



Riina Saarinen

Vesinäytteiden kokonaistyyppi- pitoisuuden määrittämenetelmän validointi TOC-TN-analysointorilla

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Laboratorioanalytiikka (AMK)

Laboratorioanalytiikka

Opinnäytetyö

16.5.2022

Tiivistelmä

Tekijä:	Riina Saarinen
Otsikko:	Vesinäytteiden kokonaistyyppipitoisuuden määrittäminen menetelmän validointi TOC-TN-analysointilla
Sivumäärä:	33 sivua + 6 liitettä
Aika:	16.5.2022
Tutkinto:	laboratorioanalytiikka (AMK)
Tutkinto-ohjelma:	laboratorioanalytiikka
Ohjaajat:	kemisti Riikka Pöntinen lehtori Mia Ruismäki

Kokonaistyyppi koostuu epäorgaanisista tyyppiyhdisteistä eli nitriitti-, nitraatti- ja ammoniumtypeistä sekä eloperäiseen aineeseen sitoutuneesta tyyppiyhdisteistä eli orgaanisista tyyppiyhdisteistä. Opinnäytetyön aiheena oli validoida kokonaistyyppipitoisuuden määrittämismenetelmä vesinäytteille TOC-laitteella, johon on kytketty kokonaistyyppiyksikkö. Työhön kuului lisäksi tyyppiyhdisteiden alhaisten pitoisuuksien määrittämlaitteiden kartoitus. Opinnäytetyön tilaajana oli Kymen Ympäristölaboratorio Oy.

Tavoitteena oli saada menetelmä validoitua onnistuneesti, jotta se voisi korvata käytössä olevan spektrofotometrisen menetelmän. Validointiparametreille oli asetettu tavoitteita. Kalibroitamisvirheen selitysasteeksi tuli saada vähintään 0,999. Määrittämissrajaksi oli tavoitteena saada tulos, joka on alle 0,05 mg/l. Lisäksi tavoitteena oli 90–110 %:n saantoprosentti ja alle 30 %:n laajennettu mittausepävarmuus. Analyysilaitteiden kartoituksen tavoitteena oli etsiä automatisoituja laitteita ammoniumin, nitraatin ja nitriitin analysointiin, jotka voisivat korvata laboratorion käytössä olevat menetelmät, ja joilla päästäisiin alle 5 µg/l:n pitoisuuksiin.

Validoitavan menetelmän perustana käytettiin ASTM:n D8083-16-standardia. Menetelmästä kuitenkin poikettiin useassa kohtaa. Validoitavia suureita olivat lineaarisuus, toteamis- ja määrittämissraja, selektiivisyys ja spesifisyys, täsmällisyys, poikkeama ja mittausepävarmuus. Lisäksi tutkittiin liuosten säilyvyyttä mittaamalla samat näytteet uudestaan viikon kuluttua niiden valmistuksesta. Validointi tehtiin mittaustuloksille 0,05–1 mg/l ja 1–10 mg/l. Kalibroitamistulokset tehtiin glysiinistä ja kontrollinäytteiden valmistuksessa käytettiin standardia, jonka kokonaistyyppipitoisuus oli 1000 mg/l. Validoinnissa käytetyt rutiininäytteet olivat järvi-, joki- ja jätevesinäytteitä.

Mittaustulosten 0,05–1 mg/l validointi onnistui hyvin. Kaikki asetetut tavoitteet täyttyivät. Määrittämissrajaksi saatiin 0,047 mg/l, joka alitti niukasti kokonaistyyppipitoisuuden suositusmäärittämissrajan 0,050 mg/l. Menetelmä sopii hyvin vesinäytteille, joiden kokonaistyyppipitoisuus on alle 1 mg/l. Olisi kuitenkin hyvä selvittää, miten päästäisiin vielä alhaisempaan määrittämissrajaan. Mittaustulosten 1–10 mg/l kalibroitamisvirheen selitysasteeksi saatiin yli 0,999, mutta residuaalitarvikeluonnossa selvisi, ettei se ollut lineaarinen. Kalibroitamisvirheen kaartuminen johtui luultavasti suurien pitoisuuksien liian isosta injektioilavuudesta. Kaikki muut asetetut validointitavoitteet täyttyivät erinomaisesti. Valmistettujen näytteiden säilyvyys oli analyysien perusteella hyvä.

Avainsanat: kokonaistyyppi, TOC-TN, validointi, vesianalytiikka

Abstract

Author: Riina Saarinen
Title: Validation of the Method for the Total Nitrogen Content of the Water Samples with a TOC-TN Analyzer
Number of Pages: 33 pages + 6 appendices
Date: 16 May 2022

Degree: Bachelor of Laboratory Services
Degree Programme: Laboratory Sciences
Supervisors: Riikka Pöntinen, Chemist
Mia Ruismäki, Senior lecturer

Total Nitrogen consists of inorganic nitrogen compounds such as nitrite, nitrate and ammonium, and organic nitrogen which is bound to organic matter. The purpose of the thesis work was to validate the method for determining the total nitrogen content of water samples with a TOC-TN analyzer. The work also included the mapping of equipment for the determination of low concentrations of nitrogen compounds. The client of the thesis work was Kymi Environment Laboratory Ltd.

The aim was to successfully validate the method so that it could replace the existing spectrophotometric method. There were several targets for the validation parameters. The correlation coefficient for the calibration curves had to be 0.999 or better. The aim was obtaining a result of less than 0.05 mg/l for the limit of quantitation. In addition, the target for the recovery test result was 90–110 % and the target for the result of expanded measurement uncertainty was less than 30 %. The purpose of the mapping of the equipment for the analysis of ammonium, nitrate and nitrite was to find automated analyzer that could replace existing methods used by the laboratory and that would reach concentrations below 5 µg/l.

The validation method was based on the ASTM D8083 standard. However, there were several deviations from the standard method. Validated parameters were linearity, limit of detection and limit of quantitation, selectivity and specificity, accuracy, bias, and measurement uncertainty. Also, the durability of the solutions was examined by measuring the samples on the preparation day and week after. Validation was performed for the measurement range of 0.05–1 mg/l and 1–10 mg/l. Calibration solutions were prepared from glycine and control samples were diluted from 1000 mg/l standard solution. The routine samples used in the validation were lake, river, and wastewater samples.

The validation of the measuring range 0.05–1 mg/l was successful. All the targets set were achieved. The limit of quantitation was 0.047 mg/l, which was slightly below the target. Nevertheless, it could be good to find out how to reach even lower limit. Calibration curve of the measuring range of 1–10 mg/l was not linear. It was probably due to the large injection volume at high concentrations. All other validation targets set were met. Based on the analyzes, durability of the prepared samples was good.

Keywords: total nitrogen, TOC-TN, validation, water analysis

Sisällys

Lyhenteet

1	Johdanto	1
2	Vesistöjen typpikuormitus	1
2.1	Nitraatti- ja nitriittityppi	4
2.2	Ammoniumtyppi	5
3	Alhaisten typpipitoisuuksien määrittäslaitteet	5
3.1	Diskreettianalysaattori	6
3.2	Virtausinjektioanalysaattori	7
3.3	Jatkuvavirtausanalysaattori	9
3.4	Laitteiden vertailu	11
4	Kokonaistyyppipitoisuuden määrittäminen TOC-TN:lla	13
4.1	Mittausmenetelmä ja ajo-ohjelman tiedot	14
4.2	Käytetyt reagenssit ja laitteet	15
4.3	Näytteiden valmistus ja säilytys	16
5	Validoinnin suoritus ja tulokset	18
5.1	Lineaarisuus ja mittausalue	18
5.2	Toteamis- ja määrittämiss raja	20
5.3	Selektiivisyys ja spesifisyys	21
5.4	Täsmällisyys	22
5.5	Poikkeama	24
5.6	Mittausepävarmuus	25
5.7	Kontrollinäytteiden X-kortit	26
5.8	Näytteiden säilyvyys	27
6	Yhteenveto ja johtopäätökset	31

Lähteet

Liitteet

Liite 1: LOD- ja LOQ-näytteiden mittaustulokset

Liite 2: Saantokokeiden tulokset

Liite 3: Rutiininäytteiden mittaustulokset

Liite 4: Kontrollinäytteiden mittaustulokset

Liite 5: MUKit-raportit

Liite 6: Kontrollinäytteiden säilyvyyden t-testit

Lyhenteet

ASTM:	<i>American Society for Testing and Materials.</i> Kansainvälinen standardisointijärjestö
CFA:	<i>Continuous Flow Analysis.</i> Jatkuvavirtausanalyysi
CRM:	<i>Certified Reference Material.</i> Varmennettu vertailumateriaali
DA:	<i>Discrete Analysis.</i> Diskreettianalyysi
FIA:	<i>Flow Injection Analysis.</i> Virtausinjektioanalyysi
FINAS:	<i>Finnish Accreditation Service.</i> Suomen akkreditointipalvelu
IC:	<i>Inorganic Total Carbon.</i> Epäorgaaninen kokonaishiili
IV:	<i>Injection valve.</i> Injektioventtiili
LOD:	<i>Limit of Detection.</i> Toteamisraja
LOQ:	<i>Limit of Quantitation.</i> Määrittäysraja
MUKit:	<i>Measurement Uncertainty Kit.</i> Mittausepävarmuuden laskemisohjelma, joka perustuu Nordtest TR537 -käsikirjaan
RC:	<i>Reaction Coil.</i> Reaktiokierukka
TC:	<i>Total Carbon.</i> Kokonaishiili
TN:	<i>Total Nitrogen.</i> Kokonaistyyppi
TOC:	<i>Total Organic Carbon.</i> Orgaaninen kokonaishiili

UP: *Ultra-Pure.* Ultrapuhdas

UV: *Ultraviolet.* Ultravioletti.

1 Johdanto

Opinnäytetyön tilaajana oli Kymen Ympäristölaboratorio Oy. Laboratorion palveluihin kuuluu veden ja elintarvikkeiden kemiallinen ja mikrobiologinen testaus. Lisäksi laboratoriossa analysoidaan erilaisia teollisuusnäytteitä. Kymen Ympäristölaboratorio on FINAS-akkreditoitu testauslaboratorio. Pätevyysalueeseen kuuluu noin 70 akkreditoitua menetelmää. [1.]

Opinnäytetyön tavoitteena oli validoida kokonaistyyppipitoisuuden mittaustapa vesinäytteille TOC-laitteella (Total Organic Carbon), johon on kytkettynä kokonaistyyppiyksikkö (TN). Valmiille validoidulle menetelmälle haetaan Finasin akkreditointia, jonka jälkeen menetelmän on tarkoitus korvata tällä hetkellä käytössä oleva automatisoitu spektrofotometrinen menetelmä. Validoinnin tavoitteena oli saada mahdollisimman alhainen määräysraja. Kokonaistypelle asetettu suositus määräysrajaksi on 50 µg/l [2, s. 33].

Lisäksi työhön kuului typpiyhdisteiden alhaisten pitoisuuksien määräyslaitteiden kartoitus. Tarkoituksena oli kartoittaa automatisoituja laitteita, joilla päästäisiin alle suosituksen mukaisen määräysrajan. Ammoniumille, sekä nitraatille ja nitriitille raja on 5 µg/l [2, s. 33]. Tällä hetkellä Kymen Ympäristölaboratoriossa nitraatti- ja nitriittitypen summa sekä nitriittityppi analysoidaan luonnonvesistä spektrofotometrisillä menetelmillä. Kartoituksen tavoitteena oli etsiä laitteita, jotka voisivat korvata nämä menetelmät.

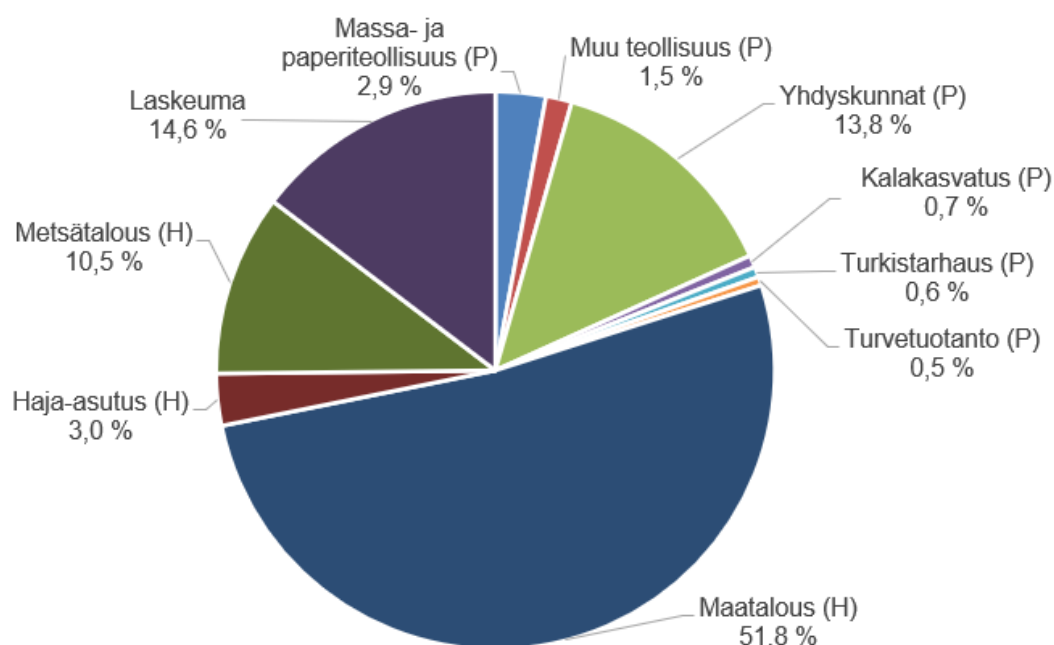
2 Vesistöjen typpikuormitus

Vesistöjen typpipitoisuus vaihtelee usein vuodenajan mukaan. Keväällä ja kesällä typpeä on vähemmän, sillä silloin biologinen kulutus on suurempaa. Talvella ja syksyllä typpipitoisuus kasvaa, sillä typpiyhdisteitä vapautuu pohjasedimentistä ja sitä kulkeutuu valumien mukana vesistöihin. Typpiyhdisteitä muodostuu ilmaan salamoinnin seurauksena. Myös tulivuoren purkaukset, elollisen aineksen hajoaminen, teollisuuden ja liikenteen päästöt vapauttavat ilmakehään typpiyhdisteitä. Ilmakehästä typpiyhdisteitä kulkeutuu vesistöihin huomattavia

määriä sadevesien mukana. Lumen mukana typpiyhdisteitä kulkeutuu vielä enemmän. [3, s. 66.]

Suomessa ilmakehästä laskeutuu maaperään vuosittain kymmeniä tuhansia tonneja ammonium- ja nitraattityppeä. Suurin osa näistä yhdisteistä on kulkeutunut Suomeen ilmavirtauksien mukana. Maaperän bakteerit sitovat ilmasta typpeä. Maaperän typensitojabakteerit muuttavat typen ammonifikaation seurauksena ensin ammoniumiksi, jonka jälkeen nitrifikaatiobakteerit muuttavat ammoniumin ensin nitriitiksi ja sitten nitraateiksi. Maaperän tpeestä suuri osa on peräisin bakteeriperäisestä toiminnasta. Maaperästä typpiyhdisteitä huuhtoutuu vesistöihin. Jätevedenpuhdistuksessa veteen jää kasviravinteita, kuten nitraattia. [3, s. 66–68; 4.]

Kuvassa 1 on esitettyä vesistöjen ihmisperäisen typpikuormituksen lähteet vuonna 2019 [5]. Typpikuormituksen perässä oleva P tarkoittaa pistekuormitusta ja H tarkoittaa hajakuormitusta. Pistekuormitus tulee tietystä tunnetusta pistemäisestä päästölähteestä, kun taas hajakuormitus koostuu useista pienistä määrittämättömistä päästölähteistä [6].



Kuva 1. Vesistöjen ihmisperäinen typpikuormitus [5].

Ihmisperäisen typpikuormituksesta vähän yli puolet on peräisin maataloudesta. Kolme seuraavaksi suurinta typpikuormituksen lähdettä ovat laskeuma, yhdyskunnat ja metsätalous. Muita pienempiä lähteitä ovat haja-asutus, massa- ja paperiteollisuus, muu teollisuus, kalakasvatus, turkistarhaus ja turvetuotanto. Yhteensä ihmisen aiheuttama typpikuormitus vuonna 2019 oli aaria kohden 69 816 tonnia. Luonnonhuuhtoma eli valuma-alueilta tuleva luonnollinen typpikuormitus, johon ihminen ei voi vaikuttaa, oli samana vuonna 37 300 t/a. Ihmisen aiheuttama vesistöjen typpikuormitus on siis melkein kaksinkertainen verrattuna luonnon huuhtoumaan. [5; 7, s. 151.]

Vedestä tutkittavia typpiyhdisteitä ovat nitriitti, nitraatti ja ammonium. Nitriitin ja nitraatin suuri esiintyvyys kertoo veden likaantumisesta. Ammoniumin esiintyvyys voi kertoa myös veden likaantumisesta, mutta sitä löytyy tyypillisesti entsiltä merenpohjan vaikutusalueilta. [8.] Suuret typpipitoisuudet pintavesissä kertoo vesistön rehevöitymisestä. Luonnon vesistä typpipitoisuus mitataan usein kokonaistyyppinä, joka koostuu epäorgaanisista typpiyhdisteistä eli nitriitti-, nitraatti- ja ammoniumtypeistä, sekä eloperäiseen aineeseen sitoutuneesta tyyppistä eli orgaanisesta tyyppistä. [9, s. 89; 10]. Bakteerien ja sienien täytyy yleensä hajottaa orgaaninen typpi, ennen kuin kasvit voivat sitä hyödyntää [3, s. 67].

Vesistön tuotannon rajoittavana tekijänä on yleensä fosfori tai typpi. Sisävesissä se on yleensä fosfori. Kun vesistöön pääsee ylimäärä rajoittavaa tekijää, tuotanto alkaa kasvaa voimakkaasti. Jos tuotannon kasvu heikentää veden laatua pysyvästi, vesistö on silloin rehevöitynyt. Rehevöityminen vaikuttaa vesistön ekosysteemiin. Kasvillisuus ja kasviplankton lisääntyy, kalalajisto vähenee ja pohjasedimentti paksuuntuu. [7, s. 74–76.]

