

Opinnäytetyö (AMK)

Prosessi- ja materiaaliteknikan koulutus

PPROMS15

2020

Karoliina Stenvall

# ANIONIMÄÄRITYKSEN VALIDOINTI

– Ionikromatografinen menetelmä

Karoliina Stenvall

# ANIONIMÄÄRITYKSEN VALIDOINTI

## - Ionikromatografisen menetelmä

Opinnäytetyön toimeksiantajana toimi CircVol-hanke. CircVol-hanke kuuluu osaksi 6Aika-strategiaa, joka koostuu kymmenistä kestävästä kaupunkikehittämisen sekä työllisyyden ja osaamisen hankkeista. 6Aika kaupunkiin kuuluvat Suomen kuusi suurinta kaupunkia, jotka ovat Helsinki, Espoo, Vantaa, Oulu, Tampere ja Turku. CircVol-hankkeen tavoitteena on edistää suurivolyymisten teollisten sivuvirtojen ja infrarakentamisen maamassojen hyödyntämistä maarakennuksessa sekä edistää kiertotalouden mukaista liiketoimintaa. CircVol-hankkeen avulla pyritään kannustamaan uusiokäyttöön ja hyödyntämään kierrätettyjä materiaaleja maa- ja kaupunkirakentamisessa, jolloin säästetään ehtyviä ja arvokkaita luonnonvaroja. Opinnäytetyön aiheena on ionikromatografisen menetelmän validointi anionien määrittämiseksi CircVol-hankeesta peräisin olevista vesimatriisinäytteistä.

Opinnäytetyön tavoitteena oli suunnitella ja toteuttaa ionikromatografisen menetelmän validointi anionien määrittämiseksi vesimatriisinäytteistä sekä näytteiden tarvittavan esikäsittelyn suunnittelu ja toteuttaminen ennen niille tehtävää ionikromatografista määrittystä. Määritettäviä anioneja validoinnissa olivat fluoridi, kloridi, nitraatti, fosfaatti ja sulfaatti. Validoinnissa tutkittiin mittausalueiden lineaarisuutta ja määritettiin toteamis- ja määrittämissrajat anioneille. Selektiivisyyttä tutkittiin määrittämällä kolonnin teoreettinen pohjaluku, resoluutio ja symmetrisyyskijä. Mittaussarjoilla tutkittiin toistettavuutta ja saantokokeilla oikeellisuutta. Opinnäytetyön tavoitteena validoinnin ohella oli laatia ionikromatografille menetelmäohje anionien määrittämiseksi näytteistä.

Validointi tehtiin standardin SFS-EN ISO 10304-1 sekä aikaisemman validointiraportin pohjalta. Validoinnilla halutaan todeta ionikromatografisen menetelmän kyky määrittää anioneita kyseessä olevista vesimatriisinäytteistä. Validointi suoritettiin Turun ammattikorkeakoulun laboratoriotiloissa Metrohmin 792 Basic IC – ionikromatografilla.

## ASIASANAT:

ionikromatografia, validointi, anioni

BACHELOR'S THESIS | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Chemical and Materials Engineering

2019 | 45 pages, 31 pages in appendices

Karoliina Stenvall

## VALIDATION OF ANION DETERMINATION

- Ion chromatographic method

This thesis was commissioned by the CircVol project. CircVol is part of the 6Aika strategy which consists of dozens of sustainable city development, employment and professional skill projects. The 6Aika strategy includes the six largest cities in Finland; Helsinki, Espoo, Vantaa, Oulu, Tampere and Turku. The aim of the CircVol project is to improve the utilization of high-volume industrial side streams and soil from infrastructure constructions in new construction projects and to improve circular economy compliant business. The CircVol project strives to encourage reuse and utilization of recycled materials in excavation and city construction and thus help to save scarce and valuable resources. The thesis concerns validation of an ion chromatographic method for determining anions from CircVol water matrix samples.

The objective of the thesis was to plan and implement the validation of the ion chromatographic method to determine anions from water matrix samples and to plan and execute the pretreatment needed before the samples' ion chromatographic determination. The anions determined in the validation were fluoride, chloride, nitrate, phosphate and sulfate. In the validation the linearity of the measuring range was examined and limits for anion detection and quantification were determined. Selectivity was examined by determining the theoretical column bottom number, resolution, and symmetry factor. Repeatability was examined with a set of measurements and validity with recovery. Besides the validation, a further aim of the thesis was to create a method guide for the ion chromatograph for determining anions from samples.

The validation was conducted based on the standard SFS-EN ISO 10304-1 and a prior validation report. The validation aims to verify the ion chromatographic method's ability to determine anions from water matrix samples. The validation was implemented in the laboratory of Turku University of Applied Sciences using a Metrohm 792 IC ion chromatograph.

### KEYWORDS:

ion chromatography, validation, anion

# SISÄLTÖ

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1 JOHDANTO</b>  | <b>7</b>  |
| <b>2 IONIKROMATOGRAFIA</b>   | <b>8</b>  |
| 2.1 Ionikromatografian toimintaperiaate  | 8         |
| 2.2 Ionikromatografian rakenne   | 9         |
| 2.3 792 Basic IC – laitetiedot   | 10        |
| <b>3 VALIDOINNIN TEORIAA</b>   | <b>13</b> |
| 3.1 Lineaarisuus ja mittausalue  | 13        |
| 3.2 Toteamis- ja määritysraja  | 14        |
| 3.3 Selektiivisyys   | 14        |
| 3.4 Toistettavuus  | 15        |
| 3.5 Oikeellisuus   | 16        |
| <b>4 MENETELMÄN KUVAUS</b>   | <b>17</b> |
| 4.1 Menetelmässä käytettävien liuosten valmistus   | 17        |
| 4.1.1 Karbonaattiliuente (1 mM NaHCO <sub>3</sub> , 3,2 mM Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ) | 17        |
| 4.1.2 Regenerointiliuos (0,1 M HCl)  | 18        |
| 4.1.3 Kantaliuokset (1000 mg/l)  | 18        |
| 4.1.4 Standardiliuosten ja työliuoksen valmistus   | 19        |
| 4.2 Näytteen esikäsittely  | 20        |
| 4.2.1 Ioninvaihto  | 21        |
| 4.3 Menetelmäohje ja käyttöohje  | 21        |
| <b>5 VALIDOINNIN SUORITUS JA TULOKSET</b>  | <b>22</b> |
| 5.1 Lineaarisuus ja mittausalue  | 22        |
| 5.2 Toteamis- ja määritysraja  | 37        |
| 5.3 Selektiivisyys   | 39        |
| 5.4 Toistettavuus  | 39        |
| 5.5 Oikeellisuus   | 42        |
| <b>6 YHTEENVETO JA POHDINTA</b>  | <b>44</b> |
| <b>7 LÄHTEET</b>   | <b>45</b> |

## LIITTEET

- Liite 1. Lineaarisuusmittauksien mittaustulokset 0,1-1 mg/l
- Liite 2. Lineaarisuusmittauksien mittaustulokset 1-10 mg/l
- Liite 3. Lineaarisuusmittauksien mittaustulokset 10-20 mg/l
- Liite 4. Toteamis- ja määritysrajamittauksien mittaustulokset
- Liite 5. Selektiivisyysmittauksien mittaustulokset
- Liite 6. Toistettavuusmittauksien mittaustulokset
- Liite 7. Oikeellisuustestien mittaustulokset
- Liite 8. 792 Basic IC – Anionien määrittäminen – käyttöohje/menetelmäohje/näytteenkäsittelyohje
- Liite 9. 792 Basic IC - Käyttöohje

## KAAVAT

- Kaava 1. Toteamisraja
- Kaava 2. Määritysraja
- Kaava 3. Teoreettinen pohjaluku
- Kaava 4. Resoluutio
- Kaava 5. Symmetrisyyskijä
- Kaava 6. Keskiarvo
- Kaava 7. Keskihajonta
- Kaava 8. Suhteellinen keskihajonta
- Kaava 9. Saantoprosentti

## KUVAT

- Kuva 1. Ionikromatografian toiminta (Passoja 2008, 9.)
- Kuva 2. 792 Basic IC – Ionikromatografia (Metrohm AG 2010-2020)

## TAULUKOT

|   |    |
|---|----|
| Taulukko 1. Karbonaattieluentin valmistus             | 18 |
| Taulukko 2. 1000 mg/l Kantaliuosten valmistus         | 19 |
| Taulukko 3. Standardiliuosten valmistus               | 20 |
| Taulukko 4. Lineaarisuuden tulokset 0,1-1 mg/l        | 23 |
| Taulukko 5. Lineaarisuuden tulokset 1-10 mg/l         | 28 |
| Taulukko 6. Lineaarisuuden tulokset 10-20 mg/l        | 33 |
| Taulukko 7. Toteamis- ja määritysrajatestien tulokset | 38 |
| Taulukko 8. 5 mg/l selektiivisyyden tulokset          | 39 |
| Taulukko 9. 20 mg/l selektiivisyyden tulokset         | 39 |
| Taulukko 10. Toistettavuuden tulokset 5 mg/l          | 40 |
| Taulukko 11. Toistettavuuden tulokset 20 mg/l         | 40 |
| Taulukko 12. Toistettavuuden tulokset 100 µg/l        | 41 |
| Taulukko 13. Toistettavuuden tulokset 250 µg/l        | 41 |
| Taulukko 14. Toistettavuuden tulokset 500 µg/l        | 41 |
| Taulukko 15. Toistettavuuden tulokset 750 µg/l        | 41 |
| Taulukko 16. Toistettavuuden tulokset 1 mg/l          | 42 |
| Taulukko 17. Kloridin oikeellisuustestien tulokset    | 43 |
| Taulukko 18. Sulfaatin oikeellisuustestien tulokset   | 43 |

# 1 JOHDANTO

Opinnäytetyön toimeksiantajana toimivalla CircVol – hankkeella pyritään edistämään kiertotalouden mukaista liiketoimintaa ja suurivolyymisten teollisten sivuvirtojen ja maamassojen hyödyntämistä maarakentamisessa. CircVol-hanke on EU-rahoitteinen 6Aika-hanke, jossa on toimijoita Helsingistä, Tampereelta, Oulusta ja Turusta.

Turun ammattikorkeakoulun tavoitteena hankeessa on testata erilaisia maamassan stabilointireseptejä, joissa hyödynnetään kyseessä olevia sivuvirtoja ja maamassoja. Maamassoina testataan ruoppausmassoja, joiden stabilointiin ja lujittumiseen käytetään muun muassa sementtiä, tuhkaa ja kuonaa. Maamassoihin sekoitetaan stabilointi- ja sideaineita eri reseptien mukaan, ja massoista valmistetaan koekappaleita, joiden annetaan kovettua useita viikkoja. Näitä stabiloituja lujittuneita koekappaleita testataan muun muassa modifioiduilla diffuusiotesteillä, joiden avulla seurataan koekappaleiden yläpinnalta aineiden liukenemista ionivaihdettuun veteen. Modifioitu diffuusiotesti perustuu hollantilaiseen standardiluonnokseen NVN 7347, joka perustuu epäorgaanisten aineiden liukoisuuden määrittämiseen rakeisesta ja tiivistetystä materiaalista pintaliukenemisen ja diffuusion kautta. Tätä testiä on soveltanut muun muassa VTT kiinteiden ja kiinteytettyjen liete- ja savimaisten materiaalien liukoisuuden tutkimiseen. Modifioiduissa diffuusiotesteissä koekappaleet ovat lieriön mallisia ja ne on päällystetty teflon teipillä siten, että vain yläpinta jää päällystämättömäksi. Diffuusiotestit suoritetaan pitämällä koekappaleita tietyssä määrässä ionivaihdettua vettä tietyn ajan. Näistä diffuusiotesteistä saaduista vesimatriisinäytteistä määritetään muun muassa anioneita.

Opinnäytetyön tavoitteena oli osoittaa ja varmistaa eri anionien määritysmenetelmän toimivuus. Määrittämiseen käytettiin Metrohmin 792 Basic IC – ionikromatografia. Määritettäviä anioneja validoinnissa olivat fluoridi, kloridi, nitraatti, fosfaatti ja sulfaatti. Validoinnissa tutkittiin menetelmän mittauksien lineaarisuutta, toistettavuutta, selektiivisyyttä ja oikeellisuutta sekä anioneille määritettiin toteamis- ja määrittämissrajat. Opinnäytetyön tavoitteena validoinnin ohella oli laatia ionikromatografille menetelmäohje, jonka avulla kyseisistä vesimatriisinäytteistä pystytään määrittämään anionipitoisuuksia luotettavasti.

## 2 IONIKROMATOGRAFIA

Ionikromatografia on analyttinen erotus- ja mittausmenetelmä, joka soveltuu ioniliuoksille. Ionikromatografiaa käytetään anionien ja kationien erottamiseen ja analysointiin erilaisista liuoksista. Ionikromatografia on tärkeä erotus- ja mittausmenetelmä vesikemian analyyseissa. Ionikromatografeilla pystytään määrittämään useiden anionien, kuten fluoridin, kloridin, nitraatin, fosfaatin ja sulfaatin sekä tärkeimpien kationien, kuten litiumin, natriumin ja ammoniumin pitoisuuksia. (Passoja 2008, 7.)

Perinteisiin anionimittausmenetelmiin, kuten titrimetriaan ja fotometriaan verrattuna ionikromatografialla on monia etuja. Se on muun muassa selektiivisempi, herkempi ja nopeampi menetelmä. Ionikromatografialla pystytään määrittämään luotettavasti ja tarkasti useita epäorgaanisia anioneita ja kationeita samanaikaisesti. Ionikromatografiaa käytettiin aluksi vain epäorgaanisissa analyyseissa, mutta myöhemmin sen huomattiin soveltuvan myös orgaanisille liuoksille. (Särelä 2013, 9.) (Passoja 2008, 7.)

Erityisesti ympäristöanalytiikassa käytetään ionikromatografiaa, jossa se on syrjäyttänyt lähes kaikki muut ionien tutkimusmenetelmät. Yleisimmin ionikromatografeilla tutkitaan nesteitä, mutta myös kiinteitä partikkeleita ja kaasuja pystytään analysoimaan esikäsittelyn avulla. Esikäsittelyn avulla näyte saatetaan vesifaasiin, jolloin näytettä on mahdollista analysoida ionikromatografialla. (Särelä 2013, 9.)

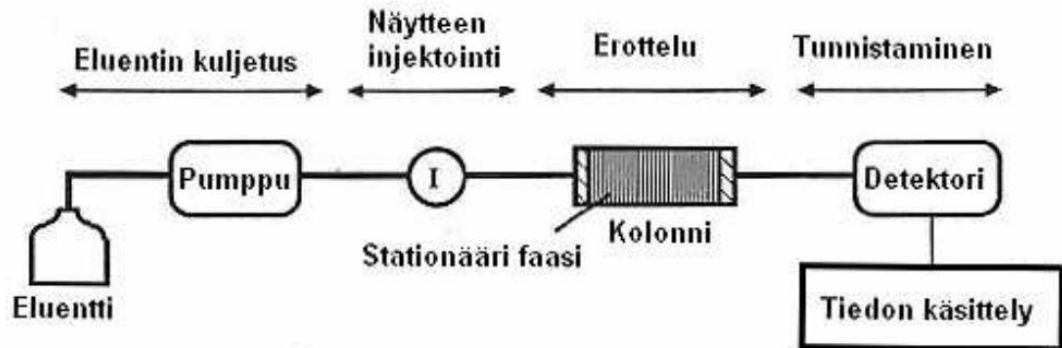
### 2.1 Ionikromatografian toimintaperiaate

Ionikromatografian toiminta perustuu kiinteä-nestefaasikromatografiamenetelmiin. Erotusmenetelmä perustuu aineen jakautumiseen liikkuvan ja kiinteän faasin välillä. Liikkuvana faasina toimii neste, joka kuljettaa näytteen stationäärifaasin läpi. Stationäärifaasin läpi kulkeutuessa vastakkaismerkkiset ionit tarttuvat stationäärifaasiin kiinni sähköisten voimiensa avulla ja irtautuvat stationäärifaasista eri aikoihin. (Passoja 2008, 9.)

Ionikromatografissa liikkuvana faasina eli nesteenä toimii eluentti, joka kulkeutuu stationäärifaasin läpi detektorille. Näyte syötetään korkeassa paineessa olevaan eluenttiin, joka pumpataan kolonnin läpi, jossa stationäärifaasi sijaitsee. Ionit läpäisevät kolonnin eri nopeuksilla, jonka jälkeen ne kulkeutuvat suppressorin läpi detektorille. Detektorin



havaittaessa ionit niille muodostuu omat piikit kromatogrammiin. Suppressorin käyttö ei ole välttämätöntä ionikromatografiassa. (Särelä 2013, 9-10.) (Passoja 2008, 8-9.)



Kuva 1. Ionikromatografian toiminta (Passoja 2008, 9.)

## 2.2 Ionikromatografian rakenne

Ionikromatografian rakenne on melko yksinkertainen. Se koostuu pääasiassa pumpusta, injektorista, ioninvaihtokolonnista, suppressorista ja detektorista. Suppressorin käyttö ei ole välttämätöntä, mutta validoinnissa sitä käytettiin tarkkojen mittaustulosten saavuttamiseksi. (Passoja 2008, 10.)

Eluentti toimii ionikromatografiassa liikkuvana faasina eli nesteenä. Se koostuu yleensä vähintään kahdesta eri komponentista. (Passoja 2008, 14.)

**Pumpun** tehtävänä on kuljettaa eluenttia eteenpäin laitteistossa vastapainetta vastaan tasaisella virtausnopeudella. (Passoja 2008, 10.)

**Injektoreita** on automaattisia sekä käsikäyttöisiä. 792 Basic IC- laitteistossa on käsikäyttöinen injektointi, joten näyte syötettiin laitteeseen ruiskulla. Injektori syöttää näytteen korkeapaineiseen eluenttiin, jonka jälkeen näyte kulkeutuu kolonniin. (Passoja 2008, 12.)

**Kolonnin** sisällä on hartsi, joka koostuu pienistä (esim. 5  $\mu\text{m}$ ) partikkeleista. Nämä pienet partikkelit muodostuvat orgaanisista polymeereistä, jotka muodostavat hiilivetyverkoston. Koko polymeerimatriisissa on ioninvaihtokohdat, joissa joko positiivisesti varautuneiden ionien tai negatiivisesti varautuneiden ionien niin sanotut ”funktionaaliset ryhmät” kiinnittyvät polymeeriverkkoon. Nämä funktionaaliset ryhmät houkuttelevat vastakkaisen varauksen omaavia ioneja. Kolonnin tehtävänä on siis ionien erotus.

Ioninvaihtokolonnia ennen voidaan käyttää myös esikolonnia suojaamaan analyttistä kolonnia likaantumiselta. Esikolonnin tehtävänä on kerätä näytteen sisältämät liukene mattomat ja eluoitumattomat komponentit, ettei analyttinen kolonni tukkeudu. Esiko lonni kuitenkin heikentää mittaustuloksia aiheuttaen vyöhykelevenemistä, eli piikkien le venemistä. (Passoja 2008, 11.) (Daniel C. Harris. 2002.)

**Suppressorin** tehtävänä on parantaa eluentin ja liuoksen havaitsemista detektorilla. Se vähentää eluentin johtokykyä eli taustakohinaa ja parantaa määritettävien ionien johto kykyä. Suppressorin parantaa anionien johtavuuden havaitsemista vähentämällä tausta johtavuutta eluentti-ionin neutraloinnin avulla. Suppressorin käyttö vaatii regenerointiliuoksen. Etuja, joita suppressorilla pystytään saavuttamaan ovat muun muassa erot kolonnien kapasitee teissa sekä erikoisten eluenttien käyttämisessä. (Passoja 2008, 14.) (Kähkönen 2012, 21-23.) (Charles ym. 2004, 171-211.)

**Detektori** on ionikromatografian viimeinen osa, jonka tarkoituksena on mitata yhdisteen signaali ajan funktiona ja piirtää kromatogrammi, josta näytteen sisältämät ionit pystytään erottamaan. Ionikromatografissa käytetään johtokykydetektoreita. Johtokykydetek torin toiminta perustuu elektrodeihin, joiden väliin muodostuu sähkökenttä. Eluentti kul kee elektrodien välistä sähkökentän läpi ja detektori mittaa ionien liikkuvuutta sähkön johtokyvyn perusteella. (Kähkönen 2012, 21-23.) (Passoja 2008, 9-16.)

### 2.3 792 Basic IC – laitetiedot

Anionimäärityksen validointi suoritettiin Turun ammattikorkeakoulun laboratoriossa sijait sevilla Metrohmin 792 Basic IC – ionikromatografilla.



Kuva 2. 792 Basic IC – Ionikromatografi (Metrohm AG 2010-2020)

Validoinnissa käytettiin Metrosep A Supp 5 (5  $\mu\text{m}$ , 150 x 4.0 mm) kolonnia. Kolonnin sisällä on 5  $\mu\text{m}$ :n kokoisia partikkeleita, jotka koostuvat polyvinyylialkoholista kvaternaarisilla ammoniumryhmillä. (Metrohm AG 2010-2019.)

792 Basis IC:ssä näyteluupin koko on 20  $\mu\text{l}$ . Laitteessa on käsikäyttöinen injektointi, joten näyte syötetään laitteeseen 3 ml:n ruiskulla 0,45  $\mu\text{m}$ :n suodattimen läpi. Ylimäärä näytteestä huuhtelee luupin ja valuu jäteletkua pitkin jäteastiaan. (792 Basic IC Instructions for use. 2001.)

792 Basic IC – ionikromatografiin on asennettu Metrohmin suppressorimoduuli (MSM). Suppressori regeneroidaan 0,1 molaarisella rikkihappolla ja huuhdellaan ionivaihdetulla vedellä. Suppressorissa on kaksikanavainen sisäänrakennettu peristalttinen pumppu. Pumppu kuljettaa regenerointi- ja huuhteluliuksen suppressorin yksiköihin. (792 Basic IC Instructions for use. 2001.)

792 Basic IC - ionikromatografiin kuuluu metallivapaa 1.732.0110 detektori. Kaikki komponentit, jotka ovat kosketuksissa eluentin tai näytteiden kanssa, eivät saa sisältää metalleja. Detektorin lämpötila on 40 °C ja se vaihtelee alle 0,01 °C. (792 Basic IC Instructions for use. 2001.)

792 Basis IC – ionikromatografia ohjataan tietokoneella, johon on asennettu 792 Basic IC 1.0 -ohjelmisto. Ohjelmistosta käynnistetään pumpput, tarkkaillaan painetta ja säädel-  
lään virtausnopeutta. Virtausnopeuden pitää olla 0,7 ml/min ja paineen täytyy pysyä alle  
9 MPa:n. Kun laite käynnistetään pohjaviivan täytyy antaa tasaantua tunnin ajan niin, että  
jokaista suppressorin kanavaa huuhdellaan noin 20 minuuttia. (792 Basic IC Instructions  
for use. 2001.)

