraja kaavalla 3.

$$\begin{aligned}
 LOQ &= 0,1609 \text{ mg/l} + 10 \cdot 0,0451 \text{ mg/l} \\
 &= 0,6119 \text{ mg/l} \approx 0,61 \text{ mg/l}
 \end{aligned}$$

Hiilen määrittämissärajaksi saatiin 0,61 mg/l.

Typelle laskettiin toteamis- ja määrittäysrajat taulukon 10 tuloksista.

TAULUKKO 10. Nollanäytteiden tulokset typelle.

Näyte	TN mg/l	Näyte	TN mg/l
nolla	0,30	nolla	0,26
nolla	0,28	nolla	0,28
nolla	0,28	nolla	0,28
nolla	0,27	nolla	0,27
nolla	0,28	nolla	0,27
nolla	0,27	nolla	0,27
nolla	0,28	nolla	0,27
nolla	0,27	nolla	0,27
nolla	0,27	nolla	0,27
nolla	0,27	nolla	0,27
nolla	0,27	nolla	0,27
nolla	0,27	nolla	0,27
nolla	0,27	nolla	0,27
nolla	0,27	nolla	0,27
nolla	0,27	nolla	0,27
nolla	0,27	nolla	0,27
nolla	0,27	nolla	0,27
nolla	0,27	nolla	0,27
nolla	0,27	nolla	0,27
nolla	0,27	nolla	0,27
nolla	0,27	nolla	0,27
nolla	0,26	nolla	0,27
nolla	0,27	nolla	0,27

Toteamisrajan määrittämisessä nollanäytteistä laskettiin keskiarvo ja keskihajonta käyttäen Excel-ohjelmaa. Näistä arvoista laskettiin toteamisrajan arvo kaavalla 1.

$$\begin{aligned}
 LOD &= 0,2719 \text{ mg/l} + 3 \cdot 0,0058 \text{ mg/l} \\
 &= 0,2893 \text{ mg/l} \approx 0,29 \text{ mg/l}
 \end{aligned}$$

Typen toteamisrajaksi saatiin 0,29 mg/l. Määrittäysraja laskettiin samoja arvoja käyttäen kaavalla 3.

$$\begin{aligned}
 LOQ &= 0,2719 \text{ mg/l} + 10 \cdot 0,0058 \text{ mg/l} \\
 &= 0,3301 \text{ mg/l} \approx 0,33 \text{ mg/l}
 \end{aligned}$$

Typen määrittäysrajaksi saatiin 0,33 mg/l.

6.5 Tarkkuus

Tarkkuus laskettiin liitteessä 4 olevista lineaarisuuden tuloksista. Ne tulokset, joita käytettiin tarkkuuteen, listattiin taulukkoon 11.

TAULUKKO 11. Tarkkuuteen käytettyjen tuloksien arvot.

Näyte	NPOC mg/l	TN mg/l
st10/15	10,38	15,34
st10/15	10,35	15,35
st10/15	10,33	15,33
st10/15	10,39	15,36
st10/15	10,23	15,36
st10/15	10,42	15,30
st10/15	10,32	15,35
st10/15	10,38	15,29
st10/15	10,76	15,41
st10/15	10,42	15,42

Tarkkuuteen laskettiin todenmukaisuus ja täsmällisyys. Tuloksista laskettiin keskiarvo, jota verrattiin todellisiin arvoihin laskemalla harha kaavalla 4.

$$E = \frac{|10,40 \text{ mg/l} - 10,00 \text{ mg/l}|}{10,00 \text{ mg/l}} \cdot 100 \%$$

$$= 4,00 \%$$

Hiilen harhaksi saatiin 4,00 % ja typen harhaksi 2,33 %. Todenmukaisuuden lisäksi laskettiin täsmällisyys suhteellisen keskihajonnan mukaan kaavalla 5.

$$RSD = \frac{0,1390 \text{ mg/l}}{10,40 \text{ mg/l}} \cdot 100 \%$$

$$= 1,3365 \% \approx 1,34 \%$$

Hiilelle suhteelliseksi keskihajonnaksi saatiin 1,34 % ja typelle 1,27 %.

6.6 Toistettavuus

Toistettavuutta ajettiin yhdeksänä eri päivänä ja ajojen tulokset ovat liitteessä 5. Tuloksista laskettiin keskiarvot ja keskihajonnat näytteistä. Nollanäytteitä ei otettu mukaan. Tulokset listattiin taulukkoon 12.

TAULUKKO 12. Toistettavuuden keskiarvot, keskihajonnat ja keskihajonta prosentteina.

Näyte	NPOC			TN		
	Keskiarvo mg/l	Keskihajonta mg/l	Keskihajonta %	Keskiarvo mg/l	Keskihajonta mg/l	Keskihajonta %
VT 1, 10x	215,20	20,78	9,7	57,47	1,19	2,1
VL 3	13,65	0,14	1,0	39,61	0,24	0,6
RL 76	8,96	0,08	0,9	72,26	0,38	0,5
VT 88, 10x	232,46	38,05	16,4	64,28	1,97	3,1
VL 90	14,78	0,07	0,5	49,09	0,79	1,6
PL 103	11,67	0,10	0,9	60,03	0,93	1,5
PT 102, 10x	230,42	42,83	18,6	80,49	2,68	3,3
VT 141, 10x	219,08	31,90	14,6	62,68	1,79	2,9
VE 142, 5x	44,81	3,40	7,6	49,23	1,20	2,4
VL 143	14,01	0,11	0,8	43,35	0,26	0,6

7 POHDINTA

Opinnäytetyön tavoitteena oli validoida jätevesinäytteiden kokonaistypen ja -hiilen määrittäminen Analytik Jenan multi N/C® 2100S laitteelle sekä laatia menetelmälle ohjeet. Tarkoituksena oli muokata standardissa kuvattua menetelmää toimivaksi jätevesinäytteille ja arvioida menetelmän sopivuutta käyttötarkoitukseen validointiparametrien avulla. Työn tavoite ja tarkoitus toteutui suunnitelmien mukaisesti. Kaikista validointiparametreista saatiin tulokset ja menetelmä saatiin validoitua.