Itämeressä typpi on rajoittavana tekijänä lukuun ottamatta Perämeren. Itämereen typpikuormitusta tulee jokien tulovirtauksen mukana ja ilmakehästä. Maatalouden valumat ovat suurin kuormittaja, mutta osa tyyppistä on peräisin luonnonhuuhtoutumasta. Typpi- ja fosforikuormitusta on saatu vähennettyä viimei-

sen 20 vuoden aikana, mutta Itämeren rehevöityminen ei ole silti vielä vähentynyt, sillä Itämeren syvänteiden fosforipitoinen vesi nousee pintaan ja aiheuttaa tuotannon kasvua. [7, s.107–112.]

2.1 Nitraatti- ja nitriittityppi

Nitriittiä ja nitraattia joutuu pohjavesiin lannoitteista, eläinten ulosteista, jätevesivalumista ja huonosti rakennetuista kuivakäymälöistä. Nitriittiä muodostuu, kun typpiyhdiste hapettuu epätäydellisesti. [8.] Talousveden enimmäispitoisuus nitraatille (NO_3^-) on 50 mg/l ja nitraattitypelle ($\text{NO}_3\text{-N}$) 11,0 mg/l. Nitriitille (NO_2^-) sallittu enimmäispitoisuus on 0,5 mg/l ja nitriittitypelle ($\text{NO}_2\text{-N}$) 0,15 mg/l. [11.] Nitriitin raja-arvo on huomattavasti pienempi kuin nitraatin, sillä nitriitti osoittaa myös bakteeriperäistä toimintaa [8]. Vedenkäsittelylaitokselta lähtevän veden enimmäispitoisuus nitriitille on 0,1 mg/l, sillä nitriitin määrä saattaa kasvaa putkistoissa olevien bakteerien toimesta matkalla kotitalouksiin [12].

Suuri nitraatin saanti aiheuttaa methemoglobiinin muodostusta. Methemoglobiini korvaa normaalia hemoglobiinia ja kuljettaa happea elimistössä huonosti. Se aiheuttaa hengitysvaikeutta ja ihonvärin sinertävyyttä. Methemoglobinemia voi olla vaarallinen erityisesti lapsille. Osa nitraatista muuttuu aineenvaihdunnassa nitriitiksi. Nitriitin epäillään aiheuttavan riskiä diabetekseen, syöpään ja sepelvaltimotautiin sairastumiseen. Tutkimustulokset ovat olleet ristiriitaisia, joten sitä ei ole kuitenkaan pystytty vielä todistamaan. [13.]

Suomen järviveden nitraattityypen keskipitoisuus on 92 $\mu\text{g/l}$ ja nitriittityypen keskipitoisuus on 1 $\mu\text{g/l}$ [3, s. 67]. Nitriitti ei ole pysyvä yhdiste järvivesissä ja sen pitoisuudet ovat yleensä todella pieniä, joten sitä ei yleensä seurata. Nitraatin loppuminen pintavedestä kertoo aktiivisesta levätuotannosta. Nitraattia löytyy yleensä myös järvien pohjasta, jos olosuhteet eivät ole hapettomat. Hapettomissa alusvesissä ammonium on vallitseva typpiyhdiste. [14, s. 20.]

2.2 Ammoniumtyppi

Ammoniumia kulkeutuu vesiin jätevesien ja lannoitteiden mukana, sekä teollisuuden seurauksena. Sen esiintyminen osoittaa myös veden ulostesaastumista ja bakteeritoimintaa, joten sen raja-arvot ovat nitriitin tavoin hyvin alhaiset. Talousveden enimmäispitoisuus ammoniumille (NH_4^+) on 0,5 mg/l ja ammoniumtyypelle ($\text{NH}_4\text{-N}$) 0,40 mg/l [8].

Ammonium ei ole itsessään myrkyllinen tai haitallinen yhdiste. Jos ammoniumpitoisuus on korkea, se aiheuttaa veteen pistävää makua ja hajua. Ammonium voi muuttua vedessä nitriitiksi tai nitraatiksi epätäydellisen hapettumisen seurauksena. [8, 15.] Kaasumainen ammoniakki reagoi veden kanssa muodostaen toksista ammoniumhydroksidia. Toksisuus on erilaista riippuen eläinlajista ja niiden kehitysasteista. Toksisuuteen vaikuttaa myös veden lämpötila, suolapitoisuus ja hapen määrä. Emäksisissä oloissa ammoniumhydroksidin osuus suurenee, kun taas happamissa vesissä ammoniumhydroksidia on vähemmän. [3, s. 67.]

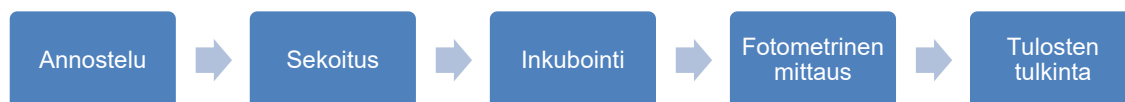
Suomen järvien keskipitoisuus ammoniumtyypelle on 25 $\mu\text{g/l}$ [3, s. 67]. Järven alusvedessä pitoisuudet ovat yleensä hieman suuremmat kuin pintakerroksessa. Yli 100 $\mu\text{g/l}$:n pitoisuudet viittaavat vähähappisiin olosuhteisiin ja tai jätevesikuormitukseen. Turvesoiden valumavesissä pitoisuus voi olla jopa 300 $\mu\text{g/l}$. [14, s. 21.]

3 Alhaisten typpipitoisuuksien määrittelylaitteet

Tämä luku sisältää nitraatti-, nitriitti- ja ammoniumtyypen alhaisten pitoisuuksien määrittelylaitteiden kartoituksen. Tähän on koottu laitteita, joilla voidaan analysoida alle 5 $\mu\text{g/l}$:n pitoisuuksia ja jotka soveltuvat luonnonvesien analysointiin.

3.1 Diskreettianalysaattori

DA eli diskreettianalysaattori pohjautuu fotometriseen tekniikkaan, ja sitä käytetään tyypillisesti elintarvike-, ympäristö- ja juomavesitutkimuksissa. Diskreettianalysaattorilla näytteestä voidaan mitata samanaikaisesti useita ominaisuuksia ja analyyttejä. Analyysit ovat nopeita ja automatisoituja. Laitteen hyötyjä ovat myös hyvin pienet nätekoot ja reagenssimäärät. Sen ansiosta jätettä ei synny kovinkaan paljon. Diskreettianalysaattori on hyvin kustannustehokas verrattuna traditionaalisiin menetelmiin, joihin kuluu paljon aikaa ja reagensseja. [16; 17.] Kuvassa 2 on esitetty diskreettianalyysin vaiheet.



Kuva 2. Diskreettianalyysin vaiheet [16].

Diskreettianalysaattori koostuu neljästä komponentista: annosteluantureista, inkubaattorista, sekoittajasta ja fotometrillä. Näytteet ja reagenssit lisätään laitteeseen. Näytekyvetit laitetaan inkubaattorikammioon. Sen jälkeen laite valmistaa näytteet automaattisesti kyvetteihin annostelemalla näytettä ja reagensseja. Sekoittaja sekoittaa näytteen ja inkubaattori lämmittää sen haluttuun lämpötilaan, jotta reaktio tapahtuu. Lopuksi laite mittaa fotometrillä näytteen absorbanssin halutulla aallonpituudella. [16.]

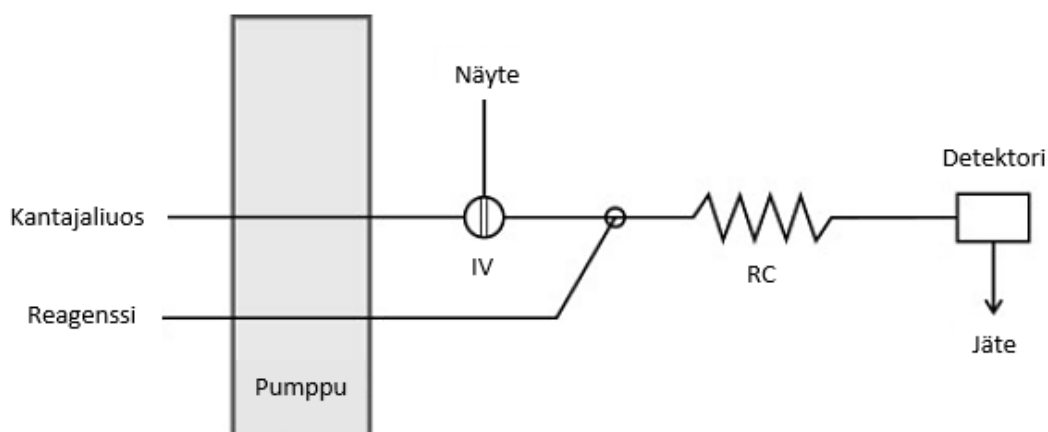
Diskreettianalysaattori on hyvin herkkä analyysimenetelmä, ja sillä päästään hyvin pieniin määritysrajoihin. TermoFisher Scientific on määrittänyt diskreettianalysaattorilla toteamisrajaksi ammoniumille 0,5 µg/l, nitriitille 0,4 µg/l ja nitraatille 0,6 µg/l. Kertomalla toteamisrajojen määritystulosten keskihajonnat 9:llä saadaan määritysrajaksi ammoniumille 1,5 µg/l, nitriitille 1,1 µg/l ja nitraatille 1,7 µg/l. [18.] Ammoniumin, nitraatin ja nitriitin analysointi diskreettianalysaattorilla voidaan tehdä standardin SFS-ISO 15923-1:2018 mukaisesti. Mitattaessa am-

moniumpitoisuutta näytteeseen sekoitetaan natriumnitroprussidia ja DIC-reagenssia. Liuos inkuboidaan 30–40 °C:ssa, jonka jälkeen sinisen värisen reaktiotuotteen absorbanssi mitataan aallonpituudella 660 nm. [19.]

Nitraattipitoisuuden määrittäminen tehdään mittaamalla nitraatin ja nitriitin yhteispitoisuus ja erikseen nitriittipitoisuus, jonka jälkeen yhteispitoisuudesta vähennetään nitriitin pitoisuus. Yhteispitoisuuden selvittämiseksi nitraatti pelkistetään nitriitiksi hydratsiinisulfaattilla. Näytteeseen lisätään sulfanilamidia ja N-(1-naftyyli)etyleeniamiini-di-hydrokloridia, jotka reagoivat nitriitin kanssa muodostaen punaisen diatsiiniyhdisteen. Reaktion inkubointilämpötila on 30–40 °C, ja reaktiotuotteen absorbanssi mitataan 540 nm:n aallonpituudella. Nitriittipitoisuus määritetään samalla tavalla, mutta nitraattia ei muuteta nitriitiksi. [19.]

3.2 Virtausinjektioanalyysointilaitteisto

Virtausinjektioanalyysointilaitteisto eli FIA on automatisoitu fotometrinen mittauslaitteisto, joka soveltuu hyvin vesi- ja ympäristöanalyysiin. Sitä käytetään myös elintarvikeanalytiikassa. [20.] FIA:n etuja ovat nopea laitteen kalibrointi, alhaiset määrittämissrajat ja toistettavat tulokset. Reagensseja tarvitsee vain pieniä määriä, joten syntyvät jätemäärät ovat vähäisiä. FIA-analyysointilaitteistolla voidaan analysoida vedestä tyyppiyhdisteiden lisäksi monia muita epäorgaanisia yhdisteitä. [21.] Kuvassa 3 on esitetty FIA:n yksinkertaistettu laitekaavio.



Kuva 3. FIA:n yksinkertaistettu laitekaavio [22].

Näyte syötetään injektioventtiiliin (IV) kautta kantajaliuokseen, joka kuljettaa näytettä tasaisesti eteenpäin laitteistossa. Peristalttisen pumpun avulla säädetään virtausnopeutta. Kantajavirtaan lisätään tarvittavat reagenssit, jotka reagoivat näytteen kanssa muodostaen värillisen yhdisteen. Detektori mittaa väriyhdisteen absorbanssia halutulla aallonpituudella. Laitteeseen voidaan liittää reaktiokierukka (RC), jos näytteen reaktioaika on pitkä. Kierukka on pitkä ja kierteinen letku, joka pidentää reagenssien ja näytteen viipymisaikaa reaktorissa. Sen avulla värireaktio ehtii tapahtua ennen detektorille saapumista. [22; 23.]

Ammonium-, nitraatti- ja nitriittipitoisuus vesinäytteestä voidaan tehdä SFS-ISO-standardien mukaan. Standardit eivät kuitenkaan sovi alle 5 µg/l:n pitoisuuksiin. Ammoniumin standardi on tarkoitettu näytteille, jonka pitoisuus on yli 100 µg/l. Nitraatin ja nitriitin standardi soveltuu yli 10 µg/l:n pitoisuuksiin. [23, 24.] Menetelmät ovat hyvin vanhoja, joten on mahdollista, että uusilla herkillä laitteilla pystytään mittaamaan alhaisempia pitoisuuksia.

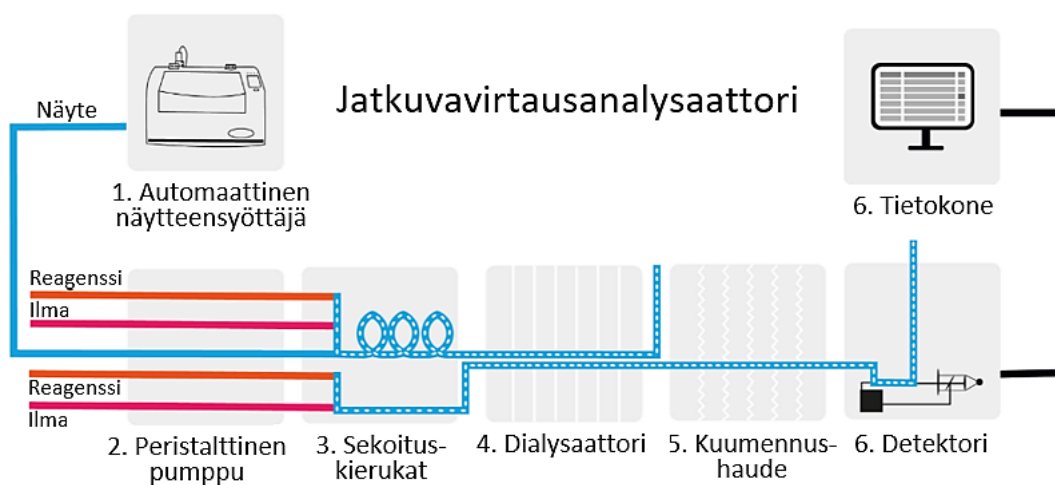
Esimerkiksi FIALab on kehittänyt valmistamilleen FIA-laitteille standardimenetelmiä, joilla päästään pienempiin pitoisuuksiin. Menetelmien mukaan ammoniumille määrittämysraja on 20 µg/l. Nitraatin ja nitriitin määrittämysrajaksi on määritetty 3 µg/l. [25.] FIAlyzer-1000- ja FIAlyzer-2000-analysaattoreilla on kuitenkin mahdollista saada määrittämysrajaksi ammoniumille 0,7 µg/l, nitraatille 0,4 µg/l ja nitriitille 0,3 µg/l. Jotta näin alhaisiin määrittämysrajoihin päästään, laitteen kokoonpano ja kemialliset olosuhteet on säädettävä optimaalisiksi. [26.]

FIALabin nitraatin ja nitriitin standardimenetelmässä FIA-analysaattoriin täytyy lisätä kadmiumkolonni ennen reaktiokierukkaa. Kolonni pelkistää nitraatin nitriitiksi. Nitriitti reagoi sulfanilamidin ja N-(1-naftyyli)etyleeniamiini-di-hydrokloridin kanssa muodostaen aniliininpunaisen atsovärin, jonka absorbanssia detektori mittaa aallonpituudella 540 nm. Mittauksesta saadaan nitriitin ja nitraatin yhteistulos. Kun sama reaktio mitataan ilman nitraatin pelkistystä, saadaan nitriitin määrä näytteestä. Tulosten erotuksesta saadaan laskettua nitraattipitoisuus. [27, s. 1–5.]

3.3 Jatkuvavirtausanalysaattori

Jatkuvavirtausanalysaattorin eli CFA:n toimintaperiaate on hyvin samantapainen kuin FIA:ssa, sillä reagenssit reagoivat näytteen kanssa muodostaen värin, joka kulkeutuu detektorille mitattavaksi. CFA eroaa FIA:sta siinä, että se käyttää analyysissä ilmakuplitusta ja laite koostuu useammasta komponentista. Komponenttien määrä riippuu käytettävästä menetelmästä. [28; 29.]

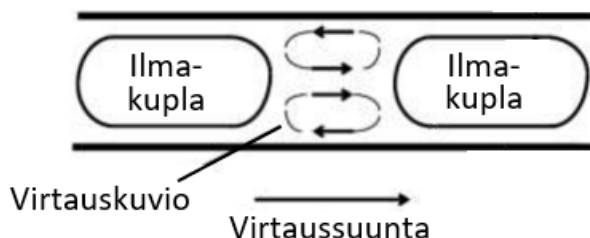
CFA-analysaattori soveltuu hyvin vesianalytiikkaan, koska sillä voidaan analysoida monia veden ominaisuuksia ja yhdisteitä. Sen lisäksi laitetta voidaan käyttää myös mm. elintarvike-, lääke- ja ympäristöanalytiikassa. Analyysit ovat CFA-laitteella nopeita, sillä tunnissa se ehtii tehdä 25–120 analyysia riippuen tehtävistä analyyseistä. [28.] Muiden automatisoitujen laitteiden tavoin kemikaalien kuluminen ja jätteen syntyminen on vähäistä, sillä analysoidut näytemäärät ovat pieniä [30]. Kuvassa 4 on esitelty CFA-laitteen rakennekaavio.



Kuva 4. CFA:n rakennekaavio [31].

CFA laitteeseen voidaan liittää näytteensyöttäjä, joka valmistaa standardit ja laimentaa näytteitä automaattisesti [28]. Automaattinen näytteensyöttäjä injektioi näytteen kantajavirtaan, jonka nopeutta voidaan säätää peristalttisen pumpun

avulla. Näytteeseen sekoitetaan tarvittavat reagenssit ja eteenpäin kulkeva virtaus kuplitetaan synteettisen ilman avulla. [29.] Ilmakuplat segmentoivat näytteen kuvan 5 mukaisesti.