## 3 VALIDOINNIN TEORIAA

Analyysimenetelmän validointi on keskeinen osa laboratorion laadunvarmistusta luotettavien tulosten saamiseksi. Mittausmenetelmän validoinnilla osoitetaan menetelmän sopevuus ja laitteiston suorituskyvyn riittävyys aiottuun käyttötarkoitukseen. Validointiin liittyy oleellisesti validointiparametrien valitseminen ja niiden määrittäminen. Validointiparametrit valitaan analyysimenetelmän sekä käyttökohteen mukaan. Lineaarisuus ja mittausalue, toteamis- ja määritysraja, selektiivisyys, toistettavuus sekä oikeellisuus ovat tämän ionikromatografisen menetelmän validoinnin validointiparametreja. (Bliesner 2006, 1.) (Heinonen 2015, 28.)

### 3.1 Lineaarisuus ja mittausalue

Lineaarisuus kuvaa analyysimenetelmän kykyä antaa tuloksia, jotka ovat suoraan verrannollisia analyytin pitoisuuteen. Lineaarisuus määritetään mittaamalla useita kertoja standardiliuoksia, joiden pitoisuudet tiedetään. Lineaarisuusalueelle määritetään vähintään viisi eri pitoisuutta. Saatujen tulosten avulla luodaan standardisuora. Lineaarisuutta arvioidaan standardisuoran korrelaatiokertoimen neliön avulla, joka kuvaa suoran sovituksen hyvyyttä. Lineaarisuuden arviontiin ei kuitenkaan riitä ainoastaan regressiokerroin, vaan sitä arvioidaan myös residuaaliarvojen avulla. Residuaaliarvo on mitatun arvon ja regressionsuoran kaavan avulla lasketun arvon ero. Lineaarista aluetta arvioidaan jäännöskuvaajan avulla, jossa residuaaliarvojen tulee jakautua tasaisesti nollan molemmille puolille. Mittausalueella voi olla myös monta lineaarista aluetta. (Hägg 2016, 23.)

Mittausalueella tarkoitetaan analyytin pitoisuusaluetta, jolla menetelmää voidaan käyttää käyttötarkoitukseen soveltuvalla tarkkuudella. Mittausalueeksi valitaan yleensä lineaarinen alue, jonka pienin pitoisuus on luotettavasti saavutettava määritysraja. Mittausalueen suurimman pitoisuuden rajoittajana toimii mittalaitteen kyky havainnoida analyytin pitoisuuden ja suureen muutoksia. (Hägg 2016, 23.)

### 3.2 Toteamis- ja määrittäysraja

Toteamisraja on määritettävän analyytin pienin pitoisuus, jolloin voidaan luotettavasti todeta näytteen sisältävän kyseistä analyyttiä. Määrittäysraja on määritettävän komponentin pienin pitoisuus, jolloin sen pitoisuus voidaan luotettavasti todeta.

Kvantitatiivisessa menetelmässä toteamisrajan määrittäminen perustuu taustan hajonnan tutkimiseen. Nollanäytettä analysoidaan toistuvasti ja nollanäytteen kolminkertainen keskijäntö kertoo toteamisrajan pitoisuuden. Kun nollanäytteellä ei ole havaittavaa signaalia, toteamisraja määritetään signaalin (S) ja kohinan (N) suhteella. Toteamisrajalla signaalin ja kohinan välisen suhteen tulee olla suurempi kuin kolme ja määrittäysrajalla sen tulee olla suurempi kuin kymmenen. Toteamis- ja määrittäysrajaa määrittäessä analysoitavalle näyteelle tulee tehdä 6-10 rinnakkaismäärittäystä. Määrittäysrajalla toistettavuuden (CV%) tulee olla myös hyväksyttävällä tasolla. (Hägg 2016, 20-23.) (Hiltunen ym. 2011, 13.)

$$\text{Toteamisraja (LOD)} = \frac{S}{N} > 3$$

Kaava 1. Toteamisraja

$$\text{Määrittäysraja (LOQ)} = \frac{S}{N} > 10$$

Kaava 2. Määrittäysraja

### 3.3 Selektiivisyys

Selektiivisyydellä mitataan mittausmenetelmässä käytetyn mittauslaitteen kykyä pitää mittaussuureiden arvot riippumattomina toisistaan. Selektiivisyydellä kuvataan menetelmän kykyä erottaa analysoitavat komponentit toisistaan. Selektiivinen menetelmä pystyy erottamaan yksiselitteisesti määritettävän analyytin usean analyytin seoksesta. Erilaisen taustatekijöiden aiheuttamaa systemaattista virhettä pyritään selvittämään selektiivisyyskokeilla. Kromatografisissa menetelmissä näkyviä häiriötekijöitä tutkitaan määrittämällä kolonnin teoreettinen pohjaluku, resoluutio ja symmetrisyyskijä. (Hägg 2016, 29.) (Mäkinen ym. 1996, 11.)

$N = 5,545 * \left(\frac{t_R}{w}\right)^2$ , jossa  $N = \text{Teoreettisten pohjien lukumäärä}$

$t_R = \text{retentioaika}$

$w = \text{piikin puolileveys}$

Kaava 3. Teoreettinen pohjaluku

$R = \frac{1,177 * (t_2 - t_1)}{(w_2 - w_1)}$ , jossa  $R = \text{resoluutio}$

$w = \text{piikin puolileveys}$

$t_1 = t_R = \text{analyyytti}$

$t_2 = \text{lähimpänä analyyyttiä eluoituva yhdiste}$

Kaava 4. Resoluutio

$T = \frac{W}{2W_a}$ , jossa

$T = \text{symmetrisyystekijä}$

$W = \text{piikin leveys } 10\% \text{:n korkeudella pohjasta}$

$W_a = \text{piikin etureunan leveys } 10\% \text{:n korkeudella pohjasta}$

Kaava 5. Symmetrisyystekijä

### 3.4 Toistettavuus

Toistettavuus kertoo menetelmän kyvystä antaa mahdollisimman samankaltaisia tuloksia eri toistokerroilla. Toistettavuutta määritetään tekemällä useita rinnakkaismäärittäyksiä erilaisista näytteistä eri pitoisuusalueilla. Näytteinä toistettavuuden mittaamisessa voidaan käyttää muun muassa standardinäytteitä. Toistettavuutta arvioidaan mittaustulosten keskiarvon, keskihajonnan ja suhteellisen keskihajonnan (CV%) avulla. (Hägg 2016, 31-32.) (Hiltunen ym. 2011, 19-20.)

$$\bar{x} = \frac{x_1 + \dots + x_n}{n}$$

Kaava 6. Keskiarvo

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

Kaava 7. Keskihajonta

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

Kaava 8. Suhteellinen keskihajonta

### 3.5 Oikeellisuus

Oikeellisuus ilmaisee menetelmällä saatujen mittaustulosten todenmukaisuutta. Kun tutkitaan menetelmän antamien tulosten oikeellisuutta, tarvitaan tietoa määritettävän analyysin pitoisuudesta ja ominaisuuksista. Oikeellisuus kuvaa tuntemattoman tosiarvon ja analyysituloksen läheisyyttä. Oikeellisuutta määritettäessä validointimittaukset tulee suorittaa pitkällä aikavälillä, jotta eri muuttujien mahdolliset vaikutukset saadaan selville. Oikeellisuuden arviointi käytännössä edellyttää varmennetun vertailumateriaalin käyttöä tai osallistumista vertailumittauksiin. Oikeellisuutta voidaan arvioida myös saantokeilla, jos vertailumateriaalia ei ole käytettävissä. (Hägg 2016, 27.)

Saannolla tarkoitetaan joko näytematriisiin lisätyn yhdisteen tai näytteeseen lisätyn sisäisen standardin takaisinsaantoa. Yleensä lisäys tehdään nollanäytematriisiin tai reagenssinollaan, mutta joskus lisäys tehdään myös näytteeseen ja silloin vähennetään näytteessä olevan analyysin määrä. Tuloksia arvioidaan saantoprosentin avulla, joka lasketaan alla olevalla kaavalla. (Hägg 2016, 29.)

$$Saanto - \% = \left( \frac{\text{määritetty pitoisuus}}{\text{lisätty pitoisuus}} \right) * 100 \%$$

Kaava 9. Saantoprosentti



## 4 MENETELMÄN KUVAUS

Menetelmässä käytettäviä liuoksia olivat ionikromatografian karbonaattieluentti, suppresorin regenerointiliuos, anionien kantaliuokset ja standardiliuokset. Karbonaattieluentti säilyi käyttökelpoisena kahden viikon ajan. Kantaliuokset säilyivät kuukausia kuten myös regenerointiliuos. Standardiliuokset tuli valmistaa aina käyttöpäivänä. (Suomen ympäristökeskus 2009.) Vesimatriisinäytteen esikäsittely suoritettiin ioninvaihdolla. Metrohmin 792 Basic IC – ioninvaihtokromatografille laadittiin menetelmäohje anionien määrittämiseen vesimatriisinäytteistä sekä yleiset käyttöohjeet laitteistolle.

Standardiliuokset ja vesimatriisinäytteet syötettiin ionikromatografille 3 ml:n ruiskulla 0,45 µm:n suodattimen läpi. Aina päivän alussa ja lopussa ionikromatografiin syötettiin yksi ionivaihdettu vesinäyte. Ionivaihdettujen vesinäytteiden avulla pyrittiin pitämään anionijäämät pois kolonnista.

### 4.1 Menetelmässä käytettävien liuosten valmistus

Kaikkien liuosten valmistuksessa käytettiin analyysilaatua olevia reagensseja. Punnitusta vaativat reagenssit punnittiin analyysivaa'alla, joka antaa punnitustulokset  $\pm 0,0002$  gramman tarkkuudella. Pipetoinneissa käytettiin Biohit Proline 1-5 ml:n sekä 200 – 1000 µl:n automaattipipettejä.

#### 4.1.1 Karbonaattieluentti (1 mM NaHCO<sub>3</sub>, 3,2 mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)

Validoinnissa käytettävän karbonaattieluentein valmistusta varten kuivatettiin yön yli 105 °C:ssa natriumkarbonaattia (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) sekä natriumvetykarbonaattia (NaHCO<sub>3</sub>). Reagenssit punnittiin liuotettiin ja laimennettiin ionivaihdettuun veteen 2000 ml:n mittapulloon. Kantaliuoksen reagenssien massat ovat taulukossa 1.

Taulukko 1. Karbonaattieluentin valmistus

| Reagenssi                       | Massa (g) | Pitoisuus (mmol/l) |
|---------------------------------|-----------|--------------------|
| Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | 0,6780    | 3,2                |
| NaHCO <sub>3</sub>              | 0,1680    | 1                  |

Ennen käyttöä karbonaattieluentti imusuodatettiin 0,45 µm:n suodatinkalvon läpi, koska kolonniin ei saanut päästää yli 0,5 µm:n kokoisia partikeleita. Liuosta pidettiin tämän jälkeen 15 minuutin ajan ultraäänihauteessa kaasujen poistamiseksi.

#### 4.1.2 Regenerointiliuos (0,1 M HCl)

Regenerointiliuksena toimi suppressorin laitevalmistajan suosittelema 0,1 M rikkihappo, joka valmistettiin laimentamalla 5,55 ml:aa 96 %:sta rikkihappoa 1000 ml:ksi. Myös regenerointiliuos imusuodatettiin 0,45 µm:n suodatinkalvon läpi ja sitä pidettiin ultraäänihauteessa 15 minuutin ajan.

#### 4.1.3 Kantaliuokset (1000 mg/l)

Menetelmässä käytettäviä standardiliuoksia varten valmistettiin jokaiselle anionille 1000 mg/l kantaliuos. Natriumfluoridi (NaF), natriumkloridi (NaCl), natriumnitraatti (NaNO<sub>3</sub>), natriumvetyfosfaatti (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) ja natriumsulfaatti (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) piti kuivattaa lämpökaapissa 105 °C:ssa ennen kantaliuoksien valmistamista. Kuivaamisen jälkeen reagenssien annettiin jäähtyä eksikkaattorissa. Reagenssit punnittiin analyysivaa'alla ja ne huuhdeltiin ja laimennettiin ionivaihdetulla vedellä 1000 ml:n mittapulloihin. Kuivatukseen vaadittavat ajat sekä reagenssien massat ja anionien todelliset pitoisuudet liuoksissa ovat taulukossa 2.

Taulukko 2. 1000 mg/l Kantaliuosten valmistus

| Reagenssi            | Kuivatusaika (105 °C) | Punnitus (g) | Todellinen anionipitoisuus (mg/l) |
|----------------------|-----------------------|--------------|-----------------------------------|
| Natriumfluoridi      | 1 h                   | 2,2101       | 999,99                            |
| Natriumkloridi       | 2 h                   | 1,6485       | 1000,05                           |
| Natriumnitraatti     | 24 h                  | 1,3698       | 999,31                            |
| Natriumvetyfosfaatti | 1 h                   | 1,4629       | 1006,81                           |
| Natriumsulfaatti     | 1 h                   | 1,4786       | 999,59                            |

#### 4.1.4 Standardiliuosten ja työliuoksen valmistus

Standardiliuosten valmistuksessa käytettiin 100 mg/l työliuosta, joka valmistettiin aina käyttöpäivänä. Työliuos valmistettiin pipetoimalla 1 ml jokaisen anionin kantaliuosta (1000 mg/l) 100 ml:n mittapulloon, joka täytettiin merkkiin ionivaihdetulla vedellä.

Standardiliukset valmistettiin kolmelle eri pitoisuusalueelle ja jokaiselle pitoisuusalueelle määritettiin viisi eri pitoisuutta. Standardiliukset valmistettiin 100 mg/l työliuoksesta pipetoimalla tarvittavat määrät mittapulloihin, jotka täytettiin ionivaihdetulla vedellä merkkiin. Taulukosta 3 näet standardiliuosten pipetoinnit, liuostilavuudet sekä anionipitoisuudet.

Taulukko 3. Standardiliuosten valmistus

| Standardiliuoksen konsentraatio (mg/l) | Työliuoksen konsentraatio (mg/l) | Pipetoitu työliusta (ml) | Standardiliuoksen tilavuus (ml) |
|--|----------------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| 0,1                                    | 1                                | 1                        | 10                              |
| 0,25                                   | 1                                | 2,5                      | 10                              |
| 0,5                                    | 1                                | 5                        | 10                              |
| 0,75                                   | 10                               | 0,75                     | 10                              |
| 1                                      | 10                               | 5                        | 50                              |
| 2,5                                    | 10                               | 2,5                      | 10                              |
| 5                                      | 10                               | 5                        | 10                              |
| 7,5                                    | 100                              | 0,75                     | 10                              |
| 10                                     | 100                              | 5                        | 50                              |
| 12,5                                   | 100                              | 1,25                     | 10                              |
| 15                                     | 100                              | 1,5                      | 10                              |
| 17,5                                   | 100                              | 1,75                     | 10                              |
| 20                                     | 100                              | 2                        | 10                              |

#### 4.2 Näytteen esikäsittely

CircVol-hankkeen näytteet koostuvat suurivolyymisistä sivuvirroista ja maamassoista, joita pyritään hyödyntämään muun muassa maanrakennuksessa. Näitä sivuvirtoja ja maamassoja ovat muun muassa ruoppausmassa, kuona, tuhka jne. Turun ammattikorkeakoulun tavoitteena on testata erilaisia reseptejä, joissa hyödynnetään kyseisiä sivuvirtoja ja maamassoja. Seostetuista, stabiloiduista maamassoista valmistetut koekappaleet testataan diffuusiotesteillä, joissa seurataan erilaisten aineiden vapautumista koekappaleista veteen. Diffuusiotesteistä saaduista vesimatriisinäytteistä määritetään esimerkiksi raskasmetalleja, pH:ta, johtokykyä ja anioneja.

Osa vesimatriisinäytteistä sisältää rautaa ja kuparia. Rauta ja kupari haittaavat anionien mittaamista, joten ne täytyy poistaa näytteestä ennen ionikromatografista analyysia. Ensin näytteille tehdään osoituskokeet, jotta nähdään sisältävätkö kyseiset näytteet rautaa ja kuparia. Jos näytteet sisältävät rautaa tai kuparia, ne poistetaan näytteestä ioninvaihdon avulla. Jos näyte ei sisällä metalleja sen voi suoraan analysoida ionikromatografilla.

#### 4.2.1 Ioninvaihto

Ioninvaihdon avulla poistetaan näytteistä rauta ja kupari. Tässä validoinnissa käytetyt vesimatriisinäytteet eivät sisältäneet rautaa eivätkä kuparia. Tässä kappaleessa kerrotaan, miten ioninvaihto suoritetaan analysoitaville näytteille, jotka sisältävät rautaa ja kuparia.

Ioninvaihto vesimatriisinäytteelle suoritetaan kationinvaihtohartsin avulla. Näyte ajetaan kationinvaihtomassan lävitse, jolloin näytteen sisältämät kationit (rauta ja kupari) vaihtuvat kiinteään matriisiin sisältämiin natriumioneihin. Kationinvaihtomassa täytyy regeneroida ennen käyttöä. Ioninvaihdossa ioninvaihtopylväässä nesteen pinnan tulee pysyä kokoajan kationinvaihtomassan yläpuolella. Kun näyte ajetaan kationinvaihtomassan lävitse tulee ottaa huomioon, että näyte laimenee ioninvaihdon aikana. Ensimmäisen ajon aikana näytteestä saadaan 1:2 laimennos.

Ioninvaihdon jälkeen tehdään uudestaan osoituskokeet näytteille, jotta nähdään sisältävätkö näytteet vielä rautaa tai kuparia. Jos rauta ja kupari eivät ole poistuneet kokonaan näytteistä, ajetaan näytteet niin monta kertaa ioninvaihtopylvään läpi, että ne ovat poistuneet kokonaan. Kun näyte ajetaan pylvään läpi useaan kertaan, tulee ottaa huomioon näytteen laimentuminen jokaisella ajokerralla.

#### 4.3 Menetelmäohje ja käyttöohje

Metrohmin 792 Basic IC – ionikromatografille laadittiin validoinnin yhteydessä menetelmäohje anionien määrittämiseksi vesimatriisinäytteistä. Menetelmäohje on opinnäytetyön liitteessä 8. Menetelmäohje laadittiin aikaisemman validointiraportin ja 792 -Basic IC - ionikromatografian manuaalin pohjalta. Laitteelle valmistettiin myös yleiset anionien määrittämiseen tarkoitetut käyttöohjeet. Käyttöohjeissa ohjeistetaan laitteen käyttö laitteiston käynnistyksestä laitteiston sammuttamiseen asti. Käyttöohjeet sisältävät myös ohjeet laitteiston pesun suoritukseen. Käyttöohjeet laadittiin 792 -Basic IC - ionikromatografian manuaalin ja aikaisempien käyttöohjeiden pohjalta. Käyttöohjeet ovat opinnäytetyön liitteessä 9.

## 5 VALIDOINNIN SUORITUS JA TULOKSET

Validointi suoritettiin Turun ammattikorkeakoulun laboratoriotiloissa Metrohmin 792 Basic IC – ionikromatografilla maaliskuun – lokakuun 2019 aikana. Ionikromatografisen menetelmän anionien määrittämistä tutkittiin lineaarisuuden, toteamis- ja määrittämissä rajojen, selektiivisyyden, toistettavuuden sekä oikeellisuuden avulla. Tässä kappaleessa esitetään validoinnin suoritus sekä saadut tulokset.

### 5.1 Lineaarisuus ja mittausalue

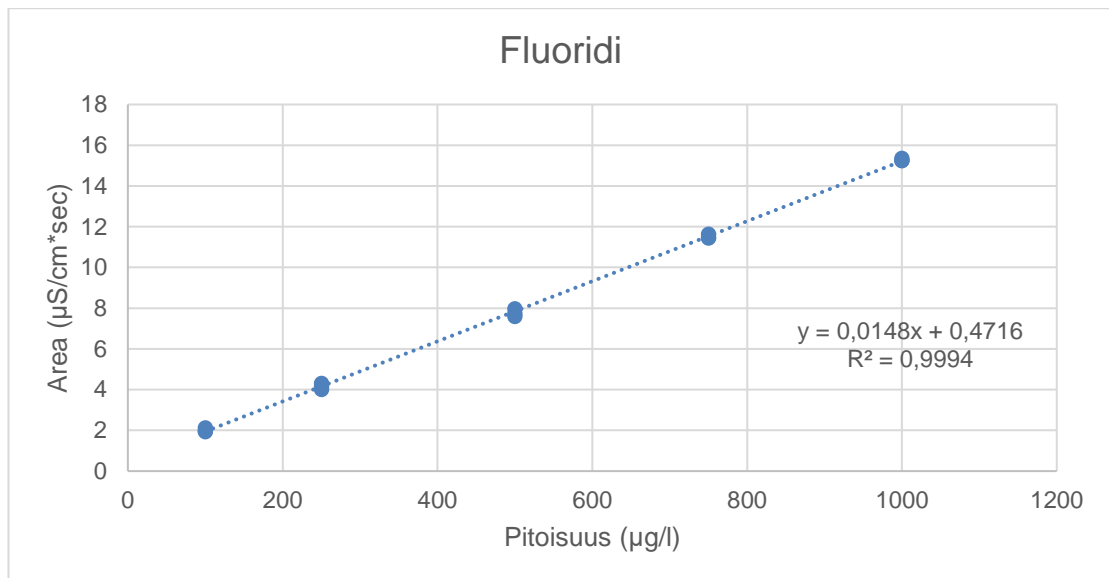
Lineaarisuusmittaukset aloitettiin määrittämällä kolme pitoisuusaluetta 0,1 – 1 mg/l, 1 – 10 mg/l ja 10 – 20 mg/l. Pitoisuusalueiden määrittäminen aloitettiin ISO 10304-1 standardin määrittämistä toteamis- ja määrittämissä rajoista kyseisille anioneille. Jokaiselle pitoisuusalueelle määritettiin viisi eri pitoisuutta. Standardiliuokset valmistettiin kappaleen 4.1.4 mukaisesti ja jokaisen pitoisuusalueen viisi standardiliuosta mitattiin peräkkäin laimeimmasta pitoisuudesta vahvimpaan.

Mittaustuloksista saatiin jokaisen anionin tuottaman piikin pinta-ala. Lineaarisuus määritettiin kolmen eri mittauskerran tuloksista. Standardiliuosten anionien pitoisuudet tiedettiin, joten mittauskerran tuloksista saatujen pinta-alojen ja tunnettujen pitoisuuksien pohjalta luotiin jokaiselle anionille standardisuorat excelin avulla. Standardisuorista saatiin jokaisen anionin korrelaatiokertoimen neliö ( $R^2$  -arvo). Residuaalit laskettiin mitattujen arvojen ja regressiosuorien kaavojen avulla ja niistä muodostettiin jäännöskaaviot excelin avulla.