Ennen varsinaisen työn aloitusta laitteelle tehtiin testauksia toimeksiantajan toiveesta. Laitteella testattiin toimintoja, kuten magneettisekoittajien toimintaa ja tarvetta sekä nollanäytteiden määrää näytteiden väliin. Todettiin, ettei sekoitusta tarvitse näytteisiin, koska replikaatioiden tuloksiin ei tullut vaihtelua sekoituksella tai ilman. Nollanäytteiden määrä näytteiden välissä käytetään laitteen puhdistukseen, jottei edellisestä näytteestä jää jäämiä seuraavaan. Päätettiin laimentaa näytteet, jolloin nollanäytteitä ei tarvitse niin montaa näytteiden väleihin. Näiden koeajojen jälkeen aloitettiin itse validointi.

Selektiivisyydessä vertailtiin standardisuoria ja näytteeseen laimennettuja standardisuoria. Näytteen lisäyksen standardiliuoksiin ei pitäisi vaikuttaa standardisuoran tuloksiin ollenkaan. Tuloksia tutkimalla voidaan todeta, ettei lisääminen vaikuta tulokseen. Tulokset eivät ole täysin samoja, mutta ovat samansuuntaisia. Pienemmissä standardeissa vaihtelut ovat isompia, mikä selittyy jo liuosten teossa tulevasta mittausepävarmuudesta.

Lineaariset alueet ovat NPOC-määrittämisessä 0,5 mg/l - 5 mg/l, 5 mg/l - 50 mg/l ja 50 mg/l - 500 mg/l, ja TN-määrittämisessä 1 mg/l - 10 mg/l, 10 mg/l - 40 mg/l ja 40 mg/l - 100 mg/l. Jokaisesta suorasta tehtiin jäännöskaavio, joissa pisteet tulisi olla x-akselin molemmiin puolin muodostamatta selvää kuviota. Kaikki muut suorat voidaan todeta lineaarisiksi jäännöskaavioiden perusteella, mutta suoran 3 kaavioissa pisteet jakautuvat levälleen. Kuvioissa 11 ja 12 näkyy, kuinka standardin rinnakkaismäärittämisessä pisteet eivät ole yhdessä kohtaa.

Toteamisrajaksi hiilelle saatiin 0,0050 mg/l ja typelle 0,29 mg/l. NPOC-määrityksessä nollanäytteiden tulos on 0 mg/l, jonka takia hiilen toteamisraja laskettiin lineaarisuuden tuloksista. Tästä syystä myös hiilen toteamisraja on pienempi kuin typellä. Määritysrajoiksi saatiin hiilelle 0,61 mg/l ja typelle 0,33 mg/l. Määritysraja on hiilelle isompi kuin typelle. Hiilen määritysrajan mittauksen tuloksissa nähtiin suurta hajontaa, mikä nostaa määritysrajan korkeammaksi. Lineaarisuuteen verrattaessa hiilen määritysraja on suurempi kuin pienin pitoisuus.

Tarkkuutta tutkittiin harhan ja suhteellisen keskihajonnan avulla. Hiilelle harhan tulokseksi saatiin 4,00 % ja typelle 2,33 %. Hiilelle suhteelliseksi keskihajonaksi saatiin 1,34 % ja typelle 1,27 %. Suhteellisen keskihajonnan ollessa pieni, menetelmä on tarkka. Molemmille määrityksille saatiin hyvät tarkkuuden tulokset.

Toistettavuuden mittauksista laskettiin keskihajonnat prosentteina. Ne näkyvät taulukossa 12. TN-määrityksessä hajonnat ovat pieniä ja voidaan todeta, että menetelmä on toistettavissa luotettavasti. NPOC-määrityksessä taas likaisemmissa vesissä on enemmän hajontaa. Tähän voi vaikuttaa laimentaminen tai korkeammassa hiilipitoisuuksissa hajontaa vain syntyy enemmän.

Työn tuloksia tarkasteltaessa täytyi ottaa huomioon, että kyseessä ovat jätevesinäytteitä, jolloin esimerkiksi toistettavuuden tulokset suurenevat. Näytteet eivät ole täysin homogeenisiä vaan sisältävät roskaa, jotka voivat päätyä johonkin laimennokseen muttei toiseen. Näin ne voivat vaikuttaa tuloksiin. Roskat näytteessä voivat myös päätyä laitteelle ja neula voi mennä tukkoon. Tästä syystä näytteet laimennetaan, vaikka pitoisuusalue riittäisikin ilman laimennosta. Likaisemmista näytteistä tulisi tehdä rinnakkaismäärityksiä, jotta tulokset olisivat luotettavia.

Tuloksista voidaan päätellä, että kalibrointi pitäisi tehdä uudelleen hiilen osalta. Määritysraja on tällä hetkellä korkeampi kuin kalibroinnin pienin pitoisuus, joten pienien pitoisuuksien tuloksiin ei voi täysin luottaa. Pienin pitoisuus voitaisiin nostaa esimerkiksi 1,0 mg/l. Kalibroinnin uusiminen ei vaikuta muihin validoinnin parametreihin, koska suoran alkupää vain nousee vähän korkeampaan pitoisuuteen.