Kuva 5. Näytteen segmentoituminen CFA-laitteessa [32, s. 4].

Segmentointi nopeuttaa näytteen ja reagenssien sekoittumista, sillä segmentin liikkuaessa letkussa eteenpäin sen sisällä neste liikkuu kuvan osoittamalla tavalla. Tämä vähentää dispersiota ja lyhentää analyysiin kuluvaa aikaa. Kuplat myös puhdistavat letkujen sisäseinämiä ja ehkäisevät kontaminaatioita näytteiden välillä. [32, s. 4.]

Kuplitettu näyte ja reagenssit kulkevat sekoituskierukan ja erilaisten komponenttien läpi. Esimerkkikaaviossa (kuva 4) laitteeseen on liitetty dialyysaattori ja kuumennushaude. Muita mahdollisia laitteeseen kytkettäviä komponentteja ovat mm. tislauk-, UV-digestio- ja uuttolaitteisto. Komponentit luovat olosuhteet, joissa halutut reaktiot tapahtuvat. Lopputuotteena saadaan yhdiste, jota voidaan mitata kolorimetrisellä detektorilla. [28; 31]

Ammoniumia ja nitriittiä sekä nitraattia voidaan analysoida samojen ISO-SFS-standardien mukaisesti, jotka mainittiin FIA-analyysaattorin kohdalla [23, 24]. Standardit on tehty suuremmille pitoisuuksille, mutta nykyaikaisilla laitteilla päästään todella alhaisiin pitoisuuksiin. Esimerkiksi Skalarin San++ CFA -analyysaattorilla voidaan mitata 1–1000 µg/l:n pitoisuuksia, kun detektorissa käytetään 5 cm:n kyvettiä. Määritysrajaksi saadaan silloin kaikille kolmelle analyyttille noin 0,3 µg/l. [33.]

Nitraatin ja nitriitin analyysimenetelmä perustuu samaan periaatteeseen, kuin FIA- ja DA-menetelmät, eli kadmiumpelkistykseen ja punaisen väriaineen muodostukseen. Ammoniumin määrittämisessä ammonium reagoi alkalisissa olosuhteissa hypokloriitin kanssa. reaktiossa muodostuu klooriamiinia, joka reagoi nitroprussidi-katalyysissä salisylaatin kanssa. Lopputuotteeksi saadaan sinivihreä indofenoliväri, jota mitataan 660–640 nm:n aallonpituudella. [23; 24.]

3.4 Laitteiden vertailu

Taulukossa 1 on vertailtu ammoniumin, nitraatin ja nitriitin määrittämis- ja toteamisrajoja kolmella eri laitteella. Vertailussa on mukana Thermo Fisherin Gallery-diskreettianalyysilaitte, FIALabin FIAlyzer-virtausinjektioanalyysilaitte, sekä Skalarin San++-jatkuvirtausanalyysilaitte.

Taulukko 1. Laitteiden määrittämis- ja toteamisrajojen vertailu [18; 26; 33].

	DA	FIA	CFA
Laite	Gallery	FIAlyzer	San++
Valmistaja	Thermo Fisher	FIALab	Skalar
Määrittämisraja (µg/l)			
Ammonium	1,5	0,7	0,3
Nitraatti	1,7	0,4	0,3
Nitriitti	1,1	0,3	0,3
Toteamisraja (µg/l)			
Ammonium	0,5	0,3	0,1
Nitraatti	0,6	0,1	0,1
Nitriitti	0,4	0,06	0,1

Taulukosta nähdään, että kaikilla laitteilla pystytään mittaamaan alle 5 µg/l:n pitoisuuksia. CFA-laitteella on analyysilaitteista pienemmät raja-arvot, mutta FIA:lla päästään lähes yhtä pieniin pitoisuuksiin lukuun ottamatta ammoniumia.

Suurimmat raja-arvot ovat DA-laitteella. Taulukossa 2 on vertailu laitteiden vaatimista näytteiden esikäsitteilytoimenpiteistä. Tarkastelun kohteena on sameat ja suolapitoiset vesinäytteet.

Taulukko 2. Laitteiden näytteenkäsittelyn vertailu [26; 34; 35; 36; 37].

	DA	FIA	CFA
Laite	Gallery	FIAlyzer	San++
Valmistaja	Thermo Fisher	FIALab	Skalar
Sameus	Poistettava suodattamalla tai sentrifugoimalla.	Poistettava alhaisten pitoisuuksien näytteistä suodattamalla tai sentrifugoimalla. Suuremmissa pitoisuuksissa pieni sameus ei häiritse.	Näytteenkäsittelyä ei tarvita luonnon vesille. Ainoastaan likaiset jätevedet vaativat suodatuksen, jos näyte sisältää paljon partikkeleita.
Suolapitoisuus	Ammoniakkipitoisuuden määrittämistä varten suolapitoiset näytteet on tislattava. Nitraatin ja nitriitin määrittämisessä suolapitoisuus ei häiritse mittausta.	Suolapitoisuus vaikuttaa varsinkin ammoniumin määrittämiseen. Laite on muunneltavissa niin, että se korjaa syntyvän virheen ja menetelmiä voidaan muuttaa sopivaksi merivedelle.	Laitteella voidaan analysoida suolapitoisia näytteitä. Ne eivät vahingoita laitetta.

Näytteen sameus häiritsee eniten mittausta Gallery-diskreettiansalysointilaitteella. FIAlyzerillä sameus häiritsee vain, kun mitataan hyvin alhaisia pitoisuuksia. Sameus voidaan molempia analysointilaitteita varten poistaa suodattamalla tai sentrifugoimalla. San++-jatkuvirtausanalysointilaitteella sen sijaan ei vaadi näytteen käsittelyä lukuun ottamatta likaisia jätevesinäytteitä. Suolapitoisuus on DA- ja FIA-laitteiden kohdalla häiritsevä tekijä, kun mitataan ammoniumia. Diskreettiansalysointilaitteita varten suola pitää poistaa tislamalla. FIA-laitetta voi mukauttaa

niin, että mittaus onnistuu suolapitoisista näytteistä. CFA-laitteella mitatessa suolapitoiset näytteet eivät haittaa.

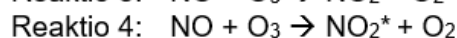
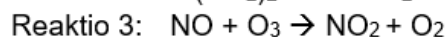
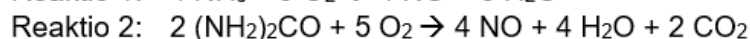
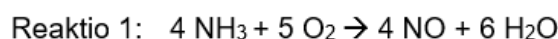
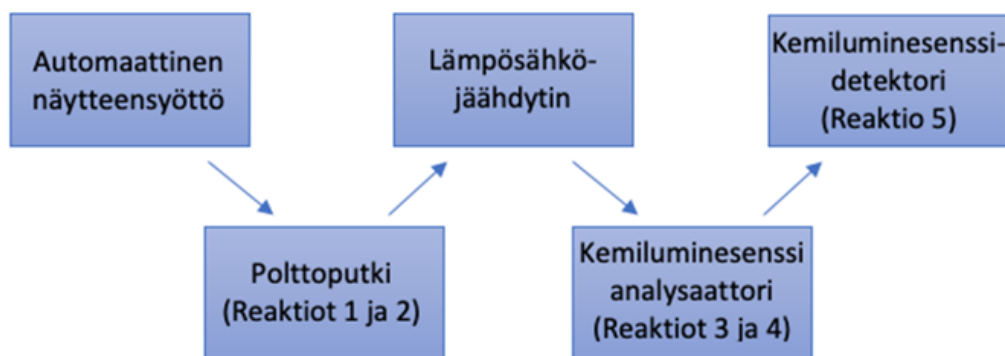
4 Kokonaistyyppipitoisuuden määrittäminen TOC-TN:lla

TOC-TN-analysaattori koostuu TOC-laitteesta, jolla voidaan mitata kokonaishiiltä (TC), epäorgaanista kokonaishiiltä (IC) ja orgaanista kokonaishiiltä (TOC), sekä siihen liitetystä kokonaistyyppimoduulista. Laitteeseen voidaan liittää myös automaattinen näytteensyöttäjä. [38, s. 2.] Kuvassa 6 on TOC-TN-analysaattori, jolla validointi tehtiin.



Kuva 6. TOC-L-TN-analysaattori.

ASTM:n standardimetodilla, jota voidaan käyttää kokonaistyyppipitoisuuden määrittämisessä TOC-TN-laitteella, voidaan mitata näytteitä, joiden tyyppipitoisuus on 0,2–10 mg/l. Toteamisraja menetelmälle on 0,05 mg/l. Standardi on tarkoitettu pinta-, pohja-, meri- ja jätevesinäytteille. [39.] Kokonaistyyppipitoisuuden määrittäminen perustuu lämpöhapetukseen ja kemiluminesenssiin [38, s. 2]. Kuvassa 7 on esitetty TOC-TN-laitteen yksinkertaistettu rakennekaavio ja analyysissä tapahtuvat kemialliset reaktiot.



Kuva 7. TOC-TN-analysaattorin yksinkertaistettu rakennekaavio ja analyysissä tapahtuvien reaktioiden lähtö- ja lopputuotteet [40, s. 2].

Automaattinen näytteensyöttäjä injektioi näytteen 720-asteiseen polttoputkeen, jossa typpeä sisältävät yhdisteet hapettuvat typpimonoksidiksi. Typpimonoksidi kulkeutuu kantokaasun eli synteettisen ilman mukana lämpösähköiseen jäähdtimeen. Sen jälkeen kuivattu ja jäähdytetty kaasu kulkeutuu kemiluminesenssianalysaattorille. Otsoni muuttaa typpimonoksidin kaksivaiheisessa reaktiossa ensin typpidioksidiksi ja sen jälkeen otsoni virittää typpidioksidin virittyneeseen tilaan. Kun virittynyt typpioksidi palaa perustasolle, se emittoi säteilyä, jota kemiluminesenssidetektorilla mitataan. Detektorin mittaamasta signaalista muodostuu piikki, joka on verrannollinen näytteen typpipitoisuuteen. [40, s.2.]

4.1 Mittausmenetelmä ja ajo-ohjelman tiedot

Validoinnissa käytettiin menetelmän perustana ASTM D8083-16 -standardia [39]. Standardista kuitenkin poikettiin monessa kohtaa. Validoinnissa käytettiin eri reagensseja, sillä haluttiin käyttää jo laboratoriosta valmiiksi löytyviä tuotteita. Kestävöinnissä käytettiin rikkihapon sijasta suolahappoa. Kalibrointiliuokset päädyttiin laimentamaan käsin, koska automaattisella laimennuksella mitatut

kalibroitaisuorat poikkesivat huomattavasti manuaalisesti laimennetuista suorista. Taulukkoon 3 on koottu laitteen ajo-ohjelman tiedot.

Taulukko 3. Ajo-ohjelman tiedot.

Injektiotilavuus	280 µl
Kantokaasu	Synteettinen ilma
Kantokaasun paine	n. 203 kPa
Kantokaasun virtausnopeus	150 ml/min
Otsonikaasun paine	n. 205 kPa
Polttoputken lämpötila	n. 720 °C
Ilmankuivaimen lämpötila	0,7 °C
NDIR-sensorin ja TN-reaktorin lämpötila	65,1 °C

Ajo-olosuhteet olivat laitteen automaattisesti määrittämiä. Ajon aikana polttoputken lämpötila ja kaasujen paineet hieman vaihtelivat ajon aikana. Injektiotilavuudeksi asetettiin 280 µl. Tätä tilavuutta oli käytetty myös aiemmin laitteella tehdyissä mittauksissa. Analyyseissä käytettiin 24 ml:n vialeita, jotka happopestiin käytön jälkeen suolahappoliuoksella, jonka pitoisuus oli 2 mol/l.

4.2 Käytetyt reagenssit ja laitteet

Validoinnissa käytettiin seuraavia reagensseja:

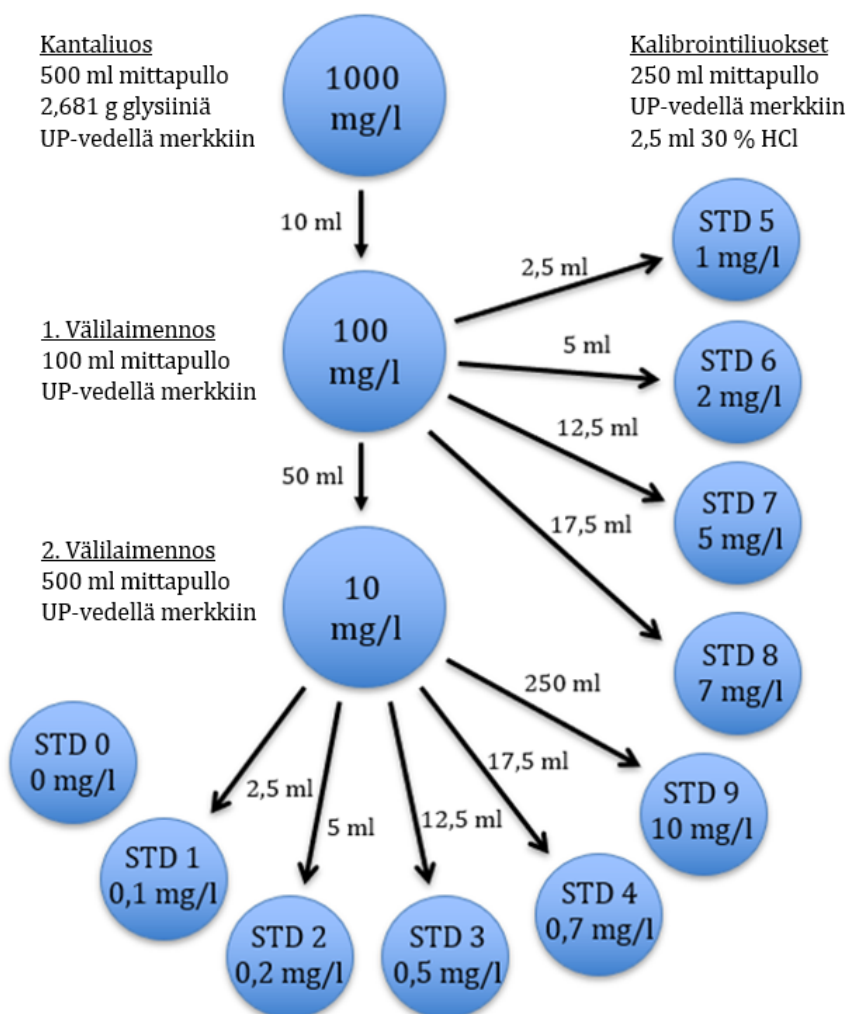
- 1000 mg/l Total Kjeldahl Nitrogen CRM (AccuStandard, WC-TKN-10X-1, erä: 220105064)
- 30-prosenttinen suolahappo (Merck, 1.11318.1000, erä: Z0685218042)
- glysiini (J. T. Baker, erä: 19205018349).

Validoinnissa käytettiin seuraavia laitteita:

- ASI-L-automaattinen näytteesyöttäjä (Shimadzu, H57405701208)
- Biohit 500–5000 µl -automaattipipetti (B36)
- GWB Mettler AE163 -kiintoainevaaka (004/815)
- Thermofisher Finnpipette 2–10 ml -automaattipipetti (B47)
- TNM-L ROHS -kokonaistyyppiyksikkö (Shimadzu, H56405701768)
- TOC-L-analysaattori (Shimadzu, H54425701139).

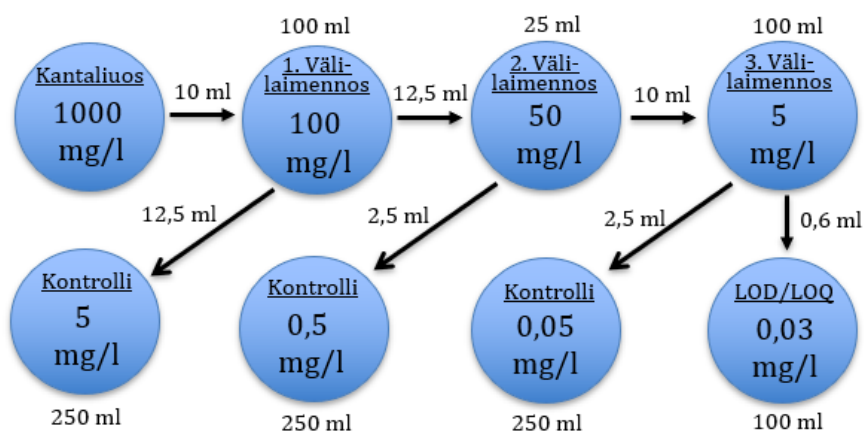
4.3 Näytteiden valmistus ja säilytys

Kalibrintiliuokset valmistettiin glysiinistä kuvan 8 mukaisesti.



Kuva 8. Kalibrintiliuosten laimennussarja.

Liottimena käytettiin ultrapuhdasta vettä eli UP-vettä. Kalibrointisuoraa varten valmistettiin myös nollanäyte, jossa oli pelkkää UP-vettä. Kun kalibrointiliuokset oli täytetty UP-vedellä merkkiin, ne kestäväitiin 30-prosenttisella suolahapolla. Myös muut nollanäytteet valmistettiin samalla tavalla. Kontrolliliuokset ja pienpitoisuudennäytteiden valmistuksessa käytettiin kantaliuoksena 1000 mg/l:n varmennettua vertailumateriaalia. Kontrolliliuokset tehtiin pitoisuustasoille 5; 0,5 ja 0,05 mg/l. Jokaisesta kontrolliliuospitoisuudesta tehtiin kymmenen rinnakkaista ja kontroleja mitattiin useampana päivänä niin, että saatiin yhteensä 60 mittaustulosta. Määritys- ja toteamisrajan analysoinnissa käytetyt pienpitoisuudennäytteet tehtiin pitoisuustasolle 0,03 mg/l. Näytteitä tehtiin 10 rinnakkaista, joista jokaisesta mitattiin kolme mittausta. Kuvassa 9 on esitetty näytteiden valmistus.



