

59

Irma Mäkinen, Anna-Mari Suortti, Riitta Saares, Ritva Niemi ja

(toim.) Jari J. Marjanen

Ohjeita ympäristönäytteiden kemiallisten analyysimenetelmien validointiin

59

Irma Mäkinen, Anna-Mari Suortti, Riitta Saares, Ritva Niemi ja

(toim.) Jari J. Marjanen

Ohjeita ympäristönäytteiden kemiallisten analyysimenetelmien validointiin

Helsinki 1996
SUOMEN YMPÄRISTÖKESKUS

SISÄLLYS

ALKUSANAT	5
1 JOHDANTO	6
2 VALIDOINNIN KÄSITTEET JA MÄÄRITELMÄT	6
3 VALIDOINTISUUNNITELMA JA VALIDOINTIASTEEN VALINTA	7
4 VALIDOINNIN SUORITTAMINEN	9
4.1 Spesifisyys ja selektiivisyys	9
4.1.1 Spesifisyyskokeet	10
4.1.2 Selektiivisyyskokeet	13
4.2 Mittausalue	16
4.3 Kalibrointisuoran lineaarisuuden arviointi	16
4.3.1 Lineaarinen kalibrointi	17
4.3.1.1 Residuaalien tarkastelu	18
4.3.1.2 Lineaarisen mallin soveltuvuuden testaus	18
4.3.1.3 y -akselin leikkauspisteen a tarkastelu	19
4.3.1.4 Lineaarisuuden arviointiin tarvittavien kalibrointinäytteiden määrä	20
4.3.2 Epälineaarinen kalibrointi	22
4.3.3 Kalibrointi standardilisäysmenetelmällä	27
4.4 Herkkyys	28
4.5 Toteamisraja ja määritysraja	29
4.5.1 Määritelmiä	29
4.5.2 Toteamisrajan ja määritysrajan arviointi	29
4.6 Tarkkuus ja systemaattinen virhe	33
4.6.1 Määritelmiä	33
4.6.2 Tarkkuuden ja systemaattisen virheen arviointi	33
4.6.3 Tarkkuuden ja systemaattisen virheen seuranta	37
4.6.4 Systemaattisen virheen arviointi tapauksessa, jossa näytteen pitoisuutta ei tunneta	37
4.7 Täsmällisyys, toistettavuus, uusittavuus ja satunnaisvirhe	40
4.7.1 Määritelmiä	40
4.7.2 Toistettavuuden arviointi ilman rinnakkaismäärittystä	40
4.7.3 Toistettavuuden arviointi parittaisten rinnakkaismäärittysten avulla	41
4.7.4 Toistettavuustulosten käsittely varianssianalyysin avulla	41
4.7.4.1 Näytteet ja niiden lukumäärä toistettavuuden arvioinnissa	41
4.7.4.2 Tulosten tilastollinen käsittely	42
4.7.5 Satunnaisvirheen seuranta	48
4.7.6 Määrityksen uusittavuus	50
4.8 Häiriöalttius	50
4.9 Mittausepävarmuus	53
4.9.1 Määritelmiä	53
4.9.2 Mittausepävarmuuden määrittäminen	53
4.9.3 Mittausepävarmuuden laskeminen	54
4.9.4 Mittausepävarmuuden arviointi sertifioidulle vertailumateriaalille	60
4.9.5 Mittausepävarmuuden merkityksestä käytännössä	61
5 KAHDEN MENETELMÄN TOISIINSA VERTAAMINEN	61

6	VALIDOINTITULOSTEN TULKINTA	64
7	VALIDOINNIN SEURANTA JA UDELLEENVALIDOINTITARVE	65
8	VALIDOINNIN DOKUMENTOINTI	65
	KIRJALLISUUS	66
	LIITTEET	69
1	Esimerkki validoinnista	
2	t -testin kriittiset arvot	
3	F -testin kriittiset arvot	

ALKUSANAT

Tämä moniste sisältää Suomen ympäristökeskuksen (SYKE) laboratoriossa laaditut kemiallisten analyysimenetelmien validointiohjeet oman laboratorion ja alueellisten ympäristökeskusten laboratorioden tarpeisiin. Monistetta voivat hyödyntää myös muut ympäristölaboratoriot Suomessa.