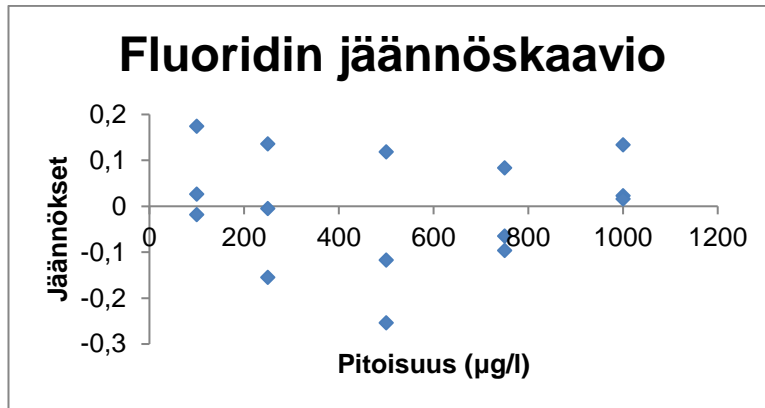
Mittausaluetta lähdettiin määrittämään alueelle 0,1 – 20 mg/l. Validoinnin perusteella mittausalueen todettiin olevan 0,25-20 mg/l. Lineaarisuuden vaatimukset pitoisuusalueella 0,1-1 mg/l eivät täytyneet muilla anioneilla kuin fluoridilla. Sulfaatin, fosfaatin ja kloridin korrelaatiokertoimen neliö oli yli 0,99, mutta residuaaliarvot eivät jakautuneet täysin tasaisesti. Nitraatin  $R^2$  -arvo oli erittäin huono ja myös residuaalit jakautuivat hyvin epätasaisesti viivan molemmille puolille. Lineaarisuuden tulokset mittausalueella 0,1-1 mg/l ovat taulukossa 4. Anionien standardisuorat ja jäännöskaaviot mittausalueella 0,1-1 mg/l ovat kuvioissa 1-10. Lineaarisuusmittauksien mittausalueella 0,1-1 mg/l ovat liitteessä 1.

Taulukko 4. Lineaarisuuden tulokset 0,1-1 mg/l

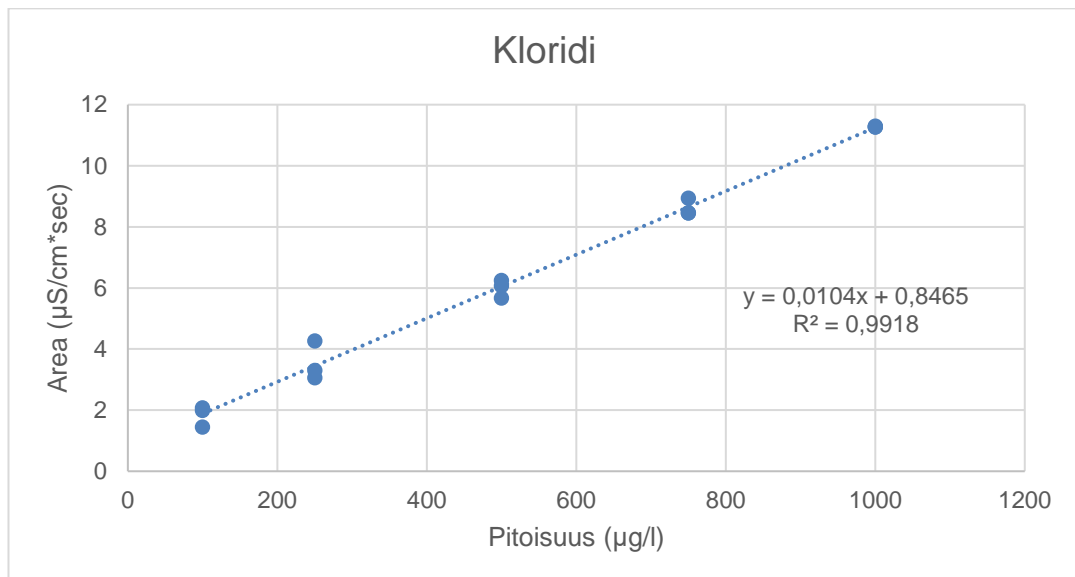
| Anioni    | R <sup>2</sup> -arvo | Residuaalit<br>tasaisesti<br>jakautuneet | Hyväksytty/Hylätty |
|-----------|----------------------|--|--------------------|
| Fluoridi  | 0,9994               | Kyllä                                    | Hyväksytty         |
| Kloridi   | 0,9918               | Ei                                       | Hylätty            |
| Nitraatti | 0,6673               | Ei                                       | Hylätty            |
| Fosfaatti | 0,9983               | Ei                                       | Hylätty            |
| Sulfaatti | 0,9912               | Ei                                       | Hylätty            |



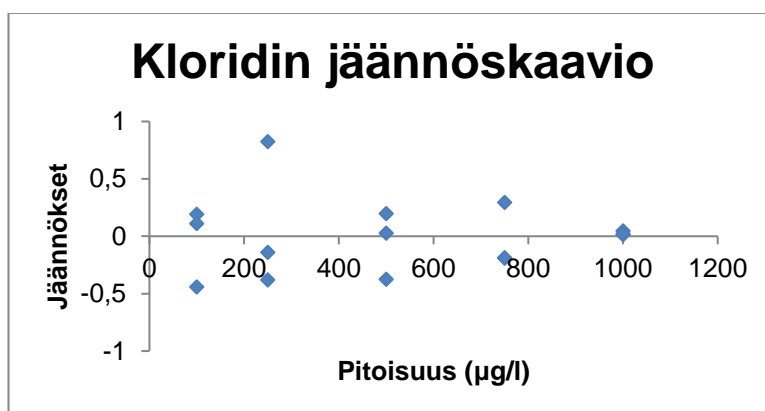
Kuvio 1. Fluoridin standardisuora 0,1-1 mg/l



Kuvio 2. Fluoridin jäännöskaavio 0,1-1 mg/l

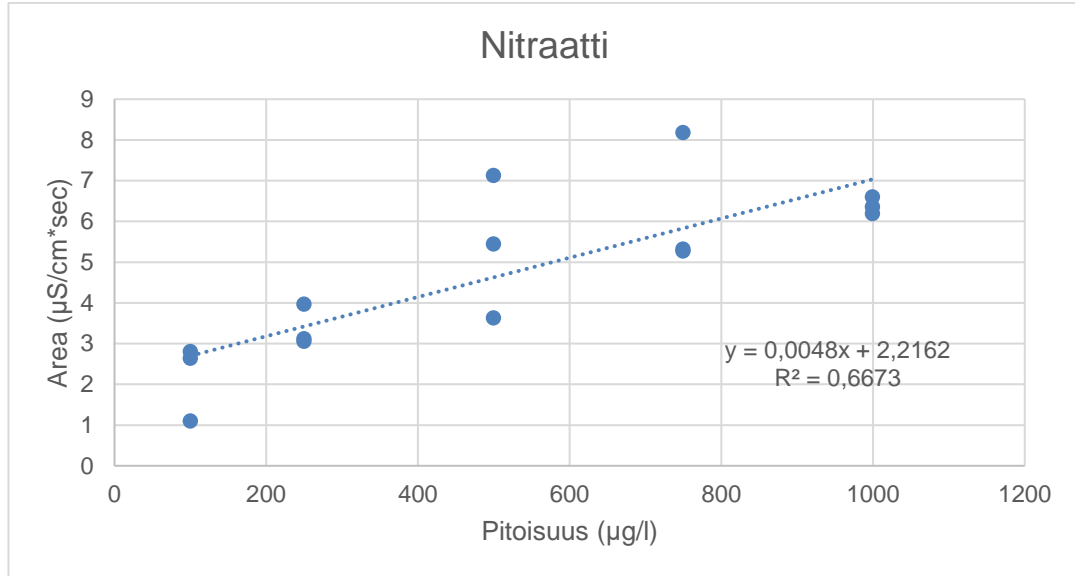


Kuvio 3. Kloridin standardisuora 0,1-1 mg/l

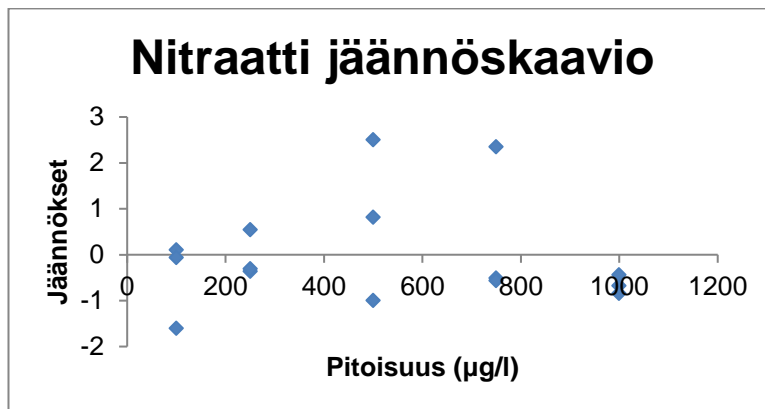


Kuvio 4. Kloridin jäännöskaavio 0,1-1 mg/l

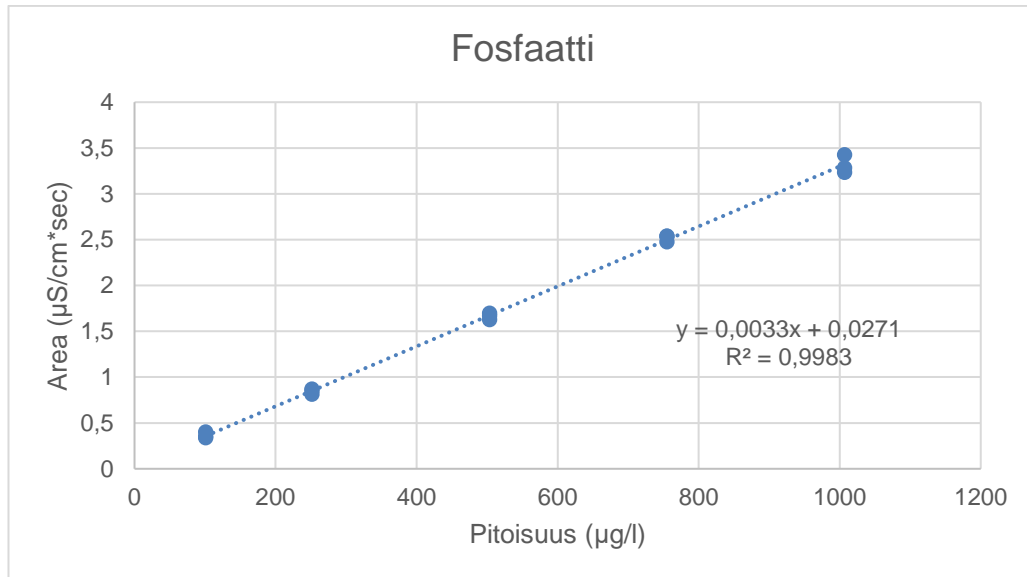




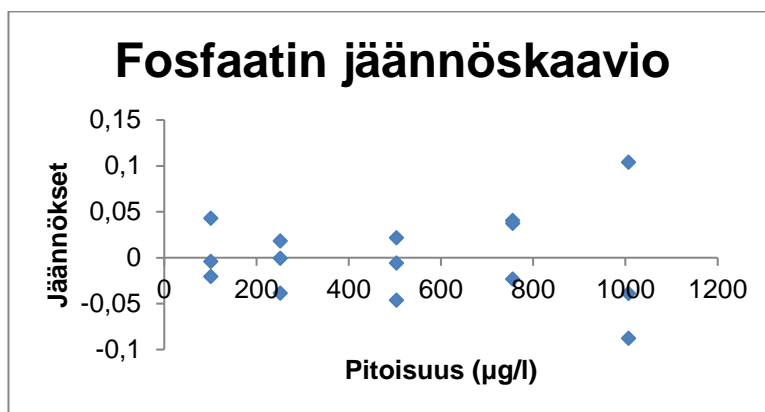
Kuvio 5. Nitraatin standardisuora 0,1-1 mg/l



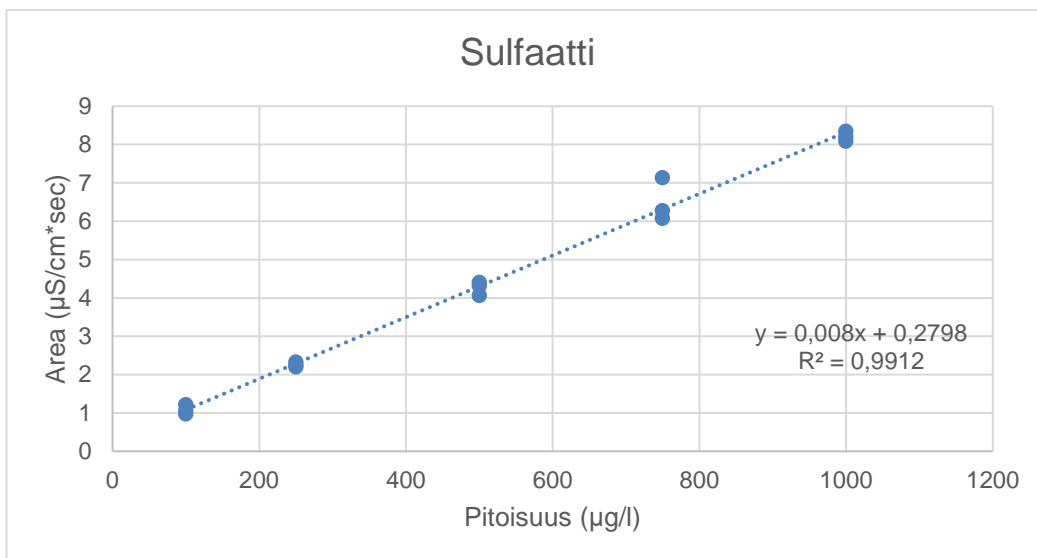
Kuvio 6. Nitraatin jäännöskaavio 0,1-1 mg/l



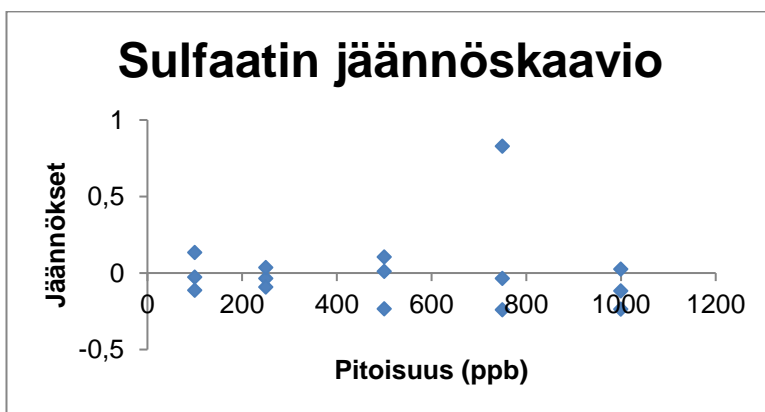
Kuvio 7. Fosfaatin standardisuora 0,1-1 mg/l



Kuvio 8. Fosfaatin jäännöskaavio 0,1-1 mg/l



Kuvio 9. Sulfaatin standardisuora 0,1-1 mg/l

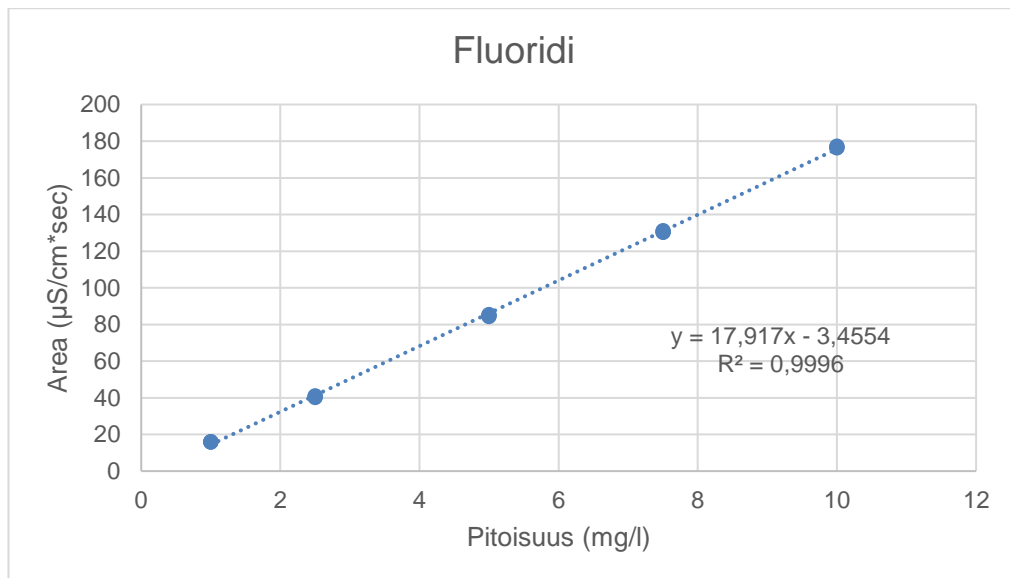


Kuvio 10. Sulfaatin jäännöskäivio 0,1-1 mg/l

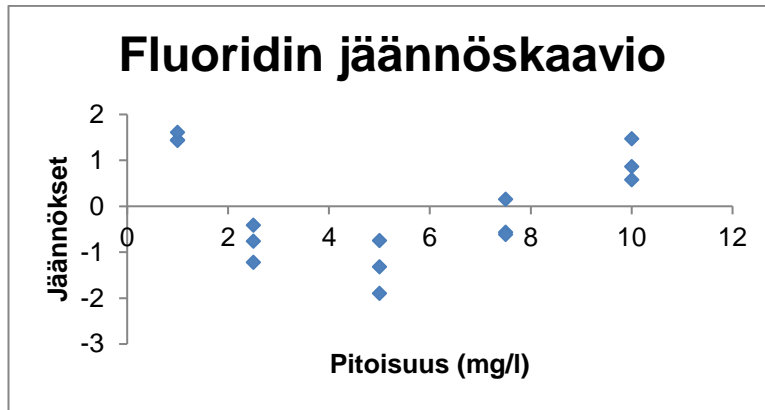
Anionit fluoridi, kloridi, fosfaatti ja sulfaatti täyttivät kaikki lineaarisuuden vaatimukset mittausalueella 1-10 mg/l. Näiden anionien korrelaatiokertoimen neliö oli suurempi kuin 0,99 ja residuaalit jakautuivat tasaisesti viivan molemmille puolille. Nitraatin korrelaatiokertoimen neliö oli yli 0,99, mutta residuaalit eivät jakautuneet tasaisesti. Lineaarisuuden tulokset mittausalueella 1-10 mg/l ovat taulukossa 5. Anionien standardisuorat ja jäännöskäiviot mittausalueella 1-10 mg/l ovat kuvioissa 11-20. Lineaarisuusmittauksien mittaus-tulokset mittausalueella 1-10 mg/l ovat liitteessä 2.

Taulukko 5. Lineaarisuuden tulokset 1-10 mg/l

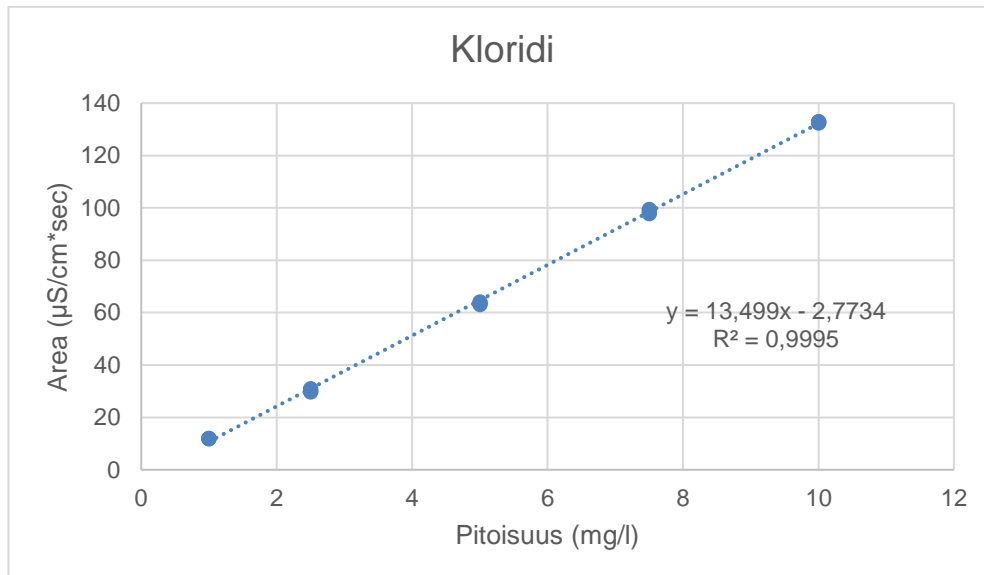
| Anioni    | R <sup>2</sup> -arvo | Residuaalit<br>tasaisesti<br>jakautuneet | Hyväksytty/Hylätty |
|-----------|----------------------|--|--------------------|
| Fluoridi  | 0,9998               | Kyllä                                    | Hyväksytty         |
| Kloridi   | 0,9995               | Kyllä                                    | Hyväksytty         |
| Nitraatti | 0,999                | Ei                                       | Hylätty            |
| Fosfaatti | 0,9995               | Kyllä                                    | Hyväksytty         |
| Sulfaatti | 0,9999               | Kyllä                                    | Hyväksytty         |



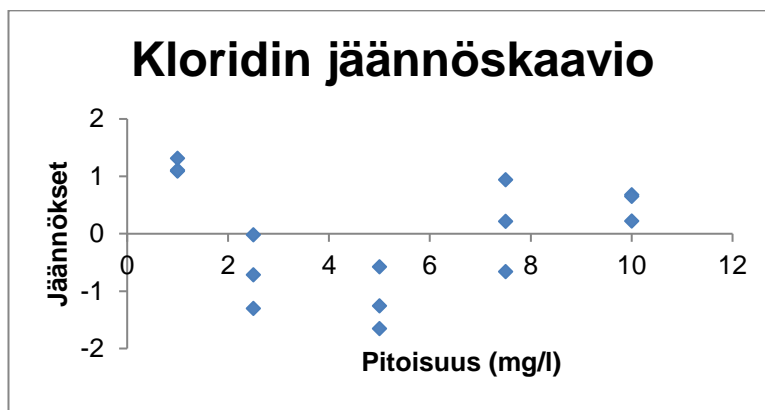
Kuvio 11. Fluoridin standardisuora 1-10 mg/l



