

Meija Korpela

# Liukoisen fluoridin määrittäminen jätteiden kaatopaikka- ja hyötykäyttökelpoisuusnäytteistä ionikromatografisesti

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Laboratorioanalytiikka (AMK)

Laboratorioala

Opinnäytetyö

18.5.2016

<p>Tekijä(t) Otsikko</p> <p>Sivumäärä Aika</p>	<p>Meija Korpela Liukoisen fluoridin määrittäminen jätteiden kaatopaikka- ja hyötykäyttökelpoisuusnäytteistä ionikromatografisesti</p> <p>30 sivua + 1 liite 18.5.2016</p>
<p>Tutkinto</p>	<p>Laboratorioanalytiikka (AMK)</p>
<p>Koulutusohjelma</p>	<p>Laboratorioala</p>
<p>Ohjaaja(t)</p>	<p>Kemisti Martina Metzler Yliopettaja Jukka Niiranen</p>
<p>Opinnäytetyön aihe oli ionikromatografisen menetelmän validointi. Tarkoituksena oli validoida ionikromatografinen menetelmä, jolla voidaan määrittää liukoinen fluoridi kaatopaikka- ja hyötykäyttökelpoisuusnäytteistä ja korvata ioniselektiiviseen elektrodiin perustuva menetelmä. Jätteiden ominaisuuksille on valtioneuvoston asetuksissa määritelty raja-arvot, joiden mukaan ne voidaan joko käyttää hyödyksi maarakentamisessa tai loppusijoittaa sopivalle kaatopaikalle.</p> <p>Validoitaviksi parametreiksi valittiin toteamis- ja määrittämissä raja-arvot, lineaarisuus ja mittausalue, tarkkuus, toistettavuus ja uusittavuus sekä mittausepävarmuus. Validointiin valittiin maa- ja betonimatriisit. Näytteet esikäsiteltiin liuosmuotoon kaksivaiheisella uutolla.</p> <p>Menetelmä saatiin validoitua onnistuneesti ja menetelmää voidaan käyttää manuaalisen menetelmän asemesta, jolloin analysoija voi siirtyä muihin työtehtäviin ionikromatografian analysoimissa näytteissä. Betonimatriisin validointitulokset ovat hieman huonompia kuin maa-matriisin, sillä betoninäytteet sisältävät vähemmän fluoridia, mutta niiden laimennostarve on suurempi. Menetelmän mittausepävarmuudeksi saatiin noin 20 % sekä pienillä että suurilla pitoisuuksilla.</p>	
<p>Avainsanat</p>	<p>kaatopaikkakelpoisuus, hyötykäyttökelpoisuus, ionikromatografia, menetelmän validointi, ioniselektiivinen elektrodi</p>

Author(s) Title	Meija Korpela Determination of Soluble Fluoride with Ion Chromatography in Waste Samples to be Landfilled or Recycled
Number of Pages Date	30 pages + 1 appendix 18 May 2016
Degree	Bachelor of Laboratory Services
Degree Programme	Laboratory Sciences
Instructor(s)	Martina Metzler, Chemist Jukka Niiranen, Principal Lecturer
<p>The purpose of this thesis was to validate an ion chromatographic method. The goal was to validate a method which could be used to determine soluble fluoride concentration in waste samples. Qualities for waste material which can be recovered in earth construction or land-filled in certain landfills are defined in the Finnish government statutes. The old analysis method based on ion selective electrode is supposed to be replaced by the new ion chromatographic method.</p> <p>Validated parameters were limit of detection and limit of quantitation, linearity and working range, accuracy, reproducibility and repeatability. Measuring uncertainty of the method was also estimated. Validated matrices were concrete and soil. Sample pretreatment was carried out by two stage extraction.</p> <p>Method was validated successfully. The ion chromatographic method can be used instead of ion selective electrode. Automated method allows the analyst to execute other analyses while ion chromatography is running. Validation results for concrete matrix were not as good as for soil matrix because of the smaller fluoride concentration and the need of sample dilution. Measurement uncertainty of the method was around 20 % for both large and small concentrations.</p>	
Keywords	landfill acceptance, recovery of waste in earth construction, ion chromatography, method validation, ion selective electrode

## Sisällys

1	Johdanto	1
2	Fluoridi	2
2.1	Ominaisuudet	2
2.2	Ionikromatografisen mittauksen ongelmat	2
2.3	Ioniselektiivinen elektrodi	3
3	Kaatopaikka- ja hyötykäyttökelpoisuus	5
4	Validointi	7
4.1	Validoinnin tarkoitus ja prosessin vaiheet	7
4.2	Mitattavat ominaisuudet	7
4.2.1	Toteamis- ja määrittäysraja	8
4.2.2	Mittausalue ja lineaarisuus	9
4.2.3	Tarkkuus	10
4.2.4	Täsmällisyys, toistettavuus ja uusittavuus	12
4.2.5	Mittausepävarmuus	12
5	Ionikromatografia	14
5.1	Ionikromatografia	14
5.2	Laitteisto ja toiminta	15
5.3	Ionikromatografian hyödyt ja haitat	18
6	Näytteiden esikäsittely	18
7	Työn suoritus	20
7.1	Toteamis- ja määrittäysraja	20
7.2	Lineaarisuus ja mittausalue	20
7.3	Toistettavuus ja uusittavuus	21
7.4	Tarkkuus	22
7.5	Mittausepävarmuus	22
8	Tulokset	22
8.1	Toteamis- ja määrittäysraja	22

8.2	Lineaarisuus ja mittausalue	23
8.3	Toistettavuus ja uusittavuus	24
8.4	Tarkkuus	25
8.5	Mittausepävarmuus	25
9	Yhteenveto	27
	Lähteet	28
	Liitteet	
	Liite 1. Mittaustulokset	

## **Alkusanat**

Tämä opinnäytetyö on suurin projekti, jonka tähän mennessä olen kohdannut. Työn valmistuminen on ihme, ja kiitos siitä kuuluu useille henkilöille.

Kiitos Novalab Oy:lle mukavasta työympäristöstä ja tämän opinnäytetyön mahdollistamisesta. Erityisesti haluan kiittää ohjaajaani Martina Metzleriä, jonka kannustava, avulias ja positiivinen luonne motivoi minua jaksamaan päivästä toiseen aina prosessin loppuun asti.

Suuret kiitokset myös ohjaavalle opettajalleni Jukka Niiraselle sujuvasta ja leppoisasta ohjauksesta. Kärsivällisempää ja osaavampaa ohjaajaa ei olisi ollut mahdollista saada.

Lopuksi haluan kiittää perhettäni, joka on auttanut minua niin hyvinä kuin huonoina hetkinä, sekä opinnäytetyöni että opintojeni kanssa. Suurin kiitos kuuluu isälleni, jonka tuki ja apu on ollut sanoinkuvaamattoman tärkeää.

18.5.2016 Hämeenlinna

Meija Korpela

## 1 Johdanto

Tämän opinnäytetyön tarkoitus oli validoida ionikromatografinen menetelmä, jolla määritetään kaatopaikka- ja hyötykäyttökelpoisuusnäytteistä liukoinen fluoridi. Validoitaviksi matriiseiksi valittiin maa ja betoni.

Opinnäytetyö tehtiin Novalab Oy:lle, joka on Karkkilassa sijaitseva FINASin akkreditoima kemiallinen ja mikrobiologinen testauslaboratorio. Laboratorio on toiminut vuodesta 1988 lähtien ja tarjonnut jatkuvasti laaja-alaisemmin erilaisia analyysipalveluita muun muassa vesi-, elintarvike- ja ympäristönäytteistä.

Veteen uutetuista kaatopaikka- ja hyötykäyttökelpoisuusnäytteistä on määritetty liukoinen fluoridi aikaisemmin manuaalisesti ioniselektiivisellä elektrodilla. Tämä menetelmä vaatii tekijän jatkuvaa läsnäoloa. Menetelmä siirrettiin ionikromatografille, jotta siitä saataisiin sujuvampi, nopeampi ja automatisoidumpi. Mittausmenetelmän pohjana käytettiin talous- ja luonnonvesinäytteille kehitettyä menetelmää.

## 2 Fluoridi

### 2.1 Ominaisuudet

Fluori on hyvin reaktiivinen epämetalli, joka esiintyy luonnossa vain ionimuodossa erilaisina fluorideina. Pienissä määrin fluorin saanti on ihmiselle tärkeää luuston ja erityisesti hampaiden terveyden kannalta. Se estää bakteerien aiheuttamaa hammaskiilteen mineraalien liukenemistä ja ehkäisee reikiintymistä aiheuttavien bakteerien aineenvaihduntaa ja happojen tuottoa. [1, s. 161; 2.] Suurina annoksina pitkäaikaisessa altistuksessa se on kuitenkin myrkyllistä ja voi aiheuttaa hampaiden fluoroosia eli laikkukiilletautia, ja hyvin suurina määrinä vahinkoa luustolle [1, s. 161; 3]. Euroopan elintarviketurvallisuusvirasto EFSA:n suositusten mukainen fluoridin kokonaissaanti vuorokaudessa tulisi olla 0,05 mg/kg kehonpainoa kohti [4].

Fluoridia esiintyy luonnollisesti maankuoressa, vedessä ja ilmassa. Ihminen altistuu fluoridille ruoan, juoman ja hengitysilman kautta. Maa-ainekseen päätyvä fluoridi kertyy maaperän kasveihin ja sen kautta niitä syöviin eläimiin. [5.] Vähäfluorisilla alueilla fluoridin saantia pystytään lisäämään teollisesti fluoraamalla juomavettä. Ilmakehään fluoria päätyy ihmisen toiminnan myötä esimerkiksi teollisuuden kaasumaisista jätteistä sekä hiilen poltossa syntyvistä kaasuista. [1, s. 161; 3.]

### 2.2 Ionikromatografisen mittauksen ongelmat

Fluoridin ionikromatografista määrittystä voivat häiritä fluoridin kanssa samanaikaisesti eluoituvat ionit. Suorassa kromatografisessa päällekkäin eluoitumisessa häiritsevän analyytin retentioaika on sama kuin fluoridilla tai analyytin vuorovaikutus kolonnin kanssa on niin heikkoa, että se eluoituu fluoridin lailla hyvin varhaisessa vaiheessa. [6, s. 5; 7, s. 4.] Esimerkiksi alifaattiset orgaaniset hapot, kuten asetaatti ja formiaatti, eluoituvat lähes samaan aikaan kuin fluoridi ja voivat näin ollen eluoitua fluoridin kanssa päällekkäin, jolloin fluoridin pitoisuutta on vaikea määrittää [7, s. 4]. Käyttämällä erilaisin ominaisuuksin varusteltuja kolonneja (kuten eri stationäärifaasi, partikkelikoko tai selektiivisyys), muuttamalla eluentin ominaisuuksia, kuten väkevyyttä ja lisäämällä orgaanisia modifioijia, vaihtamalla detektointitapaa tai poistamalla häiriötekijät erilaisia esikäsittelytekniikoita käyttäen voidaan päällekkäin eluoitumista ehkäistä [8, s. 373; 6, s. 6]. Jos



fluoridia on näytteessä yli 1,5 mg/l, häiritsevät analyytit eivät yleensä vaikuta merkittävästi [6, s. 7]. Myös yleisen natriumkarbonaatti-natriumbikarbonaattieluuntin vaihtaminen dinatrium-tetraboraatti-eluenttiin voi edesauttaa erottumista [9, s. 700].

Konsentraatioriippuvaisesta päällekkäin eluotumisesta on kyse silloin, kun näytteessä on suuri konsentraatio ioniä, joka eluoituu tutkittavan ionin kanssa lähekkäin. Tällöin suurena pitoisuutena esiintyvä ioni voi eluoitua fluoridin aikaikkunassa ja peittää fluoridin kromatogrammiin alleen. Näytteen laimennus voi tässä tapauksessa ratkaista ongelman. [6, s. 5–6.] Laimennus voi kuitenkin heikentää määrittämisen herkkyyttä [10, s. 1].

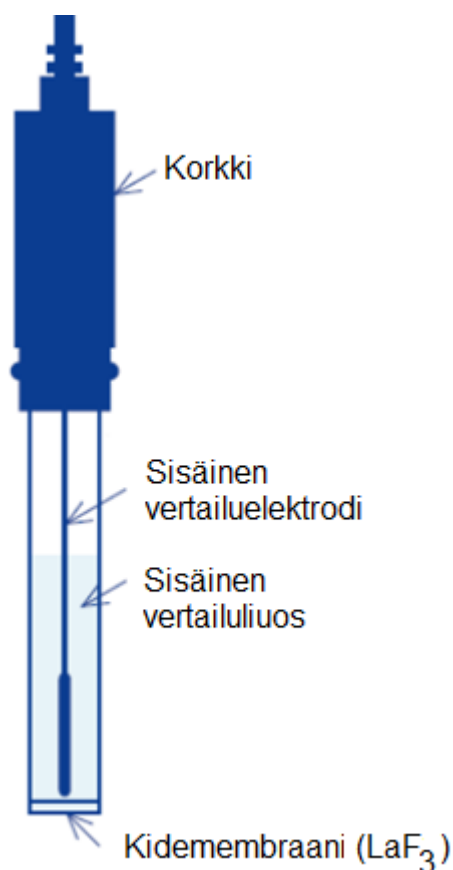
Joskus fluoridi voi eluoitua lähellä negatiivista vesipiikkiä, mikä vaikeuttaa määrittämistä. Ongelma voidaan poistaa lisäämällä standardeihin ja näytteisiin pieni määrä eluettia. [7, s. 4.] Myös näytteessä olevat metallit voivat aiheuttaa ongelmia anionien määrittämisessä. Metallionit voidaan poistaa näytteistä erilaisilla kationivaihtajilla, kuten H- tai Na-patruunoilla. Patruunoita käytettäessä tulee huomioida, että esimerkiksi H-patruunan käyttö voi näytematriisista riippuen aiheuttaa fluoridin häviämistä näytteestä. [11, s. 2.]