Opinnäytetyössä tehtiin menetelmäohje ja käyttöohje MultiWin-ohjelmistolle. Käyttöohjeen luotiin auttamaan henkilökuntaa laitteen käytössä varsinkin perehdytysvaiheessa. Siitä löytää helposti ohjeet, miten esimerkiksi kalibrointi tehdään. Menetelmäohje pohjautuu kahteen standardiin SFS-EN 1484 ja SFS-EN 12260. Muutokset tehtiin joko laitteen valmistajan tai toimeksiantajan ohjeiden perusteella. Menetelmäohjeesta puuttuvat vielä standardien toiminta- ja hälytysrajat, koska niiden määrittämiseen tarvitaan lisää toistoja. Rajat tullaan laskemaan myöhemmin, kun tuloksia on riittävästi.

Jatkossa voitaisiin tutkia, voidaanko NPOC-määrityksen tuloksia käyttää biologisen hapenkulutuksen (BOD) ennusteessa. Tällä hetkellä ennusteeseen käytetään KMnO_4 -luvun määrittäystä. NPOC-määritys on kestoiltaan pidempi kuin KMnO_4 -luvun määrittäminen, mikä voi hankaloittaa analyysien ajoittamista työpäivän sisällä.

LÄHTEET

Analytik Jena AG. 2020. Operating Manual. Painos 5.10. PDF.

Berner. n.d. Orgaaninen kokonaishiilianaalysaattori (TOC). Verkkosivu. Viitattu 01.04.2022. <https://www.bernermedlab.fi/tuotteet/orgaaninen-kokonaishiilianaalysaattori-toc/>

Bernhard, A. 2010. The Nitrogen Cycle: Processes, Players, and Human Impact. Nature Education Knowledge. Viitattu 01.04.2022. <https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/the-nitrogen-cycle-processes-players-and-human-15644632/>

Ehder, T. 2005. Kemian metrologian opas. MIKES Julkaisu J6/2005. Viitattu 02.03.2022. <https://www.vttresearch.com/sites/default/files/pdf/MIKES/2005-J6.pdf>

Gillberg, L., Hansen, B., Karlsson, I., Nordström Enkel, A. & Pålsson, A. 2003. About water treatment. 1. painos. Helsingborg: Kemira Kemwater.

Hyx Oy. n.d. TOC/TNB-analysaattori multi N/C® 2100S. Verkkosivu. Viitattu 17.03.2022. <https://www.hyx.fi/fi/tuote/laboriolaitteet/typen-ja-proteiinin-maarityslaitteet/toc-tnb-analysaattori-multi-n-c-2100s/>

Hägg, M. 2016. Validoinnin suunnittelun opas. VTT Technology 276. Viitattu 02.03.2022. <https://www.vttresearch.com/sites/default/files/pdf/technology/2016/T276.pdf>

Jaarinen, S. & Niiranen, J. 2005. Laboratorion analyysitekniikka. 5. painos. Helsinki: Edita.

Luonnontila.fi. 25.09.2014. SV2 Typpikuormitus. Verkkosivu. Viitattu 21.03.2022. <https://www.luonnontila.fi/fi/elinymparistot/sisavedet/sv2-sisavesien-typpikuormitus>

Makkonen, E. 2015. Teollisuusjätevesien seuranta ja hallinta – tapauskohteena Jyväskylän seutu. Ympäristö- ja energiatekniikan koulutusohjelma. Tampereen teknillinen yliopisto. Diplomityö. Viitattu 21.03.2022. <https://www.js-puhdistamo.fi/wp-content/uploads/2015/08/Makkonen.pdf>

Mäkinen, I., Suortti, A-M., Saares, R., Niemi, R. & Marjanen, J.J. 1996. Ohjeita ympäristönäytteiden kemiallisten analyysimenetelmien validointiin. Viitattu 13.04.2022. <https://core.ac.uk/download/pdf/78563645.pdf>

Nyman, N. 10.05.2011. Orgaanisen hiilen määritysmenetelmän validointi. Kemiantelekniikan koulutusohjelma. Metropolia ammattikorkeakoulu. Insinööriyö. Viitattu 01.04.2022. https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/31264/Nyman_Niina.pdf?sequence=1

Pesälä, T. 2016. Kokonaistypen määrittäminen kiinteistä ympäristönäytteistä. Laboratorioalan koulutusohjelma. Oulun ammattikorkeakoulu. Opinnäytetyö. Viitattu 21.03.2022. https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/105504/Pesala_Teemu.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Riebeek, H. 16.06.2011. The carbon cycle. NASA: Earth observatory. Viitattu 21.03.2022. <https://earthobservatory.nasa.gov/features/CarbonCycle>

SFS-EN 1484. 2000. Vesianalyysi. Ohjeita orgaanisen hiilen kokonaismäärän (TOC) ja liuenneen orgaanisen hiilen (DOC) määrittämiseen. Helsinki: Suomen Standardoimisliitto SFS. Viitattu 01.04.2022. Vaatii käyttöoikeuden. <https://online.sfs.fi/fi/index.html.stx>

SFS-EN 12260. 2004. Water quality. Determination of nitrogen. Determination of bound nitrogen (TNb), following oxidation to nitrogen oxides. Helsinki: Suomen Standardoimisliitto SFS. Viitattu 01.04.2022. Vaatii käyttöoikeuden. <https://online.sfs.fi/fi/index.html.stx>

Suomen ympäristökeskus. 28.10.2019. Jätevedenpuhdistamolla tapahtuu. Verkkosivu. Viitattu 16.03.2022. <https://www.vesi.fi/vesitieto/jatevedenpuhdistamolla-tapahtuu/>

Tampereen Vesi. n.d. Historiaa. Verkkosivu. Viitattu 01.03.2022. <https://www.tampere.fi/vesi/tampereenvesi/historiaa.html>

Tchobanoglous, G., Burton, F. & Stensel, H. 2003. Wastewater engineering, treatment and reuse. 4. painos. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc.