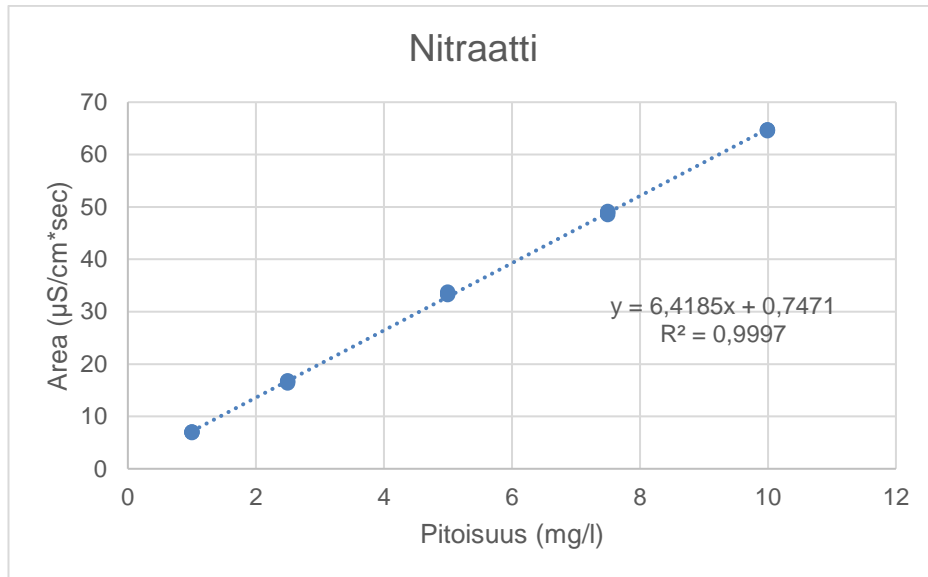
Kuvio 12. Fluoridin jäännöskaavio 1-10 mg/l



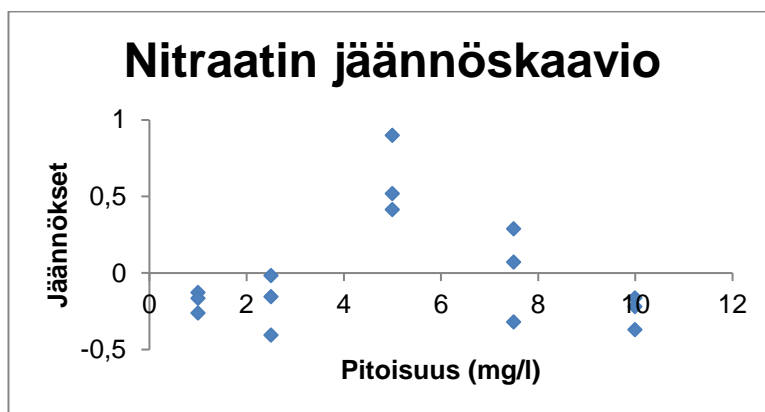
Kuvio 13. Kloridin standardisuora 1-10 mg/l



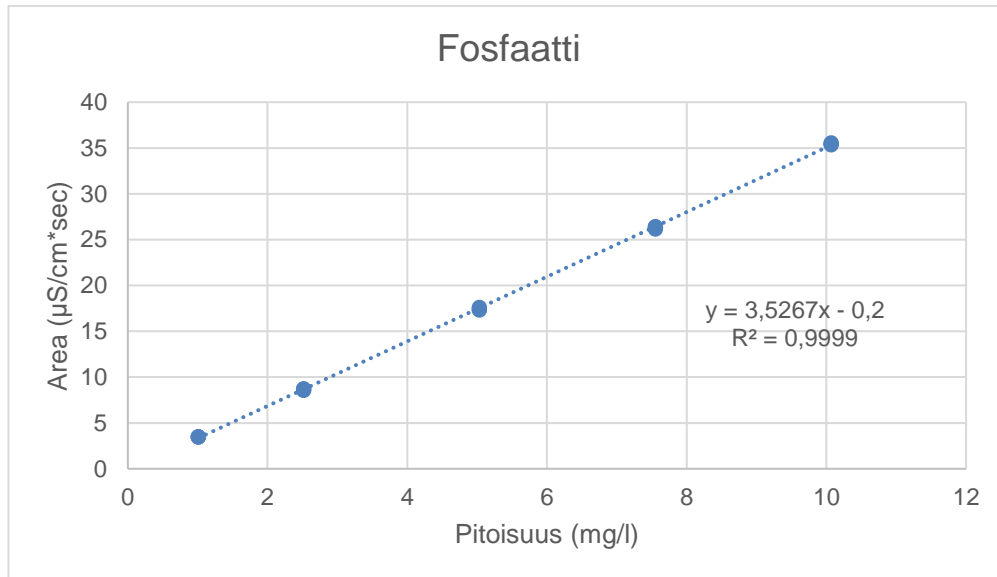
Kuvio 14. Kloridin jäännöskaavio 1-10 mg/l



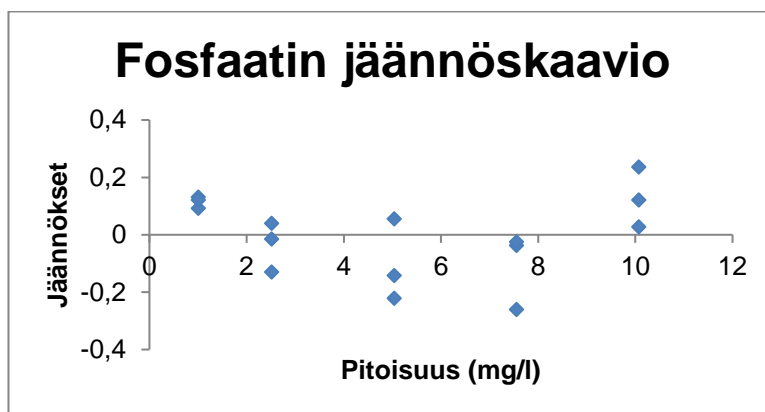
Kuvio 15. Nitraatin standardisuora 1-10 mg/l



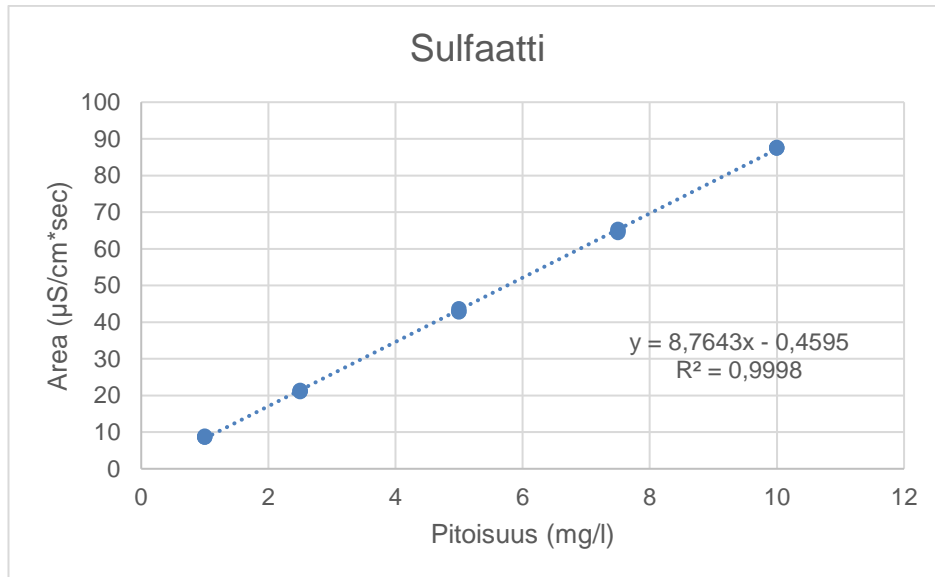
Kuvio 16. Nitraatin jäännöskaavio 1-10 mg/l



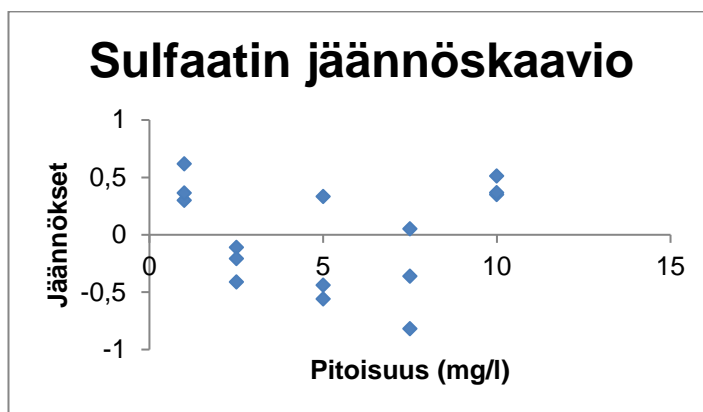
Kuvio 17. Fosfaatin standardisuora 1-10 mg/l



Kuvio 18. Fosfaatin jäännöskaavio 1-10 mg/l



Kuvio 19. Sulfaatin standardisuora 1-10 mg/l



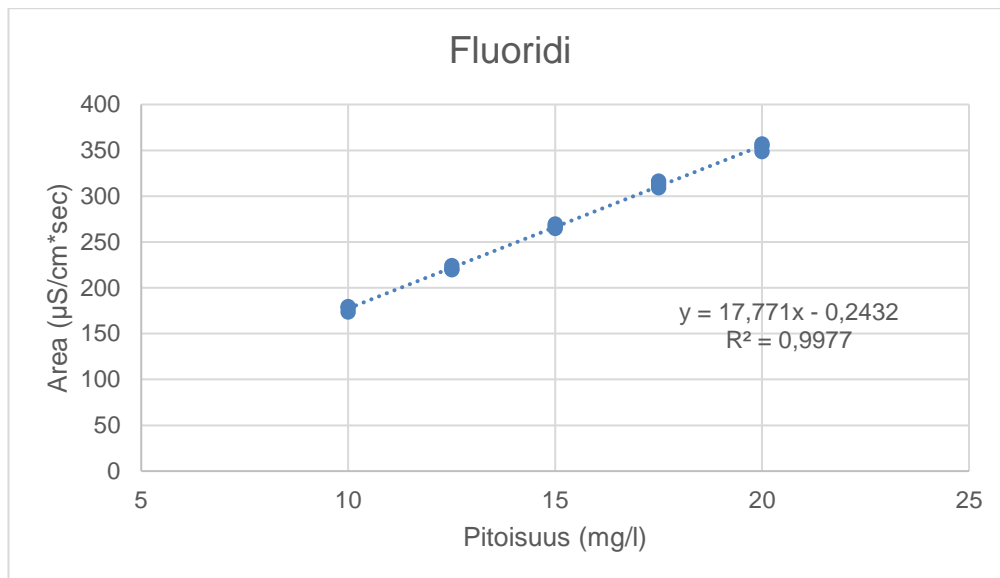
Kuvio 20. Sulfaatin jäännöskaavio 1-10 mg/l

Anionit fluoridi, kloridi, fosfaatti ja sulfaatti täyttivät myös kaikki lineaarisuuden vaatimukset mittausalueella 10-20 mg/l. Kaikkien anionien korrelaatiokertoimen neliö oli suurempi kuin 0,99 ja residuaalit jakoutuivat jokaisella anionilla tasaisesti viivan molemmille puolille. Myöskään 10-20 mg/l pitoisuuksissa nitraatin residuaalit eivät jakautuneet tasaisesti. Lineaarisuuden tulokset mittausalueella 10-20 mg/l ovat taulukossa 6. Anionien standardisuorat ja jäännöskaaviot mittausalueella 10-20 mg/l ovat kuvioissa 21-30. Lineaarisuusmittausten mittaustulokset mittausalueella 10-20 mg/l ovat liitteessä 3.

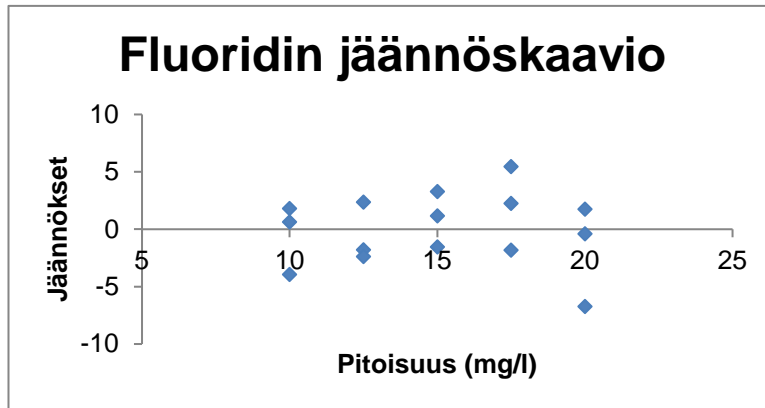


Taulukko 6. Lineaarisuuden tulokset 10-20 mg/l

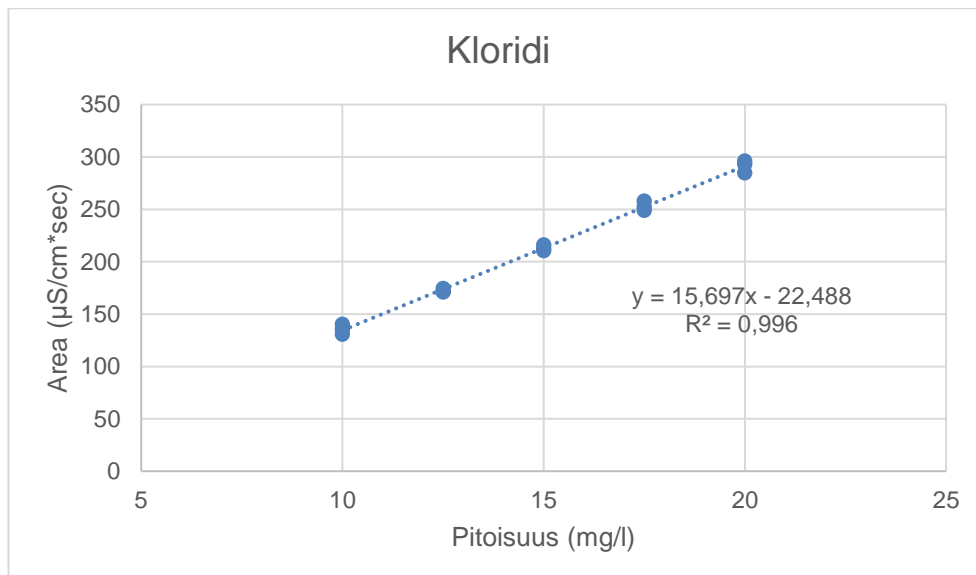
| Anioni    | R <sup>2</sup> -arvo | Residuaalit<br>tasaisesti<br>jakautuneet | Hyväksytty/Hylätty |
|-----------|----------------------|--|--------------------|
| Fluoridi  | 0,9977               | Kyllä                                    | Hyväksytty         |
| Kloridi   | 0,9967               | Kyllä                                    | Hyväksytty         |
| Nitraatti | 0,9928               | Ei                                       | Hylätty            |
| Fosfaatti | 0,9981               | Kyllä                                    | Hyväksytty         |
| Sulfaatti | 0,9976               | Kyllä                                    | Hyväksytty         |



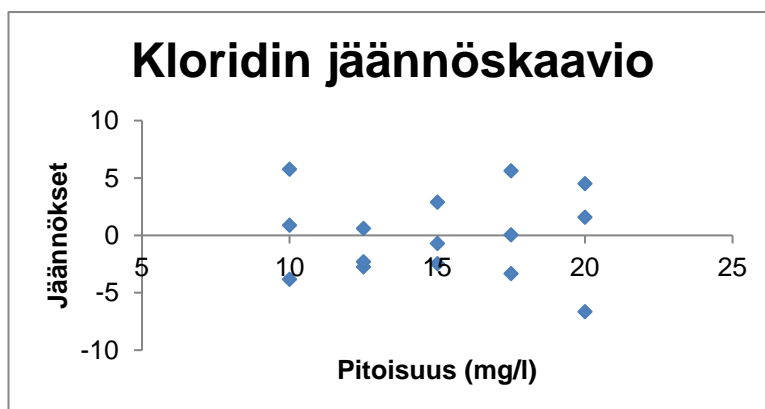
Kuvio 21. Fluoridin standardisuora 10-20 mg/l



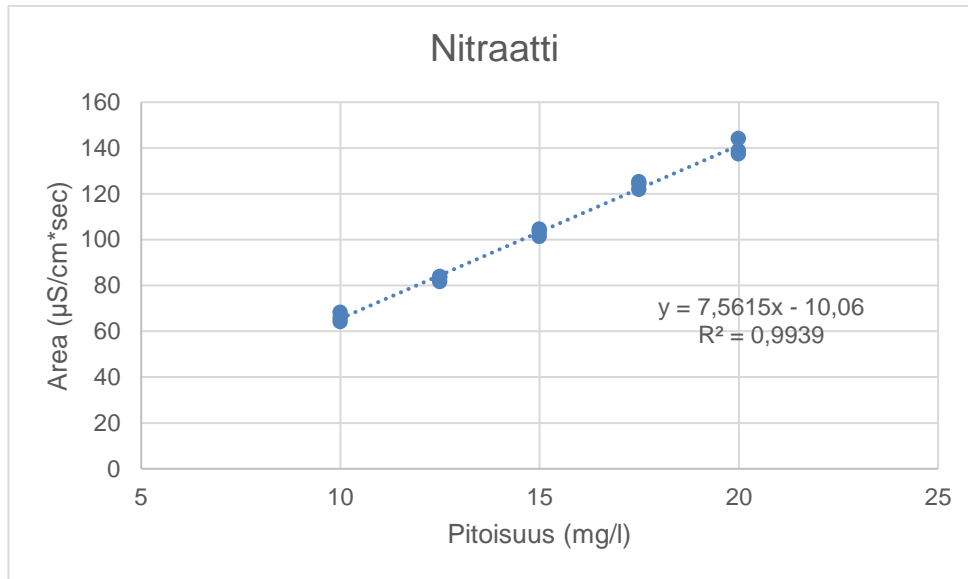
Kuvio 22. Fluoridin jäännöskaavio 10-20 mg/l



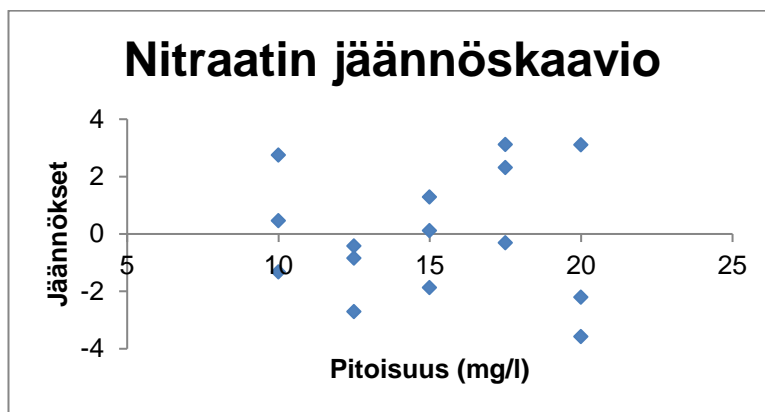
Kuvio 23. Kloridin standardisuora 10-20 mg/l



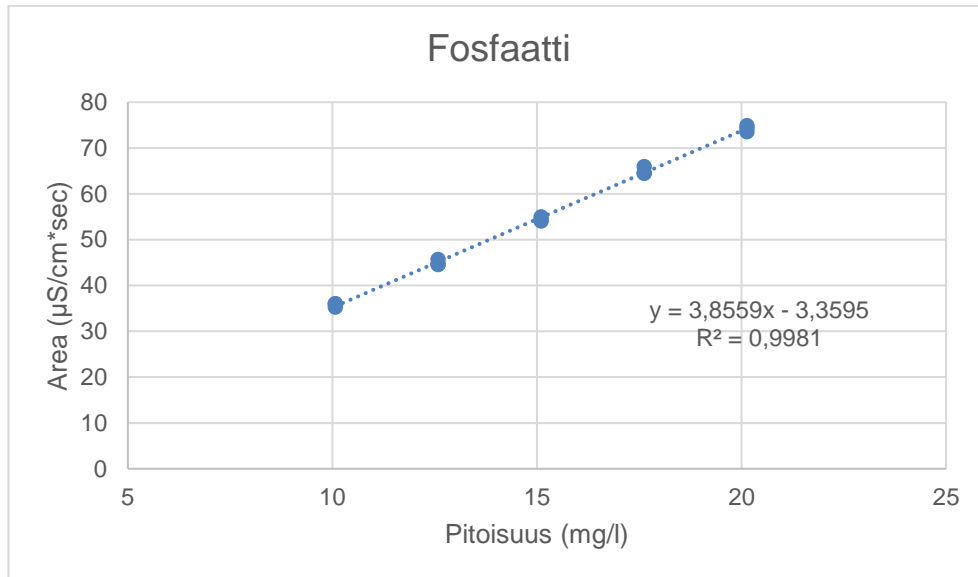
Kuvio 24. Kloridin jäännöskaavio 10-20 mg/l



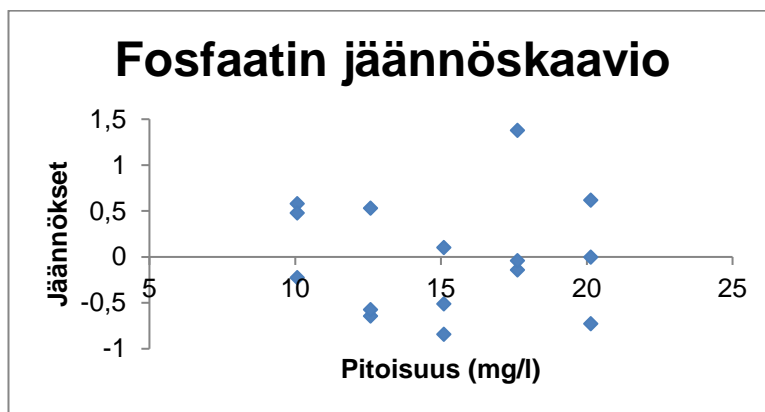
Kuvio 25. Nitraatin standardisuora 10-20 mg/l



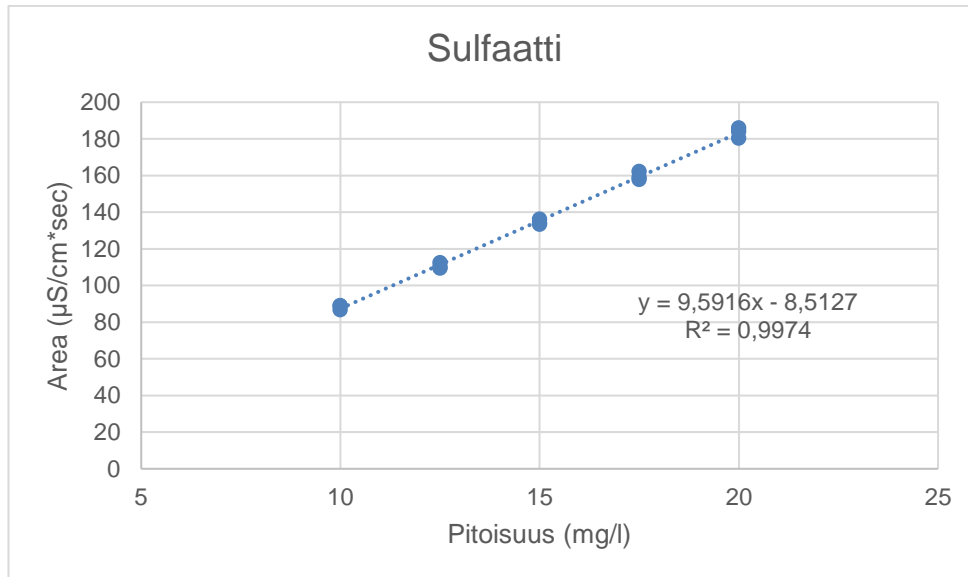
Kuvio 26. Nitraatin jäännöskaavio 10-20 mg/l



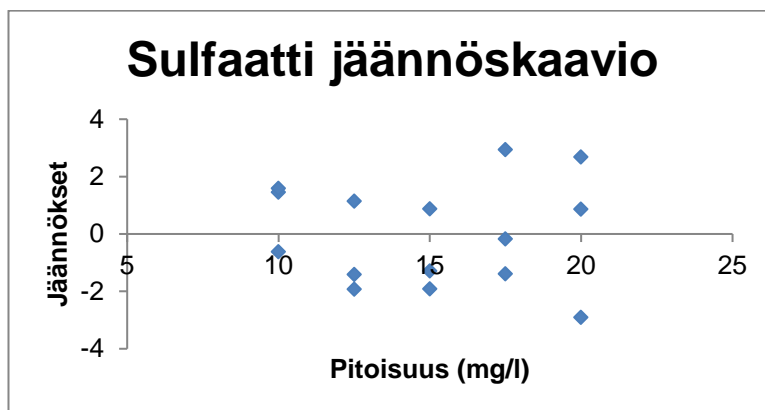
Kuvio 27. Fosfaatin standardisuora 10-20 mg/l



Kuvio 28. Fosfaatin jäännöskaavio 10-20 mg/l



Kuvio 29. Sulfaatin standardisuora 10-20 mg/l



Kuvio 30. Sulfaatin jännöskävio 10-20 mg/l

## 5.2 Toteamis- ja määrittäysraja

ISO 10304-1 -standardissa toteamis- ja määrittäysrajaksi on määritetty 100 µg/l fluoridilla, kloridilla, nitraatilla, fosfaatilla ja sulfaatilla. Toteamisrajoihin vaikuttavat kuitenkin eluentti ja kaikenlaiset havaittavat häiriöt (Suomen ympäristökeskus. 2009).