### 2.3 Ioniselektiivinen elektrodi

Ioniselektiivinen elektrodi (ISE) on yleisesti käytetty laite liukoisen fluoridin tutkimiseen (kuva 1). Fluoridiselektiivisessä elektrodissa on fluoridiselektiivinen membraani, usein lantaanifluoridikide  $\text{LaF}_3$ , jonka vain fluoridi-ionit läpäisevät. [12, s. 1.] Kun elektrodin kide upotetaan fluoridi-ioneja sisältävään näyteliuokseen, elektrodipotentiaali kulkee kiteen läpi. Tätä potentiaalia verrataan vertailuelektrodin potentiaaliin, joka on vakio. Mitattu potentiaaliero ilmoittaa vapaan ionin aktiivisuuden liuoksessa, mikä vastaa liuoksen fluoridipitoisuutta. Mitattua elektrodipotentiaalia voidaan kuvata Nernstin yhtälöllä kaavassa 1. [13, s. 37.]

$$E = E^0 + S \cdot \log(A) \quad (1)$$

E = mitattu elektrodipotentiaali  
 $E^0$  = vertailuelektrodin potentiaali (vakio)  
 A = fluoridin aktiivisuustaso liuoksessa  
 S = kulmakerroin, kun muuttuja on log (A)



Kuva 1. Fluoridiselektiivisen elektrodin rakenne [14, s. 3]

Ioniselektiivisen elektrodin etuja ovat sen yksinkertaisuus ja edullisuus. Liuksen sameus tai väri eivät vaikuta määrittämiseen. [15.] Menetelmä on kuitenkin erittäin herkkä näyteliuoksen pH:n suhteen, mikä vaikuttaa tulosten luotettavuuteen. Matalassa pH:ssa ( $\text{pH} < 5$ ) fluoridi voi muodostaa ei-dissosioituvaa fluorivetyhappoa HF, jolloin pitoisuudeksi saadaan oikeaa arvoa pienempi tulos. Korkeassa pH:ssa ( $\text{pH} > 10$ ), mikäli vetyipitoisuus on fluoridipitoisuuden nähden sama tai suurempi, vety voi antaa vasteen, jolloin fluoridipitoisuudeksi saadaan todellista suurempi tulos. Lisäämällä ionivahvuuden säätämiseen käytettävää TISAB-puskuriliuosta näytteen pH pyritään asettamaan optimivälille 5,0–5,5. [12, s. 1; 13, s. 35.]

Fluoridi voi muodostaa komplekseja moniarvoisten kationien, kuten raudan, piin ja alumiinin kanssa, mikä pienentää fluoridin vastetta ja häiritsee määrittämistä. Fluoridi voidaan vapauttaa lisäämällä näytteeseen näitä kationeja sitovia reagensseja, kuten sitraatti-, CDTA- tai Tris-reagensseja. [12, s. 2.] Häiriön suuruus riippuu liuksessa olevien häiritsevien kationien pitoisuudesta, fluoridin pitoisuudesta sekä liuksen pH:sta [16, s.1]. Mi-

käli häiritsevien kationien konsentraatio liuoksessa on huomattavasti suurempi kuin fluoridin, kelatoivat reagenssit eivät välttämättä kykene vapauttamaan kaikkea fluoridia [12, s. 2].

Nimensä mukaisesti ioniselektiivinen elektrodi on täysin selektiivinen membraanin tyy-pistä riippuen tietyille ionille, eikä sillä voida määrittää samanaikaisesti useampia ana-lyyttejä [15].

### **3 Kaatopaikka- ja hyötykäyttökelpoisuus**

Valtioneuvoston asetuksessa VNa 331/2013 on määritelty kaatopaikkojen perusominais-suudet, jätteen sijoittamista koskevat yleiset rajoitukset sekä kaatopaikkakelpoisuuden arviointiin liittyvät kriteerit ja menettelytavat. Asetuksen tarkoitus on ohjata kaatopaikko-jen suunnittelua, käyttöä sekä valvontaa niin, että toiminnasta aiheutuvia ympäristö- ja terveyshaittoja voidaan mahdollisuuksien mukaan ehkäistä ja torjua. [17.]

Kaatopaikkakelpoisuutta arvioidaan kolmitasoisella menettelyllä, johon kuuluu jätteen perusmäärittely, vastaavuustestaus ja kaatopaikalle tehtävä tarkastus. Kelpoisuusarvi-oinnin perustana on luotettava tieto jätteen alkuperästä ja sen ominaisuuksista. Perus-määrittelyssä selvitetään jätteen perusominaisuudet, kuten koostumus ja liukoisuusomi-naisuudet, joiden avulla voidaan todentaa sen kelpoisuus kuhunkin kaatopaikkaluokkaan ja sen turvallinen sijoittaminen pitkälläkin aikavälillä. Perusmäärittely tehdään jäte-erit-täin. Säännöllisesti syntyvälle jätteelle tehdään perusmäärittely ensimmäiselle jäte-erälle, minkä jälkeen riittää vastaavuustestaus. Vastaavuustestauksella varmistetaan säännöllisin väliajoin jätteen perusmäärittelyssä havaittujen ominaisuuksien täyttävän asetetut raja-arvot. Testaus tehdään perusmäärittelyssä määritetyillä testausmenetel-millä. Arvioinnin viimeisessä tasossa, kaatopaikalle tehtävän jätteen tarkastuksessa var-mistetaan, että jäte on sellaista kuin laadituissa asiakirjoissa on esitetty. [17.]

Kaatopaikat luokitellaan niihin sijoitettavan jätteen ominaisuuksien perusteella vaaralli-sen jätteen, tavanomaisen jätteen ja pysyvän jätteen kaatopaikaksi. Taulukossa 1 on ilmoitettu testattavan jätteen sisältävän liukoisen fluoridin sallittu raja-arvo kussakin kaa-topaikkaluokassa, minkä perusteella sen sijoittamista kaatopaikalle arvioidaan. [17.] Raja-arvot on ilmoitettu yksikössä mg/kg uuttosuhteessa L/S = 10 l/kg (liquid to solid),

jossa tietty massa tutkittavaa näytematriisia on uutettu kymmenkertaiseen nestemäärään.

Taulukko 1. Liukoisen fluoridin raja-arvot kaatopaikkakelpoisuuden arvioinnissa kaatopaikkaluokittain [17]

Kaatopaikkaluokka	Liukoisen F:n raja-arvo mg/kg kuiva-ainetta (L/S = 10 l/kg)
Pysyvän jätteen kaatopaikka	10
Tavanomaisen jätteen kaatopaikka	150
Vaarallisen jätteen kaatopaikka	500

Jätteen määrää kaatopaikoilla pyritään vähentämään ja hyötykäyttöä lisäämään lainsäädännön avulla. Valtioneuvoston asetuksissa VNa 591/2006 ja VNa 403/2009 on määriteltä kivihiilen, turpeen ja puuperäisen aineksen poltossa syntyvän lento- ja pohjatuhkan, leijupetihiekan sekä betonimurskan hyötykäyttökelpoisuusvaatimukset. Näitä voidaan hyödyntää erilaisissa maarakentamiskohteissa, kuten teiden ja katujen, pysäköintialueiden ja urheilu- ja virkistysalueiden reittien täyttöaineena ilman ympäristönsuojelulain mukaista ympäristölupaa. Jätettä hyödynnettäessä on huolehdittava siitä, että jätteen haitallisten aineiden pitoisuus ja liukoisuus on määritetty ohjeistuksen mukaan eivätkä arvot ylitä taulukossa 2 olevia raja-arvoja. [18.]

Taulukko 2. Liukoisen fluoridin raja-arvot hyötykäyttökelpoisuuden arvioinnissa [19; 20]

Jätteen kuvaus	Liukoisen F:n raja-arvo (mg/kg kuiva-ainetta, L/S = 10) Perustutkimukset		Liukoisen F:n raja-arvo (mg/kg kuiva-ainetta, L/S = 10) Laadunvalvontatutkimukset	
	Peitetty rakenne	Päällystetty rakenne	Peitetty rakenne	Päällystetty rakenne
<b>Betonimurske</b>	10	10	-	-
<b>Lento- ja pohjatuhka sekä leijupetihiekka</b>	10	50	10	50

Hyödynnettävä jäte ei saa sisältää terveydelle tai ympäristölle vaaraa aiheuttavia pitoisuuksia haitallisia aineita. Jätettä sisältävä rakenne tulee suojata peittämällä tai päällystämällä asetuksen mukaisin vaatimuksin. Hyötykäyttökohteen tulee sijaita turvallisella etäisyydellä pohjavesi- ja muista vesistöalueista. Asetuksen noudattamista valvovat alueellinen ympäristökeskus sekä kunnan ympäristönsuojeluviranomainen. [19.]

## 4 Validointi

### 4.1 Validoinnin tarkoitus ja prosessin vaiheet

Menetelmän validoinnin tarkoitus on osoittaa menetelmän soveltuvuus käyttötarkoitukseensa sekä varmistaa menetelmällä saatujen tulosten luotettavuus tunnetun epävarmuuden rajoissa. Menetelmältä vaaditut kriteerit voidaan asettaa laboratorion tai asiakkaiden tarpeiden mukaan. Joissakin tapauksissa viranomaisten vaatimukset tulee huomioida. [21, s. 1.] Validointia suunniteltaessa tulee ottaa huomioon tarvittava laajuus eli validointiaste. Esimerkiksi uutta menetelmää kehitettäessä, käytössä olevaa menetelmää uudistettaessa ja kahden analyysimenetelmän yhtäpitävyyttä osoitettaessa tutkitaan eri parametreja, joiden arvojen tuntemus on kussakin tapauksessa merkittävää. Myös kansainvälisten standardien tai muiden tahojen laatimien menetelmien käyttöönoton yhteydessä validointi tulee suorittaa, jotta varmistutaan menetelmän toimivuudesta laboratorion omassa ympäristössä. [22, s. 26; 21, s. 18–20.]

Validointi suoritetaan etukäteen suunnitelluilla testeillä, joista saatavia tuloksia hyödyntäen saadaan tietoa menetelmän ominaisuuksista. Tuloksista voidaan myös arvioida menetelmän epävarmuutta. Näiden perusteella arvioidaan uudelleenvalidoinnin tarvetta ja sovitaan menetelmän laadunvarmistustoimenpiteistä. Validointi huomioi kaikki menetelmän osat esikäsittelyvaiheesta aina tulosten tulkintaan. Validointi pätee vain tutkimuksessa käytetyille laitteille, pitoisuusalueille ja matriiseille. [21, s. 1.]

Lopuksi laaditaan validointiraportti, josta käy ilmi työn tavoite, toteutus sekä mittauksissa käytetty laitteisto, välineistö ja materiaalit. Raporttiin kirjataan määritetyt parametrit, tulosten tarkastelu ja arvio siitä, sopiiko menetelmä käyttötarkoitukseensa. Mittauksista saatu data sekä itse raportti arkistoidaan. [21, s. 22.]

### 4.2 Mitattavat ominaisuudet

Menetelmän soveltuvuutta aiottuun käyttötarkoitukseen arvioidaan tutkimalla erilaisia parametreja. Tähän työhön parametreiksi valittiin toteamis- ja määritysraja, mitta-alue ja lineaarisuus, tarkkuus, uusittavuus ja toistettavuus sekä mittausepävarmuus.

#### 4.2.1 Toteamis- ja määrittäysraja

Toteamisraja (*LOD, Limit of Detection*) on määritettävän yhdisteen pienin pitoisuus, joka validoitavalla menetelmällä voidaan näytteestä luotettavasti havaita. Arvon tulee erota merkittävästi nollanäytteen arvosta. Määrittäysraja (*LOQ, Limit of Quantitation*) kuvaa sellaista yhdisteen pitoisuutta, joka näytteestä voidaan määrittää hyväksyttävällä tarkkuudella. Tällöin voidaan sanoa tietyllä tilastollisella todennäköisyydellä analyysin pitoisuuden eroavan merkittävästi nolasta. Rajojen arviointi tehdään yleensä 95 %:n todennäköisyydellä. [23, s. 29.]