ThermoFisher. n.d. Total nitrogen & Phosphorus Analysis. Verkkosivu. Viitattu 01.04.2022. <https://www.thermofisher.com/fi/en/home/industrial/environmental/environmental-learning-center/contaminant-analysis-information/anion-analysis/total-nitrogen-phosphorus-analysis.html>

Tuser, C. 09.01.2020. What is wastewater? Water & wastes digest. Viitattu 14.03.2022. <https://www.wwdmag.com/wastewater-treatment/what-wastewater>

Vesilaitosyhdistys. 2014. Puhtaan veden tekijät. Jätevesien puhdistaminen Suomessa. Viitattu 21.03.2022. https://www.vvy.fi/site/assets/files/1086/vvy_puhtaan_veden_tekijat_netti.pdf

LIITTEET

Liite 1. Menetelmäohje

1(5)

Poistettu julkisesta versiosta

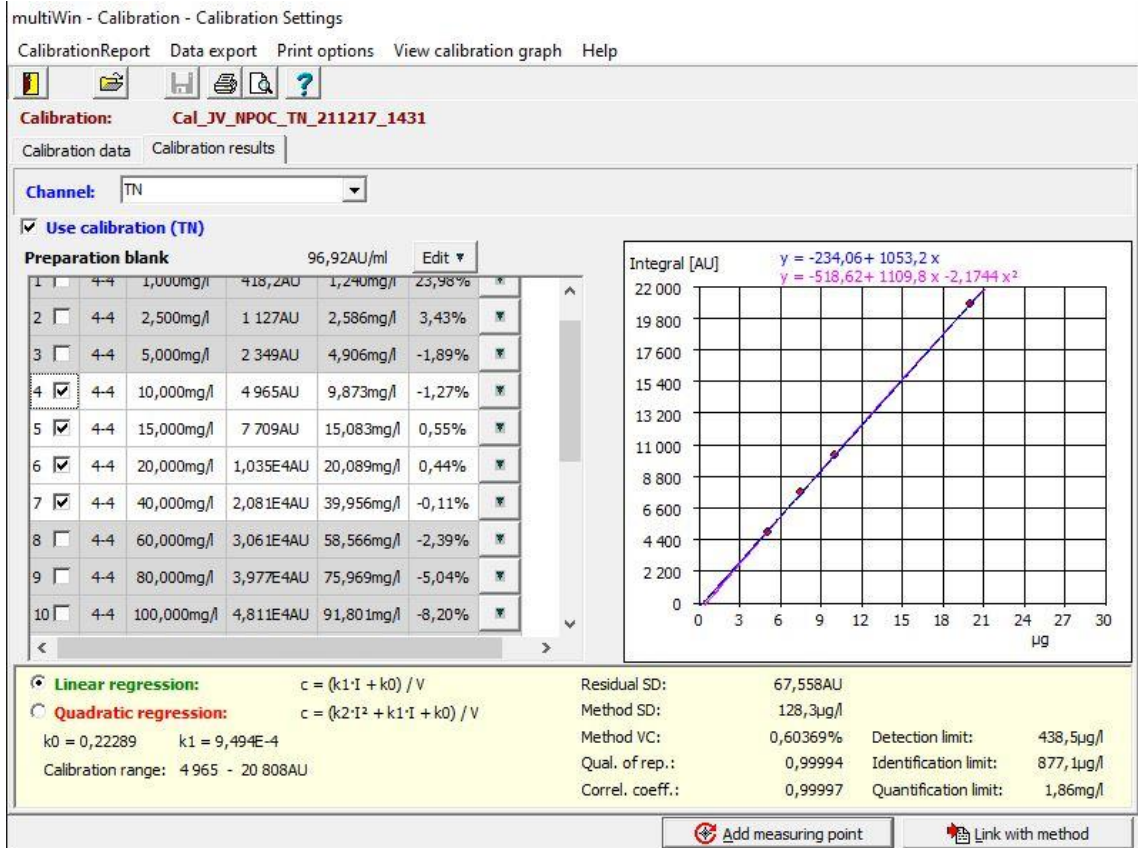
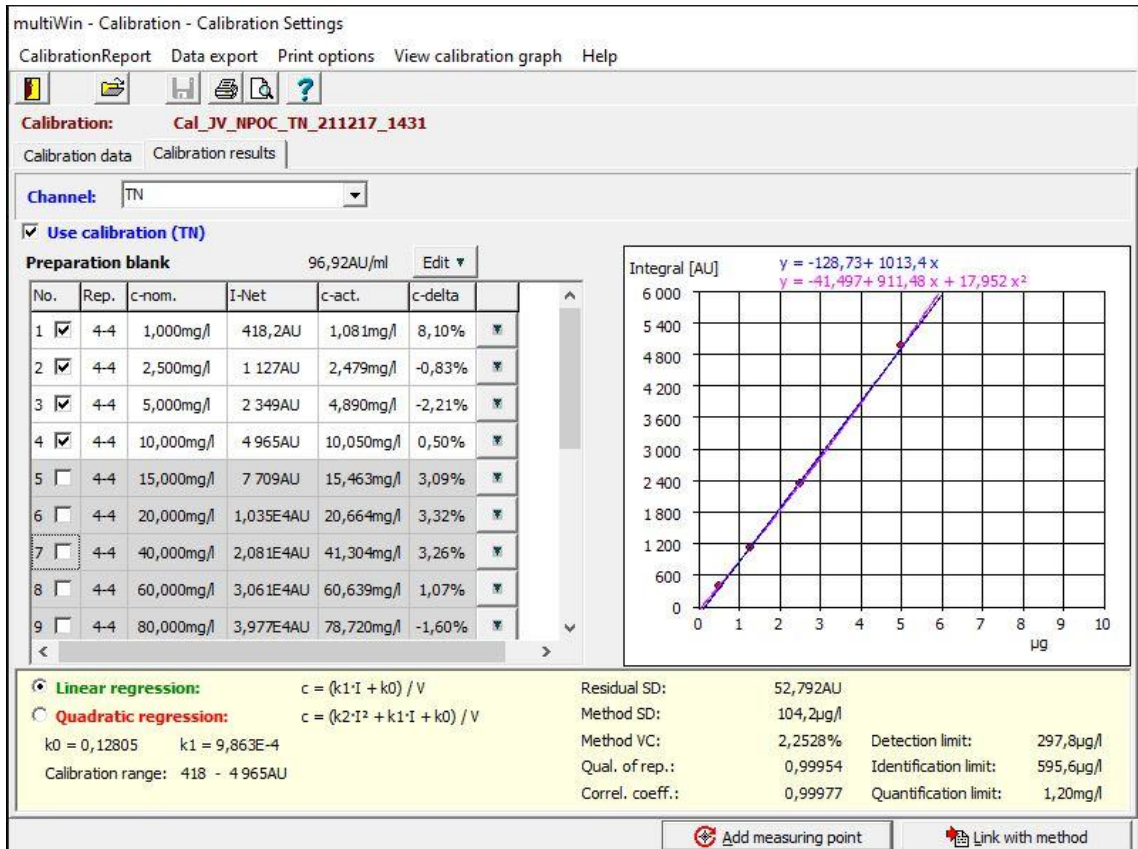
Liite 2. MultiWin-ohjelmiston käyttöohje