Kuva 9. Kontrollinäytteiden ja pienpitoisuudennäytteiden laimennussarja.

Rutiininäytteinä käytettiin 12:tä eri näytettä, jotka olivat järvi-, joki- ja jätevedettä. Osa näytteistä laimennettiin UP-vedellä sopivaan pitoisuuteen. Jokaisesta näytteestä valmistettiin 2 rinnakkaista, jotka mitattiin viitenä eri päivänä. Rutiininäyte tuloksia mitattiin yhteensä 60 rinnakkaista, joista 40:tä käytettiin mittausalueen 0,05–1 mg/l validoinnissa. Mittausalueen 1–10 mg/l validoinnissa käytettiin 25:tä rinnakkaisnäytettä. Järvi ja jokinäytteet analysoitiin ilman esikäsitteilyä. Jätevesinäytteet kestäväitiin 30-prosenttisella suolahapolla, lisäämällä sitä 1 ml 100 ml:aan näytettä. Sen jälkeen näytteet sekoitettiin ja annettiin olla kylmiössä yön

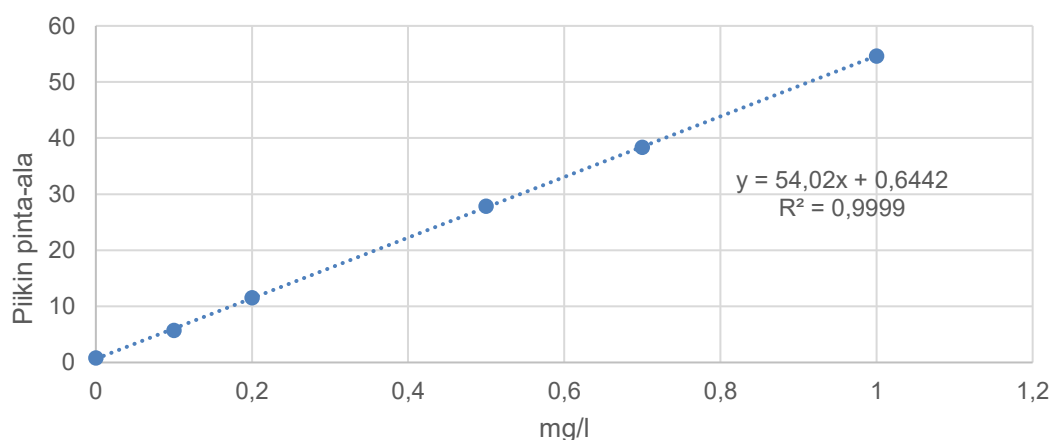
yli. Seuraavana päivänä näytteet suodatettiin 4–7 µm:n suodatinpaperilla (Whatman, Grade 597¹/₂).

Kaikki analysoidut näytteet kestävästiin 30-prosenttisella suolahapolla. Sitä lisättiin 1 ml 100 ml:a kohden. Lisäys tehtiin sen jälkeen, kun mittapullot oli täytetty merkkiin. Lopuksi näytteet sekoitettiin hyvin. Säilyvyyden parantamiseksi mittapullojen korkit tiivistettiin parafilmillä ja näytteitä säilytettiin kylmiössä, jonka lämpötila oli 5 °C.

5 Validoinnin suoritus ja tulokset

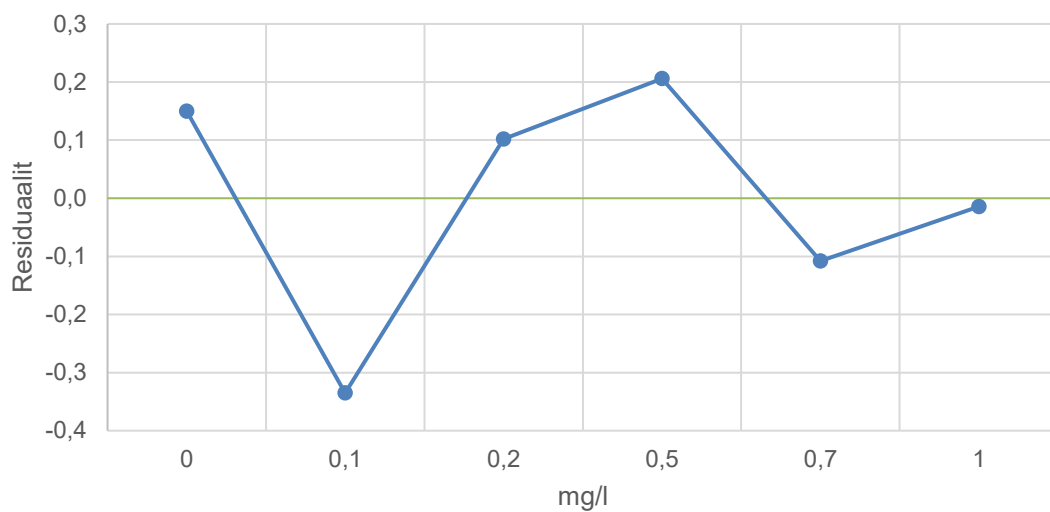
5.1 Lineaarisuus ja mitta-alue

Mitta-alueeksi valittiin ASTM-menetelmän [39] mukaisesti 0,05–10 mg/l. Mitta-alue jaettiin pieniin ja isoihin pitoisuuksiin. Suorat tehtiin pitoisuuksille 0,05–1 mg/l ja 1–10 mg/l. Jokaisesta kalibrintisuoran pitoisuudesta mitattiin kolme mittaustulosta, joiden keskiarvoa käytettiin kalibrintisuoran teossa. Kalibrintisuorien lineaarisuutta tutkittiin selitysasteiden ja residuaalitarkastelun avulla. Tavoitteena oli saada selitysasteeksi vähintään 0,999. Residuaalitarkastelussa lineaarisuutta tarkasteltiin residuaalikuvaajan pisteiden avulla. Kun suora on lineaarinen, pisteet sijoittuvat satunnaisesti nollatason molemmille puolille. Kuvas-
sassa 10 on esitelty kalibrintisuora pitoisuusvälille 0,05–1 mg/l.



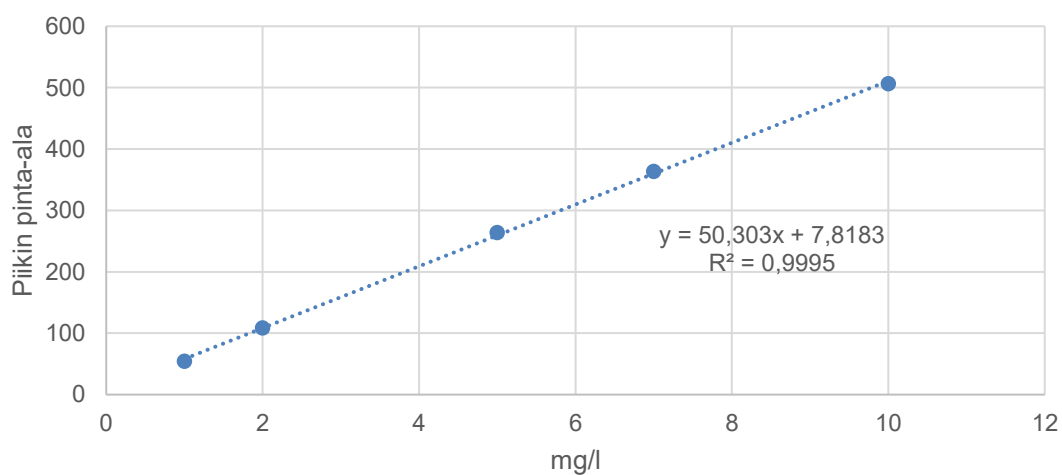
Kuva 10. Kalibrintisuora pitoisuusvälille 0,05–1 mg/l.

Kalibroitisuoran selitysasteeksi saatiin 0,9999. Asetettu tavoite ylittyi reilusti. Suoran lineaarisuutta tutkittiin kuvan 11 residuaalikuvaajan avulla.



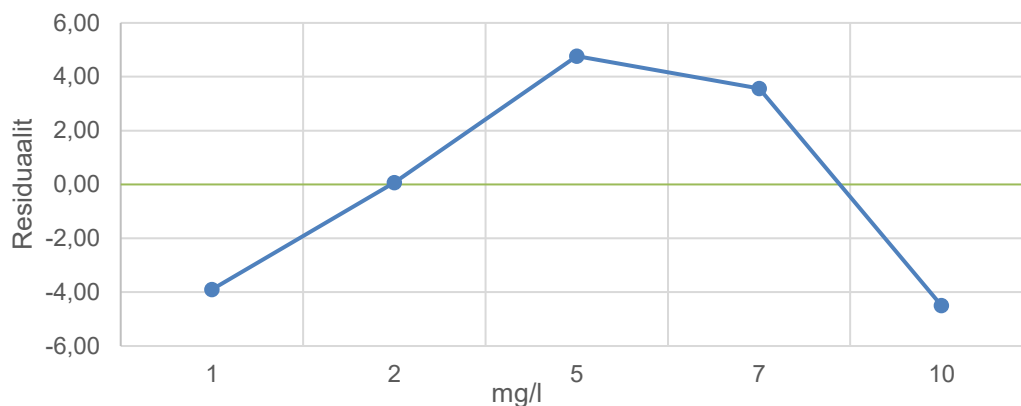
Kuva 11. Residuaalikuvaaja kalibroitisuoralle 0,05–1 mg/l.

Suoran residuaalit sijoittuvat satunnaisesti nollassa molemmille puolille, joten se voidaan todeta lineaariseksi. Kuvassa 12 on esitelty pitoisuusvälin 1–10 mg/l kalibroitisuora.



Kuva 12. Kalibroitisuora pitoisuusvälille 1–10 mg/l.

Pitoisuusvälin 1–10 mg/l kalibrintisuoran selitysasteeksi saatiin 0,9995. Saatu arvo on suurempi kuin tavoitteena ollut 0,999. Suora ei ole kuitenkaan lineaarinen, sillä residuaalitarkastelussa pisteet muodostavat kaaren (kuva 13).



Kuva 13. Residuaalikuvaaja kalibrintisuoralle 1–10 mg/l.

Kalibrintiliuoksia ja -suoraa käytettiin validoinnissa siitä huolimatta, vaikka se ei ollut lineaarinen. Selitysaste ylitti tavoitteen, joten kalibrintisuoran katsottiin olevan tarpeeksi luotettava.

5.2 Toteamis- ja määrittysraja

LOD eli toteamisraja tarkoittaa pienintä pitoisuutta analyyttiä, joka voidaan näytteestä luotettavasti havaita. Siinä pitoisuudessa analyytin esiintyminen voidaan havaita, mutta pitoisuutta ei voida määrittää. LOQ eli määrittysraja tarkoittaa pienintä analyytin pitoisuutta, joka voidaan näytteestä määrittää eli siitä saadaan määritettyä luotettava tulos.

Toteamisraja- ja määrittysraja analysoitiin mittaamalla näytteitä, joissa oli vain pieni pitoisuus tyypeä. Näytteet valmistettiin synteettisesti pitoisuustasolle 0,03 mg/l. Näytteitä valmistettiin 10 kappaletta, joista jokaisesta tehtiin 3 mittausta, jotta saatiin yhteensä 30 mittaustulosta. Mittaustulokset on esitetty liitteessä 1. Toteamis- ja määrittysraja laskettiin mittaustuloksien keskihajonnan avulla. Taulukossa 4 on esitetty saadut tulokset.

Taulukko 4. Laskettu toteamis- ja määrittäysraja.

Keskihajonta (s)	0,00527 mg/l
Toteamisraja (3s)	0,016 mg/l
Määrittäysraja (9s)	0,047 mg/l

Toteamisrajaksi saatiin 0,016 mg/l ja määrittäysrajaksi saatiin 0,047 mg/l. Tavoitteena oli saada määrittäysrajaksi alle 0,05 mg/l. Saatu tulos täyttää asetetun tavoitteen.

5.3 Selektiivisyys ja spesifisyys

Selektiivisyyttä ja spesifisyyttä analysoitiin saantokokeiden avulla. Saantokokeet tehtiin niin, että näytteet osuivat pitoisuustasoille 0,5 ja 5 mg/l. Pienemmän pitoisuuden saantonäytteet valmistettiin laimennetusta järvivedestä, jotta saatiin näytettä, jonka pitoisuus oli noin 0,1 mg/l. Lisäyksen suuruus oli 0,4 mg/l. Suuremman pitoisuuden saantonäytteet valmistettiin jätevedestä, jota laimennettiin 4 mg/l:n pitoisuuteen, ja lisäyksen suuruus oli 1 mg/l. Molempia näytteitä valmistettiin 20 rinnakkaista, joiden keskiarvo mitattiin. Saantokokeiden tulokset laskettiin kaavalla:

$$\%R = \frac{S - U}{C} \cdot 100 \%$$

Kaavassa

- S = näytteen mitattu pitoisuus, johon lisäys on tehty
- U = näytteen alkuperäinen pitoisuus
- C = lisäyksen pitoisuus.

Näytteiden alkuperäisenä pitoisuutena käytettiin rutiininäytteiden mittausten yhteydessä saatujen tulosten keskiarvoa. Liitteessä 2 on luetteloitu saantokoenäytteiden tulokset yksittäin. Saantokokeiden tulosten keskiarvot on esitetty taulukossa 5.

Taulukko 5. Saantokoetulosten keskiarvot.

Pitoisuustaso	%R keskiarvo
0,5 mg/l	99,8 %
5 mg/l	93,0 %

Saantokokeiden tavoitteena oli saada 90–110 %:n tulos. Molemmissa tapauksessa tavoite täyttyi. 5 mg/l:n tuloksissa oli paljon vaihtelua ja keskiarvo jäi hieman matalaksi. Epätasalaatuisuus saattoi johtua siitä, että näytteet tehtiin käyttäen jätevettä, jota ei esikäsitelty kuten rutiininäytteinä käytettyjä jätevesiä. Näytteet ainoastaan suodatettiin.

5.4 Täsmällisyys

Täsmällisyyttä analysoitiin toistettavuuden ja laboratorion sisäinen uusittavuuden avulla. Toistettavuutta arvioitiin rutiininäytteiden rinnakkaismääritysten avulla. Näytteiden rinnakkaismäärityksistä laskettiin erotus ja erotuksista keskihajonta. Keskihajontoja tarkastelemalla voidaan arvioida toistettavuutta. Taulukossa 7 nähdään saadut tulokset.

Taulukko 6. Rinnakkaismäärittystulosten keskiarvo ja rinnakkaismääritysten erotuksien keskihajonnat.

Näyte	Keskiarvo (mg/l)	Erotuksien keskihajonta (mg/l)	Erotuksien suhteellinen keskihajonta (RSD%)
1	0,06	0,005	8,7
2	0,08	0,002	2,2
3	0,11	0,008	7,5
4	0,16	0,007	4,3
5	0,30	0,010	3,3
6	0,57	0,016	2,8
7	0,65	0,014	2,2

8	0,99	0,018	1,8
9	2,28	0,023	1,0
10	5,58	0,150	2,7
11	7,93	0,096	1,2
12	9,49	0,144	1,5

Näytteiden rinnakkaismäärittystulosten keskiarvoista nähdään näytteen pitoisuustaso. Tuloksista nähdään, että keskihajonnat kasvavat näytteen pitoisuuden kasvaessa, mutta suhteessa keskiarvoon keskihajonta on suurimmissa pitoisuuksissa pieni. Pienissä pitoisuuksissa keskihajonnalla on suurempi vaikutus tulokseen. Tämä nähdään myös suhteellisista keskihajonnoista, sillä pienemmillä pitoisuuksilla RSD% on suurempi. Keskihajonnat ovat hyvin pieniä, joten mittaustulosten voidaan todeta olevat toistettavia.

Laboratorion sisäinen uusittavuus laskettiin MUKit-ohjelman avulla, sekä Kymen Ympäristölaboratorion Excel-taulukon avulla. MUKit-ohjelma käyttää laboratorion sisäisen uusittavuuden laskemiseen rutiininäytteitä ja kontrollinäytteitä. Excel-taulukko laskee tuloksen vain kontrollinäytteiden hajonnasta. Rutiininäytteiden tulokset on taulukoitu liitteeseen 3 ja kontrollinäytteiden tulokset liitteeseen 4. MUKit-raportit ovat nähtävillä liitteessä 5. Taulukkoon 8 on koottu saadut tulokset.

Taulukko 7. Laboratorion sisäisen uusittavuuden tulokset.

Pitoisuus (mg/l)	Kontrollinäytteet (mg/l)	MUKit	Excel
0,05–1	0,05	17,07 %	14,6 %
0,05–1	0,5	9,49 %	3,5 %
1–10	5	3,42 %	3,1 %

MUKit-ohjelman ja Excel-taulukon tuloksissa on eroa johtuen erilaisesta laskentatavasta. Tavoitetta tuloksille ei ollut, mutta tuloksista nähdään, että 0,05 mg/l:n

kontrollinäytteillä laskettuna tulos on hyvin suuri. Se kertoo siitä, että lähellä määritysrajaa tuloksien uusittavuus huononee. 0,5 mg/l:n kontrollinäytteillä lasketut tulokset sen sijaan näyttävät hyviltä. Suuremmissa pitoisuuksissa laboratorion sisäinen uusittavuus on erinomainen.

5.5 Poikkeama

Poikkeama eli systemaattinen virhe määritettiin kontrollinäytteiden tuloksilla ja saantokokeiden avulla. Tulos esitetään bias-%:na. Tulokset (taulukko 9) laskettiin MUKit-ohjelmalla ja laboratorion Excel-taulukolla.

Taulukko 8. Systemaattiset virheet MUKit-ohjelmalla ja Excel-taulukolla laskettuna.

Pitoisuus (mg/l)	Laskentatapa	MUKit	Excel
0,05–1	0,05 mg/l:n kontrollinäytteet	9,13 %	9,4 %
0,05–1	0,5 mg/l:n kontrollinäytteet	0,89 %	2,6 %
0,05–1	Saantokokeet	2,60 %	-
1–10	5 mg/l:n kontrollinäytteet	2,28 %	3,4 %
1–10	Saantokokeet	8,65 %	-

Pienimmät systemaattiset virheet saatiin pienemmille pitoisuuksille 0,5 mg/l:n kontrollinäytteiden avulla. Myös saantokokeilla saatiin hyvä tulos. Suuremmille pitoisuuksille alhaisimmat tulokset saatiin myös kontrollinäytteistä. Korkein poikkeama oli, kun käytettiin 0,05 mg/l:n kontrollinäytteitä pienille pitoisuuksille ja saantokokeiden tuloksia suuremmille pitoisuuksille. Näissä tuloksissa oli suurin keskihajonta, joten myös systemaattinen virhe on isompi.