Toteamis- ja määrittäysrajat määritetään sellaisesta näytteestä, joka ei sisällä lainkaan tai sisältää hyvin vähän tutkittavaa yhdistettä [23, s. 29]. Rajat lasketaan riittävän monen, toisistaan riippumattoman rinnakkaisnäytteen mittaustulosten keskiarvon  $\bar{x}$  ja keskihajonnan  $s$  avulla. Toteamisraja määritetään kaavan 2 mukaisesti, keskihajonta kerrotaan yleensä kertoimella  $k = 3$ . [23, s. 29; 21, s. 7.]

$$LOD = \bar{x} + 3s \quad (2)$$

Määrittäysrajan laskuun käytetään kaavaa 3. Keskihajonnan kertoimeksi valitaan kerroin väliltä 6–14 riippuen menetelmällä tavoitellusta tarkkuudesta. [21, s. 7.]

$$LOQ = \bar{x} + ks \quad (3)$$

Kromatografisissa menetelmissä voidaan rajojen arviointiin käyttää myös taustan signaali/kohina-suhdetta (*Signal to Noise ratio, S/N*). Toteamisrajalla suhteen tulisi olla suurempi kuin 3, määrittäysrajalla välillä 10–20. [21, s. 7.] Rajojen määrittämisessä näytteenä voidaan käyttää esimerkiksi nollanäytettä tai, määrittäysrajan arvioimisessa, lähellä määrittäysrajaa olevaa standardiliuosta. Optimitilanteessa määrittäykseen käytettävän näytteen matriisi on kuitenkin samanlainen kuin rutiininäytteissä. [23, s. 29–30.]

Toteamis- ja määrittäysrajojen väliin jää niin kutsuttu harmaa alue, jossa voidaan todeta olevan tutkittavaa yhdistettä, mutta määrittäykseen liittyy merkittävä epävarmuus [21, s. 7].

#### 4.2.2 Mittausalue ja lineaarisuus

Menetelmän kalibroinnin tavoite on määrittää yhteys tutkittavan analyytin pitoisuuden ja mittalaitteen antaman vasteen välille. Kvantitatiiviselle menetelmälle tulee määrittää sellainen analyytin pitoisuusalue eli mittausalue (*working range*), jolla menetelmää voidaan luotettavasti käyttää. Alkupäässä aluetta rajoittaa toteamis- tai määritysraja. Loppupäässä rajoittava tekijä on mittalaitteen detektio-ominaisuudet eli sen kyky havaita analyytin pieniä pitoisuusvaihteluita. Alue voi sisältää useita lineaarisuusalueita tai vain yhden lineaarisesti kalibroitavan pitoisuusalueen. Alue voi sisältää myös laajemman alueen, jossa käytetään epälineaarista kalibroitua. [23, s. 16.]

Mittausalueelta etsitään sellainen pitoisuusalue, jossa kalibroitisuora käyttäytyy lineaarisesti [23, s. 16]. Lineaarinen alue (*linear range*) määritetään mittaamalla vähintään viittä standardi- tai standardinlisäysnäytettä, joissa kaikissa on eri pitoisuus tutkittavaa analyyttiä. Mittaustuloksista piirretään kalibroitisuora, jossa mittalaitteen antama vaste  $y$  on piirretty pitoisuuden  $x$  funktiona. [21, s. 5.] Lineaarissa kalibroinnissa pitoisuuden ja vasteen välistä riippuvuutta voidaan kuvata regressiosuoralla  $y = a + bx$ . Muuttuja  $a$  on  $y$ -akselin leikkauspiste ja  $b$  on regressiosuoran kulmakerroin. [23, s. 17.] Se kuvaa myös menetelmän herkkyyttä eli mittaukseen käytettävän laitteen kykyä havaita analyytin pitoisuusvaihteluita [23, s. 28]. Suoran sovituksen liittyvä korrelaatiokerroin  $r$  saadaan tilasto-ohjelmilla [23, s. 17]. Mikäli ensimmäisen asteen yhtälö ei sovi kyseiseen pistejoukkoon, voidaan pistejoukkoon sovittaa korkeamman asteen yhtälö tai vastearvo voidaan muuntaa esimerkiksi logaritmillä [23, s. 16–17].

Lineaarisuuden tutkimiseen voidaan käyttää mittausdatasta saatavia residuaaleja. Ne ovat mitattujen ja regressiosuoralta laskettujen  $y$ -arvojen erotuksia, jotka lasketaan kaavan 4 mukaisesti. [23, s. 18.]

$$\varepsilon = y_i - \hat{y}_i \quad (4)$$

$\varepsilon$  = residuaali

$y_i$  = mitattu  $y$ -arvo

$\hat{y}_i$  = regressiosuoralta laskettu  $y$ -arvo

Residuaaleista piirretään kuvaaja  $x$ :n funktiona. Jos residuaalit asettuvat  $x$ -akselin molemmille puolille lähes yhtä tasaisesti, on lineaarinen malli soveltuva tutkittavaan piste-

joukkoon. Mikäli residuaaleista muodostuu selkeä käyrä, tutkittavaa pitoisuusaluetta voidaan pienentää tai suoran sovituksen voidaan käyttää korkeamman asteen yhtälöä. [23, s. 18.]

Kuvaajasta nähdään myös selvästi kalibrointisuoran poikkeavat arvot, jotka tulee tarkistaa lisämittauksilla. Mikäli poikkeavat arvot voidaan perustellusti hylätä, saadaan regressiokertoimesta luotettavampi. [23, s. 18.]

Jos ensimmäisen asteen yhtälö ei sovi kalibrointiaineistoon, sovittamista voidaan kokeilla toiseen asteen yhtälöllä  $y = a + bx + cx^2$ . Toisen asteen yhtälö on paraabeli, joten kalibrointiin tulee käyttää useampia standardipisteitä kuin ensimmäisen asteen yhtälössä. Toisen asteen yhtälön soveltuvuutta aineistoon tutkittaessa voidaan residuaalit laskea yhtälön 4 mukaisesti ja piirtää niistä kuvaaja. Pisteiden tulisi jakautua tasaisesti x-akselin kummallekin puolelle. [23, s. 22.]

Koska kuvaaja on paraabeli, yhdellä y-arvolla voi olla kaksi eri x:n arvoa. Kalibrointikäyrällä ei saa tällöin olla maksimia tai minimiä käytettävällä mittausalueella ( $x_i - x_n$ ). Näiden arvojen olemassaoloa tutkitaan ensimmäisen derivaatan nollakohdan avulla. Määritelmästä  $y' = b + 2cx_d$  saadaan  $x_d$  kaavan 5 mukaisesti. [23, s. 22.]

$$x_d = -\frac{b}{2c} \quad (5)$$

Kun  $x_d$  ei ole mittausalueen sisäpuolella, alueella ei ole minimiä eikä maksimia. Suoraa voidaan täten käyttää kalibrointiin. [23, s. 22.] Mittausalue ei voi jatkua kovin lähelle tätä arvoa [23, s. 23].

#### 4.2.3 Tarkkuus

Jokaisen kvantitatiivisen analyysin odotetaan tuottavan mahdollisimman tarkkoja ja todellisia tuloksia. Tarkkuus (*accuracy*) kuvaa menetelmän kykyä saada mahdollisimman lähellä todellisia arvoja olevia analyysituloksia. Jotta tarkkuus voidaan määrittää, tulee näytteen todellinen pitoisuus tuntea. [23, s. 33.]

Tarkkuuteen vaikuttavat sekä systemaattiset virheet (*systematic error, bias*) että satunnaisvirheet (*random error*). Näiden summa kuvaa kokonaisvirhettä (*total error*), johon



tarkkuus usein rinnastetaan. Satunnaisvirheiden vaikutus tulisi olla mahdollisimman pieni, eikä systemaattista virhettä saisi esiintyä juuri lainkaan. [23, s. 33.] Satunnaisvirheen osuutta on mahdollista pienentää toistamalla mittaus useita kertoja, mutta systemaattisia virhelähteitä ei voida täysin poistaa [21, s. 3]. Systemaattista virhettä voivat aiheuttaa muun muassa virheellinen kalibrointi, näytteiden muuttuminen ennen analyysiä sekä kontaminaatio [23, s. 33; 21, s. 3].

Menetelmän tarkkuuden määrittämisessä voidaan käyttää varmennettuja vertailumateriaaleja (*Certified Reference Materials CRM*), mikäli sellaisia on saatavilla. Vertailumateriaalin tulee tällöin vastata mahdollisimman läheisesti matriisiltaan ja pitoisuudeltaan menetelmän käyttötarkoitusta. Vertailunäyte määritetään kuten tavallinen näyte, ja määritetyn pitoisuuden tulisi mittauserävarmuuden puitteissa vastata valmistajan ilmoittamaa pitoisuutta. Menetelmän tarkkuutta voidaan arvioida myös interkalibrointitutkimuksissa, joissa omalla menetelmällä saatuja tuloksia verrataan järjestäjän ilmoittamiin tuloksiin. [21, s. 3.]

Mikäli vertailumateriaalien käyttö eikä interkalibrointitutkimukseen osallistuminen ole mahdollista, voidaan tarkkuutta arvioida takaisinsaantokokeilla (*recovery tests*). Testin avulla saadaan selville, onko näytteessä määritystä häiritseviä yhdisteitä. Tunnettu määrä analyyttiä lisätään näytteeseen, jonka alkuperäinen pitoisuus tunnetaan. [23, s. 34.] Lisäys tehdään menetelmän lineaarisella alueella ja eri pitoisuustasoilla. Lisäysnäyte analysoidaan kuten alkuperäinen näyte, ja tuloksista lasketaan analyytin takaisinsanto R-% kaavalla 6. [21, s. 3].

$$R - \% = \frac{(S-U)}{C} * 100 \% \quad (6)$$

S = Lisäyksen sisältävän näytteen mitattu pitoisuus

U = Alkuperäisen näytteen mitattu pitoisuus

C = Tunnettu standardin lisäyksen pitoisuus

Saannolle voidaan asettaa jokin tavoiteväli, johon saatua tulosta verrataan [23, s. 34]. Mikäli tuloksilta ei odoteta merkittävää tarkkuutta, voidaan väliä laajentaakin. Mitä lähempänä suhteellinen saanto on 100 prosenttia, sitä tarkempi on validoitava menetelmä. [21, s. 3.]

#### 4.2.4 Täsmällisyys, toistettavuus ja uusittavuus

Täsmällisyydellä (*precision*, myös täsmävyys ja toistotarkkuus) tarkoitetaan useiden toistomäärittysten tulosten yhtäpitävyyttä [23, s. 40]. Se kuvaa määrittämiseen liittyvää satunnaisvaihtelua, ja sitä arvioidaan kahdella tulosten välistä hajontaa ilmaisevalla parametrilla, toistettavuudella sekä uusittavuudella [21, s. 4; 23, s. 40]. Kvantitatiivinen arvio lasketaan tulosten keskihajontojen avulla ja ilmoitetaan suhteellisena hajontana [21, s. 4].

Toistettavuus (*repeatability*) kuvaa mittaustulosten yhtäpitävyyttä silloin, kun mittaukset tehdään samalla menetelmällä samoissa olosuhteissa lyhyen aikavälin sisällä. Arviointi voidaan tehdä laboratorion sisällä määrittämällä erityyppisiä näytteitä, kutakin näytettä useana päivänä. Monivaiheisissa analyyseissä ei välttämättä voida tehdä rinnakkaismäärittäyksiä, jolloin menetelmän toistettavuutta arvioidaan keskihajonnan avulla keskiarvosta. [23, s. 40.] Toistettavuusarvio voidaan myös tehdä useista näytteistä parittaisten rinnakkaismäärittysten keskihajonnan avulla. Mitä useammassa sarjassa toistettavuusmittaukset tehdään, sitä realistisempi arviosta saadaan. [23, s. 41.]

Uusittavuus (*reproducibility*) kuvaa toistotulosten yhtäpitävyyttä, kun mittaukset suoritetaan yksittäisen mittauksen kestoajaan nähden pitkällä aikavälillä samalla tai eri menetelmällä. Mittalaite, mittaaja sekä laboratorio vaihtuvat mittausten välillä, mikä aiheuttaa uusittavuuteen suurempaa vaihtelua kuin toistettavuuteen. Laboratorion sisäistä uusittavuutta (*within-laboratory reproducibility*) menetelmälle voidaan tutkia tekemällä mittauksia pitkän ajan kuluessa samalla laitteella, mutta esimerkiksi mittausten tekijä voi vaihdella. [23, s. 40.]

#### 4.2.5 Mittausepävarmuus

Mittausepävarmuus (*measurement uncertainty*) on sellainen mittaustulokselle arvioitu vaihteluväli, jonka sisältä todellisen arvon oletetaan löytyvän tietyllä todennäköisyydellä. Se antaa tietoa myös tulosten laadukkuudesta. Sitä tarvitaan muun muassa arvioitaessa tulosten luotettavuutta, verrattaessa tuloksia keskenään sekä tehtäessä tuloksista johtopäätöksiä. [23, s. 53.]