Monistetta laadittaessa on käytetty avuksi validoinnista ilmestynyttä kirjallisuutta. Tässä monisteessa pyritään antamaan laatijoiden omien kokemusten perusteella ohjeita erilaisten vesi- ja ympäristöanalytiikassa tarvittavien kemiallisten epäorgaanisten ja orgaanisten yhdisteiden määrittämissä menetelmien validointia varten. Ohjetta on selkeytetty pääosin SYKEN oman laboratorion toiminnasta otetuilla esimerkeillä.

Monisteen laatijat kiittävät FL Jouni Valtasta Oy Keskuslaboratoriosta, FT Christian Backmania Geologian tutkimuskeskuksesta ja FM Kaija Korhosta Uudenmaan ympäristökeskuksesta monisteesta saamistaan kommentteista sekä tutkija Timo Vänniä ja SYKEN laboratorion henkilökuntaa validointiin liittyneestä avusta.

Monisteen sisältöä on kehitettävä tulevaisuudessa, sillä aihepiiri on hyvin nopeasti muuttuva. Kaikki kommentit monisteen sisällöstä ovat tervetulleita ja ne voi lähettää kirjallisena osoitteella:

Suomen ympäristökeskus
Laboratorio
Hakuninmaantie 4 - 6
00430 Helsinki

Kuoreen tunnus "Validointi".

1 JOHDANTO

Validointi on analyysimenetelmän luotettavuuden ja pätevyysominaisuuksien testaamista. Validoinnilla varmistetaan ja osoitetaan systemaattisesti, että menetelmä soveltuu siihen, mihin se on tarkoitettu. Validointi kohdistuu yleensä jo kehitettyyn menetelmään. Menetelmän validoinnilla saadaan tietoa, millä varmuudella määrittäminen voidaan suorittaa. Validoitujen analyysimenetelmien käyttö on eräs olennaisimmista keinoista parantaa analyysitulosten luotettavuutta. Validointi on laadun osoittamista.

Ohjeessa ISO Guide 25 esitetään, että menetelmän, joka ei ole standardimenetelmä, tulee olla dokumentoitu ja validoitu täydellisesti. Akkreditointia ei myönnetä ilman menetelmän kriittistä testaamista. Validointia tarvitaan myös asiakkaiden tarpeiden tyydyttämiseksi, sillä he odottavat tulokselta luotettavuutta. Laboratorio on vastuussa siitä, että menetelmällä saadaan luotettavia tuloksia.

Validointi koostuu suunnitelmasta, kokeiden suorituksesta, tulosten tilastollisesta arvioinnista ja dokumentoinnista. Laboratoriokokein etsitään menetelmän kriittiset vaiheet. Kokeista saadut tulokset dokumentoidaan tarkasti ja analysoidaan sopivin tilastollisin menetelmin. Tulosten perusteella arvioidaan uudelleenvalidointitarve ja sovitaan toimintatavat, joilla varmistetaan, että menetelmä toimii kuten pitääkin.

Kemian analytiikassa validointi kohdistuu kaikkiin menetelmän eri vaiheisiin. Menetelmävalidointi pätee vain testatulle matriisille, pitoisuusalueelle ja laitteelle.

Menetelmä on validoitu, kun asianmukaisesti on osoitettu, että määrittäminen on tilastollisessa valvonnassa ja menetelmä tuottaa tarkkoja tuloksia. Validointi on jatkuvaa ja sen pätevyyttä seurataan menetelmän käytön yhteydessä.

2 VALIDOINNIN KÄSITTEET JA MÄÄRITELMÄT

Validointimittaukset tehdään kalibroidulla laitteella. Mittaajan tulee olla hyvin perehtynyt laitteen käyttöön. Mittaukset suoritetaan yleensä pitkällä aikavälillä, jolloin ympäristövaikutukset saadaan mukaan tuloksiin. Järjestelmällisillä laboratoriomittauksilla tehty menetelmän validointi osoittaa, täyttävätkö menetelmän suorituskykyyn liittyvät ominaisuudet analyysitulosten aiottuun käyttöön liittyvät spesifikaatiot.