Toteamis- ja määrittäysrajamittaukset aloitettiin 100 µg/l pitoisuudesta. Pohjaviivan kohinnasta eli eluentin johtokyvystä otettiin ensin kuusi rinnakkaismäärittystä, jonka jälkeen 100 µg/l standardiliuoksesta otettiin kuusi rinnakkaismäärittystä ionikromatografilla. Pohjaviivan kohinnan korkeutta ei suoraan saanut tietokoneelta, joten korkeutta mitattiin viivoitinta apuna käyttäen sovittamalla viivoittimella saadut kohinnan korkeudet

kromatogrammin mitta-asteikkoon. Anionien piikkien korkeudet saatiin suoraan tietokoneelta ionikromatografian ohjelmasta. Toteamisrajalla signaalin ja kohinan suhteen täytyi olla suurempi, kuin 3 ja määritysrajalla suurempi kuin 10. Määritysrajalla piikin ja kohinan suhteen lisäksi mittausten toistettavuuden suhteellisen keskihajonnan (CV%) piti olla alle 2 %. Kaikkien anionien määritysrajat eivät 100 µg/l pitoisuudella täyttäneet tarvittavia vaatimuksia. Tämän vuoksi toteamis- ja määritysrajamittauksia suoritettiin myös pitoisuuksista 250 µg/l, 500 µg/l, 750 µg/l sekä 1 mg/l.

Toteamisrajan vaatimukset täyttyivät kaikilla anioneilla 100 µg/l pitoisuudessa, mutta määritysrajan vaatimukset eivät täyttyneet yhdelläkään anionilla. Fluoridin, kloridin, nitraatin ja sulfaatin signaalin ja kohinan suhteet täyttivät toteamis- ja määritysrajan vaatimukset 100 µg/l pitoisuudessa, mutta toistettavuuden CV% oli kaikilla anioneilla yli 2 %. Fosfaatin signaalin ja kohinan suhde ei täyttänyt määritysrajan vaatimuksia vielä 100 µg/l pitoisuudessa. 250 µg/l pitoisuudessa fluoridin ja sulfaatin toistettavuuden vaatimukset täyttyivät. Fosfaatin signaalin ja kohinan suhde täytti vaatimukset myös 250 µg/l pitoisuudessa. Kyseisessä pitoisuudessa fosfaatin, kloridin ja nitraatin toistettavuus ei kuitenkaan vielä täyttänyt vaatimuksia. 500 µg/l pitoisuudessa fosfaatin toistettavuus täytti tarvittavat vaatimukset. Kloridin toistettavuuden vaatimukset täyttyivät 750 µg/l pitoisuudessa ja nitraatin 1 mg/l pitoisuudessa. Toteamis- ja määritysrajatestien tulokset ovat taulukossa 7. Toteamis- ja määritysrajamittauksien mittaustulokset ovat liitteessä 4.

Taulukko 7. Toteamis- ja määritysrajatestien tulokset

| Pitoisuudet ja mittaukset | LOD & LOQ |         |           |           |           |
|---------------------------|-----------|---------|-----------|-----------|-----------|
|                           | Fluoridi  | Kloridi | Nitraatti | Fosfaatti | Sulfaatti |
| 100 µg/l                  |           |         |           |           |           |
| S/N                       | 102,37    | 68,23   | 34,06     | 9,11      | 23,55     |
| RSD%                      | 2,44      | 3,71    | 6,42      | 6,16      | 3,57      |
| 250 µg/l                  |           |         |           |           |           |
| S/N                       | 198,06    | 130,18  | 48,14     | 17,93     | 42,3      |
| RSD%                      | 0,7       | 2,59    | 4,66      | 3,39      | 1,06      |
| 500 µg/l                  |           |         |           |           |           |
| RSD%                      | 0,97      | 2,23    | 5,13      | 1,03      | 0,6       |
| 750 µg/l                  |           |         |           |           |           |
| RSD%                      | 0,75      | 1,57    | 6,88      | 0,63      | 1,37      |
| 1 mg/l                    |           |         |           |           |           |
| RSD%                      | 0,51      | 0,45    | 0,33      | 0,81      | 0,39      |

### 5.3 Selektiivisyys

Jokaisen anionin selektiivisyys laskettiin lineaarisuuden mittauksien tuloksista. Selektiivisyys laskettiin jokaiselle anionille 5 mg/l ja 20 mg/l pitoisuuksien kromatogrammeista. Mittaustuloksista laskettiin pohjaluku, resoluutio ja symmetrisyystekijä anionien retentioaikojen ja piikkien korkeuksien sekä leveyksien ja puolileveyksien avulla.

Selektiivisyyttä arvioitiin laskemalla kolonnin teoreettisten pohjien lukumäärä, resoluutio sekä kapasiteettitekijä. Pohjaluvun piti olla mahdollisimman suuri, resolution suurempi kuin yksi ja kapasiteetti tekijän  $1 \pm 0,2$ . Kaikki arvot täyttivät tarvittavat vaatimukset molemmilla pitoisuuksilla. Taulukoissa 8 ja 9 ovat selektiivisyyslaskujen tulokset. Selektiivisyysmittauksien mittaustulokset ovat liitteessä 5.

Taulukko 8. 5 mg/l selektiivisyyden tulokset

| Selektiivisyys                      | Fluoridi | Kloridi | Nitraatti | Fosfaatti | Sulfaatti | Optimiarvot                                 |
|-------------------------------------|----------|---------|-----------|-----------|-----------|---|
| Teoreettisten pohjien lukumäärä (N) | 3605,6   | 8651,6  | 12953,7   | 12909,1   | 16169,2   | mitä suurempi luku sitä tehokkaampi kolonni |
| Resoluutio (R)                      | 8,2      | 15,5    | 8,1       | 3,4       | -         | > 1   |
| Symmetrisyystekijä (T)              | 1,0      | 1,0     | 1,0       | 1,0       | 1,0       | $1 \pm 0,2$                                 |

Taulukko 9. 20 mg/l selektiivisyyden tulokset

| Selektiivisyys                      | Fluoridi | Kloridi | Nitraatti | Fosfaatti | Sulfaatti | Optimiarvot                                 |
|-------------------------------------|----------|---------|-----------|-----------|-----------|---|
| Teoreettisten pohjien lukumäärä (N) | 3605,6   | 10681,0 | 12953,7   | 12775,7   | 29280,1   | mitä suurempi luku sitä tehokkaampi kolonni |
| Resoluutio (R)                      | 8,7      | 16,2    | 7,9       | 4,4       | -         | > 1   |
| Symmetrisyystekijä (T)              | 1,0      | 1,0     | 1,2       | 1,0       | 1,1       | $T = 1 \pm 0,2$                             |

### 5.4 Toistettavuus

Toistettavuuden mittaukset aloitettiin pitoisuuksista 100 µg/l, 5 mg/l ja 20 mg/l. Jokaista standardiliuosta valmistettiin 50 ml, riittävästi kuuteen rinnakkaismääritykseen. Jokaisesta standardiliuoksesta otettiin kuusi rinnakkaismääritystä ja mittaustuloksina saaduista piikkien pinta-aloista laskettiin keskiarvo, keskihajonta sekä suhteellinen

keskihajonta. Toistettavuutta arvioitiin suhteellisen keskihajonnan avulla, jonka piti olla alle 2 %. Kaikkien anionien toistettavuudet pitoisuuksista 5 mg/l ja 20 mg/l täyttivät vaatimukset. Anionien 5 mg/l toistettavuuden tulokset ovat taulukossa 10 ja 20 mg/l toistettavuuden tulokset taulukossa 11.

Taulukko 10. Toistettavuuden tulokset 5 mg/l

| Toistettavuus 5 mg/l |      |
|----------------------|------|
| Anioni               | RSD% |
| Fluoridi             | 0,54 |
| Kloridi              | 0,96 |
| Nitraatti            | 0,51 |
| Fosfaatti            | 0,76 |
| Sulfaatti            | 0,69 |

Taulukko 11. Toistettavuuden tulokset 20 mg/l

| Toistettavuus 20 mg/l |      |
|-----------------------|------|
| Anioni                | RSD% |
| Fluoridi              | 0,56 |
| Kloridi               | 0,98 |
| Nitraatti             | 1,55 |
| Fosfaatti             | 1,17 |
| Sulfaatti             | 1,06 |

100 µg/l:n pitoisuudessa yksikään anioni ei täyttänyt toistettavuuden vaatimuksia. 250 µg/l:n pitoisuudessa fluoridi ja sulfaatti täyttivät toistettavuuden vaatimukset. 500 µg/l:n pitoisuudessa fosfaatti ja 750 µg/l:n pitoisuudessa kloridi täyttivät toistettavuuden vaatimukset. Nitraatti täytti vaatimukset vasta 1 mg/l:n pitoisuudessa. Toistettavuuden tulokset pitoisuuksista 100 µg/l - 1 mg/l ovat taulukoissa 12-16. Kaikki toistettavuusmittauksien mittaustulokset ovat liitteessä 6.



Taulukko 12. Toistettavuuden tulokset 100 µg/l

| Toistettavuus 100 µg/l |      |
|------------------------|------|
| Anioni                 | RSD% |
| Fluoridi               | 2,44 |
| Kloridi                | 3,71 |
| Nitraatti              | 6,42 |
| Fosfaatti              | 6,16 |
| Sulfaatti              | 3,57 |

Taulukko 13. Toistettavuuden tulokset 250 µg/l

| Toistettavuus 250 µg/l |      |
|------------------------|------|
| Anioni                 | RSD% |
| Fluoridi               | 0,70 |
| Kloridi                | 2,59 |
| Nitraatti              | 4,66 |
| Fosfaatti              | 3,39 |
| Sulfaatti              | 1,06 |

Taulukko 14. Toistettavuuden tulokset 500 µg/l

| Toistettavuus 500 µg/l |      |
|------------------------|------|
| Anioni                 | RSD% |
| Fluoridi               | 0,97 |
| Kloridi                | 2,23 |
| Nitraatti              | 5,13 |
| Fosfaatti              | 1,03 |
| Sulfaatti              | 0,60 |

Taulukko 15. Toistettavuuden tulokset 750 µg/l

| Toistettavuus 750 µg/l |      |
|------------------------|------|
| Anioni                 | RSD% |
| Fluoridi               | 0,75 |
| Kloridi                | 1,57 |
| Nitraatti              | 6,88 |
| Fosfaatti              | 0,63 |
| Sulfaatti              | 1,37 |

Taulukko 16. Toistettavuuden tulokset 1 mg/l

| Toistettavuus 1 mg/l |      |
|----------------------|------|
| Anioni               | RSD% |
| Fluoridi             | 0,51 |
| Kloridi              | 0,45 |
| Nitraatti            | 0,33 |
| Fosfaatti            | 0,81 |
| Sulfaatti            | 0,39 |

### 5.5 Oikeellisuus

Menetelmän oikeellisuutta tarkasteltiin saantokokeilla. Oikeellisuus määritettiin näytteestä kloridille ja sulfaatille. Näyte ei sisältänyt muita anioneita, joten oikeellisuutta ei määritetty muille anioneille. Oikeellisuutta tarkkailtiin anionien mittausalueen määrittämisrajalla.

Kloridin oikeellisuutta mitattiin 1:25 näytelaimennoksista, jotka valmistettiin 25 ml:n mittapulloihin. 1:25 näytelaimennoksia valmistettiin kuusi rinnakkaista ja vielä kuusi samantyyppistä näytelaimennosta, mutta niihin lisättiin 0,75 ml 10 mg/l:n standardiliuosta. Tällöin standardiliuoksen pitoisuus näytelaimennoksessa oli 750 µg/l. Näytelaimennokset mitattiin ionikromatografilla ja tuloksista laskettiin kloridin saantoprosentit.

Sulfaatin oikeellisuutta mitattiin 1:5 näytelaimennoksesta, jotka valmistettiin 25 ml:n mittapulloihin. 1:5 näytelaimennoksia valmistettiin kuusi rinnakkaista ja toiset kuusi samantyyppistä näytelaimennosta, joihin lisättiin jokaiseen 1,25 ml 5 mg/l:n standardiliuosta. Tällöin standardiliuoksen pitoisuus näytelaimennoksessa oli 250 µg/l. Näytelaimennokset mitattiin ionikromatografilla ja tuloksista laskettiin sulfaatin saantoprosentit.

Oikeellisuus määrittämisrajalla täytti vaatimukset kloridilla sekä sulfaatilla. Vaatimuksina oli, että saantoprosentti olisi 95-105 %. Kloridilla kuuden rinnakkaisen määrittämisrajalla saantoprosentin keskiarvo oli 98,9 %. Sulfaatilla kuuden rinnakkaisen määrittämisrajalla saantoprosentin keskiarvo oli 97,9 %. Taulukoissa 17 ja 18 ovat kloridin ja sulfaatin oikeellisuustestien tulokset. Oikeellisuustestien mittaustulokset ovat liitteessä 7.

Taulukko 17. Kloridin oikeellisuustestien tulokset

| Oikeellisuus | Näyte Kloridi (Area) | Kloridin teoreettinen saanto (mg/l) | 750 µg/l std (Area) | Näyte Kloridi + std lisäys | Kloridin todellinen saanto (Area) | Todellinen saanto (mg/l) | Saanto%      |
|--------------|----------------------|-------------------------------------|---------------------|----------------------------|-----------------------------------|--------------------------|--------------|
| ka           | 32,64                | 2,61                                | 10,35               | 42,59                      | 32,24                             | 2,58                     | <b>98,88</b> |

Taulukko 18. Sulfaatin oikeellisuustestien tulokset

| Oikeellisuus | Näyte Sulfaatti (Area) | Sulfaatin teoreettinen saanto (µg/l) | 250 µg/l std (Area) | Näyte Sulfaatti + std lisäys | Sulfaatin todellinen saanto (Area) | Todellinen saanto (µg/l) | Saanto%      |
|--------------|------------------------|--------------------------------------|---------------------|------------------------------|------------------------------------|--------------------------|--------------|
| ka           | 6,41                   | 740,94                               | 2,19                | 8,47                         | 6,28                               | 725,06                   | <b>97,88</b> |

## 6 YHTEENVETO JA POHDINTA

Työn tavoitteena oli anionien määrittämenetelmän validointi 792 Basic IC – ionikromatografilla. Menetelmällä mitattiin vesimatriisinäytteitä sekä standardinäytteitä ja tutkittiin samalla laitteiston toimintakykyä.

Validoinnin perusteella anionien määrittämenetelmä on toimiva fluoridin, kloridin, fosfaatin ja sulfaatin osalta. Mittaustulokset olivat toistettavia, niiden selektiivisyys oli hyvä. Kloridin ja sulfaatin oikeellisuustestien perusteella saatiin näytteestä luotettavia mittaustuloksia. Toteamis- ja määrittärajat nousivat kuitenkin korkeiksi fosfaatilla ja kloridilla. Nitraatin osalta menetelmää ei voida pitää luotettavana, koska residuaalit eivät koko mitausalueella jakautuneet tasaisesti. Alhaisissa pitoisuuksissa nitraatin arvot myös heittelivät suuresti.

Ionivaihdettuja vesinäytteitä ajettaessa kromatogrammeista pystyi näkemään ainionijäämät kolonnissa. Kolonnin regeneroinnilla anionijäämät saataisiin liikkeelle ja poistettua kolonnista. Kolonnin regenerointi kuitenkin lyhentää kolonnin käyttöikä. Jos kolonnin käyttöikä halutaan pidentää, kannattaa määrittäyksissä käyttää esikolonnia, joka suojaa varsinaista kolonnia ja pidentää näin ollen sen käyttöikä. Validoinnissa ei käytetty esikolonnia, koska esikolonne heikentää mittaustuloksia. Kolonnin vaihdolla voi olla myös vaikutusta mittaustuloksiin. Validoinnissa käytetty kolonne otettiin käyttöön juuri ennen validoinnin suorittamista, joten en kuitenkaan usko kolonnin vaihdon vaikuttavan merkittävästi mittaustuloksiin.

Kokonaisuutena kuitenkin Metrohmin 792 Basic IC – ionikromatografi osoitti toimivuu- tensa fluoridin, kloridin, fosfaatin ja sulfaatin pitoisuuksia määrittäessä vesimatriisinäyt- teistä. Nitraatin osalta menetelmä ei osoittautunut toimivaksi. Ionikromatografi on kui- tenki jo suhteellisen vanha ja käsikäyttöinen injektointi on suhteellisen hankala verrat- tuna nykyaikaisiin automaattisiin näytteesyöttöjärjestelmiin.

## 7 LÄHTEET

Bliesner, D. 2006. Validating chromatographic methods. Hoboken, New Jersey. John Wiley & Sons, Inc. [http://www.idqc-hcm.gov.vn/images/docs/departments/reference\\_substances/validating\\_chromatographic\\_methods\\_a\\_practical\\_guide.pdf](http://www.idqc-hcm.gov.vn/images/docs/departments/reference_substances/validating_chromatographic_methods_a_practical_guide.pdf)

Charles, A. Lucy. Panos Hatsis. 2004. Chromatography 6th edition: fundamentals and applications of chromatography and related differential migration methods. Chapter 4 Ion chromatography. Kirja.

Daniel C. Harris. 2002. Quantitative Chemical Analysis, 6<sup>th</sup> edition. W. H. Freeman and Company

Hiltunen, E. Linko, L. Hemminki, S. Hägg, M. Järvenpää, E. Saarinen, P. Simonen, S. Kärhä, P. 2011. Laadukkaan mittaamisen perusteet. Espoo. Metrologian neuvottelukunta ja Mittatekniikan keskus, MIKES. <https://www.vtt.fi/inf/pdf/MIKES/2011-J4.pdf>

Heinonen, V. 2015. Kaasukromatografisen menetelmän kehittäminen ja alustava validointi polymeerimateriaalien laktidipitoisuuden määrittämiseksi. Diplomityö.

Hägg, M. 2016. Validoinnin suunnittelun opas. Suomi: Teknologian tutkimuskeskus VTT Oy. <https://www.vtt.fi/inf/pdf/technology/2016/T276.pdf>

Hänninen, H. Ruismäki, M. Seikola, A. Slöör, S. 2012. Laboratoriotyön perusteet. Kirja. Porvoo.

Kähkönen, O. 2012. DIONEX ICS-5000 – laitteen käyttöönotto ja validointi. Opinnäytetyö. Oulun seudun ammattikorkeakoulu. Laboratorioalan koulutusohjelma.

Metrohm AG 2010-2020. nettisivu. <http://ic.metrohm.dk/fi-fi>

Mäkinen, I. Suortti, A. Saares, R. Niemi, R. Marjanen, J. 1996. Ohjeita ympäristönäytteiden kemiallisten analyysimenetelmien validointiin. Analyysimenetelmien validointiohjeet. Helsinki. Suomen ympäristökeskus.

Passoja, P. 2008. Ioniliuosten tutkiminen ionikromatografialla. Opinnäytetyö. Keski-Pohjanmaan ammattikorkeakoulu. Kemiantelekniikan koulutusohjelma.

Suomen ympäristökeskus. 2009. Water quality - Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions - Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1)

Särelä, P. 2013. Ionikromatografian käyttöönotto ja osittainen validointi. Opinnäytetyö. Tampereen ammattikorkeakoulu. Laboratorioalan koulutusohjelma.