Jokaisessa mittauksessa esiintyy epävarmuutta, joka voi olla peräisin mistä tahansa analyysiprosessin vaiheesta aina näytteenotosta itse mittaukseen asti [21, s. 10]. Menetelmän mittausepävarmuutta arvioitaessa tulisi kaikki mahdolliset epävarmuustekijät pyrkiä ottamaan huomioon. Tärkeimmät tekijät ilmenevät yleensä menetelmän testauksissa. Perustana voidaan pitää laboratorion sisäisen uusittavuuden arvioinnissa käytettyä aineistoa. [23, s. 53; 21, s. 11.]

Mittausepävarmuus voidaan määrittää menetelmän satunnaisvirheen ja systemaattisen virheen avulla [23, s. 53]. Satunnaisvirhettä voidaan arvioida oikeiden näytteiden rinnakaistuloksista, joille on tehty r-%-taulukko [23, s. 48; 24, s. 11]. Menetelmän satunnaisvirhe eli suhteellinen hajonta  $s(r)$  % saadaan kaavalla 7, jossa kerroin  $d_2$  on taulukkoarvo, joka määräytyy rinnakkaisten näytteiden lukumäärän perusteella. Kun rinnakkaisnäytteitä on kaksi,  $d_2 = 1,128$ . [24, s. 11, 41.]

$$s(r)\% = \frac{\text{alueen keskihajonta}}{d_2} \quad (7)$$

Tuloksista voidaan piirtää kuvaaja, jossa  $s(r)$  % esitetään pitoisuuden funktiona. Kun arviointiin käytettävät tulokset asetetaan suuruusjärjestykseen, nähdään kuvaajasta keskihajonnan mahdollinen riippuvuus pitoisuudesta. [23, s. 48–49.] Tulosten vaihteluun voivat vaikuttaa sekä matriisi että suhteellisen pienet analyttipitoisuudet. Suhteellinen hajonta yleensä suurenee lähestyttäessä menetelmän määritysrajaa. [24, s. 12.]

Systemaattisen virheen arviointi voidaan tehdä määrittämällä varmennettuja vertailumateriaaleja tai useampaa eripitoista kontrollinäytettä, joista yksi on suurella ja toinen pienellä pitoisuusalueella [23, s. 53; 24, s. 10]. Systemaattista virhettä aiheuttavat tekijät pyritään poistamaan menetelmästä [21, s. 10]. Analyysimenetelmän kokonaispoikkeama B kuvaa mitatun arvon ja teoreettisen arvon eroa. Se voidaan määrittää kaavalla 8. [22, s. 31.]

$$B = x - T \quad (8)$$

$x$  = useamman tuloksen mitattu keskiarvo  
 $T$  = teoreettinen arvo

Poikkeama voidaan ilmoittaa prosentiarvona B % kaavan 9 avulla. Tulos kuvaa menetelmän systemaattista virhettä. [22, s. 31.]

$$B \% = \frac{x-T}{T} * 100 \% \quad (9)$$

Epävarmuus ilmoitetaan tuloksen yhteydessä yleensä suhteellisena standardipoikkeamana, sillä menetelmän optimaalisella mittausalueella se on pitoisuudesta riippumaton [21, s. 10–11; 23, s. 53]. Matalilla pitoisuusalueilla on kuitenkin usein käytännöllisempää käyttää suhteellisen arvon sijaan absoluuttista epävarmuutta, jottei epävarmuusarviosta tule äärettömän pieni tai suuri [24, s. 12].

Mittauksen kokonaisepävarmuus eli yhdistetty mittausepävarmuus  $u_c$  saadaan yhdistämällä yksittäiset epävarmuustekijät  $u_i$  kaavan 10 mukaisesti [23, s. 54].

$$u_c = \sqrt{\sum u_i^2} \quad (10)$$

Kertomalla yhdistetty epävarmuus peittokertoimella  $k = 2$  saadaan laajennettu epävarmuus  $U$ . Tämä vastaa noin 95 %:n luottamusväliä, eli 95 %:n todennäköisyydellä saatu tulos on epävarmuusarvion sisällä. [23, s. 54.]

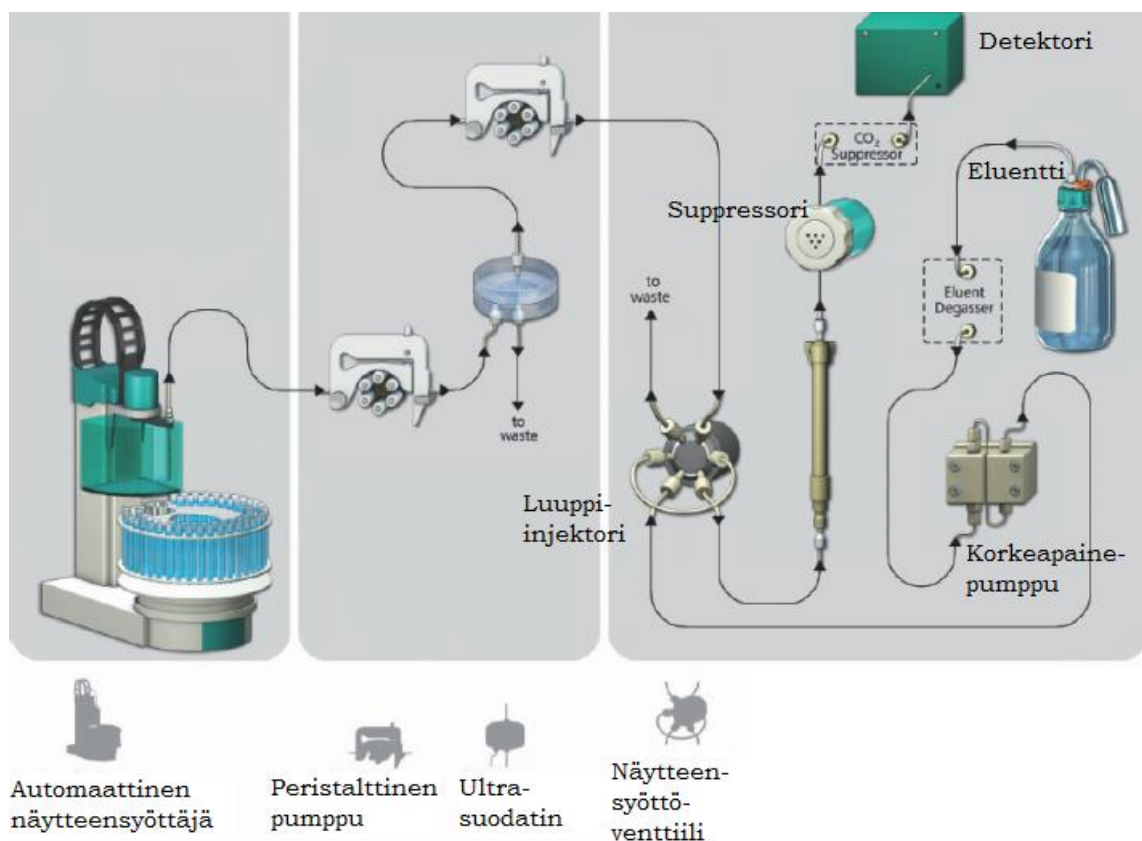
## 5 Ionikromatografia

### 5.1 Ionikromatografia

Ioninvaihtokromatografia (*ion exchange chromatography*), josta yleisesti puhutaan termillä ionikromatografia, on nestekromatografinen erotusmenetelmä, joka perustuu näyteionien tasapainoreaktioon liikkuvan nestefaasin ja kiinteän faasin välillä. Erotuskolonnin varauksettomaan kiinteään faasiin on sidottu sähköisesti varautuneita ryhmiä. [25, s. 16–17.] Näiden ioninvaihtoryhmien ja näytteen vastakkaisesti varautuneiden ionien vuorovaikutus saa näyteionit adsorboitumaan kiinteään faasiin. Tämän vuorovaikutuksen vahvuus on riippuvainen ionisten ryhmien varauksien määrästä ja lokaatiosta. [26.] Saman varauksen omaavat ionit voivat vaihdella paikkoja jatkuvasti stationäärifaasin ja liikkuvan faasin välillä [25, s. 17]. Näyteionit eluoituvat kolonnista ionisen vuorovaikutuksensa vahvuuden perusteella heikommasta alkaen [26].

## 5.2 Laitteisto ja toiminta

Tässä työssä käytetty ionikromatografi on Metrohm 930 Compact IC Flex, jonka yhteydessä on automaattinen näytteensyöttäjä. Laitteessa näytteet suodatetaan integroidun ultrasuodattimen läpi, joka suodattaa 0,45 µm suuremmat partikkelit. Ennen varsinaista erotuskolonnia systeemissä on Metrosep RP Guard -esikolonne, jota seuraa Metrosep A Supp 5 250/4 mm -anionikolonne. Laitteessa käytetään kemiallista suppressoria (Metrohm Suppressor Module MSM) ja ionien havainnointi tapahtuu johtokykydetektorilla. Eluentina käytettiin Metrohmin suosittelemaa eluenttia, jossa on 3,2 mmol/l  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ja 1,0 mmol/l  $\text{NaHCO}_3$ . Ohjelmistona laitteen kanssa käytetään MagIC Net -ohjelmistoa. Kuvassa 2 on rakennekaavio ionikromatografista.

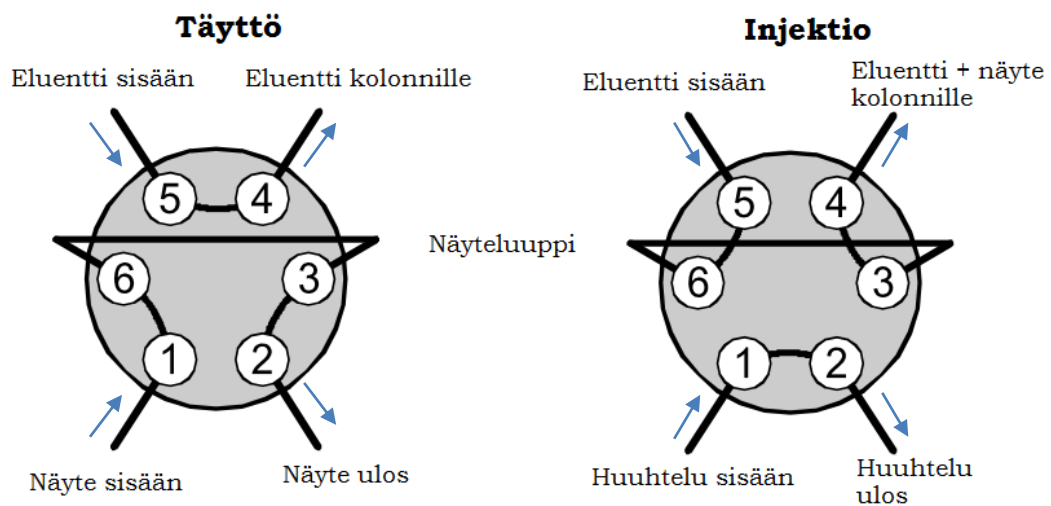


Kuva 2. Ionikromatografien rakenne [27, s. 4]

Nestefaasia eli eluenttia pumpataan tasaisella virtausnopeudella kromatografisen systeemin läpi. Nesteen tasaisen virtauksen varmistamiseen voidaan käyttää pulssin-

vaimenninta, joka on asennettu korkeapainepumpun ja injektorin väliin. Vaimennin suo-  
jaa kolonnin paineenvaihtelun aiheuttamilta vahingoilta ja vähentää mittausta häiritsevää  
pulssintuottoa. [28, s. 4; 29, s. 17.]

Näyte injektoidaan näyteputkesta systeemiin kolmiporttisen näytteensyöttöventtiiliin läpi  
(kuva 3). Yhdestä portista virtaa koko ajan eluenttia kolonnille. Täyttöasennossa kaksi  
porteista on yhdistettynä näyteluuppiin, johon näyte injektoidaan. [28, s. 4; 30.] Injekti-  
oasennossa eluenttiportti yhdistetään näyteluuppiin, jolloin näyte kulkeutuu virtaavan  
eluentin mukana kolonniin. Samanaikaisesti näytteen injektointiportti huuhdellaan ve-  
dellä. [30.] Näyteluupin tilavuus on yleensä 10–100 µl. Näytteensyöttö tapahtuu ilman-  
paineessa. [28, s. 4.]



Kuva 3. Injektori täyttö- ja injektioasunnoissa [31, s. 10]

Eluentti on suolaliuos, joka toimii puskuriliuoksena ja stabiloi pH:n. Yleisesti eluoivana  
anionina käytetään karbonaatti-iona. Tällöin eluentti on seos, joka sisältää yhdenar-  
voista vetykarbonaattisuolaa  $\text{HCO}_3^-$  ja kahdenarvoista karbonaattisuolaa  $\text{CO}_3^{2-}$ . Näiden  
suhdetta liuoksessa muuttamalla voidaan säätää eriarvoisten analyytti-ionien retentiota  
sekä niiden välistä selektiivisyyttä. [32, s. 4.]