1(15)

Poistettu julkisesta versiosta

Liite 3. Kalibrintisuorat

1(3)



2(3)

multiWin - Calibration - Calibration Settings

CalibrationReport Data export Print options View calibration graph Help

Calibration: **Cal_JV_NPOC_TN_211217_1431**

Calibration data Calibration results

Channel: TN

Use calibration (TN)

Preparation blank 96,92AU/ml Edit ▾

No.	Rep.	c-nom.	I-Net	c-act.	c-delta	
1	4-4	1,000mg/l	418,2AU	-5,458mg/l	-645,79%	✖
2	4-4	2,500mg/l	1 127AU	-3,903mg/l	-256,14%	✖
3	4-4	5,000mg/l	2 349AU	-1,224mg/l	-124,48%	✖
4	4-4	10,000mg/l	4 965AU	4,513mg/l	-54,87%	✖
5	4-4	15,000mg/l	7 709AU	10,531mg/l	-29,80%	✖
6	4-4	20,000mg/l	1,035E4AU	16,312mg/l	-18,44%	✖
7	4-4	40,000mg/l	2,081E4AU	39,258mg/l	-1,86%	✖
8	4-4	60,000mg/l	3,061E4AU	60,752mg/l	1,25%	✖
9	4-4	80,000mg/l	3,977E4AU	80,852mg/l	1,07%	✖
10	4-4	100,000mg/l	4,811E4AU	99,138mg/l	-0,86%	✖

Linear regression: $c = (k_1 \cdot I + k_0) / V$

Quadratic regression: $c = (k_2 \cdot I^2 + k_1 \cdot I + k_0) / V$

$k_0 = -3,1875$ $k_1 = 1,097E-3$

Calibration range: 20 808 - 48 113AU

Residual SD: 518,25AU

Method SD: 1,14mg/l

Method VC: 1,6257%

Qual. of rep.: 0,99871

Correl. coeff.: 0,99935

Detection limit: 5,71mg/l

Identification limit: 11,41mg/l

Quantification limit: 20,24mg/l

Add measuring point Link with method

multiWin - Calibration - Calibration Settings

CalibrationReport Data export Print options View calibration graph Help

Calibration: **Cal_JV_NPOC_TN_211217_1431**

Calibration data Calibration results

Channel: NPOC

Use calibration (NPOC)

Preparation blank 224,3AU/ml Edit ▾

No.	Rep.	c-nom.	I-Net	c-act.	c-delta	
1	4-4	0,500mg/l	537,4AU	0,504mg/l	0,83%	✖
2	4-4	1,000mg/l	906,8AU	0,967mg/l	-3,28%	✖
3	4-4	2,500mg/l	2 167AU	2,546mg/l	1,86%	✖
4	4-4	5,000mg/l	4 110AU	4,982mg/l	-0,36%	✖
5	4-4	10,000mg/l	8 189AU	10,095mg/l	0,95%	✖
6	4-4	25,000mg/l	2,093E4AU	26,070mg/l	4,28%	✖
7	4-4	50,000mg/l	4,136E4AU	51,675mg/l	3,35%	✖
8	4-4	100,000mg/l	8,589E4AU	107,500mg/l	7,50%	✖
9	4-4	250,000mg/l	2,166E5AU	271,370mg/l	8,55%	✖

Linear regression: $c = (k_1 \cdot I + k_0) / V$

Quadratic regression: $c = (k_2 \cdot I^2 + k_1 \cdot I + k_0) / V$

$k_0 = -0,08478$ $k_1 = 6,268E-4$

Calibration range: 537 - 4 110AU

Residual SD: 33,681AU

Method SD: 42,23µg/l

Method VC: 1,877%

Qual. of rep.: 0,99971

Correl. coeff.: 0,99985

Detection limit: 117,8µg/l

Identification limit: 235,7µg/l

Quantification limit: 485,7µg/l

Add measuring point Link with method

3(3)

multiWin - Calibration - Calibration Settings

CalibrationReport Data export Print options View calibration graph Help

Calibration: **Cal_JV_NPOC_TN_211217_1431**

Channel: NPOC

Use calibration (NPOC)