792 Basic IC Instructions for use. 2001. Metrohm ion analysis.

## Liite 1. Linearisuusmittauksien mittaustulokset 0,1-1 mg/l

Liite 1. Taulukko 1. Linearisuusmittauksien mittaustulokset 0,1-1 mg/l

| Fluoridi         |                  | Kloridi          |                  | Nitraatti        |                  | Fosfaatti        |                  | Sulfaatti        |                  |
|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Pitoisuus (µg/l) | Area (µS/cm*sec) | Pitoisuus (µg/l) | Area (µS/cm*sec) | Pitoisuus (µg/l) | Area (µS/cm*sec) | Pitoisuus (µg/l) | Area (µS/cm*sec) | Pitoisuus (µg/l) | Area (µS/cm*sec) |
| 100,005          | 2,12099          | 99,999           | 2,0782           | 99,931           | 2,80518          | 100,681          | 0,352598         | 99,9588          | 1,05692          |
| 250,013          | 4,29588          | 249,998          | 4,27198          | 249,828          | 3,96671          | 251,703          | 0,812187         | 249,897          | 2,25452          |
| 500,025          | 7,7304           | 499,99           | 6,2445           | 499,655          | 7,12886          | 503,405          | 1,66862          | 499,794          | 4,30984          |
| 750,038          | 11,4396          | 749,993          | 8,94382          | 749,483          | 8,18301          | 755,108          | 2,47468          | 749,691          | 6,27466          |
| 1000,05          | 15,3584          | 999,99           | 11,2966          | 999,31           | 6,35792          | 1006,81          | 3,23394          | 999,588          | 8,20445          |
| 100,005          | 1,92878          | 99,999           | 1,44447          | 99,931           | 1,09515          | 100,681          | 0,336301         | 99,9588          | 0,969966         |
| 250,013          | 4,00487          | 249,998          | 3,0659           | 249,828          | 3,05865          | 251,703          | 0,85015          | 249,897          | 2,32489          |
| 500,025          | 7,96652          | 499,99           | 6,07382          | 499,655          | 5,44243          | 503,405          | 1,69603          | 499,794          | 4,40404          |
| 750,038          | 11,6196          | 749,993          | 8,45721          | 749,483          | 5,32014          | 755,108          | 2,53854          | 749,691          | 7,13859          |
| 1000,05          | 15,2476          | 999,99           | 11,2643          | 999,31           | 6,59796          | 1006,81          | 3,4258           | 999,588          | 8,34608          |
| 100,005          | 1,97317          | 99,999           | 1,99588          | 99,931           | 2,63925          | 100,681          | 0,399745         | 99,9588          | 1,21794          |
| 250,013          | 4,15505          | 249,998          | 3,30721          | 249,828          | 3,11651          | 251,703          | 0,868892         | 249,897          | 2,19707          |
| 500,025          | 7,59387          | 499,99           | 5,67409          | 499,655          | 3,63226          | 503,405          | 1,62805          | 499,794          | 4,06599          |
| 750,038          | 11,4711          | 749,993          | 8,46182          | 749,483          | 5,27099          | 755,108          | 2,53536          | 749,691          | 6,07078          |
| 1000,05          | 15,2404          | 999,99           | 11,2725          | 999,31           | 6,19397          | 1006,81          | 3,28268          | 999,588          | 8,08482          |

## Liite 2. Linearisuusmittauksien mittaustulokset 1-10 mg/l

Liite 2. Taulukko 1. Linearisuusmittauksien mittaustulokset 1-10 mg/l

| Fluoridi         |  | Kloridi          |  | Nitraatti        |  | Fosfaatti        |  | Sulfaatti        |  |
|------------------|--|------------------|--|------------------|--|------------------|--|------------------|--|
| Pitoisuus (mg/l) | Area ( $\mu\text{S}/\text{cm}^*\text{sec}$ ) | Pitoisuus (mg/l) | Area ( $\mu\text{S}/\text{cm}^*\text{sec}$ ) | Pitoisuus (mg/l) | Area ( $\mu\text{S}/\text{cm}^*\text{sec}$ ) | Pitoisuus (mg/l) | Area ( $\mu\text{S}/\text{cm}^*\text{sec}$ ) | Pitoisuus (mg/l) | Area ( $\mu\text{S}/\text{cm}^*\text{sec}$ ) |
| 1,00005          | 15,9048                                      | 0,99999          | 11,8169                                      | 0,99931          | 7,03412                                      | 1,00681          | 3,44306                                      | 0,999588         | 8,60133                                      |
| 2,50013          | 40,1193                                      | 2,49998          | 29,6691                                      | 2,49828          | 16,378                                       | 2,51703          | 8,54772                                      | 2,49897          | 21,0328                                      |
| 5,00025          | 84,234                                       | 4,9999           | 63,0667                                      | 4,99655          | 33,2323                                      | 5,03405          | 17,333                                       | 4,99794          | 42,7848                                      |
| 7,50038          | 130,366                                      | 7,49993          | 97,8027                                      | 7,49483          | 48,5328                                      | 7,55108          | 26,1699                                      | 7,49691          | 64,4275                                      |
| 10,0005          | 176,3  | 9,9999           | 132,889                                      | 9,9931           | 64,5181                                      | 10,0681          | 35,4285                                      | 9,99588          | 87,4976                                      |
| 1,00005          | 15,8996                                      | 0,99999          | 11,8291                                      | 0,99931          | 6,90024                                      | 1,00681          | 3,4828                                       | 0,999588         | 8,66687                                      |
| 2,50013          | 40,5812                                      | 2,49998          | 30,2537                                      | 2,49828          | 16,6279                                      | 2,51703          | 8,71662                                      | 2,49897          | 21,3332                                      |
| 5,00025          | 84,8122                                      | 4,9999           | 63,4622                                      | 4,99655          | 33,3367                                      | 5,03405          | 17,4118                                      | 4,99794          | 42,9057                                      |
| 7,50038          | 130,314                                      | 7,49993          | 98,6784                                      | 7,49483          | 48,9254                                      | 7,55108          | 26,3935                                      | 7,49691          | 64,8857                                      |
| 10,0005          | 176,59                                       | 9,9999           | 132,433                                      | 9,9931           | 64,7245                                      | 10,0681          | 35,5439                                      | 9,99588          | 87,659                                       |
| 1,00005          | 16,072                                       | 0,99999          | 12,0394                                      | 0,99931          | 6,99734                                      | 1,00681          | 3,47275                                      | 0,999588         | 8,92109                                      |
| 2,50013          | 40,9256                                      | 2,49998          | 30,9509                                      | 2,49828          | 16,766                                       | 2,51703          | 8,66197                                      | 2,49897          | 21,2348                                      |
| 5,00025          | 85,3841                                      | 4,9999           | 64,1398                                      | 4,99655          | 33,717                                       | 5,03405          | 17,6094                                      | 4,99794          | 43,6788                                      |
| 7,50038          | 131,083                                      | 7,49993          | 99,4074                                      | 7,49483          | 49,1422                                      | 7,55108          | 26,4061                                      | 7,49691          | 65,298                                       |
| 10,0005          | 177,194                                      | 9,9999           | 132,86                                       | 9,9931           | 64,6697                                      | 10,0681          | 35,3353                                      | 9,99588          | 87,514                                       |

## Liite 3. Linearisuusmittauksien mittaustulokset 10-20 mg/l

Liite 3. Taulukko 1. Linearisuusmittauksien mittaustulokset 10-20 mg/l

| Fluoridi         |  | Kloridi          |  | Nitraatti        |  | Fosfaatti        |  | Sulfaatti        |  |
|------------------|--|------------------|--|------------------|--|------------------|--|------------------|--|
| Pitoisuus (mg/l) | Area ( $\mu\text{S}/\text{cm}^*\text{sec}$ ) | Pitoisuus (mg/l) | Area ( $\mu\text{S}/\text{cm}^*\text{sec}$ ) | Pitoisuus (mg/l) | Area ( $\mu\text{S}/\text{cm}^*\text{sec}$ ) | Pitoisuus (mg/l) | Area ( $\mu\text{S}/\text{cm}^*\text{sec}$ ) | Pitoisuus (mg/l) | Area ( $\mu\text{S}/\text{cm}^*\text{sec}$ ) |
| 10,0005          | 173,525                                      | 9,9999           | 130,673                                      | 9,9931           | 64,1811                                      | 10,0681          | 35,2371                                      | 9,99588          | 86,7484                                      |
| 12,5006          | 220,121                                      | 12,4999          | 170,989                                      | 12,4914          | 81,6902                                      | 12,5851          | 44,525                                       | 12,4949          | 109,415                                      |
| 15,00075         | 264,794                                      | 14,9999          | 210,514                                      | 14,9897          | 103,406                                      | 15,1022          | 54,3646                                      | 14,9938          | 133,398                                      |
| 17,500875        | 308,929                                      | 17,4998          | 248,907                                      | 17,4879          | 121,872                                      | 17,6192          | 64,4391                                      | 17,4928          | 157,885                                      |
| 20,001           | 348,475                                      | 19,9998          | 284,828                                      | 19,9862          | 138,869                                      | 20,1362          | 73,5581                                      | 19,9918          | 180,338                                      |
| 10,0005          | 178,092                                      | 9,9999           | 135,365                                      | 9,9931           | 65,9668                                      | 10,0681          | 36,0431                                      | 9,99588          | 88,8225                                      |
| 12,5006          | 224,277                                      | 12,4999          | 174,336                                      | 12,4914          | 83,5592                                      | 12,5851          | 45,6997                                      | 12,4949          | 112,481                                      |
| 15,00075         | 269,618                                      | 14,9999          | 215,874                                      | 14,9897          | 101,425                                      | 15,1022          | 54,9753                                      | 14,9938          | 136,178                                      |
| 17,500875        | 316,225                                      | 17,4998          | 257,834                                      | 17,4879          | 125,296                                      | 17,6192          | 65,9564                                      | 17,4928          | 162,216                                      |
| 20,001           | 356,941                                      | 19,9998          | 293,033                                      | 19,9862          | 137,497                                      | 20,1362          | 74,2833                                      | 19,9918          | 184,112                                      |
| 10,0005          | 179,272                                      | 9,9999           | 140,266                                      | 9,9931           | 68,2587                                      | 10,0681          | 35,9408                                      | 9,99588          | 88,9593                                      |
| 12,5006          | 219,512                                      | 12,4999          | 171,435                                      | 12,4914          | 83,9784                                      | 12,5851          | 44,5957                                      | 12,4949          | 109,925                                      |
| 15,00075         | 267,482                                      | 14,9999          | 212,282                                      | 14,9897          | 104,576                                      | 15,1022          | 54,0316                                      | 14,9938          | 134,024                                      |
| 17,500875        | 313,019                                      | 17,4998          | 252,266                                      | 17,4879          | 124,5  | 17,6192          | 64,5403                                      | 17,4928          | 159,1  |
| 20,001           | 354,797                                      | 19,9998          | 295,965                                      | 19,9862          | 144,18                                       | 20,1362          | 74,903                                       | 19,9918          | 185,927                                      |



## Liite 4. Toteamis- ja määrittäysrajamittausten mittaustulokset

Liite 4. Taulukko 1. Toteamis- ja määrittäysrajamittausten mittaustulokset 100 µg/l

19.6.2019

| Pitoisuus 100 µg/l | Korkeus (cm) |         |           |           |           |
|--------------------|--------------|---------|-----------|-----------|-----------|
| Mittaukset         | Fluoridi     | Kloridi | Nitraatti | Fosfaatti | Sulfaatti |
| 1                  | 0,2138       | 0,1400  | 0,0838    | 0,0184    | 0,0514    |
| 2                  | 0,2138       | 0,1529  | 0,0734    | 0,0190    | 0,0498    |
| 3                  | 0,2114       | 0,1358  | 0,0647    | 0,0185    | 0,0472    |
| 4                  | 0,2150       | 0,1392  | 0,0672    | 0,0194    | 0,0482    |
| 5                  | 0,2108       | 0,1486  | 0,0698    | 0,0190    | 0,0495    |
| 6                  | 0,2148       | 0,1364  | 0,0667    | 0,0196    | 0,0483    |
| ka                 | 0,2133       | 0,1422  | 0,0710    | 0,0190    | 0,0491    |

Liite 4. Taulukko 2. Toteamis- ja määrittäysrajamittausten mittaustulokset kohina 19.6.19

19.6.2019

| Kohinan mittaus | Korkeus (cm) |         |           |           |           |
|-----------------|--------------|---------|-----------|-----------|-----------|
| Mittaukset      | Fluoridi     | Kloridi | Nitraatti | Fosfaatti | Sulfaatti |
| 1               | 0,0023       | 0,0023  | 0,0023    | 0,0023    | 0,0023    |
| 2               | 0,0020       | 0,0020  | 0,0020    | 0,0020    | 0,0020    |
| 3               | 0,0021       | 0,0021  | 0,0021    | 0,0021    | 0,0021    |
| 4               | 0,0019       | 0,0019  | 0,0019    | 0,0019    | 0,0019    |
| 5               | 0,0019       | 0,0019  | 0,0019    | 0,0019    | 0,0019    |
| 6               | 0,0023       | 0,0023  | 0,0023    | 0,0023    | 0,0023    |
| ka              | 0,0021       | 0,0021  | 0,0021    | 0,0021    | 0,0021    |

Liite 4. Taulukko 3. Toteamis- ja määrittärajamittauksien mittaustulokset 250 µg/l

14.8.2019

| Pitoisuus 250 µg/l | Korkeus (cm) |         |           |           |           |
|--------------------|--------------|---------|-----------|-----------|-----------|
| Mittaukset         | Fluoridi     | Kloridi | Nitraatti | Fosfaatti | Sulfaatti |
| 1                  | 0,5233       | 0,3463  | 0,1311    | 0,0478    | 0,1112    |
| 2                  | 0,5215       | 0,3414  | 0,1244    | 0,0470    | 0,1106    |
| 3                  | 0,5167       | 0,3506  | 0,1242    | 0,0471    | 0,1109    |
| 4                  | 0,5142       | 0,3313  | 0,1237    | 0,0464    | 0,1097    |
| 5                  | 0,5197       | 0,3346  | 0,1265    | 0,0464    | 0,1103    |
| 6                  | 0,5142       | 0,3397  | 0,1259    | 0,0467    | 0,1114    |
| ka                 | 0,5183       | 0,3406  | 0,1260    | 0,0469    | 0,1107    |

Liite 4. Taulukko 4. Toteamis- ja määrittärajamittauksien mittaustulokset kohina 14.8.19

14.8.2019

| Kohinan mittaus | Korkeus (cm) |         |           |           |           |
|-----------------|--------------|---------|-----------|-----------|-----------|
| Mittaukset      | Fluoridi     | Kloridi | Nitraatti | Fosfaatti | Sulfaatti |
| 1               | 0,0023       | 0,0023  | 0,0023    | 0,0023    | 0,0023    |
| 2               | 0,0023       | 0,0023  | 0,0023    | 0,0023    | 0,0023    |
| 3               | 0,0027       | 0,0027  | 0,0027    | 0,0027    | 0,0027    |
| 4               | 0,0030       | 0,0030  | 0,0030    | 0,0030    | 0,0030    |
| 5               | 0,0025       | 0,0025  | 0,0025    | 0,0025    | 0,0025    |
| 6               | 0,0029       | 0,0029  | 0,0029    | 0,0029    | 0,0029    |
| ka              | 0,0026       | 0,0026  | 0,0026    | 0,0026    | 0,0026    |

## Liite 5. Selektiivisyysmittauksien mittaustulokset

Liite 5. Taulukko 1. Selektiivisyysmittauksien mittaustulokset 5 mg/l

| Selektiivisyys 5 mg/l                            | Fluoridi   | Kloridi    | Nitraatti   | Fosfaatti   | Sulfaatti |
|--|------------|------------|-------------|-------------|-----------|
| Retentioaika tr (min)                            | 3,34338    | 5,21391    | 9,55138     | 12,7523     | 14,3067   |
| Retentioaika tr (mm)                             | 25,5       | 39,5       | 72,5        | 96,5        | 108       |
| Piikin puolikorkeuden leveys w (mm)              | 1          | 1          | 1,5         | 2           | 2         |
| Piikin leveys 10 % korkeudesta W (mm)            | 1,5        | 1          | 2,5         | 4           | 4         |
| Piikin etureunan leveys 10 % korkeudesta Wa (mm) | 0,75       | 0,5        | 1,2         | 2           | 2         |
| Viiveaika tm (mm)                                | 16,5       | 16,5       | 16,5        | 16,5        | 16,5      |
| Todellinen retentioaika tr' (mm)                 | 9          | 23         | 56          | 80          | 91,5      |
| Teoreettisten pohjien lukumäärä (N)              | 3605,63625 | 8651,58625 | 12953,73611 | 12909,10656 | 16169,22  |
| Resoluutio (R)                                   | 8,239      | 15,5364    | 8,070857143 | 3,383875    |           |
| Symmetrisyystekijä (T)                           | 1          | 1          | 1,041666667 | 1           | 1         |

Liite 5. Taulukko 2. Selektiivisyysmittauksien mittaustulokset 20 mg/l

| Selektiivisyys 20 mg/l                           | Fluoridi | Kloridi     | Nitraatti   | Fosfaatti   | Sulfaatti   |
|--|----------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Retentioaika tr (min)                            | 3,3957   | 5,22206     | 9,46552     | 12,643      | 14,3218     |
| Retentioaika tr (mm)                             | 25,5     | 39,5        | 72,5        | 96          | 109         |
| Piikin puolikorkeuden leveys w (mm)              | 1        | 0,9         | 1,5         | 2           | 1,5         |
| Piikin leveys 10 % korkeudesta W (mm)            | 1,8      | 1,5         | 3           | 4           | 4           |
| Piikin etureunan leveys 10 % korkeudesta Wa (mm) | 0,9      | 0,75        | 1,3         | 2           | 1,8         |
| Viiveaika tm (mm)                                | 16,5     | 16,5        | 16,5        | 16,5        | 16,5        |
| Todellinen retentioaika tr' (mm)                 | 9        | 23          | 56          | 79,5        | 92,5        |
| Teoreettisten pohjien lukumäärä (N)              | 3605,64  | 10680,97068 | 12953,73611 | 12775,68    | 29280,06444 |
| Resoluutio (R)                                   | 8,67263  | 16,18375    | 7,902714286 | 4,371714286 |             |
| Symmetrisyystekijä (T)                           | 1        | 1           | 1,153846154 | 1           | 1,111111111 |

## Liite 6. Toistettavuusmittauksien mittaustulokset

Liite 6. Taulukko 1. 4.6.19 Toistettavuusmittauksien mittaustulokset 100 µg/l

4.6.2019

| Toistettavuus | Area (µS/cm*sec) |          |           |           |           |
|---------------|------------------|----------|-----------|-----------|-----------|
|               | Fluoridi         | Kloridi  | Nitraatti | Fosfaatti | Sulfaatti |
| 100 µg/l      | 1,63011          | 1,46155  | 1,33372   | 0,325498  | 0,892366  |
| 100 µg/l      | 1,73254          | 1,45093  | 1,39319   | 0,358998  | 0,890962  |
| 100 µg/l      | 1,70739          | 1,46974  | 1,36212   | 0,27918   | 0,880326  |
| 100 µg/l      | 1,67051          | 1,48514  | 1,41898   | 0,299829  | 0,870525  |
| 100 µg/l      | 1,63829          | 1,53117  | 1,37919   | 0,326469  | 0,831832  |
| 100 µg/l      | 1,71027          | 1,53907  | 1,31612   | 0,343933  | 0,867041  |
| ka            | 1,681518         | 1,4896   | 1,36722   | 0,322318  | 0,872175  |
| s             | 0,04179          | 0,037072 | 0,038095  | 0,029006  | 0,022288  |
| RSD%          | 2,485237         | 2,488751 | 2,786339  | 8,999059  | 2,555413  |

Liite 6. Taulukko 2. 19.6.19 Toistettavuusmittauksien mittaustulokset 100 µg/l

19.6.2019

| Toistettavuus | Area (µS/cm*sec) |          |           |           |           |
|---------------|------------------|----------|-----------|-----------|-----------|
|               | Fluoridi         | Kloridi  | Nitraatti | Fosfaatti | Sulfaatti |
| 100 µg/l      | 1,68576          | 1,15514  | 1,27716   | 0,332992  | 0,951517  |
| 100 µg/l      | 1,74965          | 1,2664   | 1,16405   | 0,330848  | 0,926315  |
| 100 µg/l      | 1,68047          | 1,13359  | 1,01766   | 0,328123  | 0,844949  |
| 100 µg/l      | 1,71117          | 1,14407  | 1,00454   | 0,356115  | 0,89487   |
| 100 µg/l      | 1,78164          | 1,24092  | 1,06074   | 0,346612  | 0,95464   |
| 100 µg/l      | 1,68743          | 1,13966  | 1,01198   | 0,347906  | 0,893943  |
| ka            | 1,716108         | 1,179963 | 1,089355  | 0,340433  | 0,911039  |
| s             | 0,041116         | 0,05808  | 0,109535  | 0,011302  | 0,0417    |
| RSD%          | 2,395859         | 4,92218  | 10,05503  | 3,320027  | 4,577197  |

Liite 6. Taulukko 3. 14.8.19 Toistettavuusmittauksien mittaustulokset 250 µg/l

14.8.2019

| Toistettavuus | Area (µS/cm*sec) |          |           |           |           |
|---------------|------------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| Pitoisuus     | Fluoridi         | Kloridi  | Nitraatti | Fosfaatti | Sulfaatti |
| 250 µg/l      | 3,96583          | 2,85929  | 2,03993   | 0,890232  | 2,0849    |
| 250 µg/l      | 3,94124          | 2,81859  | 1,91777   | 0,860885  | 2,11275   |
| 250 µg/l      | 3,98165          | 2,92293  | 1,88015   | 0,857698  | 2,05673   |
| 250 µg/l      | 3,90562          | 2,80344  | 1,89604   | 0,824408  | 2,07494   |
| 250 µg/l      | 3,89715          | 2,77304  | 1,93787   | 0,835386  | 2,09645   |
| 250 µg/l      | 3,90825          | 2,92182  | 1,88192   | 0,84405   | 2,1276    |
| ka            | 3,93329          | 2,849852 | 1,925613  | 0,85211   | 2,092228  |
| s             | 0,035098         | 0,062674 | 0,060217  | 0,023124  | 0,025702  |
| RSD%          | 0,892341         | 2,199212 | 3,127178  | 2,713721  | 1,228428  |

Liite 6. Taulukko 4. 21.8.19 Toistettavuusmittauksien mittaustulokset 250 µg/l

21.8.2019

| Toistettavuus | Area (µS/cm*sec) |          |           |           |           |
|---------------|------------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| Pitoisuus     | Fluoridi         | Kloridi  | Nitraatti | Fosfaatti | Sulfaatti |
| 250 µg/l      | 3,91059          | 2,82617  | 1,74086   | 0,841374  | 2,12968   |
| 250 µg/l      | 3,87599          | 2,82651  | 1,88688   | 0,876349  | 2,09284   |
| 250 µg/l      | 3,8768           | 2,80971  | 1,61771   | 0,883591  | 2,12468   |
| 250 µg/l      | 3,92207          | 3,02046  | 1,62347   | 0,832806  | 2,12278   |
| 250 µg/l      | 3,90299          | 2,85429  | 1,62214   | 0,932029  | 2,15203   |
| 250 µg/l      | 3,88032          | 2,78443  | 1,69096   | 0,884619  | 2,12323   |
| ka            | 3,894793         | 2,853595 | 1,697003  | 0,875128  | 2,124207  |
| s             | 0,019736         | 0,0849   | 0,105178  | 0,035585  | 0,018927  |
| RSD%          | 0,506727         | 2,975185 | 6,197873  | 4,066243  | 0,89102   |