Kromatografisen systeemin tärkein osa on erotuskolonne, jossa ionien erottuminen ta-  
pahtuu. Kolonnin stationäärifaasi koostuu usein polymeerihartsista, johon on sidottu  
funktionaalisia ryhmiä. Anionikolonnissa anioninvaihtajaryhmät ovat yleisimmin kvater-  
näärisiä ammoniumryhmiä  $\text{NR}_3^+$ . Hartsilla on tällöin positiivinen varaus, joka vetää ne-

gatiivisia anioneja nestefaasista puoleensa. Näytteen kulkiessa kolonnin läpi näyteanalyytit korvaavat anionivaihtajiin adsorboituneet eluentti-anionit ja kiinnittyvät lyhyeksi ajaksi varautuneen hartsin pintaan. Eluenttia lisättäessä kolonniin eluentti-ionien konsentraatio suurenee ja eluentin ionit korvaavat analyytti-ionit. [33.] Eri analyytti-ionit eluokituvat eriaikaisesti johtuen niiden erilaisista sähköisistä affiniteeteistä kiinteään faasiin [25, s. 17–18]. Ionit eluokituvat kolonnista koon ja varauksen mukaisesti pienemmästä suurempaan ja yksiarvoiset ennen moniarvoisia [34, s. 9]. Yleisesti erotus tapahtuu huoneenlämmössä [28, s. 4].

Kolonnista analyyttiliuos kulkeutuu detektorille, jolla tutkittavat analyytit havaitaan ja määritetään. Yleisin detektori ionikromatografiassa on johtokykydetektori, joka mittaa eluentin sähkönjohtavuutta. Detektorin tulee havaita eluentin kokonaisjohtokyvyssä tapahtuvat pienet muutokset, jotka analyytti-ionit saavat aikaan. Analyytin aiheuttaman johtokyvyn muutoksen suuruus riippuu siitä, kuinka suuri analyytin pitoisuus eluentissa on. [25, s. 29–30.]

Systeemissä voi ennen detektoria olla suppressori, jonka tarkoitus on parantaa määrittäksen herkkyttä vähentämällä eluentin aiheuttamaa korkeaa taustanjohtokykyä ja muuttamalla näyteionit johtavampaan muotoon [28, s. 4–5]. Suppressori on kolmikammioinen sylinteri, jonka kammioissa on täytteenä kationinvaihtohartsia. Sylinteri kääntyy tietyin väliajoin 120 astetta, jolloin kammioiden paikat ja tehtävät vaihtuvat, mutta ne ovat koko ajan toiminnassa. Suppressoivassa kammiossa kammion kationinvaihtajan vetyionit korvautuvat sisääntulevan nesteen eluenttikationeilla. Eluentin karbonaatti reagoi vedyn kanssa ja muodostuu hiilihappoa, joka on epästabiili ja heikko happo. Koska se on vain osittain dissosioitunut, sen johtavuus on hyvin matala. Tyypillisesti karbonaattieluentin taustanjohtavuus on 10–20  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Kationinvaihtajan protoni korvaa myös analyytin kationisuolan, jolloin analyytti vapautuu ja muuttuu happomuotoonsa ja sen johtavuus kasvaa. Vahvojen happojen johtavuus nousee huomattavasti, kun taas heikommilla hapoilla nousu on marginaalisempaa. [35, s. 4; 34, s. 15.] Suppressoinnin jälkeen sylinteri kääntyy regenerointiasentoon, jossa kammio regeneroidaan laimealla hapolla, jolloin eluenttikationit korvautuvat regenerointihapon protoneilla. Regeneroitu kammio käännetään huuteluasentoon, jossa ylimääräinen regenerointiliuos huuhdotaan ultrapuhtaalla vedellä. Huuhdeltu kammio on valmis suppressoimaan uutta näytettä. [35, s. 4.]

Detektorin antamat signaalit tuodaan tietokoneelle, jossa niistä luodaan kromatogrammi. Kolonnissa erottuneista ioneista piirretään eluutiojärjestyksen mukaisesti piikit, jotka kuvaavat detektorin vastetta kullekin anionille. Sopivaa ohjelmistoa käyttäen analyyttien pitoisuudet kvantitoidaan arvioimalla joko piikkien pinta-alaa tai korkeutta. [28, s. 5; 36.]

### 5.3 Ionikromatografian hyödyt ja haitat

Anionien määrittämiseen ionikromatografiset menetelmät ovat tehokkaita ja nopeita verrattuna tavallisiin liuoskemiallisiin menetelmiin, kuten titrimetriaan ja gravimetriaan. Ionikromatografilla voidaan mitata mataliakin ppb-tason ionipitoisuuksia ilman esikonsentroitua, ja käyttämällä konsentroivia kolonneja toteamisraajat voidaan asettaa jopa ppt-tasolle. Selektiivisyys varmistetaan valitsemalla sopivat erotus- ja detektointilaitteet kullekin määrittämiselle. Erotuskolonit ovat käytetystä stationäärifaasista riippuen hyvin stabiileja laajalla pH-alueella, jolloin vahvojenkin happo- ja emäseluenttien käyttö on mahdollista. Moniin analyysimenetelmiin verrattuna ionikromatografian etuna on mahdollisuus havaita useita eri näytekomponentteja samanaikaisesti. [28, s. 6–8.]

Kuitenkin klassisiin menetelmiin verrattuna ionikromatografinen tekniikka on kallista ja olosuhteet on säädettävä tarkasti. Jotkin kolonnin stationäärifaasit eivät kestä orgaanisia liuottimia, eikä tällöin liuottimia voida käyttää orgaanisten kontaminaatioiden poistoon. Analyyttien väliset suuret pitoisuuserot näytteessä voivat johtaa siihen, ettei kaikkia analyyttejä voida analysoida samassa ajossa, vaan näytettä on laimennettava. [28, s. 6–8.]

## 6 Näytteiden esikäsitteleminen

Kiinteät näytteet saatetaan liukoiseen muotoon standardin SFS-EN 12457-3 mukaisella kaksivaiheuttomenetelmällä. Näytteestä saadaan kaksi analyysinäytettä eri uutussuhteilla, L/S 2 ja L/S 8. L/S-suhde (*liquid to solid ratio*) tarkoittaa uuttonesteen eli ultra-puhtaan veden ja kiinteän aineen suhdetta. L/S 2 -uutossa nestettä on kaksi litraa yhtä kuiva-ainekiloa kohden ja L/S 8 -uutossa vastaavasti kahdeksan litraa. Molemmissa uutissa tehdään omat rinnakkaisnäytteet sekä nollanäytteet.

Ionikromatografi ilmoittaa pitoisuudet yksikössä mg/l. Asiakkaalle tulokset raportoidaan yksikössä mg/kg uutussuhteessa L/S 10, missä suhteessa myös raja-arvot on analyyttien



pitoisuuksille laissa laadittu. Tätä varten lasketaan yhteen L/S 2 ja L/S 8 -uuttojen ja niiden rinnakkaisnäytteiden pitoisuuksien keskiarvot. Nämä kerrotaan kertoimilla, jotka määritetään kaksivaiheisessa ravistelutestissä rinnakkaisnäytteistä. Ensimmäisen vaiheen kerroin saadaan ensimmäisen uuton mitatun tilavuuden suhteesta näytteeseen punnittuun kuiva-aineeseen. Toisen vaiheen kerroin saadaan vähentämällä ensimmäisen vaiheen uuton kerroin luvusta 10. [37.] Suurin osa tuloksista on esitetty yksikössä mg/kg uuttosuhteessa L/S 10.

Kuivilla ja kosteilla näytteillä on hieman erilainen käsittely. Kostea näytettä, kuten maata, punnitaan noin 220 g kahteen teflonastiaan. Näytteitä kuivataan 65-asteisessa uunissa 12 tuntia, minkä jälkeen niistä määritetään kuiva-ainepitoisuus kaavan 11 mukaisella yhtälöllä. [37.]

$$KAP = \frac{m_D}{m_W} * 100\% \quad (11)$$

$m_D$  = kuivan aineen massa (kg)

$m_W$  = kostean aineen massa (kg)

Näytteet yhdistetään, hienonnetaan ja seulotaan 4 mm:n seulalla. Ensimmäisen vaiheen uuttoa (L/S 2) varten punnitaan rinnakkaisnäytteinä yhden litran uuttopurkkiin 175 g kuivattua näytettä ja lisätään kaksinkertainen määrä vettä eli 350 ml, jolloin yhteismassa on 525 g. [37.]

Kuivat näytteet, kuten betoni, murskataan karkeasti ja hienonnetaan 4 mm seulan läpäiseväksi. Näytteestä määritetään kuiva-aine punnitsemalla noin 30 g hienonnettua näytettä kahteen astiaan, joita kuivataan 65-asteisessa uunissa 12 tuntia. Ensimmäiseen uuttoon punnittava näytemäärä lasketaan kuiva-ainepitoisuuden perusteella kaavan 12 mukaisesti. Rinnakkaiset näytteet liuotetaan litran uuttopurkkeihin. Liuotukseen käytettävän veden määrä on punnittavan näytemassan erotus 525 grammasta. [37.]

$$m(\text{punnittava}) = \frac{175g}{KAP} * 100\% \quad (12)$$

Nollanäyte valmistetaan uuttopurkkiin lisäämällä 450 ml ultrapuhdasta vettä. Näytteitä sekoitetaan pyöröravistelijassa kuusi tuntia, minkä jälkeen uutokset suodatetaan lasisiin näytepulloihin. Suodoksesta mitataan ensimmäisen vaiheen uuttotilavuus mittalasi tarkkuudella. [37.]

Toiseen vaiheen uuttoa (L/S 8) varten kahden litran uuttopurkkiin laitetaan ensimmäisestä uutosta jääneet suodatinpaperi sekä kiintoaines. Vettä lisätään niin, että nesteen määrä on kahdeksankertainen punnitun näytemäärän suhteen. Nollanäytteenä käytetään 1500 ml ultrapuhdasta vettä. Näytteitä sekoitetaan pyöröravistelijassa noin 18 tuntia. Liuokset suodatetaan lasisiin näytepulloihin ja niiden tilavuus määritetään mittalasin avulla. [37.]

## 7 Työn suoritus

Validoitavat parametrit ja validointi suoritettiin Novalabin menetelmätapaohjetta noudattaen. Mittausepävarmuuden arviointi toteutettiin SYKEN ja Nordtestin oppaita mukaellen.

Tutkittaviksi näytematriiseiksi valittiin maa ja betoni, jotka ovat yleisimmät kaatopaikka- ja hyötykäyttökelpoisuusnäytteiden matriisit, joita Novalabille tulee analysoitavaksi. Näytteinä käytettiin asiakkailta tulleita näytteitä, jotka oli aiemmin analysoitu toisella menetelmällä. Näytteet pyrittiin valitsemaan sattumanvaraisesti, mutta niiden valintaa rajoittivat näyteliuosten jäljellä oleva tilavuus sekä niiden anionipitoisuudet.

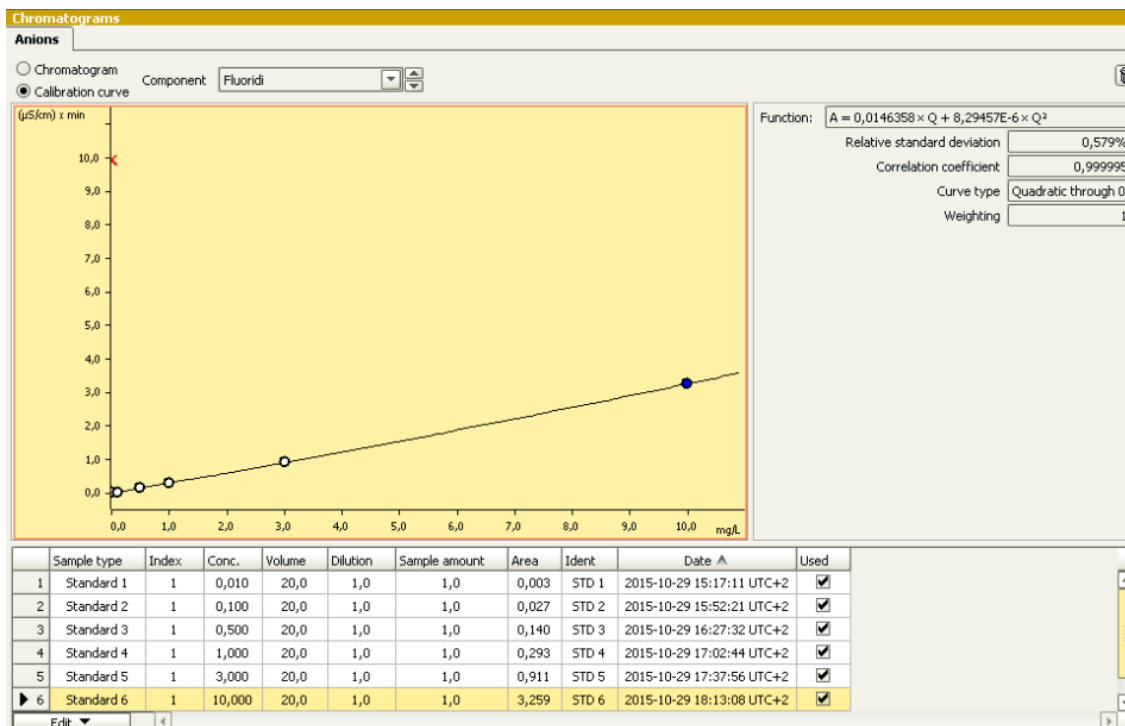
### 7.1 Toteamis- ja määrittäysraja

Määrittäyksen toteamis- ja määrittäysrajojen arviointi tehtiin uuttovaiheessa valmistetuilla nollanäytteillä. Molempien uuttovaiheiden nollanäytteet mitattiin kuusi kertaa. Määrittäyksen toteamisraja laskettiin kaavalla 2. Määrittäysraja laskettiin kaavalla 3, ja kertoimeksi valittiin  $k = 6$  (liite 1). Määrittäysrajan paikkansapitävyyttä tutkittiin määrittämällä neljä kertaa standardinäytettä, jonka pitoisuus oli 0,01 mg/l.