5.6 Mittausepävarmuus

Mittausepävarmuus ja laajennettu epävarmuus laskettiin poikkeaman tavoin MUKit-ohjelman ja Excel-taulukon avulla. Tulokset laskettiin erikseen kontrollinäytteiden ja saantokokeiden avulla. Taulukkoon 10 on koottu saadut tulokset.

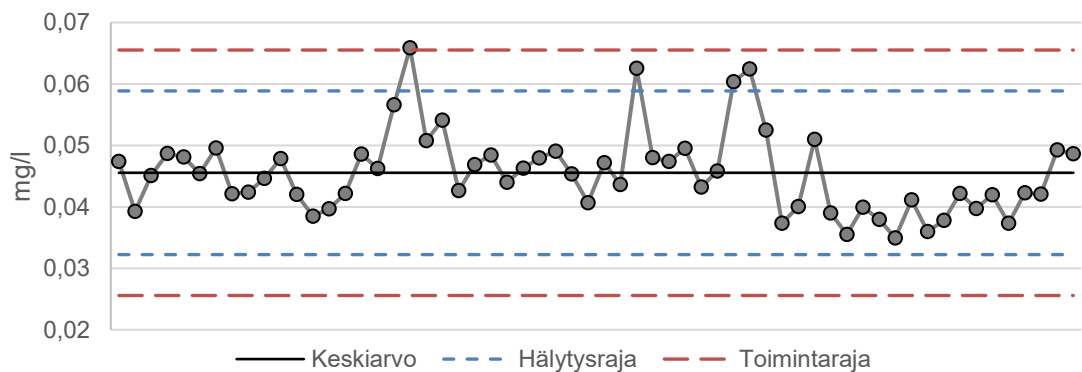
Taulukko 9. Mittausepävarmuus ja laajennettu mittausepävarmuus (k=2) MUKit-ohjelmalla ja Excel-taulukolla laskettuna.

Pitoisuus (mg/l)	Laskentatapa	Mittausepävarmuus		Laajennettu mittausepävarmuus	
		MUKit	Excel	MUKit	Excel
0,05–1	0,05 mg/l:n kontrollinäytteet	19,35 %	19 %	39 %	38 %
0,05–1	0,5 mg/l:n kontrollinäytteet	9,54 %	9 %	20 %	18 %
0,05–1	Saantokokeet	9,84 %	-	20 %	-
1–10	5 mg/l:n kontrollinäytteet	4,11 %	5 %	9 %	10 %
1–10	Saantokokeet	9,33 %	-	19 %	-

Tavoitteena oli saada alle 30 % laajennetuksi mittausepävarmuudeksi. Tavoitteeseen päästiin kaikissa muissa kohdissa paitsi 0,05–1 mg/l:n pitoisuudessa, kun tulokset laskettiin 0,05 mg/l:n kontrollinäytteillä. Saantokokeilla ja 0,5 mg/l:n kontrollinäytteillä saatiin hyvin samantapaiset tulokset. Mittausepävarmuudeksi saatiin vähän alle 10 % ja laajennetuksi mittausepävarmuudeksi saatiin 20 %. Pitoisuuksille 1–10 mg/l saatiin mittausepävarmuudeksi noin 5 % ja laajennetuksi mittausepävarmuudeksi noin 10 %. Saantokoetuloksilla laskettuna mittausepävarmuudet olivat melkein kaksinkertaiset.

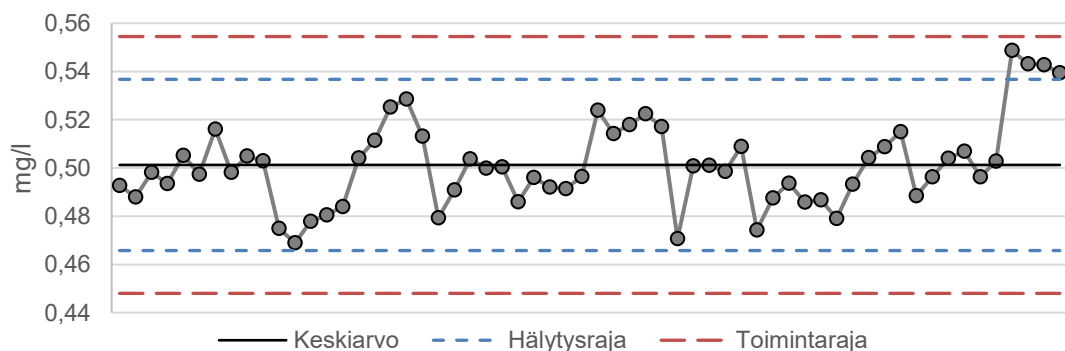
5.7 Kontrollinäytteiden X-kortit

Kontrollinäytteiden tuloksia analysoitiin laadunvalvontakorttien muodossa, jotta voitaisiin havaita mahdollisia häiriöitä. X-kortin eli keskiarvokortin avulla voidaan tarkastella mittaustulosten jakautumista odotusarvon ympärille. Kuvaajan avulla seurataan rajojen ylityksiä, tulosten satunnaisvaihtelua, sekä muodostuvia trendejä. Kontrollinäytteiden valvontakortteja arvioitiin Nordtest raportti TR 569 Sisäinen laadunohjaus -käsikirjan tulkintaohjeiden mukaan [41, s. 14, 25–26]. Kuvassa 14 on 0,05 mg/l:n kontrollinäytteiden valvontakortti eli X-kortti.



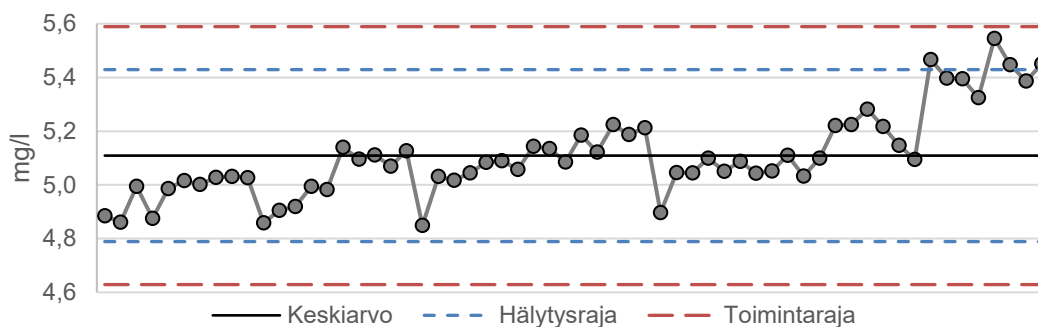
Kuva 14. X-kortti 0,05 mg/l:n kontrollinäytteille.

Valvontakortista nähdään useampi häiriötilanne. Yksi piste on toimintarajan ulkopuolella ja kaksi peräkkäistä pistettä on hälytys- ja toimintarajan välissä. Lisäksi lopussa on 14 peräkkäistä pistettä samalla puolella keskiarviivaa. [41, s. 25–26.] Kuvassa 15 on esitelty 0,5 mg/l:n kontrollinäytteiden valvontakortti.



Kuva 15. X-kortti 0,5 mg/l:n kontrollinäytteille.

0,5 mg/l:n kontrollinäytteiden X-kortista löytyy 8 peräkkäistä arvoa, jotka muodostavat kasvavan trendin. Yli 7 asteittain kasvavaa tulosta kertoo häiriöstä. Lopussa on myös neljää mittaustulosta, jotka ovat hälytys- ja toimintarajan välissä. [41, s. 25–26.] Kuvassa 16 on esitelty 5 mg/l:n kontrollinäytteiden valvontakortti.



Kuva 16. X-kortti 5 mg/l:n kontrollinäytteille.

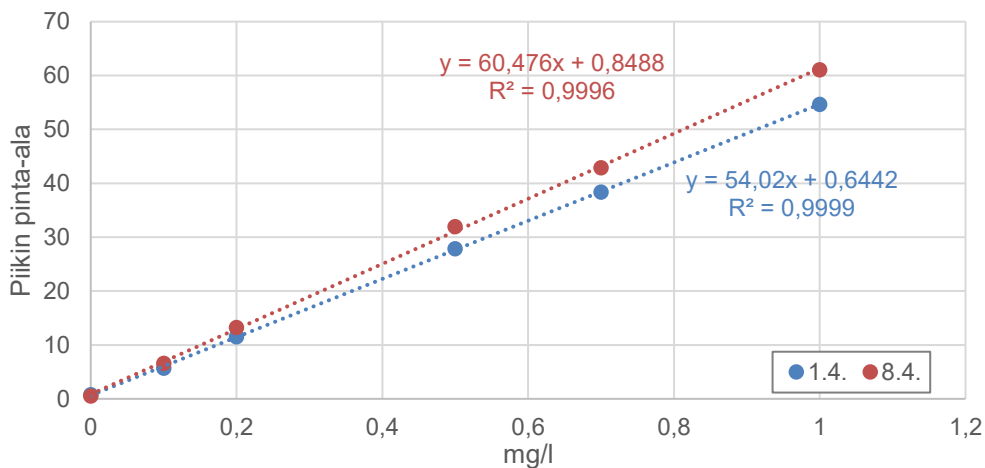
5 mg/l:n kontrollinäytteiden X-kortin alussa on 15 peräkkäistä pistettä keskiviivan alapuolella. Lopussa on hälytysrajojen ylityksiä, sekä yli 10 arvoa 11 peräkkäisestä arvosta on keskiviivan yläpuolella. Silmämääräisesti katsottuna näyttää siltä, että valvontakortissa voisi olla nouseva trendi, mutta tulkintaohjeiden mukaan nousevan tai laskevan trendin tunnusmerkit eivät täyty. Seitsemän peräkkäistä pistettä ei nouse tai laske asteittain. [41, s. 25–26.]

Jokaisesta valvontakortista löytyi häiriötilanteita, kun X-kortit tarkastettiin Sisäinen laadunohjaus -käsikirjan ohjeiden mukaan. Laboratorio päättää kuitenkin itse ohjeistuksen laadunvarmistuksen menettelytavoille, joten välttämättä vielä ei ole syytä ruveta toimenpiteisiin. Kontrollinäytteiden tuloksia on hyvä seurata tarkasti jatkossa, jotta saadaan varmuus tulosten luotettavuudesta.

5.8 Näytteiden säilyvyys

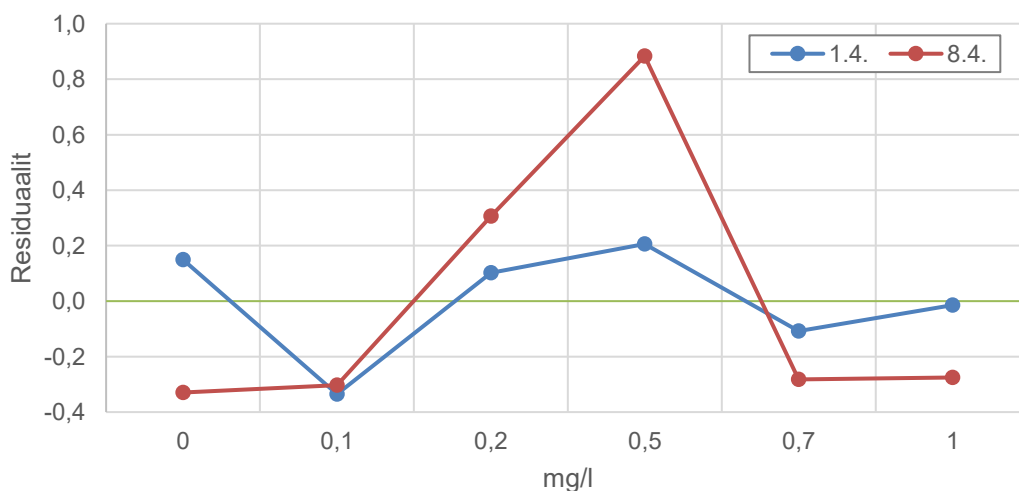
Validointisuureiden lisäksi tutkittiin kalibrointi- ja kontrolliliuosten säilyvyyttä. Säilyvyyttä analysoitiin vertaamalla liuosten ensimmäisen päivän tuloksia viikon ku-

luttua saatuihin tuloksiin. Kalibrointiliuosten säilyvyyttä arvioitiin vertaamalla kalibrointisuoria ja residuaalikuvaajia. Kuvassa 17 on vertailtu mittausalueen 0,05–1 mg/l:n kalibrointisuoria.



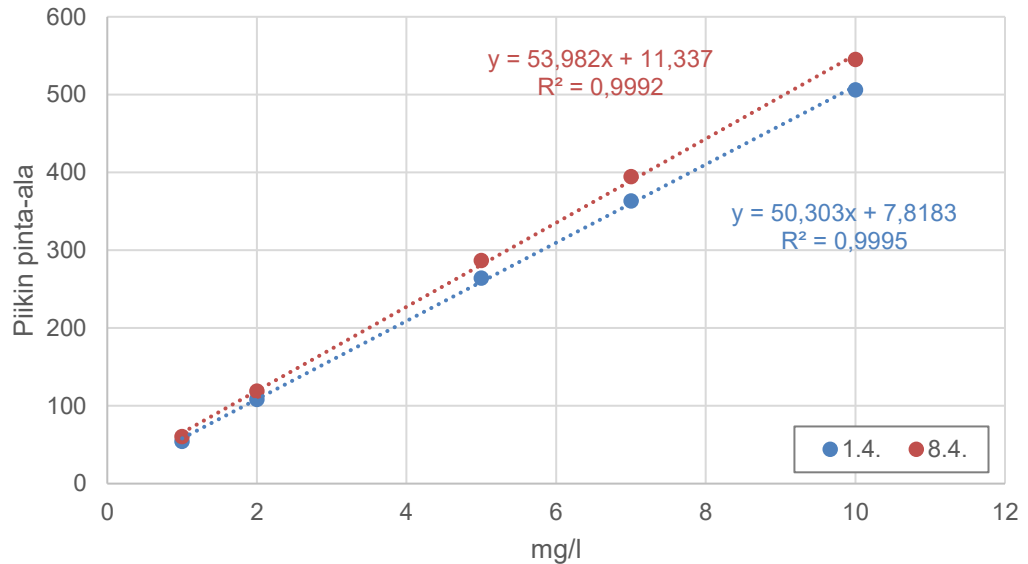
Kuva 17. Kalibrointisuorien vertailu, 0,05–1 mg/l.

Kalibrointisuoran selitysaste on heikentynyt hieman viikossa, mutta se on edelleen hyvä. Kaaviosta nähdään myös, että viikon kuluttua liuoksista on saatu suurempi signaali eli piikkien pinta-alat ovat olleet suuremmat. Tämä johtuu luultavasti laitteen suorituskyvyn vaihtelusta eri päivinä. Kuvassa 18 on vertailtu suorien residuaalikuvaajia.



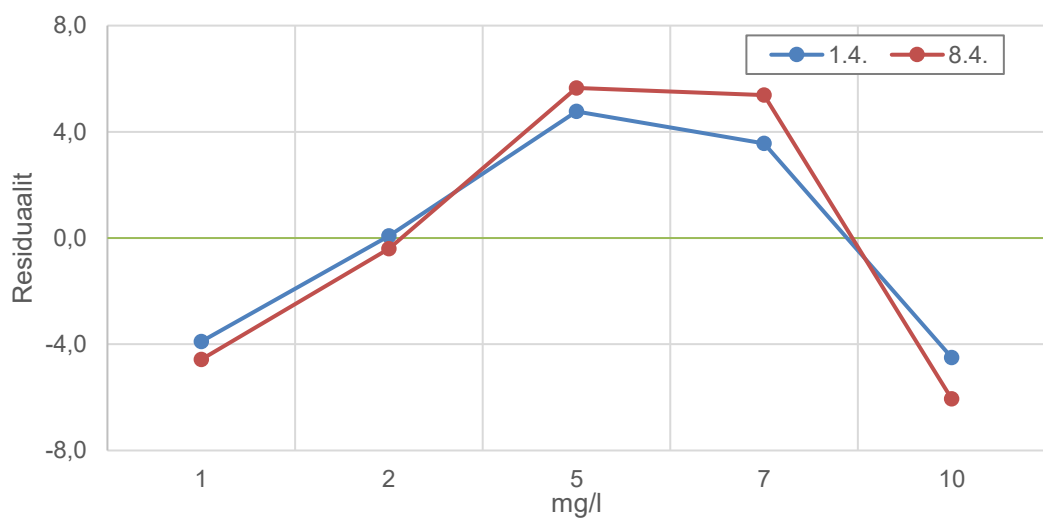
Kuva 18. Residuaalikuvaajien vertailu, 0,05–1 mg/l.

Residuaalikuvaaja on muuttunut viikossa aavistuksen kaarimaisemmaksi, mikä voi kertoa siitä, että lineaarisuus on hieman heikentynyt. Kuvassa 19 on vertailtu 1–10 mg/l:n kalibrointisuoria.



Kuva 19. Kalibrointisuorien vertailu, 1–10 mg/l.

Kalibrointisuoran selityssaste on hieman huonontunut viikossa, kuten myös 0,05–1 mg/l:n kalibrointisuoralle oli käynyt. Samoin mittaustulokset ovat olleet korkeampia. Kuvassa 20 on vertailtu suorien residuaalikuvaajia.



Kuva 20. Residuaalikuvaajien vertailu, 1–10 mg/l.

Residuaalikuvaaja on hyvin samantapainen vielä viikon kuluttua. Lineaarisuuden avulla liuosten säilyvyyttä ei pystytä arvioimaan, koska suora oli alun perinkin kaareva. Sekä 0,05–1 mg/l:n että 1–10 mg/l:n kalibroitisuorien muutokset olivat niin pieniä, että kalibrointiliuoksien voidaan todeta säilyneen hyvin viikon verran.