Preparation blank 224,3AU/ml Edit ▾

No.	Rep.	c-nom.	I-Net	c-act.	c-delta
1	<input type="checkbox"/>	4-4 0,500mg/l	537,4AU	0,654mg/l	30,74%
2	<input type="checkbox"/>	4-4 1,000mg/l	906,8AU	1,099mg/l	9,93%
3	<input type="checkbox"/>	4-4 2,500mg/l	2 167AU	2,619mg/l	4,76%
4	<input checked="" type="checkbox"/>	4-4 5,000mg/l	4 110AU	4,963mg/l	-0,74%
5	<input checked="" type="checkbox"/>	4-4 10,000mg/l	8 189AU	9,883mg/l	-1,17%
6	<input checked="" type="checkbox"/>	4-4 25,000mg/l	2,093E4AU	25,257mg/l	1,03%
7	<input checked="" type="checkbox"/>	4-4 50,000mg/l	4,136E4AU	49,897mg/l	-0,21%
8	<input type="checkbox"/>	4-4 100,000mg/l	8,589E4AU	103,620mg/l	3,62%
9	<input type="checkbox"/>	4-4 250,000mg/l	2,166E5AU	261,310mg/l	4,52%

Linear regression: $c = (k_1 \cdot I + k_0) / V$

Quadratic regression: $c = (k_2 \cdot I^2 + k_1 \cdot I + k_0) / V$

$k_0 = 2,696E-3$ $k_1 = 6,032E-4$

Calibration range: 4 110 - 41 358AU

Residual SD: 177,18AU

Method SD: 213,8µg/l

Method VC: 0,95003%

Qual. of rep.: 0,99993

Correl. coeff.: 0,99996

Detection limit: 596,5µg/l

Identification limit: 1,19mg/l

Quantification limit: 2,54mg/l

Integral [AU] $y = -3,0782 + 1657,8 x$
 $y = -237,34 + 1716,4 x - 2,0918 x^2$

µg

Add measuring point Link with method

multiWin - Calibration - Calibration Settings

CalibrationReport Data export Print options View calibration graph Help

Calibration: **Cal_JV_NPOC_TN_211217_1431**

Channel: NPOC

Use calibration (NPOC)

Preparation blank 224,3AU/ml Edit ▾

No.	Rep.	c-nom.	I-Net	c-act.	c-delta
2	<input type="checkbox"/>	4-4 1,000mg/l	906,8AU	2,519mg/l	151,93%
3	<input type="checkbox"/>	4-4 2,500mg/l	2 167AU	3,970mg/l	58,81%
4	<input type="checkbox"/>	4-4 5,000mg/l	4 110AU	6,208mg/l	24,17%
5	<input type="checkbox"/>	4-4 10,000mg/l	8 189AU	10,906mg/l	9,06%
6	<input type="checkbox"/>	4-4 25,000mg/l	2,093E4AU	25,584mg/l	2,34%
7	<input checked="" type="checkbox"/>	4-4 50,000mg/l	4,136E4AU	49,110mg/l	-1,78%
8	<input checked="" type="checkbox"/>	4-4 100,000mg/l	8,589E4AU	100,400mg/l	0,40%
9	<input checked="" type="checkbox"/>	4-4 250,000mg/l	2,166E5AU	250,960mg/l	0,39%
10	<input checked="" type="checkbox"/>	4-4 500,000mg/l	4,324E5AU	499,520mg/l	-0,10%

Linear regression: $c = (k_1 \cdot I + k_0) / V$

Quadratic regression: $c = (k_2 \cdot I^2 + k_1 \cdot I + k_0) / V$

$k_0 = 0,73739$ $k_1 = 5,759E-4$

Calibration range: 41 358 - 432 420AU

Residual SD: 892,6AU

Method SD: 1,03mg/l

Method VC: 0,45693%

Qual. of rep.: 0,99998

Correl. coeff.: 0,99999

Detection limit: 2,87mg/l

Identification limit: 5,74mg/l

Quantification limit: 12,47mg/l

Integral [AU] $y = -1277,1 + 1736,4 x$
 $y = -2593,8 + 1769,4 x - 0,11758 x^2$

µg

Add measuring point Link with method

Liite 4. Lineaarisuuden tulokset

1(6)

NPOC Suora 1					
näyte	vaste AU	tulos mg/l	näyte	vaste AU	tulos mg/l
st0,5	583,5	0,56	st2	1860	2,16
st0,5	548,4	0,52	st2	1922	2,24
st0,5	531,5	0,50	st2	1893	2,20
st0,5	561,6	0,53	st2	1904	2,22
st0,5	543,6	0,51	st2	1899	2,21
st0,5	560,5	0,53	st2,5	2399	2,84
st0,5	549,6	0,52	st2,5	2327	2,75
st0,5	535,0	0,50	st2,5	2292	2,70
st0,5	574,7	0,55	st2,5	2344	2,77
st0,5	585,2	0,56	st2,5	2325	2,74
st1	1056	1,15	st2,5	2277	2,69
st1	965,6	1,04	st2,5	2294	2,71
st1	965,0	1,04	st2,5	2300	2,71
st1	1015	1,10	st2,5	2355	2,78
st1	996,9	1,08	st2,5	2295	2,71
st1	973,8	1,05	st5	4411	5,33
st1	1010	1,10	st5	4346	5,25
st1	988,6	1,07	st5	4402	5,32
st1	940,9	1,01	st5	4454	5,38
st1	976,2	1,05	st5	4433	5,35
st2	1868	2,17	st5	4410	5,33
st2	1882	2,19	st5	4374	5,28
st2	1888	2,20	st5	4411	5,33
st2	1875	2,18	st5	4401	5,31
st2	1851	2,15	st5	4471	5,40

2(6)