### 7.2 Lineaarisuus ja mittausalue

Lineaarinen alue määritettiin valitsemalla aikaisemman tiedon perusteella pitoisuusalue, jolla näytteet yleensä ovat. Tehtiin yhdeksän pisteen standardisuora, jonka pitoisuusalue oli 0,01–30 mg/l. Laittevalmistajan ohjeessa hyväksyttävä kalibrointi on saavutettu, kun selitysaste  $R^2 \geq 0,999$  ja suhteellinen keskihajonta  $RSD \% < 2$  %. Kalibrointikäyrä piirrettiin laitteen kanssa käytettävällä MagIC Net -ohjelmistolla. Kuvaaja on määrätty kulkemaan origon kautta. Ohjelma laskee myös parametrit  $R^2$  ja  $RSD$  %.

Valitulla pitoisuusalueella 0,01–30 mg/l suhteellinen keskihajonta oli pienempi kuin 2,0 %. Työn teknisen suorituksen helpottamiseksi karsittiin käytännön kannalta merkityksettömät kalibroituspisteet 0,05 mg/l, 5,0 mg/l ja 30 mg/l. Pitoisuusalueeksi tuli 0,01–10,0 mg/l, kuvaaja kuvassa 4.



Kuva 4. Kalibroitokuvaaja pitoisuusalueella 0,01–10,0 mg/l

Residuaalit laskettiin kaavalla 4 (liite 1). Pistejoukkoa sovitettaessa ensimmäisen asteen yhtälöön residuaalikuvaaja muodosti käyrän. Tämän vuoksi sovitus tehtiin toisen asteen yhtälöön ja piirrettiin kuvaaja. Toisen asteen käyrän paraabeliluonteen vuoksi kartoitettiin mahdolliset minimi- ja maksimit kaavan 5 avulla.

### 7.3 Toistettavuus ja uusittavuus

Menetelmän toistettavuutta tutkittiin ajamalla yhtenä päivänä sama näyte kuusi kertaa peräkkäin. Koe suoritettiin sekä maa- että betonimatriiseilla. Toistettavuusprosentti laskettiin tulosten keskiarvon ja keskihajonnan avulla (liite 1).

Uusittavuuden arviointia varten ajettiin samaa näytettä kuutena eri päivänä. Näytematriiseina tutkittiin maata ja betonia. Uusittavuusprosentti laskettiin määrittystulosten keskiarvojen ja keskihajontojen perusteella (liite 1).

#### 7.4 Tarkkuus

Menetelmän tarkkuutta arvioitiin saantokokeiden avulla. Matriisikohtaisesti tehtiin kolme rinnakkaisnäytettä. Analysoitujen fluoridipitoisuuksien perusteella näytteisiin lisättiin fluoridistandardia niin, että lisäysnäytteen pitoisuus oli noin kaksinkertainen normaaliin näytteeseen verrattuna. Lisäksi tehtiin eri pitoisuusalueilla. Tulokset on laskettu kaavan 6 mukaisesti uuttosuhteessa L/S 10 (liite 1).

#### 7.5 Mittausepävarmuus

Mittausepävarmuus määritettiin suhteellisen ja satunnaisen virheen avulla. Satunnaisvirhettä arvioitiin oikeiden näytteiden rinnakkaismääritysten avulla. Tuloksista tehtiin r%-taulukko, josta suhteellinen keskihajonta laskettiin kaavalla 7 (liite 1). Systemaattisen virheen arviointiin käytettiin mittauksissa saatua laadunvarmistukseen käytettävää kontrollinäytedataa (*Quality Control, QC*). Arvio tehtiin erikseen pienelle ja suurelle pitoisuudelle. Tulokset on laskettu kaavalla 9 ja ilmoitettu suhteellisena keskihajontana (liite 1). Kokonaisepävarmuus laskettiin käyttäen kaavaa 10. Laajennettu epävarmuus saatiin kertomalla kokonaisepävarmuus peittokertoimella  $k = 2$ .

## 8 Tulokset

### 8.1 Toteamis- ja määrittysraja

Menetelmän toteamis- ja määrittysrajat määritettiin nollanäytteiden toistomittauksilla ja laskettiin kaavoilla 2 ja 3. L/S 8 -vaiheen nollanäytteen fluoridipitoisuus oli niin pieni, ettei siitä pystytty havaitsemaan fluoridia, joten käytettiin L/S 2 -vaiheen nollanäytettä. Sen fluoridipitoisuus on suurempi, jolloin saadaan suurempi määrittysraja. Nollanäytteen tois-

tomittauksilla toteamis- ja määritysrajaksi määritettiin 0,001 mg/l. Ilmoitettavaksi määritysrajaksi valittiin 0,01 mg/l, joka on mittausaleen pienin standardi. Tulokset on koottu taulukoon 3.

Taulukko 3. Menetelmälle määritetyt toteamis- ja määritysrajat kaavoilla 2 ja 3

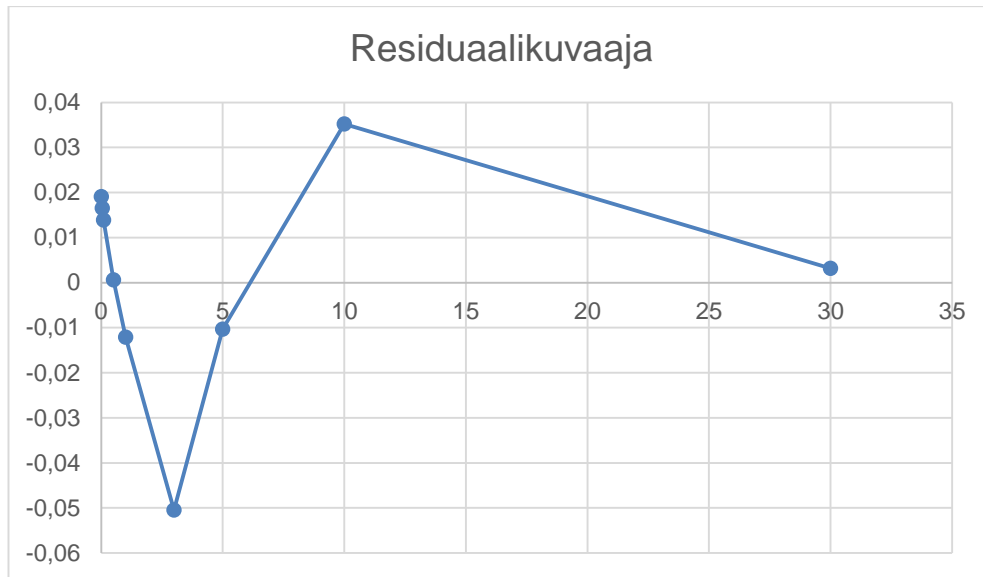
	<b>Nollanäyte L/S 2 (mg/l)</b>
<b>LOD</b>	0,001
<b>LOQ</b>	0,001
<b>ilmoitettava LOQ</b>	0,01

Pienimmän standardin pitoisuus on kymmenkertainen teknisesti saatuun määritysrajaan nähden, mutta käytännön kannalta pienemmillä pitoisuuksilla ei tässä analyysissä ole niin suurta merkitystä.

## 8.2 Lineaarisuus ja mittausalue

Lineaarinen alue määritettiin tekemällä standardisuora. Käytetty ohjelmisto laskee parametrit  $R^2$  ja RSD %, joiden arvoista nähdään laitevalmistajan ohjeistuksen mukaisesti kalibroinnin hyväksyttävyyttä. Alueella 0,01–10,0 mg/l arvoiksi saatiin  $R^2 \geq 0,999995$  ja RSD % < 0,579 %, jotka täyttävät laitevalmistajan hyväksyttävyyden kriteerit. Alue 0,01–10,0 mg/l valittiin menetelmän mittausalueeksi.

Residuaalit laskettiin kaavalla 4. Toisen asteen yhtälöön sovitettu ja piirretty residuaalikuvaaja nähdään kuvassa 5.



Kuva 5. Toisen asteen yhtälöön sovitettu residuaalikuvaaja

Toisen asteen yhtälön sovituksessa pisteet jakautuvat tasaisemmin kuin ensimmäisen asteen, mutta pisteiden vähyden vuoksi jakautuminen ei ole aivan selkeää. Minimi- ja maksimiarvojen etsimiseksi lasketun  $x_d$ :n arvoksi saatiin -520, mikä on reilusti mittausalueen ulkopuolella. Tutkimuksen perusteella toiseen asteen yhtälöä voidaan käyttää kalibrointitarkoitukseen.

### 8.3 Toistettavuus ja uusittavuus

Toistettavuus ja uusittavuus määritettiin rutiinäytteiden toistokokeilla, joiden perusteella laskettiin suhteellinen toistettavuus ja uusittavuus. Taulukkoon 4 on koottu näytteiden toistettavuus- ja uusittavuusprosentit matriisikohtaisesti. Tulokset on ilmoitettu suhteellisena keskihajontana uuttosuhteessa L/S 10.

Taulukko 4. Toistettavuus- ja uusittavuusprosentit matriiseittain. Suhteelliset keskihajonnat laskettu uuttosuhteessa L/S 10

	Maa	Betoni
toistettavuus-% (%)	0,65	13
uusittavuus-% (%)	0,95	6,5

Menetelmällä saadaan toistettavia ja uusittavia tuloksia. Betonimatriisin tulosten hajonta oli suurempaa kuin maamatriisin, mikä johtunee betoninäytteen pienistä fluoridipitoisuuksista ja suuresta laimennostarpeesta.

#### 8.4 Tarkkuus

Tarkkuus laskettiin saantokokeiden avulla kaavan 6 mukaisesti. Suhteelliset saantoprosentit matriiseittain on esitetty taulukossa 5, uuttosuhteessa L/S 10.

Taulukko 5. Takaisinsaantoprosentit maa- ja betonimatriisissa. Tulokset on laskettu kaavalla 6, uuttosuhteessa L/S 10

	<b>Maa 1</b>	<b>Maa 2</b>	<b>Betoni</b>
<b>R-% (%)</b>	96	96	79

Novalabin menetelmätapaohjeen mukaan takaisinsaantoprosentin ollessa välillä 80–120 % saanto on hyvä eikä matriisi aiheuta häiriötä. Maanäytteiden saanto lähestyy 100 %:a, mikä on hyvä. Betoninäytteen saantokoe toistettiin kolme kertaa, mutta saanto jäi kuitenkin hieman alle 80 %:iin. Koska betoninäytteen fluoridipitoisuus on pieni ja menetelmän mittausepävarmuus on suurempi pienemmillä pitoisuuksilla, eikä käytännön kannalta pienistä fluoridipitoisuuksista ole haittaa, betonimatriisin alle 80 %:n saanto ei ole merkittävä.

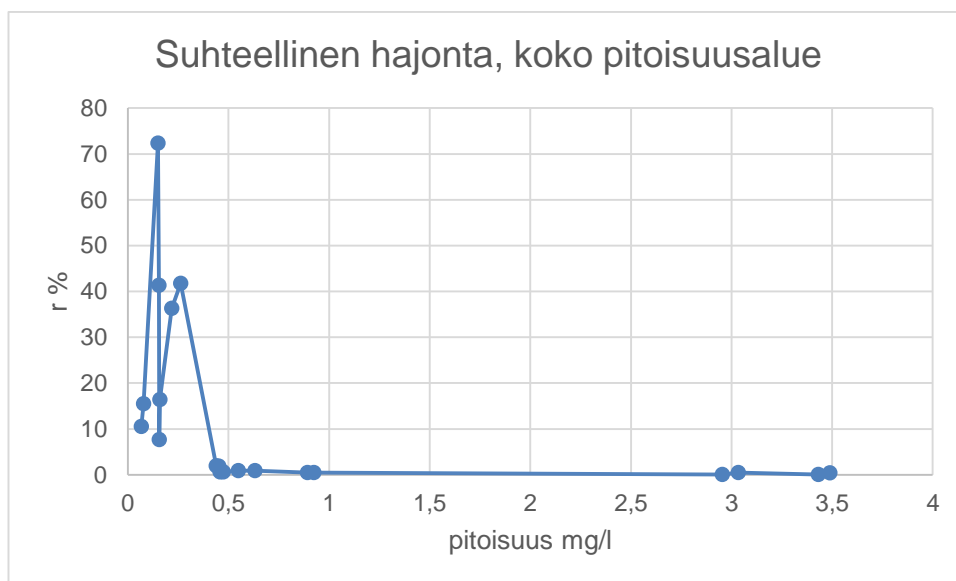
#### 8.5 Mittausepävarmuus

Mittausepävarmuutta arvioitiin satunnaisvirheen ja systemaattisen virheen avulla. Satunnaisvirheen arviointiin käytettiin rutiininäytteitä ja laskukaavaa 6. Systemaattisen virheen arviointi tehtiin kontrollinäytteen avulla laskukaavalla 8. Kokonaisepävarmuus laskettiin kaavalla 9. Menetelmän epävarmuustekijät satunnaisvirhe  $u_1$  ja systemaattinen virhe  $u_2$ , kokonaisepävarmuus  $u_c$  sekä laajennettu mittausepävarmuus  $U$  ovat koottuna taulukossa 6.