Tutkittavia ominaisuuksia ovat seuraavat:

- spesifisyys
- selektiivisyys
- mittausalue
- lineaarisuus
- herkkyys
- toteamisraja
- määrittämisraja
- tarkkuus
- täsmällisyys
- toistettavuus
- uusittavuus
- häiriöalttius
- mittausepävarmuus

Kaikkia näitä ominaisuuksia ei aina määritetä. Menetelmän käyttöalueesta ja tutkittavista näytteistä riippuen määritetään ominaisuudet, jotka ovat tulosten luotettavuuden kannalta välttämättömiä.

Kohdassa 4 on esitetty tutkittavat ominaisuudet tarkemmin sekä niiden määritelmät ja laskuesimerkit.

3 VALIDOINTISUUNNITELMA JA VALIDOINTIASTEEN VALINTA

Suunnittelu aloitetaan määrittelemällä tarvittava tulosten laatutaso. Validoinnin laajuus kannattaa arvioida mahdollisimman varhaisessa vaiheessa.

Menetelmä saattaa muuttua validoinnin edetessä, samoin itse validointisuunnitelma. Jos on kehitetty uusi menetelmä, validoidaan se perusteellisemmin kuin aikaisemmin kehitetty ja mahdollisesti jo käytössä ollut menetelmä. Turhan työn välttämiseksi kannattaa vaativimmat validointikokeet tehdä vasta mahdollisimman lopullisessa muodossa olevalle menetelmälle.

Validointisuunnitelmassa määritellään yleensä seuraavat asiat:

- Validoinnin tarkoitus - määritellään, minkä vuoksi ja minkä tasoinen validointi tehdään.
- Laitteiston määrittely - yksilöidään validoinnin kohteena oleva laite tai laitteistokokonaisuus siten, että sekaantumisen mahdollisuutta muihin yksikön samanlaisiin laitteisiin ei ole.
- Mitattavat ominaisuudet - määritellään ne ominaisuudet, jotka selvitetään validointimittaustulosten perusteella, esim. lineaarisuus, tarkkuus ja toistettavuus.
- Koesarjat - mitataan edellä olevan kohdan mukaiset parametrit koesarjojen avulla käyttäen esim. standardinäytteitä, varsinaisia näytteitä, nollanäytteitä ja tekemällä saantokokeita.

Menetelmän validointiaste riippuu menetelmän käyttötarkoituksesta, sisällöstä ja käytetystä analyysitekniikasta. Tulosten luotettavuudelle asetettavat vaatimukset vaikuttavat olennaisesti menetelmän validointitasoon - kokeiden laatuun, määrään ja laajuuteen sekä tulosten käsittely- ja dokumentointitapaan. Myös standardimenetelmät tulee validoida; tällöin validoitavia ominaisuuksia voi olla kuitenkin paljon vähemmän kuin validoitaessa itse kehitettyä uutta menetelmää (Bruce 1994).