Liite 6. Taulukko 5. 15.8.19 Toistettavuusmittauksien mittaustulokset 500 µg/l

15.8.2019

| Toistettavuus | Area (µS/cm*sec) |          |           |           |           |
|---------------|------------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| Pitoisuus     | Fluoridi         | Kloridi  | Nitraatti | Fosfaatti | Sulfaatti |
| 500 µg/l      | 7,62738          | 5,51263  | 3,57559   | 1,71391   | 4,15994   |
| 500 µg/l      | 7,60998          | 5,54254  | 3,35233   | 1,67899   | 4,11577   |
| 500 µg/l      | 7,68273          | 5,62971  | 3,36728   | 1,75217   | 4,12886   |
| 500 µg/l      | 7,85708          | 5,83919  | 3,39217   | 1,70875   | 4,11777   |
| 500 µg/l      | 7,61899          | 5,48289  | 3,16855   | 1,69156   | 4,0454    |
| 500 µg/l      | 7,66101          | 5,60944  | 3,17662   | 1,70986   | 4,09678   |
| ka            | 7,676195         | 5,602733 | 3,338757  | 1,709207  | 4,110753  |
| s             | 0,092771         | 0,128677 | 0,151789  | 0,024872  | 0,038178  |
| RSD%          | 1,208556         | 2,296681 | 4,546272  | 1,455172  | 0,928741  |

Liite 6. Taulukko 6. 23.8.19 Toistettavuusmittauksien mittaustulokset 500 µg/l

23.8.2019

| Toistettavuus | Area (µS/cm*sec) |          |           |           |           |
|---------------|------------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| Pitoisuus     | Fluoridi         | Kloridi  | Nitraatti | Fosfaatti | Sulfaatti |
| 500 µg/l      | 7,79861          | 6,5833   | 3,70584   | 1,70957   | 4,16931   |
| 500 µg/l      | 7,74064          | 6,21867  | 3,43336   | 1,68037   | 4,17541   |
| 500 µg/l      | 7,75971          | 6,4676   | 3,28996   | 1,68969   | 4,17061   |
| 500 µg/l      | 7,79734          | 6,47669  | 3,699     | 1,69683   | 4,14898   |
| 500 µg/l      | 7,646            | 6,30472  | 3,41828   | 1,6851    | 4,18368   |
| 500 µg/l      | 7,71638          | 6,29757  | 3,24324   | 1,68775   | 4,17099   |
| ka            | 7,743113         | 6,391425 | 3,464947  | 1,691552  | 4,16983   |
| s             | 0,057354         | 0,138607 | 0,197869  | 0,010364  | 0,011488  |
| RSD%          | 0,740715         | 2,168641 | 5,710586  | 0,612709  | 0,27551   |

Liite 6. Taulukko 7. 23.8.19 Toistettavuusmittauksien mittaustulokset 750 µg/l

23.8.2019

| Toistettavuus | Area (µS/cm*sec) |          |           |           |           |
|---------------|------------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| Pitoisuus     | Fluoridi         | Kloridi  | Nitraatti | Fosfaatti | Sulfaatti |
| 750 µg/l      | 11,5539          | 8,36839  | 5,77645   | 2,56857   | 6,34483   |
| 750 µg/l      | 11,8068          | 8,7433   | 5,69953   | 2,57489   | 6,35605   |
| 750 µg/l      | 11,6761          | 8,44317  | 5,05369   | 2,55261   | 6,22559   |
| 750 µg/l      | 11,716           | 8,58068  | 5,20411   | 2,54775   | 6,17118   |
| 750 µg/l      | 11,6158          | 8,44985  | 4,9794    | 2,57066   | 6,18677   |
| 750 µg/l      | 11,6467          | 8,46553  | 4,97869   | 2,59237   | 6,17229   |
| ka            | 11,66922         | 8,508487 | 5,281978  | 2,567808  | 6,242785  |
| s             | 0,086975         | 0,13381  | 0,363474  | 0,016096  | 0,085758  |
| RSD%          | 0,74534          | 1,572669 | 6,881406  | 0,626852  | 1,373716  |

Liite 6. Taulukko 8. 21.5.19 Toistettavuusmittauksien mittaustulokset 1 mg/l

21.5.2019

| Toistettavuus | Area (µS/cm*sec) |          |           |           |           |
|---------------|------------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| Pitoisuus     | Fluoridi         | Kloridi  | Nitraatti | Fosfaatti | Sulfaatti |
| 1 mg/l        | 15,7536          | 11,7129  | 10,0793   | 3,41973   | 8,60349   |
| 1 mg/l        | 15,7342          | 11,8534  | 10,0369   | 3,36589   | 8,56028   |
| 1 mg/l        | 15,534           | 11,7928  | 10,1148   | 3,37621   | 8,52951   |
| 1 mg/l        | 15,6197          | 11,8346  | 10,1028   | 3,4365    | 8,53127   |
| 1 mg/l        | 15,6582          | 11,8347  | 10,099    | 3,38082   | 8,5087    |
| 1 mg/l        | 15,6764          | 11,8451  | 10,133    | 3,40444   | 8,52964   |
| ka            | 15,66268         | 11,81225 | 10,0943   | 3,397265  | 8,543815  |
| s             | 0,079995         | 0,052962 | 0,033263  | 0,027545  | 0,033551  |
| RSD%          | 0,510734         | 0,448362 | 0,32952   | 0,810804  | 0,392688  |

Liite 6. Taulukko 9. 14.5.19 Toistettavuusmittauksien mittaustulokset 5 mg/l

14.5.2019

| Toistettavuus | Area ( $\mu\text{S}/\text{cm}^*\text{sec}$ ) |             |             |           |           |
|---------------|--|-------------|-------------|-----------|-----------|
|               | Fluoridi                                     | Kloridi     | Nitraatti   | Fosfaatti | Sulfaatti |
| 5 mg/l        | 85,3348                                      | 61,8087     | 32,9097     | 17,3677   | 42,5709   |
| 5 mg/l        | 84,7514                                      | 61,5403     | 32,4079     | 17,1167   | 42,0734   |
| 5 mg/l        | 84,4165                                      | 61,9264     | 32,634      | 17,3088   | 42,2058   |
| 5 mg/l        | 85,0803                                      | 63,7906     | 32,7099     | 17,2275   | 42,1483   |
| 5 mg/l        | 84,6665                                      | 62,0766     | 32,8598     | 17,2599   | 42,1996   |
| 5 mg/l        | 85,2044                                      | 62,2042     | 32,8369     | 17,5058   | 42,4482   |
| ka            | 84,90898333                                  | 62,22446667 | 32,72636667 | 17,29773  | 42,27437  |
| s             | 0,353301783                                  | 0,800604596 | 0,186470884 | 0,132247  | 0,192209  |
| RSD%          | 0,416094704                                  | 1,286639546 | 0,569787921 | 0,764535  | 0,454671  |

Liite 6. Taulukko 10. 16.5.19 Toistettavuusmittauksien mittaustulokset 5 mg/l

16.5.2019

| Toistettavuus | Area ( $\mu\text{S}/\text{cm}^*\text{sec}$ ) |          |           |           |           |
|---------------|--|----------|-----------|-----------|-----------|
|               | Fluoridi                                     | Kloridi  | Nitraatti | Fosfaatti | Sulfaatti |
| 5 mg/l        | 84,7221                                      | 60,9924  | 31,7686   | 17,4496   | 42,5159   |
| 5 mg/l        | 83,9488                                      | 60,456   | 31,6824   | 17,5232   | 42,8673   |
| 5 mg/l        | 84,5549                                      | 60,6973  | 31,7035   | 17,2566   | 42,1958   |
| 5 mg/l        | 85,142                                       | 61,404   | 31,8237   | 17,3895   | 42,4959   |
| 5 mg/l        | 84,3958                                      | 61,0319  | 31,9345   | 17,6225   | 43,0621   |
| 5 mg/l        | 85,5417                                      | 61,4601  | 32,0454   | 17,5502   | 42,0213   |
| ka            | 84,71755                                     | 61,00695 | 31,82635  | 17,46527  | 42,52638  |
| s             | 0,562202                                     | 0,390706 | 0,140595  | 0,130246  | 0,392084  |
| RSD%          | 0,663619                                     | 0,640429 | 0,441757  | 0,745743  | 0,921979  |



Liite 6. Taulukko 11. 15.5.19 Toistettavuusmittauksien mittaustulokset 20 mg/l

15.5.2019

| Toistettavuus | Area ( $\mu\text{S}/\text{cm}^*\text{sec}$ ) |             |             |             |             |
|---------------|--|-------------|-------------|-------------|-------------|
|               | Fluoridi                                     | Kloridi     | Nitraatti   | Fosfaatti   | Sulfaatti   |
| 20 mg/l       | 353,386                                      | 294,909     | 141,357     | 74,4756     | 183,763     |
| 20 mg/l       | 354,027                                      | 292,855     | 144,227     | 74,5663     | 184,028     |
| 20 mg/l       | 354,003                                      | 293,428     | 140,196     | 74,1411     | 183,909     |
| 20 mg/l       | 355,834                                      | 295,192     | 141,052     | 74,759      | 186,042     |
| 20 mg/l       | 357,208                                      | 296,877     | 145,349     | 75,2664     | 185,777     |
| 20 mg/l       | 359,038                                      | 300,852     | 145,029     | 76,7234     | 188,85      |
| ka            | 355,5826667                                  | 295,6855    | 142,8683333 | 74,98863333 | 185,3948333 |
| s             | 2,20839287                                   | 2,900583579 | 2,253562661 | 0,9272737   | 1,961727139 |
| RSD%          | 0,621063139                                  | 0,980969165 | 1,577370302 | 1,23655234  | 1,058134741 |

Liite 6. Taulukko 12. 16.5.19 Toistettavuusmittauksien mittaustulokset 20 mg/l

16.5.2019

| Toistettavuus | Area ( $\mu\text{S}/\text{cm}^*\text{sec}$ ) |             |             |             |             |
|---------------|--|-------------|-------------|-------------|-------------|
|               | Fluoridi                                     | Kloridi     | Nitraatti   | Fosfaatti   | Sulfaatti   |
| 20 mg/l       | 361,594                                      | 297,07      | 140,843     | 74,4987     | 185,569     |
| 20 mg/l       | 361,021                                      | 300,556     | 144,556     | 76,309      | 190,296     |
| 20 mg/l       | 358,448                                      | 298,63      | 145,33      | 74,8156     | 186,091     |
| 20 mg/l       | 363,045                                      | 299,142     | 145,418     | 75,276      | 188,424     |
| 20 mg/l       | 361,565                                      | 297,657     | 143,376     | 74,4096     | 185,798     |
| 20 mg/l       | 363,652                                      | 303,109     | 147,3       | 76,203      | 189,01      |
| ka            | 361,5541667                                  | 299,3606667 | 144,4705    | 75,25198333 | 187,5313333 |
| s             | 1,819765415                                  | 2,200461194 | 2,191189791 | 0,835436366 | 1,977698022 |
| RSD%          | 0,503317506                                  | 0,735053545 | 1,516703958 | 1,110185179 | 1,054596044 |

## Liite 7. Oikeellisuustestien mittaustulokset

Liite 7. Taulukko 1. Sulfaatin oikeellisuustestien mittaustulokset

2.9.2019

| Oikeellisuus | Sulfaatti (Area) | Sulfaatin teoreettinen saanto (µg/l) | Sulfaatti + std lisäys | Sulfaatin todellinen saanto (Area) | Todellinen saanto (µg/l) | Saanto% |
|--------------|------------------|--------------------------------------|------------------------|------------------------------------|--------------------------|---------|
| 1            | 6,54             | 756,88                               | 8,48                   | 6,29                               | 726,52                   | 95,99   |
| 2            | 6,47             | 748,39                               | 8,51                   | 6,32                               | 729,70                   | 97,50   |
| 3            | 6,55             | 757,79                               | 8,56                   | 6,37                               | 735,81                   | 97,10   |
| 4            | 6,29             | 726,52                               | 8,42                   | 6,22                               | 718,65                   | 98,92   |
| 5            | 6,30             | 727,27                               | 8,58                   | 6,38                               | 737,64                   | 101,43  |
| 6            | 6,31             | 728,82                               | 8,28                   | 6,09                               | 702,05                   | 96,33   |
| <b>ka</b>    | 6,41             | 740,94                               | 8,47                   | 6,28                               | 725,06                   | 97,88   |
| <b>s</b>     | 0,13             | 15,07                                | 0,11                   | 0,11                               | 13,18                    | 2,02    |
| <b>RSD%</b>  | 1,95             | 2,03                                 | 1,29                   | 1,74                               | 1,82                     | 2,06    |

Liite 7. Taulukko 2. Kloridin oikeellisuustestien mittaustulokset

4.9.2019

| Oikeellisuus | Kloridi (Area) | Kloridin teoreettinen saanto (mg/l) | Kloridi + std lisäys | Kloridin todellinen saanto (Area) | Todellinen saanto (mg/l) | Saanto% |
|--------------|----------------|-------------------------------------|----------------------|-----------------------------------|--------------------------|---------|
| 1            | 32,61          | 2,61                                | 42,64                | 32,29                             | 2,59                     | 99,11   |
| 2            | 32,55          | 2,61                                | 42,90                | 32,56                             | 2,61                     | 100,01  |
| 3            | 32,52          | 2,60                                | 42,35                | 32,00                             | 2,57                     | 98,57   |
| 4            | 32,62          | 2,61                                | 42,32                | 31,97                             | 2,56                     | 98,20   |
| 5            | 32,87          | 2,63                                | 42,54                | 32,20                             | 2,58                     | 98,14   |
| 6            | 32,68          | 2,62                                | 42,76                | 32,42                             | 2,60                     | 99,27   |
| <b>ka</b>    | 32,64          | 2,61                                | 42,59                | 32,24                             | 2,58                     | 98,88   |
| <b>s</b>     | 0,13           | 0,01                                | 0,23                 | 0,23                              | 0,02                     | 0,72    |
| <b>RSD%</b>  | 0,39           | 0,35                                | 0,54                 | 0,71                              | 0,64                     | 0,73    |

Circvol-hanke

# 792 Basic IC / Anionien määrittäminen




Käyttöohje/Menetelmäohje/Näytteenkäsittely-  
ohje



# Sisältö

|  |          |
|--|----------|
| <b>1 REAGENSIT JA TURVALLISUUS</b>   | <b>3</b> |
| <b>2 LAITTEEN TOIMINTAPERIAATE</b>   | <b>3</b> |
| <b>3 LAITTEET</b>  | <b>3</b> |
| <b>4 TYÖN SUORITUS</b>   | <b>3</b> |
| 4.1 Liuosten valmistus   | 4        |
| 4.1.1 Karbonaattiliuetti (1 mM NaHCO <sub>3</sub> , 3,2 mM Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ) | 4        |
| 4.1.2 Regenerointiliuos (0,1 M Rikkihappo)   | 4        |
| 4.1.3 1000 mg/l Kantaliuokset  | 4        |
| 4.1.4 Standardiliuokset  | 5        |
| 4.2 Näytteen esikäsittely  | 5        |
| 4.3 Mittauksien suoritus   | 6        |
| 4.4 Tulosten laskeminen  | 7        |
| <b>5 MUUTOSHISTORIA</b>  | <b>1</b> |

## 1 REAGENSIT JA TURVALLISUUS

|  |  |   |
|--|--|---|
| Natriumfluoridi<br>NaF   | H:301,315,319<br>P:281,301,330,302+352,308+313 |  |
| Natriukloridi<br>NaCl  |  |   |
| Natriumsulfaatti (kui-<br>vattu vakiopainoon<br>105 °C:ssa)<br>Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> |  |   |
| Natriumkarbonaatti<br>Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>  | H:319<br>P:305+351+338                         |  |
| Natriumvetykar-<br>bonaatti<br>NaHCO <sub>3</sub>  |  |   |
| Rikkihappo<br>H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>   | H:314<br>P:260, 305+351+338,<br>303+361+353    |  |

## 2 LAITTEEN TOIMINTAPERIAATE

Ioninvaihtokromatografian toiminta perustuu ionien tarttumiseen stationäärifaasiin niiden sähköisten voimien avulla. Vastakkaismerkkiset ionit tarttuvat ioninvaihtokolonniin sijaitsevaan stationäärifaasiin. Ionit huuhoituvat ulos kolonnista eri aikoihin. Detektori piirtää kromatogrammin ionien liikkuvuuden perusteella, josta voidaan nähdä yhdisteiden ominaisuuksia.

## 3 LAITTEET

- Ionikromatografi: 792 Basic IC
- Kolonni metrohm A Supp 5 150/4
- Suppressori
- Analyysivaaka
- Imusuodatusvälineistö
- Suodatinkalvo 0,45 µm
- Ultraäänihaude

## 4 TYÖN SUORITUS

#### 4.1 Liuosten valmistus

792 Basic IC – Ioninvaihtokromatografi tarvitsee anioneita määritettäessä eluentin, joka toimii menetelmän liikkuvana faasina. Anionien määrittämisessä täytyy käyttää myös suppressoria tarkempien mittaustuloksien aikaansaamiseksi. Suppressorin tarvitsee regenerointiliuoksen sekä ionivaihdettua vettä.

##### 4.1.1 Karbonaattieluentti (1 mM NaHCO<sub>3</sub>, 3,2 mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)

Karbonaattieluentti valmistetaan kahden litran mittapulloon. Reagenssit punnitaan, liuotetaan ja laimennetaan ionivaihdettuun veteen. Liuos suodatetaan imusuodatuksella 0,45 µm:n suodatinkalvon läpi, jonka jälkeen liuosta pidetään ultraäänihauteessa 15 minuuttia kaasujen poistamiseksi.

Table 1. Karbonaattieluentin punnitukset

| Reagenssi                       | massa (g) | Pitoisuus (mmol/l) | Tilavuus (l) |
|---------------------------------|-----------|--------------------|--------------|
| Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | 0,6780    | 3,2                | 2            |
| NaHCO <sub>3</sub>              | 0,1680    | 1                  |              |

##### 4.1.2 Regenerointiliuos (0,1 M Rikkihappo)

Valmistetaan regenerointiliuos kaatamalla jonkin verran ultrapuhdasta vettä yhden litran mittapullon pohjalle. Pipetoidaan 5,55 ml:aa 96 %:sta rikkihappoa mittapulloon. Täytetään mittapullo merkkiin ultrapuhtaalla vedellä. Liuos suodatetaan imusuodatuksella 0,45 µm:n suodatinkalvon läpi, jonka jälkeen liuosta pidetään ultraäänihauteessa 15 minuuttia kaasujen poistamiseksi.

##### 4.1.3 1000 mg/l Kantaliuokset

1000 mg/l kantaliuokset säilyvät jääkaapissa useita kuukausia. Molemmille anioneille valmistetaan oma 1000 mg/l kantaliuos. Reagenssit täytyy kuivata taulukon 2 kuivatusajoilla ennen punnitsemista. Kantaliuokset valmistetaan yhden litran mittapulloihin. Mittapullojen pohjalle lisätään jokin verran ultrapuhdasta vettä. Reagenssit punnitaan ja huuhdellaan mittapulloihin ultrapuhtaalla vedellä, jonka jälkeen mittapullo täytetään merkkiin ultrapuhtaalla vedellä.

Table 2. 1000 mg/l Kantaliuosten valmistus

| Reagenssi | Kuivausajat (105 °C ± 5) | Massa (g) | Tilavuus (l) |
|-----------|--------------------------|-----------|--------------|
|           |                          |           |              |

|                                 |     |        |   |
|---------------------------------|-----|--------|---|
| NaCl                            | 2 h | 1,6484 | 1 |
| Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 1 h | 1,4786 | 1 |

#### 4.1.4 Standardiliuokset

Standardiliuokset valmistetaan mittausalueen mukaan. Sulfaatti on lineaarinen alueella 0,25 – 20 ppm ja Kloridi alueella 0,75-20 ppm. Valmistetaan standardiliuokset alueelle 1 – 10 ppm. Standardiliuokset valmistetaan mittapulloihin ja niiden valmistuksessa käytetään ultrapuhdasta vettä. Valmista ensin 10 ppm standardiliuos, koska sitä käytetään työliuksena muiden standardiliuosten valmistuksessa. Taulukosta 3 näet kantaliuosten ja standardiliuosten konsentraatiot ja tilavuudet.

Table 3. Standardiliuosten valmistus

| Standardiliuoksen konsentraatio | Kantaliuoksen konsentraatio | Kantaliuos/tilavuus (ml) | Standardiliuoksen tilavuus (ml) |
|---------------------------------|-----------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| 1 pm                            | 10                          | 1                        | 10                              |
| 2,5 ppm                         | 10                          | 2,5                      | 10                              |
| 5 ppm                           | 10                          | 5                        | 10                              |
| 7,5 ppm                         | 10                          | 7,5                      | 10                              |
| 10 ppm                          | 1000                        | 1                        | 100                             |

#### 4.2 Näytteen esikäsittely

Ensin täytyy todeta, että näyte ei sisällä tai sisältää rautaa. Raudan osoituskokeet voit suorittaa muun muassa MP-AES-laitteella. Jos näyte sisältää rautaa ja/tai kuparia, ne tulevat häiritsemään anionien mittaamista. Rauta ja kupari tulee poistaa näytteistä ioninvaihdon avulla kationinvaihtohartsia käyttämällä. Kationinvaihtohartsit tulee regeneroida ennen käyttöä. Regenerointi tapahtuu 3 M rikkihapon avulla.

Välineet: Ioninvaihtopylväs  
 Täyspipetti ( 20 ml)  
 Mittapullo (100 ml)  
 Mittalasi (100 ml)  
 Dekantteri  
 pH-paperia

Reagenssit: Näyte  
 3 M Rikkihappo

### Kationinvaihtomassa IRN-77 (Amberlite)

Kiinnitä ioninvaihtopylväs statiiviin. Varmista, että pylvään pohjalla on sintterisuodatin, joka estää massan valumisen hanaan asti. Laita pylvääseen noin 8 cm korkea kerros kationinvaihtomassaa. Jos se on kuivaa, lisää siihen ultrapuhdasta vettä ja anna valua läpi, jotta massa kostuu kunnolla. Jätä veden pinta noin 1 cm massan pinnan yläpuolelle. Nesteen pinta ei missään vaiheessa saa laskea massa yläpinnan alapuolelle.

Massa täytyy regeneroida ennen käyttöä. Tämä tapahtuu lisäämällä noin 25 ml:aa 3M rikkihappoa pylvääseen, jonka annetaan valua hitaasti massan lävitse. Sopiva tiputusnopeus on 2- 3 tippaa sekunnissa. Tämä vaihe kannattaa tehdä kaksi kertaa. Tämän jälkeen ajetaan ultrapuhdasta vettä kationinvaihtomassan läpi niin kauan, että ulos tuleva vesi on täysin väritöntä ja neutraalia. Tarkkaile liouksen pH:ta pH-paperin avulla.

Kun kationinvaihtomassa on regeneroitu näyte voidaan ajaa sen läpi. Otetaan näytettä 25 ml:aa mittalasiin ja 25 ml:n mittapullo. 25 ml:n mittapullo asetetaan ioninvaihtopylvään hanan alapuolelle. Ioninvaihtopylvääseen kaadetaan näytettä ja valutetaan samalla pylväässä oleva ultrapuhdas vesi 25 ml:n mittapulloon valuttamalla sitä hitaasti hanaan avaamalla. Kun 25 ml:n mittapullo on täynnä, niin vesi ollaan saatu valutettua ulos pylväästä. Tällöin pylvään sisällä on enää näyte.