Kontrollinäytteiden säilyvyyttä tutkittiin parittaisella t-testillä luottamustasolla 95 %. Testinä käytettiin parittaista t-testiä, koska kontrollinäytteitä oli 10 rinnakkaista pitoisuustasoa kohden. Testien tulokset on koottu taulukkoon 11. Kokonaisuudessaan testit löytyvät liitteestä 6.

Taulukko 10. Ensimmäisen päivän ja viikon kuluttua mitattujen kontrollinäytteiden tuloksien välinen tilastollinen ero luottamustasolla 95 %.

Kontrollinäytteiden pitoisuustaso (mg/l)	Tilastollinen ero 95 %:n luottamustasolla
0,05	ei
0,5	ei
5	kyllä

0,05 ja 0,5 mg/l:n pitoisissa kontrollinäytteissä ei ollut tilastollista eroa 95 %:n luottamustasolla. Sen sijaan 5 mg/l:n kontrollinäytteissä oli tilastollinen ero. Luultavasti näytteet ovat säilyneet hyvin viikon, sillä suurimmassa osassa tuloksia tilastollista eroa ei ollut. Tilastollisesti merkitsevä ero on voinut johtua laitteen suorituskyvyn vaihtelusta päivien välillä. Sama havainto tehtiin myös kalibrointisuorien vertailussa.

6 Yhteenveto ja johtopäätökset

Taulukkoon 12 on koottu yhteenvetona validoinnin tulokset. Ilmoitettuina tuloksina käytettiin parhaita arvoja, jotka validoinnissa saatiin. Yhteenvedossa käytettiin MUKit-ohjelmalla laskettuja tuloksia Excel-taulukon tulosten sijaan.

Taulukko 11. Validoinnin yhteenveto.

Validointi- suure	Tavoite	Mittausalue 0,05–1 mg/l	Mittausalue 1–10 mg/l
Lineaarisuus	a) $R^2=0,999$ tai parempi b) Residuaalit sijoittuvat satunnaisesti nollatason ympärille	a) Kyllä b) Kyllä	a) Kyllä b) Ei
Toteamisraja	Ei tavoitetta	0,016 mg/l	
Määritysraja	$\leq 0,05$ mg/l	0,047 mg/l	
Saantoprosentti	$90 < \%R < 110$	99,8 %	93,0 %
Toistettavuus	Ei tavoitetta	Hyvä	Hyvä
Laboratorion sisäinen uusittavuus	Ei tavoitetta	9,49 %	3,42 %
Systemaattinen virhe	Ei tavoitetta	0,89 %	2,28 %
Mittausepävarmuus	Ei tavoitetta	9,54 %	4,11 %
Laajennettu mittausepävarmuus (k=2)	Alle 30 %	20 %	9 %

Mittausalueen 0,05–1 mg/l osalta kaikki asetetut tavoitteet täyttyivät ja tulokset olivat erinomaisia. On kuitenkin otettava huomioon määritysrajan lähellä olevien

mittaustuloksien epävarmuus, joka huomattiin 0,05 mg/l:n kontrollinäytteiden tuloksilla lasketusta mittausepävarmuudesta. Laajennetuksi mittausepävarmuudeksi saatiin niillä tuloksilla 39 %. Saatu määräysraja alittaa niukasti tavoitteen 0,05 mg/l. Ensimmäisellä mittauskerralla tavoitteeseen ei päästy, joten analyysi uusittiin. Tuloksen paranemiseen luultavasti vaikutti laitteen putkiston parempi huuhtelu ja pidempi laitteen tasaantumisaika ennen ajon käyntiin laittoa.

Mittausalueen 1–10 mg/l validoinnin tulokset olivat muuten erinomaisia, mutta kalibroitisuoran lineaarisuusehto ei täytynyt. Luultavasti injektioilavuus 280 µl oli suurille pitoisuuksille liian iso, mikä aiheutti mittaustuloksien saturoitumisen. Kalibroitisuoran voisi vaihtoehtoisesti sovittaa toisen asteen yhtälöön, eli polynomiseen malliin $y=ax^2+bx+c$. Tällöin voitaisiin saada tarkempia tuloksia. Saantokokeissa saatu tulos 93,0 % pysyi tavoitteen rajoissa, mutta oli hieman alhainen. Tuloksien vaihteluun vaikutti luultavasti se, että saantokoenäytteet tehtiin käyttäen jätevettä, jonka epäpuhtaudet saattoivat vaikuttaa tuloksiin.

Kontrollinäytteiden X-korteissa huomattiin olevan useita häiriötilanteita, kun niitä tarkasteltiin Sisäinen laadunohjaus -käsikirjan ohjeiden [41, s. 25–26] mukaan. Jatkossa on hyvä seurata tarkasti kontrollinäytteiden tuloksia, jotta saadaan varmuus mittaustulosten luotettavuudesta. Kalibroi- ja kontrollinäytteiden todettiin säilyvän viikon ajan hyvin, sillä kalibroitisuorien vertailussa ja kontrollinäytteiden parittaisessa t-testissä 95 %:n luottamustasolla ei ollut juurikaan eroa. Vertailussa kuitenkin huomattiin, että laitteen suorituskyvyssä oli eroja eri päivien välillä. Viikon kuluttua uudestaan mitatut kalibroitiliuokset antoivat suuremman signaalin kuin viikkoa aikaisemmin.

Kokonaistyyppipitoisuuden määritysmenetelmän validointi TOC-TN-laitteella onnistui hyvin. Jatkotutkimuksia olisi hyvä kuitenkin tehdä vielä määräysrajan lähellä oleville pitoisuuksille sekä keksiä keinoja vielä pienempään määräysrajaan. Suuremmille pitoisuuksille voisi optimoida paremman injektioilavuuden, jotta kalibroitisuora saataisiin lineaariseksi. Laitteella tullaan mittaamaan pääasiassa vesinäytteitä, joiden pitoisuus on alle 1 mg/l. Tällaisille näytteille menetelmä sopii hyvin.

Validoinnissa ei tutkittu suolapitoisia näytteitä eikä jäteveden esikäsittelyn vaikutusta mittaustuloksiin. Näitä mahdollisia häiriötekijöitä olisi hyvä tutkia, jotta saadaan tietää, onko niillä vaikutusta mittaustuloksiin. ASTM:n menetelmässä [39] kuitenkin sanotaan meriveden ja jäteveden soveltuvan analyysiin. Laitteen käyttöohjeen mukaan korkea suolapitoisuus voi vaikuttaa tulokseen, joten suolapitoiset näytteet täytyy laimentaa alle 1000 mg/l:n suolapitoisuuteen [38, s. 85].

TOC-TN-laitteeseen kytketty automaattinen näytteensyöttäjä ei laimentanut näytteitä luotettavasti. Saatu kalibrintisuora poikkesi huomattavasti käsin laimennettujen kalibrintinäytteiden suorasta, joten validoinnissa ei käytetty automaattista laimennusta. Analyysien nopeuttamiseksi ja työmäärän vähentämiseksi olisi hyvä tutkia, mistä ero johtuu, ja saada automaattinen näytteensyöttäjä käyttöön.

Lähteet

- 1 Kymen ympäristölaboratorio esittely. Verkkoaineisto. Kymen Ympäristölaboratorio Oy. <<http://kymlab.fi/yritys.html>>. Luettu 20.11.2021.
- 2 Kyröläinen, Helena; Luotola, Marja; Mäkinen, Irma; Näykki, Teemu; Pehkonen, Riitta; Sainio, Pirja; Väisänen, Tero & Witick Allan. 2016. Laatusuositukset ympäristöhallinnon vedenlaaturekistereihin vietävälle tiedolle. Verkkoaineisto. Suomen Ympäristökeskus. <https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/163532/SY-KEra_22_2016.pdf?sequence=1>. Luettu 15.12.2021.
- 3 Särkkä, Jukka. 1996. Järvet ja ympäristö. Limnologian perusteet. Tampere: Tammer-paino Oy.
- 4 Typpi. 2013. Verkkoaineisto. Länsi-Uudenmaan vesi ja ympäristö ry. <http://www.pelastajarvi.fi/typen_kierto>. Luettu 15.2.2022.
- 5 Vesistöjen kuormitus ja luonnon huuhtoutuma. 2021. Verkkoaineisto. Ympäristöhallinnon yhteinen verkkopalvelu. <https://www.ymparisto.fi/fi-fi/kartat_ja_tilastot/vesistojen_kuormitus_ja_luonnon_huuhtouma>. Luettu 30.12.2021.
- 6 Vesisanasto. Verkkoaineisto. Vesi.fi. <<https://www.vesi.fi/sanasto/>>. Luettu 30.12.2021.
- 7 Penttinen, Kari & Niinimäki, Juhani. 2017. Vesiensuojelun perusteet ja vesistöjen kunnostus. E-kirja. Opetushallitus.
- 8 Typpiyhdisteet (nitraatti, nitriitti ja ammonium) pohja- ja kaivovedessä. 2019. Verkkoaineisto. Ympäristöhallinnon yhteinen verkkopalvelu. <https://www.ymparisto.fi/fi-fi/rakentaminen/rakennushanke/talotekniset_jarjestelmat_lvi/vedenhankinta_kaivosta/Kaivoveden_laatu_ja_riittavyys/Typpiyhdisteet>. Luettu 20.11.2021.
- 9 Haakana, Helena. 2018. Vesistöopas. Verkkoaineisto. Suomen luonnonsuojeluliitto. <https://www.sll.fi/app/uploads/2018/08/vesisto_opas_netti_2018.pdf>. Luettu 20.11.2021.
- 10 Tietoa mitattavista muuttujista. Verkkoaineisto. Vesimittari. <<http://wwwi2.ymparisto.fi/i2/vesimittari/muuttujat.html>>. Luettu 20.11.2021.

- 11 Sosiaali- ja terveysministeriön asetus pienten yksiköiden talousveden laatuvaatimuksista ja valvontatutkimuksista 401/2001. Verkkoaineisto. <<https://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2001/20010401>>. Luettu 20.11.2021.
- 12 Sosiaali- ja terveysministeriön asetus talousveden laatuvaatimuksista ja valvontatutkimuksista 1352/2015. Verkkoaineisto. <<https://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2015/20151352>>. Luettu 15.2.2022.
- 13 Nitraatti. 2021. Verkkoaineisto. Ruokavirasto. <<https://www.ruokavirasto.fi/yritykset/elintarvikeala/valmistus/yhteiset-koostumusvaatimukset/kontaminantit/nitraatti/>>. Luettu 20.11.2021.
- 14 Oravainen, Reijo. 1999. Vesistötulosten tulkinta -opasvihkonen. Verkkoaineisto. <<https://kvvy.fi/wp-content/uploads/2015/10/opasvihkonen.pdf>>. Luettu 5.1.2022.
- 15 Talousvesiasetuksen soveltamisohje. 2020. Verkkoaineisto. Valvira. <https://www.valvira.fi/documents/14444/6739502/Talousvesiasetuksen_soveltamisohje_osa_3.pdf/b9faedd0-cd83-fd94-09e2-452e7e7ee123>. Luettu 20.11.2021.
- 16 Narayanan, Hari. 2020. Automated Wet Chemical Analysis – 2. What is Automated Discrete Analyzer. Verkkoaineisto. ThermoFisher Scientific. <<https://www.analyteguru.com/t5/Blog/Automated-Wet-Chemical-Analysis-2-What-is-Automated-Discrete/ba-p/3750>>. Luettu 6.1.2022.
- 17 Discrete analyzer for Environmental Applications. Verkkoaineisto. ThermoFisher Scientific. <<https://www.thermofisher.com/fi/en/home/industrial/chromatography/automated-wet-chemical-analysis/discrete-analysis-environmental-applications.html>>. Luettu 6.1.2022.
- 18 Automated nutrient analysis and water quality monitoring. 2018. Yrityksen sisäinen dokumentti. Thermo Fisher Scientific.
- 19 SFS-ISO 15923-1. Veden laatu. Valittujen parametrien määrittäminen diskreettialysointilaitteilla. Osa 1: Ammoniumnitraatti, nitraatti, nitriitti, kloridi, ortofosfaatti, sulfaatti ja silikaatti fotometrisellä määrittelyllä. 2018. Helsinki: Suomen standardisoimisliitto.
- 20 FIA System for Automated Water Analysis. Verkkoaineisto. ChemEurope. <<https://www.chemurope.com/en/products/65968/water-analysis-fia-flow-injection.html>>. Luettu 30.1.2022.
- 21 Environmental. Verkkoaineisto. FIALab. <<https://www.flowinjection.com/industries/environmental>>. Luettu 30.1.2022.

- 22 Flow Injection Analysis. 2008. Verkkoaineisto. ScienceDirect. <<https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/flow-injection-analysis>>. Luettu 30.1.2022.
- 23 SFS-EN ISO 13395. Veden laatu. Nitriitti- ja nitraattitypen, sekä niiden summan määrittäminen spektrometrisesti CFA- ja FIA-tekniikalla. 1997. Helsinki: Suomen standardisoimisliitto.
- 24 SFS-EN ISO 11732. Water quality. Determination of ammonium nitrogen. Method by flow analysis (CFA and FIA) and spectrometric detection. 2005. Helsinki: Suomen standardisoimisliitto.
- 25 Method List. Verkkoaineisto. FIALab. <<https://www.flowinjection.com/methods-list>>. Luettu 30.1.2022.
- 26 Lähdesmäki, Ilkka. 2022. Päätutkija, FIALab. Sähköposti 17.2.2022.
- 27 Method for Nitrate Determination by Cadmium Reduction, Version 2.3. Verkkoaineisto. FIALab. <https://www.flowinjection.com/images/Methods/2018/FIA-020_Nitrate-Method_v2.3.pdf>. Luettu 30.1.2022.
- 28 San^{SERIES} Continuous flow-virtausanalyyttori. Verkkoaineisto. Skalar. <<https://fi.skalar.com/tuotteet/continuous-flow-virtausanalyyttori>>. Luettu 3.2.2022.
- 29 Continuous Flow Analysis & Discrete Analyzers. 2010. Verkkoaineisto. LCGC. <<https://www.chromatographyonline.com/view/continuous-flow-analysis-discrete-analyzers>>. Luettu 3.2.2022.
- 30 What are the advantages of Continuous Flow Analysis?. Verkkoaineisto. Ezkem. <<https://www.ezkem.com/faq-items/advantages-continuous-flow-analysis/>>. Luettu 3.2.2022.
- 31 Futura Continuous Flow Analyzer. Verkkoaineisto. KPM Analytics. <<https://www.kpmanalytics.com/products/futura-analyzers>>. Luettu 3.2.2022.
- 32 CFA Theory. 2011. Verkkoaineisto. SEAL Analytical. <<https://www.seal-analytical.com/Portals/0/AA3%20CSM/8%20-%20AA3%20Training%20-%20CFA%20Theory.pdf>>. Luettu 3.2.2022.
- 33 van het Hof, Luuk. 2022. Pohjoismaiden aluepäällikkö, Skalar Analytical. Sähköposti 8.2.2022.
- 34 Ammonia (DIC). Yrityksen sisäinen dokumentti. Thermo Fisher Scientific.

- 35 Discrete Industrial Analyzer for Water/Environmental Samples. 2017. Verkkoaineisto. Thermo Fisher Scientific. <<https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Specification-Sheets/PS-D16079-DA-Reagents-Water-Environmental-Samples-PSD16079-EN.pdf>>. Luettu 22.2.2022.
- 36 Lähdesmäki, Ilkka. 2022. Päättökija, FIALab. Sähköposti 22.2.2022.
- 37 van het Hof, Luuk. 2022. Pohjoismaiden aluepäällikkö, Skalar Analytical. Sähköposti 21.2.2022.
- 38 Total Organic Carbon Analyzer TOC-L CSH/CSN™. 2011–2018. Käyttöohje. Shimadzu.
- 39 ASTM D8083-16. Standard Test Method for Total Nitrogen, and Total Kjendahl Nitrogen (TKN) by Calculation, in Water by High Temperature Catalytic Combustion and Chemiluminescence Detection. USA: ASTM international.
- 40 Introducing a New ASTM Method for the Determination of Total Nitrogen, and TKN by Calculation, in Water Samples. 2017. Verkkoaineisto. Shimadzu. <https://www.ssi.shimadzu.com/sites/ssi.shimadzu.com/files/Products/literature/toc/Shimadzu_NewTestMethodTotalNitrogenWater_ASTMD8083-16.pdf>. Luettu 22.1.2022.
- 41 Sisäinen laadunohjaus. 2006. Verkkoaineisto. Nordtest TR 569. <http://www.nordtest.info/wp/wp-content/uploads/2012/01/NT-TR-569_Suomi-Finnish_Internal-Quality-Control-Handbook-for-Chemical-laboratories-Trollboken-Troll-book_Nordtest-Technical-Report.pdf>. Luettu 5.5.2022.