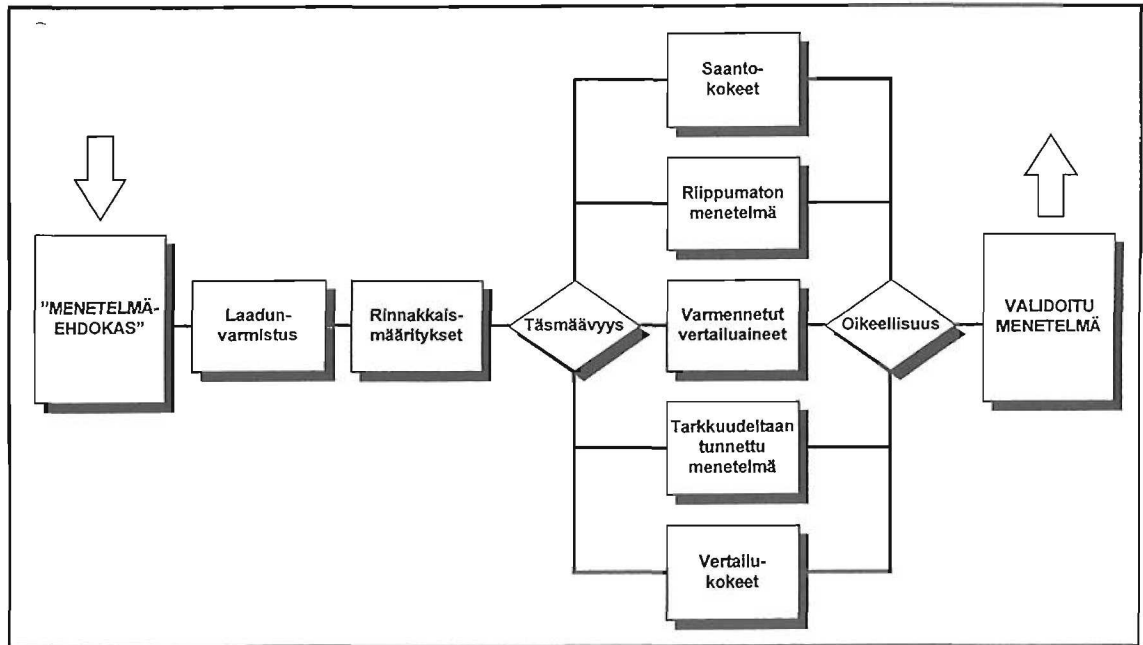
Uuden menetelmän validointi käyttötarkoituksesta riippuen voi viedä muutaman päivän tai jopa kuukausia. Ensimmäisenä tulee selvittää menetelmältä vaadittava tarkkuus. Esimerkiksi kenttämittauksissa tai seulontamenetelmissä tarkkuusvaatimukset eivät yleensä ole niin suuret kuin laboratoriossa suoritettavissa kvantitatiivisissa mittauksissa. Myös asiakkaiden toivomukset saattavat vaikuttaa validointiasteen valintaan. Taloudelliset tekijät asettavat omat rajoituksensa validoinnille.

Seuraavassa taulukossa annetaan esimerkkejä siitä, minkä asteista validointia tarvitaan eri tilanteissa (Lund ym. 1994).

Taulukko 1. Validointiasteen valinta.

Muutos	Validointi
Uusi menetelmä kehitetään.	Täydellinen menetelmän validointi.
Standardimenetelmä otetaan käyttöön.	Voidaan olettaa, että menetelmän häiriöalttius ja spesifisyys on jo määritetty standardisoinnin yhteydessä. Yleisimmät ominaisuudet, kuten esim. määrittäjäraja, toistettavuus ja tarkkuus täytyy määrittää. Saatuja tuloksia voidaan verrata standardissa oleviin tuloksiin.
Menetelmää muutetaan esim. laitevalmistajan menetelmää vastaavaksi tai manuaalisesta menetelmästä siirrytään automaattiseen menetelmään periaatteen pysyessä samana.	Yleisimmät ominaisuudet, kuten lineaarisuus, määrittäjäraja, toistettavuus ja tarkkuus. Automaatiikan validointi.
Menetelmän käyttöönottoa laajennetaan uudelle matriisille.	Tarkkuus, täsmällisyys, varmennettujen vertailuaineiden määrittäminen, vertailukokeisiin osallistuminen.
Uusi laite otetaan käyttöön.	Mittausalue, lineaarisuus, määrittäjäraja ja tarkkuus, joka voidaan määrittää esim. varmennetuilla vertailuaineilla tai laboratorion omilla kontrollinäytteillä. Automaatiikan validointi.
Vanhaa menetelmää alkaa käyttää uusi työntekijä.	Määrittäjäraja ja tarkkuus, joka voidaan määrittää saantokokeilla, varmennetuilla vertailuaineilla tai laboratorion omilla kontrollinäytteillä.
Menetelmä hyväksytään standardimenetelmäksi.	Menetelmävertailu useiden eri laboratorioden suorittamana. Laboratorioden sisäinen ja laboratorioden välinen toistettavuus (SFS-ISO 5725).