Taulukko 6. Analyysimenetelmän satunnaisvirhe, systemaattinen virhe, kokonaisepävarmuus sekä laajennettu epävarmuus erikseen pienelle ja suurelle pitoisuudelle arvioituna

	0,2 mg/l	3,0 mg/l
Satunnaisvirhe ( $u_1$ ) (%)	11	11
Systemaattinen virhe ( $u_2$ ) (%)	-6,9	-2,4
Kokonaisepävarmuus $u_c$ (%)	13	11
Laajennettu epävarmuus $U$ (%)	26	23

Kuvan 6 kuvaajassa on esitetty rinnakkaisnäytteiden suhteellinen hajonta analysoitujen näytteiden pitoisuusalueella. Tulokset on järjestetty kasvavan pitoisuuden mukaan.



Kuva 6. Suhteellinen hajonta rinnakkaisnäytteiden pitoisuusalueella

Kuvaajan perusteella tuloksissa nähdään hajonnan suurenevan pitoisuuksien pienentyessä ja lähestyessä määrittärajaa. Hajontaa kasvattaa myös joissain näytteissä, varsinkin voimakkaasti laimennetuissa, suurista kontrollinäytteistä peräisin oleva fluoridijäämä. Sarjan ensimmäisen analyysinäytteen fluoridipitoisuus on huomattavasti suurempi kuin niitä seuraavien näytteiden, eli suuret pitoisuudet eivät huuhtoudu kolonnilta heti. Koska laissa määritellyt raja-arvot ovat suuria, arvioidut mittausepävarmuudet ovat riittävät.



## 9 Yhteenveto

Menetelmä saatiin validoitua. Tulosten perusteella mittausmenetelmällä voidaan määrittää kaatopaikka- ja hyötykäyttökelpoisuusnäytteiden fluoridipitoisuuksia betoni- ja maanäytteistä.

Näytteiden sentrifugointi sekä ionikromatografian ultrasuodatin poistavat näytteistä suurimmat partikkelit, mutta silti laitteen letkut likaantuvat suhteellisen nopeasti. Jotta vältetään mahdollisilta kontaminaation aiheuttamilta virheellisiltä analyysituloksilta, ultrasuodattimen kalvo ja laitteen näyteletkut tulisi vaihtaa, kun ne ovat silminnähtävästi likaisia.

Kolonnein jäävän fluoridin takia kolonnin huuhteluaikaa voitaisiin pidentää. Tämä ei kuitenkaan ole välttämätöntä, sillä jäämän vaikutus ei näy suuremmilla pitoisuuksilla. Valtioneuvoston asetuksen mukaan alle 10 mg/kg fluoridia sisältävät jätteet voidaan sijoittaa pysyvän jätteen kaatopaikalle tai niitä voidaan hyötykäyttää, joten pienten pitoisuuksien epätarkkuus ei ole niin merkittävää.

## Lähteet

- 1 Yiping, Hang, Caiyun, Wu. 2010. Ion chromatography for rapid and sensitive determination of fluoride in milk after headspace single-drop microextraction with in situ generation of volatile hydrogen fluoride. Artikkel. *Analytica Chimica Acta* -lehti, nide 661, s. 161 - 166.
- 2 Fluori. 2013. Verkkodokumentti. Suomen hammaslääkäriliitto. <<http://www.hammaslaakariliitto.fi/fi/suunterveys/yleistietoa-suunterveydesta/hampaiden-ja-suunpuhdistus/fluori#.VoEc6U8atYY>> Luettu 28.12.2015.
- 3 Water Sanitation and Health (WSH), Naturally occurring hazards: Fluoride. Verkkodokumentti. World Health Organization WHO. <[http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/naturalhazards/en/index2.html](http://www.who.int/water_sanitation_health/naturalhazards/en/index2.html)> Luettu 28.12.2015.
- 4 Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fluoride. 2013. Aikakausjulkaisu. Euroopan elintarviketurvallisuusvirasto EFSA. <[http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific\\_output/files/main\\_documents/3332.pdf](http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/3332.pdf)> Luettu 25.3.2016.
- 5 Fluorine - F. Verkkodokumentti. Lenntech. <<http://www.lenntech.com/periodic/elements/f.htm>> Luettu 18.3.2016.
- 6 Hautman, Daniel P. & Munch, David J.. 1997. Method 300.1: Determination of inorganic anions in drinking water by ion chromatography. Uudistettu versio 1.0. Yhdysvaltain ympäristönsuojeluvirasto U.S. EPA.
- 7 Pfaff, John D.. 1993. Method 300.0: Determination of inorganic anions by ion chromatography. Uudistettu versio 2.1. Yhdysvaltain ympäristönsuojeluvirasto U.S. EPA.
- 8 Kontozova-Deutsch, Velichka, Deutsch, Felix, Bencs, László, Krata, Agnieszka, Van Grieken, René, De Wael, Karolien. 2011. Optimization of the ion chromatographic quantification of airborne fluoride, acetate and formate in the Metropolitan Museum of Art, New York. Lehtiartikkeli. *Talanta-lehti*, nide 86, s. 372 - 376.
- 9 Campbell, A.D.. 1987. Determination of fluoride in various matrices. Lehtiartikkeli. *Pure & Appl. Chem.* -lehti, nide 59, numero 5, s. 695 - 702.
- 10 Prusisz, Bartłomiej, Grymuza, Katarzyna, Pohl, Pawel. 2007. Interferences elimination in ion chromatography by inclusion of the interfering ion into the mobile phase - analysis of fluoride in chloride rich dietary samples. Lehtiartikkeli. *Talanta-lehti*, nide 71, s. 1364 - 1368.

- 11 Suomen standardoimisliitto SFS. 2009. SFS-EN ISO 10304-1: Water quality. Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions. Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate (ISO 10304-1:2007).
- 12 Lin, Rong, Srinivasan, Kannan, Divan, Khalil, Pohl, Chris. 2009. Analysis of Fluoride in Drinking Water in the Presence of Interfering Metal Ions Such as Iron and aluminum. PDF-tiedosto. <[http://www.dionex.com/en-us/webdocs/81241-PO-IICS-Fluoride-16Sept2009-Lpn\\_2339-1.pdf](http://www.dionex.com/en-us/webdocs/81241-PO-IICS-Fluoride-16Sept2009-Lpn_2339-1.pdf)> Luettu 25.3.2016.
- 13 Thermo Fisher Scientific. 2011. Users Guide: Fluoride Ion Selective Electrode. 267081-001, Versio A. Thermo Fisher Scientific, Environmental Instruments, Water Analysis Instruments, USA.
- 14 Measurements with fluoride selective electrode. 2013. PDF-tiedosto. Debrecenin yliopisto. <[http://www.chem.science.unideb.hu/Pharm/Potentiometry\\_theory.pdf](http://www.chem.science.unideb.hu/Pharm/Potentiometry_theory.pdf)> Luettu 7.4.2016.
- 15 Ion Selective Electrode Theory. 2015. Verkkodokumentti. Ionode. <<http://www.ionode.com/theory/ion-selective-theory>> Luettu 7.4.2016.
- 16 Yhdysvaltain ympäristönsuojeluvirasto U.S. EPA. 1974. Method 340.2: Fluoride (Potentiometric, Ion Selective Electrode). Uudistettu versio.
- 17 Valtioneuvoston asetus 331/2013. Valtioneuvoston asetus kaatopaikoista. Annettu 2.5.2013.
- 18 Valtioneuvoston asetus 591/2006. Valtioneuvoston asetus eräiden jätteiden hyödyntämisestä maarakentamisessa. Annettu 28.6.2006.
- 19 Valtioneuvoston asetus 591/2006, liite 1. Asetuksen soveltamisalaan kuuluvat jätteet. Annettu 28.6.2006.
- 20 Valtioneuvoston asetus 403/2009. Valtioneuvoston asetus eräiden jätteiden hyödyntämisestä maarakentamisessa annetun valtioneuvoston asetuksen liitteiden muuttamisesta. Annettu 4.6.2009.
- 21 Elintarvikevirasto EVIRA. 1997. Kemiallisten analyysimenetelmien validointiohje. Helsinki.
- 22 Mittatekniikan keskus MIKES. 2005. Kemian metrologian opas. Julkaisu J6/2005. Helsinki.
- 23 Irma Mäkinen, Anna-Mari Suortt, Riitta Saares, Ritva Niemi, Jari J. Marjanen, (toim.). 1996. Ohjeita ympäristönäytteiden kemiallisten analyysimenetelmien validointiin. Suomen ympäristökeskus SYKE, Helsinki.

- 24 Bertil Magnusson, Teemu Näykki, Hävard Hovind, Mikael Krysell. 2012. Nordtest Tekninen Raportti 537: Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories. Versio 3.1. Nordic Innovation, Oslo.
- 25 Elth, Claudia et al. 2007. Metrohm Monograph: Practical Ion Chromatography – an Introduction. 8.792.5013, 2. painos. Metrohm Ltd., Herisau, Sveitsi.
- 26 Principles of Ion Exchange Chromatography. Verkkodokumentti. Tosoh Bioscience LLC. <<http://www.separations.us.tosohbioscience.com/ServiceSupport/TechSupport/ResourceCenter/PrinciplesofChromatography/IonExchange>> Luettu 21.10.2015.
- 27 Metrohm. 2014. Metrohm Inline Sample Preparation - Manual. 8.940.5002EN. Metrohm AG, Herisau, Sveitsi.
- 28 Joachim Weiss. 1995. Ion Chromatography. 2. painos. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Saksa.
- 29 Metrohm. 2013. 930 Compact IC Flex Oven/ChS/PP: Manual – Short Instructions. 8.930.8115EN. Metrohm AG, Herisau, Sveitsi.
- 30 Paajanen, Salla. 2014. Ionikromatografian toimintaperiaate. Metrohm Nordic Oy:n IC-seminaari 2014.
- 31 Metrohm Ion analysis. 2001. 812 Valve Unit – 8.812.1003 Instructions for Use. Metrohm, Herisau, Sveitsi.
- 32 SeQuant. 2007. A Practical Guide to Ion Chromatography – an introduction and troubleshooting manual. 2. painos. SeQuant AB, Uumaja, Ruotsi.
- 33 William, Otto. Ion Chromatography learning module. Mainen yliopiston opetusmateriaalia. <http://machias.edu/basic-principles-ii-of-ion-chromatography.html> Luettu 21.10.2015.
- 34 Schäfer, Helwig et al. 1996. Ion Chromatography – Theory – Columns and Eluents. 8.014.5003. Metrohm AG, Herisau, Sveitsi.
- 35 Metrohm. 2014. Suppression in ion chromatography. 8.000.5118EN. Metrohm AG, Herisau, Sveitsi.
- 36 How Does High Performance Liquid Chromatography Work? 2016. Verkkodokumentti. Waters Corp.. <[http://www.waters.com/waters/en\\_FI/How-Does-High-Performance-Liquid-Chromatography-Work%3F/nav.htm?cid=10049055&locale=en\\_FI](http://www.waters.com/waters/en_FI/How-Does-High-Performance-Liquid-Chromatography-Work%3F/nav.htm?cid=10049055&locale=en_FI)> Luettu 10.4.2016.
- 37 Novalabin muistiinpanot näytteiden esikäsittelystä. Saatu 2.11.2015.