LOD- ja LOQ-näytteiden mittaustulokset

Näyte	mg/l
1	0,028
1	0,024
1	0,028
2	0,022
2	0,028
2	0,020
3	0,032
3	0,033
3	0,025
4	0,022
4	0,022
4	0,030
5	0,033
5	0,028
5	0,028
6	0,023
6	0,025
6	0,026
7	0,036
7	0,035
7	0,036
8	0,024
8	0,018
8	0,023
9	0,031
9	0,037
9	0,035
10	0,029
10	0,033
10	0,032

Saantokokeiden tulokset

Pitoisuustaso 0,5 mg/l:

C= 0,4 mg/l

U= 0,107 mg/l

Näyte	S (mg/l)	$\%R = \frac{S - U}{C} \cdot 100 \%$
1	0,487	95,1
2	0,500	98,1
3	0,495	97,0
4	0,502	98,8
5	0,501	98,5
6	0,508	100,1
7	0,497	97,6
8	0,522	103,8
9	0,500	98,2
10	0,507	100,0
11	0,504	99,3
12	0,507	99,9
13	0,502	98,8
14	0,505	99,5
15	0,513	101,4
16	0,509	100,4
17	0,517	102,5
18	0,505	99,6
19	0,520	103,1
20	0,528	105,2

Pitoisuustaso 0,5 mg/l:

C= 1 mg/l

U= 3,797 mg/l

Näyte	S (mg/l)	$\%R = \frac{S - U}{C} \cdot 100 \%$
1	4,802	100,5
2	4,695	89,8
3	4,692	89,5
4	4,664	86,7
5	4,701	90,4
6	4,704	90,7
7	4,685	88,8
8	4,683	88,6
9	4,674	87,7
10	4,670	87,3
11	4,862	106,5
12	4,800	100,3
13	4,758	96,1
14	4,767	97,0
15	4,694	89,7
16	4,725	92,8
17	4,741	94,4
18	4,732	93,5
19	4,749	95,2
20	4,733	93,6

Rutiininäytteiden mittaustulokset

Näyte	Päivä	Rinnakkainen 1 (mg/l)	Rinnakkainen 2 (mg/l)
1	6.4.	0,0661	0,0488
1	8.4.	0,0662	0,0570
1	11.4.	0,0571	0,0511
1	12.4.	0,0597	0,0558
1	13.4.	0,0665	0,0562
2	6.4.	0,0934	0,0745
2	8.4.	0,0910	0,0738
2	11.4.	0,0912	0,0720
2	12.4.	0,0926	0,0722
2	13.4.	0,0943	0,0721
3	6.4.	0,1266	0,1031
3	8.4.	0,1259	0,1009
3	11.4.	0,1004	0,0931
3	12.4.	0,1093	0,0985
3	13.4.	0,1166	0,0955
4	6.4.	0,1479	0,1610
4	8.4.	0,1504	0,1604
4	11.4.	0,1475	0,1597
4	12.4.	0,1552	0,1606
4	13.4.	0,1597	0,1563
5	6.4.	0,3013	0,3017
5	8.4.	0,3137	0,3012
5	11.4.	0,2981	0,2962
5	12.4.	0,3006	0,3045
5	13.4.	0,3219	0,3020
6	6.4.	0,5758	0,5927
6	8.4.	0,5620	0,5798
6	11.4.	0,5530	0,5737
6	12.4.	0,5501	0,5732
6	13.4.	0,5800	0,5644
7	6.4.	0,6499	0,6512
7	8.4.	0,6396	0,6500
7	11.4.	0,6365	0,6403
7	12.4.	0,6364	0,6438
7	13.4.	0,6729	0,6484
8	6.4.	0,9967	1,0160
8	8.4.	0,9847	0,9959
8	11.4.	0,9651	0,9804

8	12.4.	0,9675	0,9758
8	13.4.	1,0120	0,9868
9	6.4.	2,2430	2,2370
9	8.4.	2,2520	2,2620
9	11.4.	2,2700	2,2820
9	12.4.	2,2870	2,3350
9	13.4.	2,3250	2,3130
10	6.4.	5,4720	5,6230
10	8.4.	5,5410	5,6180
10	11.4.	5,5660	5,5320
10	12.4.	5,5360	5,5260
10	13.4.	5,7980	5,5520
11	6.4.	7,9510	7,9040
11	8.4.	7,9250	7,9190
11	11.4.	7,8860	7,9040
11	12.4.	7,8990	7,7830
11	13.4.	8,1560	7,9360
12	6.4.	9,2190	9,5180
12	8.4.	9,3040	9,5990
12	11.4.	9,3600	9,6160
12	12.4.	9,3200	9,5770
12	13.4.	9,7250	9,6820

Kontrollinäytteiden mittaustulokset

Näyte- numero	Päivä	0,05 mg/l:n kontrollinäytteet (mg/l)	0,5 mg/l:n kontrollinäytteet (mg/l)	5 mg/l:n kontrollinäytteet (mg/l)
1	1.4.	0,04738	0,4927	4,885
2	1.4.	0,03927	0,4880	4,861
3	1.4.	0,04511	0,4982	4,994
4	1.4.	0,04871	0,4935	4,875
5	1.4.	0,04810	0,5052	4,986
5	1.4.	0,04542	0,4974	5,016
1	1.4.	0,04957	0,5161	5,002
2	1.4.	0,04214	0,4981	5,028
3	1.4.	0,04237	0,5049	5,031
4	1.4.	0,04461	0,5030	5,027
1	4.4.	0,04786	0,4750	4,859
2	4.4.	0,04202	0,4689	4,905
3	4.4.	0,03849	0,4778	4,919
4	4.4.	0,03966	0,4805	4,995
5	4.4.	0,04218	0,4840	4,983
6	5.4.	0,04859	0,5041	5,140
7	5.4.	0,04622	0,5114	5,096
8	5.4.	0,05660	0,5253	5,111
9	5.4.	0,06588	0,5285	5,069
10	5.4.	0,05078	0,5131	5,127
1	6.4.	0,05411	0,4793	4,849
2	6.4.	0,04265	0,4909	5,032
3	6.4.	0,04688	0,5037	5,017
4	6.4.	0,04841	0,4999	5,045
5	6.4.	0,04398	0,5004	5,084
10	7.4.	0,04628	0,4860	5,090
9	7.4.	0,04798	0,4961	5,058
8	7.4.	0,04906	0,4920	5,144
7	7.4.	0,04538	0,4914	5,135
6	7.4.	0,04069	0,4965	5,085
10	7.4.	0,04716	0,5239	5,185
9	7.4.	0,04363	0,5142	5,122
8	7.4.	0,06257	0,5179	5,224
7	7.4.	0,04802	0,5224	5,187
6	7.4.	0,04737	0,5172	5,213
5	8.4.	0,04951	0,4707	4,897
4	8.4.	0,04321	0,5008	5,046

3	8.4.	0,04583	0,5011	5,044
2	8.4.	0,06036	0,4986	5,099
1	8.4.	0,06244	0,5089	5,051
1	11.4.	0,05249	0,4743	5,088
2	11.4.	0,03734	0,4875	5,043
3	11.4.	0,04005	0,4937	5,052
4	11.4.	0,05097	0,4858	5,110
5	11.4.	0,03900	0,4867	5,033
6	12.4.	0,03550	0,4790	5,099
7	12.4.	0,03996	0,4933	5,221
8	12.4.	0,03794	0,5043	5,224
9	12.4.	0,03492	0,5088	5,282
10	12.4.	0,04114	0,5150	5,217
10	13.4.	0,03600	0,4885	5,147
9	13.4.	0,03779	0,4963	5,095
8	13.4.	0,04218	0,5040	5,466
7	13.4.	0,03971	0,5069	5,397
6	13.4.	0,04196	0,4963	5,395
10	13.4.	0,03736	0,5028	5,324
9	13.4.	0,04230	0,5487	5,545
8	13.4.	0,04206	0,5432	5,447
7	13.4.	0,04927	0,5427	5,386
6	13.4.	0,04864	0,5395	5,451

MUkit-raportit

Mittausalue 0,05–1 mg/l. 0,05 mg/l:n kontrollinäytteillä laskettuna:

MEASUREMENT UNCERTAINTY ESTIMATION

Step	Action	Total Nitrogen	17.4.2022																				
1	Specify Measurand	Measurand: Total nitrogen of water samples Concentration range: 0-1 mg/l Sample Type (Matrix): Water Analysis Principle (Analyzer etc.): TOC-TN																					
2	Quantify within-laboratory reproducibility, $u(R_w)$ A: Control sample B: Possible steps not covered by control sample	A: Control samples Period of measurements: 1.4.2022-13.4.2022 Number of control samples: 60 Average concentration: 0,04555 mg/l Standard deviation, S_{RW} : 14,62 % B: Routine replicate samples Period of measurements: 6.4.2022-13.4.2022 Number of routine replicate series: 40 Number of parallel measurements: 2 Concentration range: 0,0541-1,00635 mg/l Pooled standard deviation, S_r : 8,81 % $u(R_w) = \sqrt{S_{RW}^2 + S_r^2}$: 17,07 %																					
3	Quantify method and laboratory bias, $u(bias)$	Method and laboratory bias from certified reference material Different certified reference materials count, N : 1 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>i</th> <th>1</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Certified concentration, $c_{ref\ i}$</td> <td>0,05 mg/l</td> </tr> <tr> <td>Standard uncertainty of certified concentration, $u(c_{ref\ i})$</td> <td>0,73 %</td> </tr> <tr> <td>Measured concentration, c_i</td> <td>0,04555 mg/l</td> </tr> <tr> <td>Standard deviation of measured concentration, S_{bias}</td> <td>14,62 %</td> </tr> <tr> <td>Number of Measurements, n_i</td> <td>60</td> </tr> <tr> <td>$bias_i = \frac{c_i - c_{ref\ i}}{c_{ref\ i}} \cdot 100\%$</td> <td>-8,90 %</td> </tr> <tr> <td>Period of measurements</td> <td>1.4.2022-13.4.2022</td> </tr> <tr> <td>Sample Type (Matrix)</td> <td>Total Kjeldahl Nitrogen WC-TKN-10X-1</td> </tr> <tr> <td>Additional information</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> $u(bias) = \sqrt{bias_1^2 + \left(\frac{S_{bias_1}}{\sqrt{n_1}}\right)^2 + u(c_{ref\ 1})^2}$: 9,13 %		i	1	Certified concentration, $c_{ref\ i}$	0,05 mg/l	Standard uncertainty of certified concentration, $u(c_{ref\ i})$	0,73 %	Measured concentration, c_i	0,04555 mg/l	Standard deviation of measured concentration, S_{bias}	14,62 %	Number of Measurements, n_i	60	$bias_i = \frac{c_i - c_{ref\ i}}{c_{ref\ i}} \cdot 100\%$	-8,90 %	Period of measurements	1.4.2022-13.4.2022	Sample Type (Matrix)	Total Kjeldahl Nitrogen WC-TKN-10X-1	Additional information	
i	1																						
Certified concentration, $c_{ref\ i}$	0,05 mg/l																						
Standard uncertainty of certified concentration, $u(c_{ref\ i})$	0,73 %																						
Measured concentration, c_i	0,04555 mg/l																						
Standard deviation of measured concentration, S_{bias}	14,62 %																						
Number of Measurements, n_i	60																						
$bias_i = \frac{c_i - c_{ref\ i}}{c_{ref\ i}} \cdot 100\%$	-8,90 %																						
Period of measurements	1.4.2022-13.4.2022																						
Sample Type (Matrix)	Total Kjeldahl Nitrogen WC-TKN-10X-1																						
Additional information																							
4	Convert components to standard uncertainty	$u(R_w) = 17,07 \%$ $u(bias) = 9,13 \%$																					
5	Calculate combined standard uncertainty, u_c	$u_c = \sqrt{u(R_w)^2 + u(bias)^2} = 19,35 \%$																					
6	Calculate expanded uncertainty, U	$U = 2 \cdot u_c = 39 \%$																					

Mittausalue 0,05–1 mg/l. 0,5 mg/l:n kontrollinäytteillä laskettuna:

MEASUREMENT UNCERTAINTY ESTIMATION

Step	Action	Total Nitrogen	17.4.2022																				
1	Specify Measurand	Measurand: Total nitrogen of water samples Concentration range: 0-1 mg/l Sample Type (Matrix): Water Analysis Principle (Analyzer etc.): TOC-TN																					
2	Quantify within-laboratory reproducibility, $u(R_w)$ A: Control sample B: Possible steps not covered by control sample	A: Control samples Period of measurements: 1.4.2022-13.4.2022 Number of control samples: 60 Average concentration: 0,50125 mg/l Standard deviation, s_{RW} : 3,54 % B: Routine replicate samples Period of measurements: 6.4.2022-13.4.2022 Number of routine replicate series: 40 Number of parallel measurements: 2 Concentration range: 0,0541-1,00635 mg/l Pooled standard deviation, s_r : 8,81 % $u(R_w) = \sqrt{s_{RW}^2 + s_r^2}$: 9,49 %																					
3	Quantify method and laboratory bias, $u(bias)$	Method and laboratory bias from certified reference material Different certified reference materials count, N : 1 <table border="1" style="margin: 10px auto;"> <thead> <tr> <th>i</th> <th>1</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Certified concentration, $c_{ref\ i}$</td> <td>0,5 mg/l</td> </tr> <tr> <td>Standard uncertainty of certified concentration, $u(c_{ref\ i})$</td> <td>0,72 %</td> </tr> <tr> <td>Measured concentration, c_i</td> <td>0,50125 mg/l</td> </tr> <tr> <td>Standard deviation of measured concentration, s_{bias}</td> <td>3,54 %</td> </tr> <tr> <td>Number of Measurements, n_i</td> <td>60</td> </tr> <tr> <td>$bias_i = \frac{c_i - c_{ref\ i}}{c_{ref\ i}} \cdot 100\%$</td> <td>0,25 %</td> </tr> <tr> <td>Period of measurements</td> <td>1.4.2022-13.4.2022</td> </tr> <tr> <td>Sample Type (Matrix)</td> <td>Total Kjeldahl Nitrogen WC-TKN-10X-1</td> </tr> <tr> <td>Additional information</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> $u(bias) = \sqrt{bias_1^2 + \left(\frac{s_{bias_1}}{\sqrt{n_1}}\right)^2 + u(c_{ref\ 1})^2}$: 0,89 %		i	1	Certified concentration, $c_{ref\ i}$	0,5 mg/l	Standard uncertainty of certified concentration, $u(c_{ref\ i})$	0,72 %	Measured concentration, c_i	0,50125 mg/l	Standard deviation of measured concentration, s_{bias}	3,54 %	Number of Measurements, n_i	60	$bias_i = \frac{c_i - c_{ref\ i}}{c_{ref\ i}} \cdot 100\%$	0,25 %	Period of measurements	1.4.2022-13.4.2022	Sample Type (Matrix)	Total Kjeldahl Nitrogen WC-TKN-10X-1	Additional information	
i	1																						
Certified concentration, $c_{ref\ i}$	0,5 mg/l																						
Standard uncertainty of certified concentration, $u(c_{ref\ i})$	0,72 %																						
Measured concentration, c_i	0,50125 mg/l																						
Standard deviation of measured concentration, s_{bias}	3,54 %																						
Number of Measurements, n_i	60																						
$bias_i = \frac{c_i - c_{ref\ i}}{c_{ref\ i}} \cdot 100\%$	0,25 %																						
Period of measurements	1.4.2022-13.4.2022																						
Sample Type (Matrix)	Total Kjeldahl Nitrogen WC-TKN-10X-1																						
Additional information																							
4	Convert components to standard uncertainty	$u(R_w) = 9,49 \%$ $u(bias) = 0,89 \%$																					
5	Calculate combined standard uncertainty, u_c	$u_c = \sqrt{u(R_w)^2 + u(bias)^2} = 9,54 \%$																					
6	Calculate expanded uncertainty, U	$U = 2 \cdot u_c = 20 \%$																					

Mittausalue 0,05–1 mg/l. Saantokokeilla laskettuna:

MEASUREMENT UNCERTAINTY ESTIMATION

Step	Action	Total Nitrogen	25.4.2022																																																																																																																			
1	Specify Measurand	Measurand: Total Nitrogen Concentration range: 0-1 mg/l Sample Type (Matrix): Water Analysis Principle (Analyzer etc.): TOC-TN																																																																																																																				
2	Quantify within-laboratory reproducibility, $u(R_w)$ A: Control sample B: Possible steps not covered by control sample	A: Control samples Number of control samples: 60 Average concentration: 0,50125 mg/l Standard deviation, s_{Rw} : 3,54 % B: Routine replicate samples Number of routine replicate series: 40 Number of parallel measurements: 2 Concentration range: 0,0541-1,00635 mg/l Pooled standard deviation, s_r : 8,81 % $u(R_w) = \sqrt{s_{Rw}^2 + s_r^2}$: 9,49 %																																																																																																																				
3	Quantify method and laboratory bias, $u(bias)$	Method and laboratory bias from recovery tests Standard solution concentration: 10 mg/l Standard uncertainty of standard solution concentration, $u(conc)$: 1,06 % Standard uncertainty of standard solution volume, $u(vol)$: 0,30 % Recovery test count, N : 20 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th>i</th> <th>1</th> <th>2</th> <th>3</th> <th>4</th> <th>5</th> <th>6</th> <th>7</th> <th>8</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Recovery of added analyte, $Recovery_i$</td> <td>95,10 %</td> <td>98,10 %</td> <td>97,00 %</td> <td>98,80 %</td> <td>98,50 %</td> <td>100,10 %</td> <td>97,60 %</td> <td>103,80 %</td> </tr> <tr> <td>Approximated concentration</td> <td>0,5 mg/l</td> <td>0,5 mg/l</td> <td>0,5 mg/l</td> <td>0,5 mg/l</td> <td>0,5 mg/l</td> <td>0,5 mg/l</td> <td>0,5 mg/l</td> <td>0,5 mg/l</td> </tr> <tr> <td>Standard solution added</td> <td>4 ml</td> <td>4 ml</td> <td>4 ml</td> <td>4 ml</td> <td>4 ml</td> <td>4 ml</td> <td>4 ml</td> <td>4 ml</td> </tr> <tr> <td>Date</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th>i</th> <th>9</th> <th>10</th> <th>11</th> <th>12</th> <th>13</th> <th>14</th> <th>15</th> <th>16</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Recovery of added analyte, $Recovery_i$</td> <td>98,20 %</td> <td>100,00 %</td> <td>99,30 %</td> <td>99,90 %</td> <td>98,80 %</td> <td>99,50 %</td> <td>101,40 %</td> <td>100,40 %</td> </tr> <tr> <td>Approximated concentration</td> <td>0,5 mg/l</td> <td>0,5 mg/l</td> <td>0,5 mg/l</td> <td>0,5 mg/l</td> <td>0,5 mg/l</td> <td>0,5 mg/l</td> <td>0,5 mg/l</td> <td>0,5 mg/l</td> </tr> <tr> <td>Standard solution added</td> <td>4 ml</td> <td>4 ml</td> <td>4 ml</td> <td>4 ml</td> <td>4 ml</td> <td>4 ml</td> <td>4 ml</td> <td>4 ml</td> </tr> <tr> <td>Date</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th>i</th> <th>17</th> <th>18</th> <th>19</th> <th>20</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Recovery of added analyte, $Recovery_i$</td> <td>102,50 %</td> <td>99,60 %</td> <td>103,10 %</td> <td>105,20 %</td> </tr> <tr> <td>Approximated concentration</td> <td>0,5 mg/l</td> <td>0,5 mg/l</td> <td>0,5 mg/l</td> <td>0,5 mg/l</td> </tr> <tr> <td>Standard solution added</td> <td>4 ml</td> <td>4 ml</td> <td>4 ml</td> <td>4 ml</td> </tr> <tr> <td>Date</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> </tr> </tbody> </table> $u(c_{recovery}) = \sqrt{u(conc)^2 + u(vol)^2}$: 1,10 % $RMS_{bias} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (100\% - Recovery_i)^2}{N}}$: 2,36 % $u(bias) = \sqrt{RMS_{bias}^2 + u(c_{recovery})^2}$: 2,60 %		i	1	2	3	4	5	6	7	8	Recovery of added analyte, $Recovery_i$	95,10 %	98,10 %	97,00 %	98,80 %	98,50 %	100,10 %	97,60 %	103,80 %	Approximated concentration	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	Standard solution added	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	Date	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	i	9	10	11	12	13	14	15	16	Recovery of added analyte, $Recovery_i$	98,20 %	100,00 %	99,30 %	99,90 %	98,80 %	99,50 %	101,40 %	100,40 %	Approximated concentration	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	Standard solution added	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	Date	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	i	17	18	19	20	Recovery of added analyte, $Recovery_i$	102,50 %	99,60 %	103,10 %	105,20 %	Approximated concentration	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	Standard solution added	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	Date	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022
i	1	2	3	4	5	6	7	8																																																																																																														
Recovery of added analyte, $Recovery_i$	95,10 %	98,10 %	97,00 %	98,80 %	98,50 %	100,10 %	97,60 %	103,80 %																																																																																																														
Approximated concentration	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l																																																																																																														
Standard solution added	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml																																																																																																														
Date	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022																																																																																																														
i	9	10	11	12	13	14	15	16																																																																																																														
Recovery of added analyte, $Recovery_i$	98,20 %	100,00 %	99,30 %	99,90 %	98,80 %	99,50 %	101,40 %	100,40 %																																																																																																														
Approximated concentration	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l																																																																																																														
Standard solution added	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml																																																																																																														
Date	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022																																																																																																														
i	17	18	19	20																																																																																																																		
Recovery of added analyte, $Recovery_i$	102,50 %	99,60 %	103,10 %	105,20 %																																																																																																																		
Approximated concentration	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l	0,5 mg/l																																																																																																																		
Standard solution added	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml																																																																																																																		
Date	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022																																																																																																																		
4	Convert components to standard uncertainty	$u(R_w) = 9,49 \%$ $u(bias) = 2,60 \%$																																																																																																																				
5	Calculate combined standard uncertainty, u_c	$u_c = \sqrt{u(R_w)^2 + u(bias)^2} = 9,84 \%$																																																																																																																				
6	Calculate expanded uncertainty, U	$U = 2 \cdot u_c = 20 \%$																																																																																																																				