Laitetaan ioninvaihtopylvään alle 50 ml:n mittapullo. Aletaan valuttamaan näytettä 50 ml:n mittapulloon hitaasti avaamalla hieman hanaa. Kaadetaan samalla ioninvaihtopylvääseen varovasti ultrapuhdasta vettä niin, että veden pinta pysyy kationinvaihtomassan pinnan yläpuolella. Näytettä ja vettä valutetaan niin kauan, että 50 ml:n mittapullo on täyttynyt merkkiin asti. Tällöin 50 ml:n mittapullossa pitäisi olla 1:2 laimennos näytteestä. Raudan ja kuparin poistuminen näytteestä testataan vielä uudestaan raudan osoituskokeilla.

#### 4.3 Mittauksien suoritus

792 Basic IC – ionikromatografian käyttöohjeesta löydät koneen käynnistämiseen ja tietojen muokkaamiseen liittyvät tiedot.

Menetelmän asetukset:



Volume: 20  $\mu$ l  
 Column: Metrosepp A Supp 5 150/4.0  
 Eluent: 1,0 mM NaHCO<sub>3</sub> / 3,2 mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>  
 Flow: 0,7 ml/min  
 Temperature: 20,0 °C  
 Pressure: 5-9 MPa

Standardiliuokset mitataan ionikromatografilla pienimmästä pitoisuudesta suurimpaan. Tämän jälkeen esikäsitelty näyte laimennetaan tarvittaessa ja syötetään ionikromatografille.

Kromatogrammin asetukset:

Delay: 3 minutes  
 Width: 15 seconds  
 Slope: 45  
 Min height: 0,01  $\mu$ S/cm

Standardiliuosten ja näytteen kromatogrammeissa täytyy kaikissa olla samat asetukset.

#### 4.4 Tulosten laskeminen

Standardiliuoksien lasketuista todellisista pitoisuuksista ja mittaustuloksina saaduista anionien pinta-aloista muodostetaan jokaiselle anionille standardisuora. Standardisuoran yhtälön avulla pystytään laskemaan näytteessä olevien anionien pitoisuudet. R<sup>2</sup>-arvon tulee olla >0,99.

Esimerkkilasku kloridin todellisen pitoisuuden laskemisesta:

$$M(\text{NaCl}) = 58,44 \text{ g/mol}$$

$$M(\text{Cl}) = 35,45 \text{ g/mol}$$

$$m(\text{punnittu NaCl}) = 1,64852$$

Ensin lasketaan kloridin 1000 mg/l kantaliuoksen todellinen Cl-pitoisuus:

$$\text{Kantaliuos tod. pitoisuus (Cl)} = \frac{m(\text{punnittu NaCl}) * M(\text{Cl})}{M(\text{NaCl})} = 1,00000058 \text{ g/l}$$

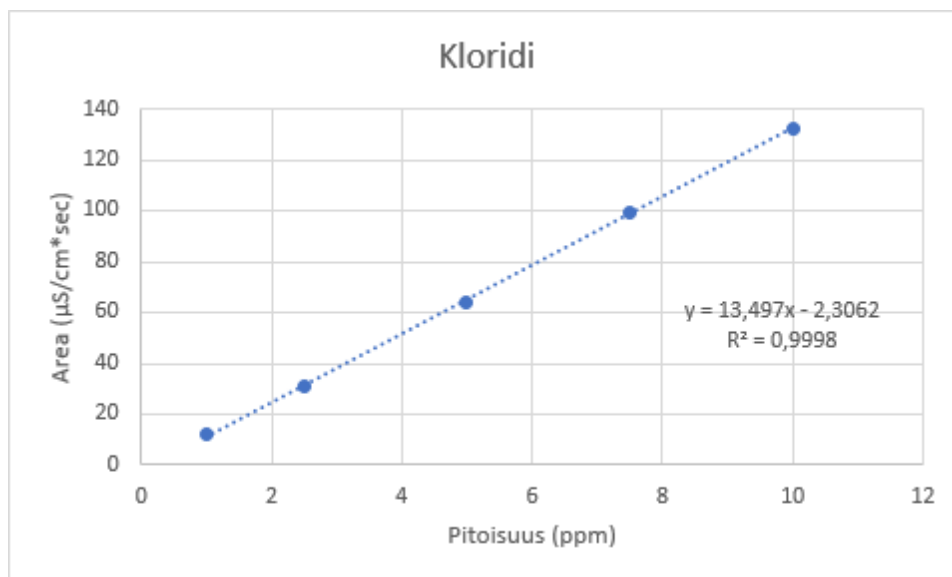
$$\approx 1000 \text{ mg/l}$$

Sitten lasketaan työliouksen todellinen Cl-pitoisuus:

$$\text{Työliuos 10 ppm(F)} = \frac{\text{kantaliouksen tod. pitoisuus} * 1 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = 10,000 \text{ mg/l}$$

Työliouksen (10 ppm) pitoisuudesta lasketaan standardiliouksien todelliset Cl-pitoisuudet. Esim:

$$\text{Standardi 1 ppm (F pitoisuus)} = \frac{\text{Pitoisuus työliuos 10 ppm (F)} * 1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} = 1,000 \text{ mg/l}$$



Kuva 3. Esimerkki kloridin standardisuorasta

Mittaustuloksena näytteestä saatu kloridin piikin pinta-ala = 32,6085

$$c(\text{Cl}) = \frac{(\text{Area}(\text{Cl}) + 2,3062)}{13,497} = \frac{(32,6085 + 2,3062)}{13,497} = 2.58685 \text{ mg/l} \approx 2,587 \text{ mg/l}$$

**5 MUUTOSHISTORIA**

| <b>Versionu-<br/>mero</b> | <b>Muutos</b> | <b>Tekijä</b>      | <b>Päivä-<br/>määrä</b> |
|---------------------------|---------------|--------------------|-------------------------|
| 1                         | Alkuperäinen  | Karoliina Stenvall | 19.09.2019              |

Circvol-hanke

# 792 Basic IC / Käyttöohje

Käyttöohje



# SISÄLTÖ

|                            |          |
|----------------------------|----------|
| <b>1 YLEISET OHJEET</b>    | <b>3</b> |
| <b>2 ILMAN POISTO</b>      | <b>4</b> |
| <b>3 ANIONIEN MÄÄRITYS</b> | <b>5</b> |
| <b>4 LAITTEISTON PESU</b>  | <b>8</b> |
| <b>5 MUUTOSHISTORIA</b>    | <b>1</b> |

## 6 YLEISET OHJEET

Tämä käyttöohje on luotu anionien ionikromatografiseen määrittämiseen liuoksista. Jos laite on ollut pitkään käyttämättömänä, katso ensin sivu 6: Laitteiston pesuohje.

Kolonni määrittää käytettävän eluentin. Anionimäärityksessä käytettävä karbonaattieluentti valmistetaan punnitsemalla 0,6780 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ja 0,1680 g  $\text{NaHCO}_3$ , jotka liuotetaan ja laimennetaan 2 litraan ultrapuhdasta vettä. Tarvittaessa voidaan lisätä 5 % metanolia/asetonia mahdollisten bakteerien tappamiseen. Näytteiden laimentamisessa käytetään joko ultrapuhdasta vettä tai eluenttia.

Suppressorin regenerointiin käytetään 0,1 M rikkihappoa ja ultrapuhdasta vettä. 0,1 M rikkihappo valmistetaan pipetoimalla 5,55 ml 96 %:sta rikkihappoa, joka laimennetaan 1 litraan ultrapuhdasta vettä.

## 7 ILMAN POISTO

Eluentin vaihdon jälkeen, laitteen pitkään käyttämättä olemisen jälkeen tai jos ilmaa on päässyt pumppuun, on suoritettava laitteelle ilman poisto.

1. Käynnistä tietokone ja IC-laitteisto (laitteen takana virtakatkaisija). Tietokoneen salasana on rotametri.
2. Avaa tietokoneelta ohjelma 792 Basic IC 1.0. Ohjelmassa ei ole salasanaa, joten paina "log in".
3. Käännä kolonni ylösalaisin ja irrota sen alaosaan menevä putki ja laita kolonnin alaosaan korkki. Laita irrotetun putken alle jätedekka.
- 
4. Avaa ajo-ohjelma File → Open → System → Default → Default. Tällöin aukeaa ikkuna, jossa on tietokoneen ja Basic laitteen kuva. Kaksoisklikkaa Basic laitteen kuvaa, jolloin saat auki ikkunan, josta näet ajankohtaisen konduktiivisuuden ja paineen.
5. Flow kohta kertoo eluentin virtausnopeuden. Virtausnopeus voidaan muuttaa 1 tai 2 ml/min, jonka jälkeen painetaan send to unit painiketta. Tällöin tiedot muuttuvat actual values kohtaan.
6. Avataan noin ½ kierrosta pumpun alapuolella olevaa puhdistusventtiilin hanaa.









- 
7. Laitetaan tyhjä ruisku kiinni ilmastusventtiilin vasemmalta puolelta lähtevän johdon päähän.
8. Painetaan IC-pump On. Pumppu lähtee käyntiin ja seurataan putkea, jossa eluentti virtaa. Aina kun ilmakupla saapuu pumpulle, vedä ruiskusta niin, että kuplat imeytyvät ruiskun tyhjään tilaan. Jos pumppuun on päässyt iso ilmakupla jatka ruiskulla imemistä. Ruiskun tullessa täyteen pumppu sammutetaan ja tyhjä jätään ruiskun sisältö. Tätä jatketaan, kunnes pumppu tuottaa tasaisen virran ruiskuun.
9. Pumppu sammutetaan ja hana kiristetään takaisin kiinni.
- 
10. IC-pumppu käynnistetään uudelleen ja varmistetaan, että eluentti virtaa kolonnin alaosaan irrotetusta putkesta tasaisesti ulos noin 10 minuutin ajan.
11. Sammutetaan pumppu ja kyseinen ajo-ohjelma.
12. Liitetään putki takaisin kolonnin alaosaan omalle paikalleen.

## 8 ANIONIEN MÄÄRITYS




1. Käynnistä tietokone ja IC-laitteisto (laitteen takana virtakatkaisija). Tietokoneen salasana on rotametri.
2. Avaa tietokoneelta ohjelma 792 Basic IC 1.0. Ohjelmassa ei ole salasanaa, joten paina "log in".
- 
3. Avaa ajo-ohjelma File → System → Suppressed anion → Anionit. Tällöin avautuu ikkuna, jossa on tietokoneen ja Basic laitteen kuva. Kaksoisklikkaa Basic laitteen kuvaa, jolloin saat auki ikkunan, josta näet ajankohtaisen konduktiivisyyden ja paineen sekä voit säätää eluentin virtausnopeutta (kolonni metrosep a supp 5 150/4 max. 0,8 ml/min).
4. Ikkunasta, jossa on Basic-laitteen kuva, painetaan Control → Startup hardware (measure baseline). Pumput käynnistyvät ja alkaa pohjaviivan tasaus. Pohjaviivan tasauksen annetaan pyöriä vähintään tunnin ajan ja 20 min välein painetaan ohjelmasta suppressorin "Step" -näppäintä. Tällöin kaikki suppressorin kolme kanavaa tulee huuhdeltua.
5. Pohjaviivan tasauksen aikana voidaan valmistaa standardit ja näytelaimennokset. Valmistetaan esimerkiksi standardiliuokset 1 ppm, 5 ppm ja 10 ppm.
- 
6. Ikkunasta, josta näkee konduktiivisyyden ja paineen tarkistetaan, että Valve on Fill asennossa.
7. Aloitetaan kalibrointi syöttämällä laitteeseen laimein standardi ensimmäisenä. Syöttö IC:lle tapahtuu 3 ml ruiskulla, jonka päähän asetetaan 0,45 µm suodatin. Ruiskua kannattaa avata noin 1 mm verran, ennen kuin otat ruiskuun näytettä. Näin ruiskuun jää pieni ilmatasku. Näytettä ruiskuun kannattaa ottaa noin 1,5 ml. Kone tarvitsee näytettä vain 20 µl, mutta ylijäämä näytteestä tulee ulos syötötietkun vieressä olevasta jäteletkusta (muista pistää jätevedekka letkun päähän!). Näyte syötetään niin, että ruiskussa olevaa ilmaa ei saa päästää injektoriin.
8. Kun näyte on syötetty, klikataan Control → start determination, jolloin aukeaa ikkuna, johon syötetään standardin tiedot. Esimerkki standardiliuokselle syötettävistä tiedoista:
  - Ident: std 1 (Laimein standardi on 1, seuraava 2 jne.)
  - Calibration level: 1 (laimein standardi on 1 ja seuraava 2 jne.)
  - Info 1: Pitoisuus 1 mg/l (voi mainita esimerkiksi standardiliuoksen pitoisuuden)
9. Kun tiedot on kirjattu, painetaan OK. Tämän jälkeen odotetaan noin 3-5 min pohjaviivan tasaantumista. Kun pohjaviiva on tasainen, painetaan Inject. Sininen ajoikkuna avautuu, josta voit seurata ajon etenemistä. Ajo kestää 18 min. Ajon aikana voit kaksoisklikata kromatogrammia (ajoikkunaa), jolloin kone säätää automaattisesti kromatogrammin pituussuhteita ja voit tarkkailla mittauksen aikana tapahtuvia muutoksia.
10. Kun ajo on ohi, kone pitää äänen ja ajoikkuna katoaa ruudulta. Tämän jälkeen painetaan Fill.
11. Aja myös seuraavat standardit kohtien 8-10 mukaisesti.




12. Kun kaikki standardit on ajettu, avataan ensimmäisen standardin ajo klikkaamalla  tai file/open/chromatogram ja sieltä mittaamasi standardin ajo päivämäärän ja standardille antamasi nimen mukaan.
13. Kun kromatogrammi on auki, klikataan  (integration) ja muutetaan auneesta ikkunasta integroinnin tiedot esimerkiksi: Delay: 3, Width: 15 s, Slope: 45, Min height: 0,01  $\mu\text{S}/\text{cm}$  ja negative peaks kohdasta otetaan ruksi pois. Paina OK.
14. Avataan komponentit klikkaamalla  (components) ja varmistetaan, että piikit on nimetty oikein. Voit muokata tietoja kaksoisklikkaamalla kohtaa, jota haluat muokata. Piikkeihin ei välttämättä tule automaattisesti oikeita anionien nimiä. Tällöin aseta riville oikean anionin nimen kohdalle oikea piikin numero kohtaan "Peak". Tällöin riville ilmestyy kyseisen piikin retentioaika kohtaan "Time" ja näet piikin kohdalla keltaisen/oranssin pystyviivan. Jos kromatogrammiin ilmestynyt pystyviiva ei ole piikin keskellä, täytyy se siirtää  $\leftarrow$  ja  $\rightarrow$  nuolinäppäimien avulla oikeaan kohtaan. Klikkaa identification ja paina update ja ok.
15. Klikkaa components taulukosta "concentrations" kohtaa, jolloin aukeaa ikkuna, josta näet anionien pitoisuudet. Ikkunassa olevia leveleitä kuuluu olla saman verran, kuin standardiliuoksia. Jos leveleitä ei ole oikea määrä, niin lisää niitä "add" näppäimestä tai poista "delete" näppäimestä. Merkkää myös leveleihin jokaiselle anionille oikea pitoisuus "fill level with concentration" kohtaan: Jos syötät standardit 1 ppm, 5 ppm ja 10 ppm, niin syötä tiedot: level 1: 1, level 2: 5 ja level 3: 10. paina OK.
16. Tallenna kaikki muutokset klikkaamalla kromatogrammin  ja vastaa seuraaviin kysymyksiin yes, yes, yes, save ja yes.
17. Kun kaikkien standardien kromatogrammien tiedot on merkitty oikein ja kromatogrammit suljettu klikkaa  tai file/open/chromatogram ja mustaa ajamiesi standardien kromatogrammien nimet ja paina "to batch". Vastaa seuraavaan kahteen kysymykseen yes.
18. Avautuvasta ikkunasta voit varmistaa vielä klikkaamalla "edit sample table" kohtaa, että kaikki standardien tiedot on merkattu varmasti oikein (esim. levelit). Poistu "edit sample table" ikkunasta, joko tallentamalla muutokset tai rastilla. Ruksita reprocess ikkunasta kohdat: reprocess calibration runs (2), Update method file (3) ja recalibrate (5). Paina Reprocess.
19. Käy avaamassa jokin äskeisen standardin kromatogrammi ja klikkaa  (components) ja graphs ja tarkasta, että standardisuora näyttää hyvältä.
- 
20. Nyt voidaan ajaa näyte. Näyte ei saa sisältää metalleja, koska se häiritsee anionien mittaamista. Jos näyte sisältää metalleja se tulee esikäsitellä ioninvaihdolla kationinvaihtohartsilla.
21. Tarkastetaan, että valve on taas Fill-asennossa. Kun näyte on esikäsitelty, se voidaan syöttää koneeseen 3 ml:n ruiskulla 0,45  $\mu\text{m}$ :n suodattimen läpi. Klikataan Control  $\rightarrow$  start determination. Kirjoitetaan "Ident" kohtaan näytteelle jokin

nimi ja "info 1" kohtaan voit kirjoittaa joitakin tietoja näytteestä. "Calibration level" kohtaan laitetaan näytteelle 0. Paina OK.

22. Odotetaan taas 3-5 min pohjaviivan tasaantumista. Klikataan "inject" ja ajo kestää 18 min. Ajon aikana voit taas kaksoisklikkaamalla kromatogrammia säätää pituussuhteita ja tarkkailla mittauksen aikana tapahtuvia muutoksia. Kun ajo on valmis kone pitää äänen ja painetaan "Fill".

23. Klikataan  tai file/open/chromatogram ja avataan näytteen kromatogrammi päivämäärän ja antamasi nimen perusteella. Klikataan  (integration) ja tarkastetaan, että näytteelle on kaikki samat asetukset kuin standardiliuoksille. Tämän jälkeen klikataan  (components) ja concentrations. Täältä näet näytteessä olevien anionien konsentraatiot, piikkien korkeudet ja pinta-alat.

24. Raportti tehdään näytteelle, kun sen kromatogrammi on auki klikkaamalla  (make report) ja aukeaa "report options" ikkuna. Tästä ikkunasta voit valita, mitkä tiedot tulevat raporttiin "items to report" ja "more items report" kohdista. "Report destination" kohdasta valitaan mihin halutaan raportin ilmestyvän (vaihtoehtoina on erilliseen ikkunaan, tulostimelle tai erilliseen tiedostoon).
25. Kun halutut tiedot raporttiin on valittu, klikataan ikkunassa olevaa "Report" painiketta, jolloin raportti ilmestyy haluttuun kohteeseen.
26. Jos raportti avataan erilliseen ikkunaan, se pitää erikseen tulostaa klikkaamalla



(print), jolloin aukeaa printtaus ikkuna, mistä valitaan tarvittavat tiedot kopioiden määrästä, printeristä ja mitkä sivut halutaan tulostaa. Klikkaa OK ja tulostin alkaa tulostaa. Tämän jälkeen ikkunat voidaan sulkea. HUOM! Muista tarkistaa, että tulostin on kiinni tietokoneessa ja tulostin on painettu päälle.

- 
- **Laitteen sammuttaminen**
- Kun kaikki mittaukset ovat valmiina, kone voidaan sammuttaa seuraavasti.
  1. Ikkunasta, jossa on tietokoneen ja basic -laitteen kuva, klikataan control → shutdown hardware, jolloin pumpput sammuvat.
  2. Kun paine on laskenut noltaan irrotetaan kolonni laitteistosta ja laitetaan sen molempiin päihin korkit.
  3. Sammutetaan 792 Basic IC 1.0 -ohjelma rastista ja vastataan molempiin kysymyksiin yes. Sammuta tietokone ja ionikromatografi sen takana olevasta virtakatkaisijasta.
-

## 9 LAITTEISTON PESU

Jos laite on ollut kauan käyttämättömänä se pitää puhdistaa 1:4 metanolivesiliuoksella. Tämä liuos laitetaan eluentin tilalle.

1. Käynnistä tietokone ja IC-laitteisto (laitteen takana virtakatkaisija). Tietokoneen salasana on rotametri.
2. Avaa tietokoneelta ohjelma 792 Basic IC 1.0. Ohjelmassa ei ole salasanaa, joten paina "log in".
3. Liitetään detektoriin menevä johto ja kolonnin alaosaan menevä johto yhdistelmäliittimellä toisiinsa. Varmistetaan samalla, että suppressoriin ei voi mennä liuoskia. HUOM! Muista laittaa korkki kolonnin alaosaan.
4. Avaa ajo-ohjelma File → Open → System → Default → Default. Tällöin aukeaa ikkuna, jossa on tietokoneen ja basic laitteen kuva. Kaksoisklikkaa basic laitteen kuvaa, jolloin saat auki ikkunan, josta näet ajankohtaisen konduktiivisuuden ja paineen ja pystyt säätämään eluentin virtausnopeutta.
5. Muuta ikkunasta "Flow" kohtaan arvoksi 0,7 ml/min. Paina "send to unit" ja tiedot vaihtuvat "actual valuen" kohtaan.
  -
6. Käynnistä pumpput, joko painamalla tietyn pumpun painiketta tai klikkaamalla control → startup hardware. Pumppujen pitäisi käynnistyä ja pesunesteen alkaa virrata.
7. Ajoa jatketaan niin kauan, kunnes konduktiivisuus on alle 10  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , jonka jälkeen voidaan kääntää "Valve" kohdasta injektorin asento Fill:stä Inject:iin tai toisinpäin painamalla valittavaa nappia.
8. Jatketaan ajoa taas, kunnes konduktiivisuus on alle 10  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Tämän jälkeen sammutetaan pumpput, joko klikkaamalla control → shutdown hardware tai pumppujen painikkeista ja vaihdetaan pesuliuoksen tilalle eluentti.
  -
9. Käynnistetään pumpput uudelleen ja annetaan huuhdella pesuliuos pois laitteistosta, kunnes konduktiivisuus on tasoittunut. Tämän jälkeen kiinnitä kolonni takaisin omalle paikalleen ja liitetään vanhat liitännät takaisin paikoilleen.
10. Käynnistetään taas pumpput uudelleen ja ajetaan niin kauan, että konduktiivisuus on tasoittunut 14-16  $\mu\text{S}/\text{cm}$ .
11. Sammutetaan pumpput, joko klikkaamalla control → shutdown hardware tai painamalla pumppujen painikkeista.

**10 MUUTOSHISTORIA**

| <b>Versionu-<br/>mero</b> | <b>Muutos</b> | <b>Tekijä</b> | <b>Päivä-<br/>määrä</b> |
|---------------------------|---------------|---------------|-------------------------|
| 1                         | Alkuperäinen  | XXXX          | pp.kk.vvvv              |