**Mittaustulokset**

Validointiparametrien määrittämiseen käytetyt analyysitulokset

Lineaarisuus – residuaalit			
x	y	$\hat{y}$	$E=y-\hat{y}$
0,01	0,003	-0,01607	0,01907
0,05	0,013	-0,00355	0,016549
0,1	0,026	0,012103	0,013897
0,5	0,138	0,137375	0,000625
1	0,282	0,2941	-0,0121
3	0,872	0,9225	-0,0505
5	1,543	1,5533	-0,0103
10	3,176	3,1408	0,0352
30	9,644	9,6408	0,0032

Toteamis- ja määrittäysraja		F (mg/l)
2015-10-30	0 L/S 2	0,001
2015-10-30	0 L/S 2R	0,001
2015-10-30	0 L/S 2RR	0,001
2015-10-30	0 L/S 2RRR	0,001
2015-10-30	0 L/S 2RRRR	0,001
2015-10-30	0 L/S 2RRRRR	0,001
	<b>ka</b>	<b>0,001</b>
	<b>s</b>	<b>0</b>
	<b>LOD</b>	<b>0,001</b>
	<b>LOQ</b>	<b>0,001</b>

UUSITTAVUUS		F (mg/l)
3.11.2015 18:01	15MN4578 L/S 8 1/2	0,446
3.11.2015 22:43	15MN4578 L/S 8R 1/2	0,46
4.11.2015 3:26	15MN4578 L/S 2 1/2	0,928
4.11.2015 8:08	15MN4578 L/S 2R 1/2	0,895
4.11.2015 15:17	15MN4578 L/S 8 1/2	0,458
4.11.2015 15:52	15MN4578 L/S 8R 1/2	0,456
4.11.2015 16:27	15MN4578 L/S 2 1/2	0,922
4.11.2015 17:03	15MN4578 L/S 2R 1/2	0,889
5.11.2015 19:42	15MN4578 L/S 8 1/2	0,455
5.11.2015 20:17	15MN4578 L/S 8R 1/2	0,454
5.11.2015 20:52	15MN4578 L/S 2 1/2	0,909
5.11.2015 21:27	15MN4578 L/S 2R 1/2	0,894
6.11.2015 13:18	15MN4578 L/S 8 1/2	0,45
6.11.2015 13:54	15MN4578 L/S 8R 1/2	0,452
6.11.2015 14:29	15MN4578 L/S 2 1/2	0,924
6.11.2015 15:04	15MN4578 L/S 2R 1/2	0,902
10.11.2015 14:10	15MN4578 L/S 8 1/2	0,452
10.11.2015 14:45	15MN4578 L/S 8R 1/2	0,45
10.11.2015 15:21	15MN4578 L/S 2 1/2	0,889
10.11.2015 15:57	15MN4578 L/S 2R 1/2	0,883
11.11.2015 18:28	15MN4578 L/S 8 1/2	0,454
11.11.2015 19:03	15MN4578 L/S 8R 1/2	0,457
11.11.2015 19:38	15MN4578 L/S 2 1/2	0,926
11.11.2015 20:14	15MN4578 L/S 2R 1/2	0,891

UUSITTAVUUS		<b>F (mg/l)</b>
4.11.2015 22:20	15BN0131 L/S 8 1/100	0,716
5.11.2015 3:06	15BN0131 L/S 8R 1/100	0,498
5.11.2015 7:48	15BN0131 L/S 2 1/100	0,541
5.11.2015 13:14	15BN0131 L/S 2R 1/100	0,63
5.11.2015 23:13	15BN0131 L/S 8 1/100	0,635
5.11.2015 23:48	15BN0131 L/S 8R 1/100	0,445
6.11.2015 0:23	15BN0131 L/S 2 1/100	0,476
6.11.2015 0:58	15BN0131 L/S 2R 1/100	0,553
6.11.2015 22:43	15BN0131 L/S 8 1/100	0,627
6.11.2015 23:18	15BN0131 L/S 8R 1/100	0,433
6.11.2015 23:54	15BN0131 L/S 2 1/100	0,472
7.11.2015 0:29	15BN0131 L/S 2R 1/100	0,546
10.11.2015 17:43	15BN0131 L/S 8 1/100	0,66
10.11.2015 18:18	15BN0131 L/S 8R 1/100	0,394
10.11.2015 18:53	15BN0131 L/S 2 1/100	0,463
10.11.2015 19:28	15BN0131 L/S 2R 1/100	0,556
12.11.2015 3:53	15BN0131 L/S 8 1/100	0,622
12.11.2015 4:28	15BN0131 L/S 8R 1/100	0,412
12.11.2015 5:03	15BN0131 L/S 2 1/100	0,463
12.11.2015 5:38	15BN0131 L/S 2R 1/100	0,573
13.11.2015 0:36	15BN0131 L/S 8 1/100	0,665
13.11.2015 1:12	15BN0131 L/S 8R 1/100	0,409
13.11.2015 1:47	15BN0131 L/S 2 1/100	0,468
13.11.2015 2:22	15BN0131 L/S 2R 1/100	0,564

TOISTETTAVUUS		F mg/l
3.11.2015 18:01	15MN4578 L/S 8 1/2	0,446
3.11.2015 18:36	15MN4578 L/S 8 1/2 r	0,447
3.11.2015 19:12	15MN4578 L/S 8 1/2 rr	0,448
3.11.2015 19:47	15MN4578 L/S 8 1/2 rrr	0,443
3.11.2015 20:22	15MN4578 L/S 8 1/2 rrrr	0,446
3.11.2015 20:57	15MN4578 L/S 8 1/2 rrrrr	0,447
3.11.2015 22:43	15MN4578 L/S 8R 1/2	0,46
3.11.2015 23:19	15MN4578 L/S 8R 1/2 r	0,45
3.11.2015 23:54	15MN4578 L/S 8R 1/2 rr	0,454
4.11.2015 0:29	15MN4578 L/S 8R 1/2 rrr	0,452
4.11.2015 1:04	15MN4578 L/S 8R 1/2 rrrr	0,451
4.11.2015 1:40	15MN4578 L/S 8R 1/2 rrrrr	0,455
4.11.2015 3:26	15MN4578 L/S 2 1/2	0,928
4.11.2015 4:02	15MN4578 L/S 2 1/2 r	0,909
4.11.2015 4:37	15MN4578 L/S 2 1/2 rr	0,909
4.11.2015 5:12	15MN4578 L/S 2 1/2 rrr	0,925
4.11.2015 5:48	15MN4578 L/S 2 1/2 rrrr	0,911
4.11.2015 6:23	15MN4578 L/S 2 1/2 rrrrr	0,907
4.11.2015 8:08	15MN4578 L/S 2R 1/2	0,895
4.11.2015 8:43	15MN4578 L/S 2R 1/2 r	0,884
4.11.2015 9:19	15MN4578 L/S 2R 1/2 rr	0,884
4.11.2015 9:54	15MN4578 L/S 2R 1/2 rrr	0,881
4.11.2015 10:29	15MN4578 L/S 2R 1/2 rrrr	0,887
4.11.2015 11:04	15MN4578 L/S 2R 1/2 rrrrr	0,884



TOISTETTAVUUS		F mg/l
4.11.2015 22:20	15BN0131 L/S 8 1/100	0,716
4.11.2015 22:55	15BN0131 L/S 8 1/100 r	0,533
4.11.2015 23:30	15BN0131 L/S 8 1/100 rr	0,487
5.11.2015 0:06	15BN0131 L/S 8 1/100 rrr	0,492
5.11.2015 0:41	15BN0131 L/S 8 1/100 rrrr	0,493
5.11.2015 1:16	15BN0131 L/S 8 1/100 rrrrr	0,458
5.11.2015 3:06	15BN0131 L/S 8R 1/100	0,498
5.11.2015 3:41	15BN0131 L/S 8R 1/100 r	0,403
5.11.2015 4:16	15BN0131 L/S 8R 1/100 rr	0,415
5.11.2015 4:52	15BN0131 L/S 8R 1/100 rrr	0,445
5.11.2015 5:27	15BN0131 L/S 8R 1/100 rrrr	0,4
5.11.2015 6:02	15BN0131 L/S 8R 1/100 rrrrr	0,461
5.11.2015 7:48	15BN0131 L/S 2 1/100	0,541
5.11.2015 8:23	15BN0131 L/S 2 1/100 r	0,478
5.11.2015 8:58	15BN0131 L/S 2 1/100 rr	0,479
5.11.2015 9:34	15BN0131 L/S 2 1/100 rrr	0,47
5.11.2015 10:09	15BN0131 L/S 2 1/100 rrrr	0,464
5.11.2015 11:28	15BN0131 L/S 2 1/100 rrrrr	0,458
5.11.2015 13:14	15BN0131 L/S 2R 1/100	0,63
5.11.2015 13:49	15BN0131 L/S 2R 1/100 r	0,54
5.11.2015 14:25	15BN0131 L/S 2R 1/100 rr	0,574
5.11.2015 15:00	15BN0131 L/S 2R 1/100 rrr	0,578
5.11.2015 15:35	15BN0131 L/S 2R 1/100 rrrr	0,552
5.11.2015 16:10	15BN0131 L/S 2R 1/100 rrrrr	0,556

Saanto		F mg/l
2015-11-06	15MN4177 L/S 8	0,284
2015-11-06	15MN4177 L/S 8 r	0,281
2015-11-06	15MN4177 L/S 8 rr	0,28
2015-11-12	15MN4177 L/S 8 sp	0,75
2015-11-12	15MN4177 L/S 8 r sp	0,764
2015-11-12	15MN4177 L/S 8 rr sp	0,774

Saanto		F mg/l
2015-11-06	15MN4177 L/S 2	0,827
2015-11-06	15MN4177 L/S 2r	0,817
2015-11-06	15MN4177 L/S 2rr	0,82
2015-11-12	15MN4177 L/S 2 sp	1,762
2015-11-12	15MN4177 L/S 2 r sp	1,761
2015-11-12	15MN4177 L/S 2 rr sp	1,758

Saanto		F mg/l
2015-11-12	15MN4578 L/S 8 sp 1/2	1,397
2015-11-12	15MN4578 L/S 8 r sp 1/2	1,415
2015-11-12	15MN4578 L/S 8 rr sp 1/2	1,413

Saanto		F mg/l
2015-11-12	15MN4578 L/S 2 sp 1/4	2,093
2015-11-12	15MN4578 L/S 2 r sp 1/4	2,072
2015-11-12	15MN4578 L/S 2 rr sp 1/4	2,088

Saanto		F mg/l
2015-12-18	15BN0131 L/S 8 sp 1/100	1,218
2015-12-18	15BN0131 L/S 8 r sp 1/100	1,18
2015-12-18	15BN0131 L/S 8 rr sp 1/100	1,182

Saanto		F mg/l
2015-11-13	15BN0131 L/S 2 sp 1/100	0,929
2015-11-13	15BN0131 L/S 2 r sp 1/100	0,986
2015-11-13	15BN0131 L/S 2 rr sp 1/100	0,989

Satunnaisvirhe	x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>	X	s	r-%
<b>MN4578 2</b>	0,928	0,922	0,925	0,0042426	0,458664
<b>MN4578 2R</b>	0,895	0,889	0,892	0,0042426	0,475632
<b>MN4578 8</b>	0,446	0,458	0,452	0,0084853	1,877275
<b>MN4578 8R</b>	0,46	0,456	0,458	0,0028284	0,617561
<b>BN0131 2</b>	0,472	0,476	0,474	0,0028284	0,596715
<b>BN0131 2R</b>	0,546	0,553	0,5495	0,0049497	0,900773
<b>BN0131 8</b>	0,627	0,635	0,631	0,0056569	0,89649
<b>BN0131 8R</b>	0,433	0,445	0,439	0,0084853	1,932866
<b>MN5381 2</b>	3,498	3,478	3,488	0,0141421	0,405451
<b>MN5381 2R</b>	3,43	3,433	3,4315	0,0021213	0,061819
<b>MN5381 8</b>	3,044	3,023	3,0335	0,0148492	0,489509
<b>MN5381 8R</b>	2,953	2,956	2,9545	0,0021213	0,0718
<b>BN194 2</b>	0,274	0,162	0,218	0,079196	36,32842
<b>BN194 2R</b>	0,165	0,148	0,1565	0,0120208	7,681032
<b>BN194 8</b>	0,34	0,185	0,2625	0,1096016	41,75297
<b>BN194 8R</b>	0,178	0,141	0,1595	0,026163	16,4031
<b>BN195 2</b>	0,226	0,073	0,1495	0,1081873	72,36611
<b>BN195 2R</b>	0,072	0,062	0,067	0,0070711	10,55383
<b>BN195 8</b>	0,199	0,109	0,154	0,0636396	41,32442
<b>BN195 8R</b>	0,069	0,086	0,0775	0,0120208	15,51073

Systemaattinen virhe	0,2 mg/l			3 mg/l	
	<b>F (mg/l)</b>	<b>F (mg/l)</b>		<b>F (mg/l)</b>	<b>F (mg/l)</b>
	0,19	0,185		2,994	2,944
	0,19	0,185		3	2,918
	0,191	0,184		3,002	2,909
	0,191	0,184		3,002	2,911
	0,19	0,185		2,996	2,92
	0,191	0,188		2,913	2,904
	0,184	0,184		2,915	2,881
	0,186	0,185		2,911	2,889
	0,186	0,187		2,916	2,941
	0,188	0,188		2,928	2,912
	0,184	0,186		2,964	2,926
	0,187	0,186		2,925	2,92
	0,186	0,186		2,923	2,91
	0,185	0,185		2,901	2,962
	0,186	0,185		2,906	2,92
	0,185	0,186		2,898	2,916
	0,185	0,186		2,905	2,931
	0,183	0,186		2,941	2,93
	0,185	0,185		2,917	2,905
	0,185	0,185		2,9	2,903
<b>KA (mg/l)</b>		<b>0,186225</b>			<b>2,927725</b>
<b>C (mg/l)</b>		<b>0,200</b>			<b>3,0</b>
<b>B</b>		<b>-0,014</b>			<b>-0,1</b>
<b>B%</b>		<b>-6,888</b>			<b>-2,409</b>