NPOC Suora 2

näyte	vaste AU	tulos mg/l	näyte	vaste AU	tulos mg/l
st5	4466	5,39	st20	17370	20,96
st5	4312	5,21	st20	17410	21,01
st5	4361	5,27	st20	17590	21,23
st5	4308	5,20	st20	17430	21,03
st5	4299	5,19	st20	17510	21,13
st5	4307	5,20	st40	34280	41,35
st5	4320	5,22	st40	34260	41,33
st5	4303	5,20	st40	34340	41,43
st5	4320	5,22	st40	34460	41,58
st5	4314	5,21	st40	34350	41,45
st10	8603	10,38	st40	34340	41,43
st10	8577	10,35	st40	34300	41,38
st10	8557	10,33	st40	34320	41,41
st10	8605	10,39	st40	34420	41,53
st10	8480	10,23	st40	34480	41,60
st10	8637	10,42	st50	43240	51,27
st10	8550	10,32	st50	43260	51,29
st10	8599	10,38	st50	43290	51,34
st10	8917	10,76	st50	43660	51,76
st10	8634	10,42	st50	43530	51,62
st20	17400	21,00	st50	43570	51,66
st20	17470	21,08	st50	43560	51,65
st20	17450	21,06	st50	43560	51,65
st20	17420	21,02	st50	43520	51,60
st20	17410	21,01	st50	43580	51,67

3(6)

NPOC Suora 3

näyte	vaste AU	tulos mg/l
st50	42330	50,23
st50	42440	50,36
st50	42540	50,47
st50	42340	50,24
st50	42410	50,33
st50	42440	50,36
st50	42520	50,45
st50	42410	50,32
st50	42750	50,71
st50	42540	50,47
st100	87520	102,3
st100	87400	102,1
st100	87450	102,2
st100	87650	102,4
st100	87870	102,7
st100	87900	102,7
st100	87780	102,6
st100	87220	101,9
st100	87900	102,7
st100	87750	102,5
st200	173900	201,8
st200	174600	202,6
st200	174200	202,1
st200	174400	202,4
st200	174400	202,3

näyte	vaste AU	tulos mg/l
st200	174500	202,4
st200	174800	202,8
st200	175200	203,3
st200	174700	202,7
st200	174600	202,6
st400	347900	402,2
st400	348700	403,1
st400	350700	405,4
st400	350900	405,6
st400	350700	405,4
st400	350800	405,6
st400	350500	405,1
st400	349600	404,2
st400	350900	405,6
st400	351700	406,5
st500	442200	510,8
st500	441800	510,3
st500	441400	509,9
st500	442000	510,6
st500	443000	511,8
st500	443800	512,6
st500	444000	512,8
st500	444300	513,2
st500	444400	513,3
st500	444100	513,0

4(6)

TN			Suora 1		
näyte	vaste AU	tulos mg/l	näyte	vaste AU	tulos mg/l
st1	481,6	1,21	st5	2528	5,24
st1	477,3	1,20	st5	2538	5,26
st1	484,0	1,21	st5	2536	5,26
st1	478,8	1,20	st5	2534	5,25
st1	479,4	1,20	st5	2529	5,24
st1	478,2	1,20	st8	4172	8,49
st1	477,0	1,20	st8	4185	8,51
st1	479,7	1,20	st8	4198	8,54
st1	474,6	1,19	st8	4181	8,50
st1	480,4	1,20	st8	4078	8,30
st2,5	1219	2,66	st8	4151	8,45
st2,5	1214	2,65	st8	4171	8,48
st2,5	1215	2,65	st8	4171	8,48
st2,5	1215	2,65	st8	4185	8,51
st2,5	1214	2,65	st8	4191	8,52
st2,5	1214	2,65	st10	5248	10,41
st2,5	1215	2,65	st10	5274	10,46
st2,5	1189	2,60	st10	5281	10,47
st2,5	1193	2,61	st10	5263	10,44
st2,5	1202	2,63	st10	5291	10,49
st5	2524	5,23	st10	5294	10,50
st5	2531	5,25	st10	5289	10,49
st5	2516	5,22	st10	5259	10,43
st5	2527	5,24	st10	5288	10,49
st5	2506	5,20	st10	5292	10,49

5(6)

TN Suora 2

näyte	vaste AU	tulos mg/l
st10	5214	10,35
st10	5149	10,22
st10	5151	10,23
st10	5160	10,24
st10	5168	10,26
st10	5158	10,24
st10	5118	10,16
st10	5082	10,10
st10	5109	10,15
st10	5111	10,15
st15	7843	15,34
st15	7849	15,35
st15	7841	15,33
st15	7854	15,36
st15	7855	15,36
st15	7821	15,30
st15	7850	15,35
st15	7816	15,29
st15	7880	15,41
st15	7885	15,42
st20	10530	20,45
st20	10680	20,72
st20	10630	20,62
st20	10620	20,61
st20	10650	20,66

näyte	vaste AU	tulos mg/l
st20	10470	20,32
st20	10620	20,62
st20	10490	20,37
st20	10660	20,68
st20	10560	20,50
st25	13440	25,96
st25	13390	25,88
st25	13490	26,06
st25	13530	26,15
st25	13460	26,00
st25	13450	25,98
st25	13410	25,90
st25	13340	25,77
st25	13430	25,95
st25	13410	25,90
st40	21490	40,76
st40	21670	41,15
st40	21510	40,80
st40	21490	40,76
st40	21400	40,57
st40	21520	40,82
st40	21490	40,76
st40	21400	40,55
st40	21420	40,59
st40	21510	40,79

6(6)

TN Suora 3

näyte	vaste AU	tulos mg/l
st40	21320	40,38
st40	21340	40,43
st40	21380	40,52
st40	21230	40,19
st40	21170	40,06
st40	21320	40,38
st40	21180	40,07
st40	20960	39,59
st40	21210	40,14
st40	21340	40,43
st50	26620	52,01
st50	26490	51,72
st50	26370	51,45
st50	26230	51,14
st50	26230	51,15
st50	26480	51,69
st50	26120	50,91
st50	25940	50,51
st50	26240	51,17
st50	26280	51,26
st60	31470	62,63
st60	31340	62,35
st60	31130	61,90
st60	31010	61,63
st60	30960	61,53

näyte	vaste AU	tulos mg/l
st60	30850	61,29
st60	31050	61,73
st60	31040	61,69
st60	30570	60,66
st60	30310	60,09
st80	40320	82,04
st80	40290	81,99
st80	39910	81,15
st80	40320	82,04
st80	40160	81,70
st80	39530	80,32
st80	40050	81,45
st80	40210	81,80
st80	40390	82,20
st80	40200	81,78
st100	48800	100,60
st100	48300	99,54
st100	48050	99,01
st100	47530	97,86
st100	48160	99,23
st100	48220	99,38
st100	49180	101,50
st100	49120	101,40
st100	48540	100,10
st100	49100	101,30