Mittausalue 1–10 mg/l. 5 mg/l:n kontrolleilla laskettuna:

MEASUREMENT UNCERTAINTY ESTIMATION

Step	Action	Total Nitrogen	17.4.2022																				
1	Specify Measurand	Measurand: Total nitrogen of water samples Concentration range: 1-10 mg/l Sample Type (Matrix): Water Analysis Principle (Analyzer etc.): TOC-TN																					
2	Quantify within-laboratory reproducibility, $u(R_w)$ A: Control sample B: Possible steps not covered by control sample	A: Control samples Period of measurements: 1.4.2022-13.4.2022 Number of control samples: 60 Average concentration: 5,10897 mg/l Standard deviation, s_{RW} : 3,13 % B: Routine replicate samples Period of measurements: 6.4.2022-13.4.2022 Number of routine replicate series: 25 Number of parallel measurements: 2 Concentration range: 0,97165-9,7035 mg/l Pooled standard deviation, s_r : 1,36 % $u(R_w) = \sqrt{s_{RW}^2 + s_r^2}$: 3,42 %																					
3	Quantify method and laboratory bias, $u(bias)$	Method and laboratory bias from certified reference material Different certified reference materials count, N : 1 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>i</th> <th>1</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Certified concentration, $c_{ref\ i}$</td> <td>5 mg/l</td> </tr> <tr> <td>Standard uncertainty of certified concentration, $u(c_{ref\ i})$</td> <td>0,54 %</td> </tr> <tr> <td>Measured concentration, c_i</td> <td>5,10897 mg/l</td> </tr> <tr> <td>Standard deviation of measured concentration, s_{bias}</td> <td>3,13 %</td> </tr> <tr> <td>Number of Measurements, n_i</td> <td>60</td> </tr> <tr> <td>$bias_i = \frac{c_i - c_{ref\ i}}{c_{ref\ i}} \cdot 100\%$</td> <td>2,18 %</td> </tr> <tr> <td>Period of measurements</td> <td>1.4.2022-13.4.2022</td> </tr> <tr> <td>Sample Type (Matrix)</td> <td>Total Kjeldahl Nitrogen WC-TKN-10X-1</td> </tr> <tr> <td>Additional information</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> $u(bias) = \sqrt{bias_1^2 + \left(\frac{s_{bias_1}}{\sqrt{n_1}}\right)^2 + u(c_{ref\ 1})^2}$: 2,28 %		i	1	Certified concentration, $c_{ref\ i}$	5 mg/l	Standard uncertainty of certified concentration, $u(c_{ref\ i})$	0,54 %	Measured concentration, c_i	5,10897 mg/l	Standard deviation of measured concentration, s_{bias}	3,13 %	Number of Measurements, n_i	60	$bias_i = \frac{c_i - c_{ref\ i}}{c_{ref\ i}} \cdot 100\%$	2,18 %	Period of measurements	1.4.2022-13.4.2022	Sample Type (Matrix)	Total Kjeldahl Nitrogen WC-TKN-10X-1	Additional information	
i	1																						
Certified concentration, $c_{ref\ i}$	5 mg/l																						
Standard uncertainty of certified concentration, $u(c_{ref\ i})$	0,54 %																						
Measured concentration, c_i	5,10897 mg/l																						
Standard deviation of measured concentration, s_{bias}	3,13 %																						
Number of Measurements, n_i	60																						
$bias_i = \frac{c_i - c_{ref\ i}}{c_{ref\ i}} \cdot 100\%$	2,18 %																						
Period of measurements	1.4.2022-13.4.2022																						
Sample Type (Matrix)	Total Kjeldahl Nitrogen WC-TKN-10X-1																						
Additional information																							
4	Convert components to standard uncertainty	$u(R_w) = 3,42 \%$ $u(bias) = 2,28 \%$																					
5	Calculate combined standard uncertainty, u_c	$u_c = \sqrt{u(R_w)^2 + u(bias)^2} = 4,11 \%$																					
6	Calculate expanded uncertainty, U	$U = 2 \cdot u_c = 9 \%$																					

Mittausalue 1–10 mg/l. Saantokokeilla laskettuna:

		MEASUREMENT UNCERTAINTY ESTIMATION																																																																																																																				
Step	Action	Total Nitrogen	25.4.2022																																																																																																																			
1	Specify Measurand	Measurand: Total Nitrogen Concentration range: 1-10 mg/l Sample Type (Matrix): Water Analysis Principle (Analyzer etc.): TOC-TN																																																																																																																				
2	Quantify within-laboratory reproducibility, $u(R_w)$ A: Control sample B: Possible steps not covered by control sample	A: Control samples Number of control samples: 60 Average concentration: 5,10897 mg/l Standard deviation, S_{RW} : 3,13 % B: Routine replicate samples Number of routine replicate series: 25 Number of parallel measurements: 2 Concentration range: 0,97165-9,7035 mg/l Pooled standard deviation, S_r : 1,36 % $u(R_w) = \sqrt{S_{RW}^2 + S_r^2}$: 3,42 %																																																																																																																				
3	Quantify method and laboratory bias, $u(bias)$	Method and laboratory bias from recovery tests Standard solution concentration: 100 mg/l Standard uncertainty of standard solution concentration, $u(conc)$: 0,29 % Standard uncertainty of standard solution volume, $u(vol)$: 0,51 % Recovery test count, N : 20 <table border="1" style="width:100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th>i</th> <th>1</th> <th>2</th> <th>3</th> <th>4</th> <th>5</th> <th>6</th> <th>7</th> <th>8</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Recovery of added analyte, $Recovery_i$</td> <td>100,50 %</td> <td>89,80 %</td> <td>89,50 %</td> <td>86,70 %</td> <td>90,40 %</td> <td>90,70 %</td> <td>88,80 %</td> <td>87,70 %</td> </tr> <tr> <td>Approximated concentration</td> <td>5 mg/l</td> <td>5 mg/l</td> <td>5 mg/l</td> <td>5 mg/l</td> <td>5 mg/l</td> <td>5 mg/l</td> <td>5 mg/l</td> <td>5 mg/l</td> </tr> <tr> <td>Standard solution added</td> <td>1 ml</td> <td>1 ml</td> <td>1 ml</td> <td>1 ml</td> <td>1 ml</td> <td>1 ml</td> <td>1 ml</td> <td>1 ml</td> </tr> <tr> <td>Date</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1" style="width:100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th>i</th> <th>9</th> <th>10</th> <th>11</th> <th>12</th> <th>13</th> <th>14</th> <th>15</th> <th>16</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Recovery of added analyte, $Recovery_i$</td> <td>88,60 %</td> <td>87,30 %</td> <td>106,50 %</td> <td>100,30 %</td> <td>96,10 %</td> <td>97,00 %</td> <td>89,70 %</td> <td>92,80 %</td> </tr> <tr> <td>Approximated concentration</td> <td>5 mg/l</td> <td>5 mg/l</td> <td>5 mg/l</td> <td>5 mg/l</td> <td>5 mg/l</td> <td>5 mg/l</td> <td>5 mg/l</td> <td>5 mg/l</td> </tr> <tr> <td>Standard solution added</td> <td>1 ml</td> <td>1 ml</td> <td>1 ml</td> <td>1 ml</td> <td>1 ml</td> <td>1 ml</td> <td>1 ml</td> <td>1 ml</td> </tr> <tr> <td>Date</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1" style="width:100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th>i</th> <th>17</th> <th>18</th> <th>19</th> <th>20</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Recovery of added analyte, $Recovery_i$</td> <td>94,40 %</td> <td>93,50 %</td> <td>95,20 %</td> <td>93,60 %</td> </tr> <tr> <td>Approximated concentration</td> <td>5 mg/l</td> <td>5 mg/l</td> <td>5 mg/l</td> <td>5 mg/l</td> </tr> <tr> <td>Standard solution added</td> <td>1 ml</td> <td>1 ml</td> <td>1 ml</td> <td>1 ml</td> </tr> <tr> <td>Date</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> <td>19.4.2022</td> </tr> </tbody> </table> $u(c_{recovery}) = \sqrt{u(conc)^2 + u(vol)^2}$: 0,59 % $RMS_{bias} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (100\% - Recovery_i)^2}{N}}$: 8,66 % $u(bias) = \sqrt{RMS_{bias}^2 + u(c_{recovery})^2}$: 8,68 %		i	1	2	3	4	5	6	7	8	Recovery of added analyte, $Recovery_i$	100,50 %	89,80 %	89,50 %	86,70 %	90,40 %	90,70 %	88,80 %	87,70 %	Approximated concentration	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	Standard solution added	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	Date	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	i	9	10	11	12	13	14	15	16	Recovery of added analyte, $Recovery_i$	88,60 %	87,30 %	106,50 %	100,30 %	96,10 %	97,00 %	89,70 %	92,80 %	Approximated concentration	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	Standard solution added	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	Date	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	i	17	18	19	20	Recovery of added analyte, $Recovery_i$	94,40 %	93,50 %	95,20 %	93,60 %	Approximated concentration	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	Standard solution added	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	Date	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022
i	1	2	3	4	5	6	7	8																																																																																																														
Recovery of added analyte, $Recovery_i$	100,50 %	89,80 %	89,50 %	86,70 %	90,40 %	90,70 %	88,80 %	87,70 %																																																																																																														
Approximated concentration	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l																																																																																																														
Standard solution added	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml																																																																																																														
Date	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022																																																																																																														
i	9	10	11	12	13	14	15	16																																																																																																														
Recovery of added analyte, $Recovery_i$	88,60 %	87,30 %	106,50 %	100,30 %	96,10 %	97,00 %	89,70 %	92,80 %																																																																																																														
Approximated concentration	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l																																																																																																														
Standard solution added	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml																																																																																																														
Date	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022																																																																																																														
i	17	18	19	20																																																																																																																		
Recovery of added analyte, $Recovery_i$	94,40 %	93,50 %	95,20 %	93,60 %																																																																																																																		
Approximated concentration	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l	5 mg/l																																																																																																																		
Standard solution added	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml																																																																																																																		
Date	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022	19.4.2022																																																																																																																		
4	Convert components to standard uncertainty	$u(R_w) = 3,42 \%$ $u(bias) = 8,68 \%$																																																																																																																				
5	Calculate combined standard uncertainty, u_c	$u_c = \sqrt{u(R_w)^2 + u(bias)^2} = 9,33 \%$																																																																																																																				
6	Calculate expanded uncertainty, U	$U = 2 \cdot u_c = 19 \%$																																																																																																																				

Kontrollinäytteiden säilyvyyden t-testit

Parittainen t-testi 0,05 mg/l:n kontrollinäytteille:

Näyte	Valmistus päivä (mg/l)	Viikon jälkeen (mg/l)	Erotus (mg/l)
1	0,0474	0,0624	-0,015
2	0,0393	0,0604	-0,021
3	0,0451	0,0458	-0,001
4	0,0487	0,0432	0,006
5	0,0481	0,0495	-0,001
6	0,0486	0,0355	0,013
7	0,0462	0,0400	0,006
8	0,0566	0,0379	0,019
9	0,0659	0,0349	0,031
10	0,0508	0,0411	0,010

Parittainen t-testi
Kaksisuuntainen
Luottamustaso 95 %

Hypoteesit: $H_0: \mu_d=0$
 $H_1: \mu_d \neq 0$

Parittainen kahden otoksen t-testi keskiarvoille

	Valmistus päivä (mg/l)	Viikon jälkeen (mg/l)
Keskiarvo	0,049664	0,045081
Varianssi	5,14082E-05	9,4028E-05
Havainnot	10	10
Pearsonin korrelaatio	-0,635709885	
Arvioitu keskiarvojen ero	0	
va	9	
t Tunnusluvut	0,947758072	t_{laskettu}
P(T<=t) yksisuuntainen	0,184002053	
t-kriittinen yksisuuntainen	1,833112933	
P(T<=t) kaksisuuntainen	0,368004106	
t-kriittinen kaksisuuntainen	2,262157163	$t_{\text{kriittinen}}$

Johtopäätökset:

Nyt $t_{\text{laskettu}}=0,948 < 2,262=t_{\text{kriittinen}}$, joten H_0 :aa ei hylätä.

Eri päivien tulokset eivät eroa tilastollisesti merkitsevästi luottamustasolla 95 %.

Parittainen t-testi 0,5 mg/l:n kontrollinäytteille:

Näyte	Valmistus päivä (mg/l)	Viikon jälkeen (mg/l)	Erotus (mg/l)
1	0,4927	0,5089	-0,016
2	0,4880	0,4986	-0,011
3	0,4982	0,5011	-0,003
4	0,4935	0,5008	-0,007
5	0,5052	0,4707	0,035
6	0,5041	0,4790	0,025
7	0,5114	0,4933	0,018
8	0,5253	0,5043	0,021
9	0,5285	0,5088	0,020
10	0,5131	0,5150	-0,002

Parittainen t-testi
Kaksisuuntainen
Luottamustaso 95 %

Hypoteesit: $H_0: \mu_d=0$
 $H_1: \mu_d \neq 0$

Parittainen kahden otoksen t-testi keskiarvoille

	Valmistus päivä (mg/l)	Viikon jälkeen (mg/l)
Keskiarvo	0,506	0,49805
Varianssi	0,000186727	0,000190034
Havainnot	10	10
Pearsonin korrelaatio	0,178664416	
Arvioitu keskiarvojen ero	0	
va	9	
t Tunnusluvut	1,429131774	t_{laskettu}
P(T<=t) yksisuuntainen	0,093371381	
t-kriittinen yksisuuntainen	1,833112933	
P(T<=t) kaksisuuntainen	0,186742763	
t-kriittinen kaksisuuntainen	2,262157163	$t_{\text{kriittinen}}$

Johtopäätökset:

Nyt $t_{\text{laskettu}}=1,429 < 2,262=t_{\text{kriittinen}}$, joten H_0 :aa ei hylätä.

Eri päivien tulokset eivät eroa tilastollisesti merkitsevästi luottamustasolla 95 %.

Parittainen t-testi 5 mg/l:n kontrollinäytteille:

Näyte	Valmistus päivä (mg/l)	Viikon jälkeen (mg/l)	Erotus (mg/l)
1	4,885	5,051	-0,166
2	4,861	5,099	-0,238
3	4,994	5,044	-0,050
4	4,875	5,046	-0,171
5	4,986	4,897	0,089
6	5,140	5,099	0,041
7	5,096	5,221	-0,125
8	5,111	5,224	-0,113
9	5,069	5,282	-0,213
10	5,127	5,217	-0,090

Parittainen t-testi
Kaksisuuntainen
Luottamustaso 95 %

Hypoteesit: $H_0: \mu_d=0$
 $H_1: \mu_d \neq 0$

Parittainen kahden otoksen t-testi keskiarvoille

	Valmistus päivä (mg/l)	Viikon jälkeen (mg/l)
Keskiarvo	5,0144	5,118
Varianssi	0,0120396	0,013694889
Havainnot	10	10
Pearsonin korrelaatio	0,56908906	
Arvioitu keskiarvojen ero	0	
va	9	
t Tunnusluvut	-3,106813424	t_{laskettu}
P(T<=t) yksisuuntainen	0,006291685	
t-kriittinen yksisuuntainen	1,833112933	
P(T<=t) kaksisuuntainen	0,01258337	
t-kriittinen kaksisuuntainen	2,262157163	$t_{\text{kriittinen}}$

Johtopäätökset:

Nyt $t_{\text{laskettu}}=3,107 > 2,262=t_{\text{kriittinen}}$, joten H_0 hylätään.

Eri päivien tulokset eroavat tilastollisesti merkitsevästi luottamustasolla 95 %.