Liite 5. Toistettavuuden tulokset

1(3)

Näyte	Päivä 1		Päivä 2		Päivä 3	
	NPOC mg/l	TN mg/l	NPOC mg/l	TN mg/l	NPOC mg/l	TN mg/l
nolla	0,00	0,28	0,01	0,30	0,00	0,29
nolla	0,00	0,27	0,00	0,28	0,00	0,28
nolla	0,00	0,27	0,02	0,28	0,00	0,28
VT 1, 10x	206,93	57,50	232,89	59,41	191,29	55,91
VL 3	13,68	39,60	13,90	39,58	13,62	39,94
nolla	0,00	0,40	0,06	0,45	0,04	0,46
RL 76	8,88	71,79	9,08	72,00	9,04	72,82
nolla	0,00	3,92	0,05	0,94	0,00	0,48
VT 88, 10x	295,61	67,19	289,70	65,66	181,52	60,66
VL 90	14,86	51,03	14,72	48,74	14,81	48,67
nolla	0,00	1,43	0,03	0,56	0,00	0,66
PL 103	11,67	59,22	11,69	60,51	11,49	61,10
PT 102, 10x	230,22	77,57	279,99	79,32	245,84	78,95
nolla	0,00	1,29	0,13	0,31	0,00	0,30
VT 141, 10x	229,45	63,33	188,73	60,94	275,80	62,74
VE 142, 5x	45,01	50,21	44,73	49,49	41,22	46,34
VL 143	14,21	43,60	13,93	42,95	13,97	43,13
nolla	0,00	0,75	0,12	0,39	0,02	0,40
nolla	0,00	0,30	0,04	0,29	0,00	0,30
nolla	0,00	0,26	0,01	0,28	0,00	0,28
nolla	0,00	0,28	0,02	0,27	0,00	0,27

Näyte	Päivä 4		Päivä 5		Päivä 6	
	NPOC mg/l	TN mg/l	NPOC mg/l	TN mg/l	NPOC mg/l	TN mg/l
nolla	0,02	0,30	0,00	0,31	0,00	0,30
nolla	0,00	0,28	0,00	0,28	0,00	0,27
nolla	0,00	0,29	0,00	0,28	0,00	0,28
VT 1, 10x	243,98	57,29	209,67	59,19	211,32	57,75
VL 3	13,77	39,35	13,44	39,86	13,53	39,27
nolla	0,07	0,43	0,00	0,44	0,00	0,38
RL 76	8,97	72,16	8,98	72,45	8,94	72,51
nolla	0,00	0,77	0,00	0,60	0,00	0,70
VT 88, 10x	214,90	65,05	213,60	64,79	219,94	64,75
VL 90	14,88	49,03	14,74	48,80	14,75	48,73
nolla	0,00	0,71	0,00	0,51	0,00	0,44
PL 103	11,84	59,17	11,73	60,61	11,61	58,92
PT 102, 10x	216,38	80,18	272,02	80,95	251,96	82,77
nolla	0,00	0,92	0,00	0,33	0,00	0,30
VT 141, 10x	193,45	63,36	198,85	64,13	250,44	65,91
VE 142, 5x	45,02	49,73	52,45	49,85	41,87	49,39
VL 143	13,90	43,49	13,98	43,44	14,09	43,34
nolla	0,06	0,52	0,04	0,43	0,08	0,42
nolla	0,00	0,32	0,00	0,29	0,00	0,30
nolla	0,00	0,28	0,00	0,29	0,00	0,29
nolla	0,00	0,26	0,00	0,29	0,00	0,26

3(3)

Näyte	Päivä 7		Päivä 8		Päivä 9	
	NPOC mg/l	TN mg/l	NPOC mg/l	TN mg/l	NPOC mg/l	TN mg/l
nolla	0,00	0,31	0,04	0,33	0,00	0,31
nolla	0,00	0,28	0,00	0,29	0,00	0,31
nolla	0,00	0,29	0,00	0,27	0,00	0,28
VT 1, 10x	188,28	56,45	244,41	57,29	208,07	56,45
VL 3	13,52	39,87	13,65	39,58	13,73	39,44
nolla	0,00	0,45	0,00	0,47	0,06	0,57
RL 76	8,90	72,01	8,83	71,87	8,97	72,74
nolla	0,01	0,62	0,00	0,81	0,00	0,84
VT 88, 10x	248,11	62,06	215,50	65,02	213,31	63,28
VL 90	14,68	48,31	14,76	49,03	14,82	49,45
nolla	0,00	0,63	0,00	0,76	0,00	0,73
PL 103	11,60	59,40	11,63	61,48	11,73	59,83
PT 102, 10x	192,87	78,29	243,55	86,38	140,95	80,02
nolla	0,00	0,34	0,00	0,34	0,00	0,30
VT 141, 10x	236,70	60,49	218,39	62,65	179,87	60,61
VE 142, 5x	44,09	48,36	42,05	49,93	46,83	49,76
VL 143	14,16	43,23	13,99	43,13	13,88	43,79
nolla	0,01	0,38	0,02	0,38	0,00	0,45
nolla	0,00	0,31	0,00	0,31	0,00	0,29
nolla	0,00	0,27	0,00	0,28	0,00	0,28
nolla	0,00	0,28	0,00	0,28	0,00	0,27