Validoinnin vaiheet esitetään kaaviona kuvassa 1 (Taylor 1983).



Kuva 1. Validoinnin vaiheet.

4 VALIDOINNIN SUORITTAMINEN

4.1 Spesifisyys ja selektiivisyys

Spesifisyys- ja selektiivisyyskokeilla pyritään varmistumaan siitä, että menetelmällä mitataan todellakin sitä, mitä luullaan mitattavan. Mitattava signaali saa olla peräisin ainoastaan tutkittavasta yhdisteestä eli analyytistä. Analyytin mittaus häiriytyy, jos matriisi tai muut yhdisteet joko muuttavat mittalaitteen herkkyyttä analyytin suhteen (matriisihäiriö, *matrix effect*) tai vaikuttavat suoraan mittaavan ilmaisimen vasteeseen (häirintä, *interference*). Matriisihäiriö ja häirintä voivat vaikuttaa myös samanaikaisesti (Bruce 1994). Spesifinen menetelmä tuottaa signaalin tai vasteen vain yhdelle analyytille ja selektiivinen menetelmä voi tuottaa vasteen useille kemiallisille yhdisteille, mutta erottaa analyytin vasteen muista vasteista (Massart 1989).

Spesifisyyteen (*specificity*) ja selektiivisyyteen (*selectivity*) vaikuttavat käytetty analyysitekniikka, analyysimenetelmä ja valittu näytteenkäsittely. Näytteestä aiheutuvan häiriön luonne vaikuttaa käytettävään kalibrointitapaan. Matriisihäiriön vaikuttaessa voidaan käyttää standardilisäysmenetelmää ja häirintävaikutusta voidaan korjata mm. monikomponenttianalyysillä. Molempien vaikuttaessa yhtäaikaan tarvitaan usein muutosta esim. näytteen esikäsittelyyn tai mittaustapaan (Bruce 1994). Eri tyyppisten näytteiden aiheuttamien häiriöiden vaikutusta on mahdoton aukottomasti testata menetelmän validoinnin yhteydessä. Tämän takia spesifisyyttä ja selektiivisyyttä joudutaan seuraamaan jatkuvasti ainakin jossain määrin analysointiin tulevien näytteiden mukaan.

Käsitteinä spesifisyys ja selektiivisyys ovat hyvin samantapaisia ja niitä näkeekin usein käytettävän väärin.

4.1.1 Spesifisyyskokeet

Spesifisyyskokeilla pyritään varmistumaan siitä, että mittalaitteesta saatu vaste muodostuu vain yhdestä analyytistä. Eri tekniikoilla on omat spesifisyysongelmansa, joten käytetyn tekniikan perustuntemus on oleellista kokeiden suunnittelussa ja suorittamisessa (Bruce 1994). Esim. atomiabsorptiossa on runsaasti erilaisia häiriön aiheuttajia (Lajunen 1986).

Uutta menetelmää kehitettäessä (ks. taulukko 1) on ensin selvitettävä eri kemiallisten yhdisteiden vaikutus vasteeseen. Tällöin tulee analysoida nollanäytteet (eri käsittelyvaiheet kattavat sekä reagenssinollat), näytematriisi ilman analyyttiä, itse analyytti sekä samankaltaiset yhdisteet, lähtöaineet, hajoamistuotteet, metaboliitit ja epäpuhtaudet. Hajoamistuotteiden selvittämiseksi analyytti tai näytematriisi voidaan joutua hajottamaan eri aineilla, kuten hapettimilla, hapoilla, emäksillä tai UV/VIS-säteilyllä (Bruce 1994). Kirjallisuudesta löytyy erilaisia taulukoita, joihin on koottuna häiriötä aiheuttavia yhdisteitä. On kuitenkin oletettavaa, että esimerkiksi standardimenetelmissä spesifisyys on jo tutkittu.

Tavallisimmissa UV/VIS-spektrofotometri- tai HPLC-mittauksissa voidaan tulosvertailun (esim. mittaus toisella aallonpituudella tai HPLC:llä esimerkiksi mittaus kahdella detektorilla), mittaolosuhteiden muuntelun (esim. HPLC:ssä eri eluointiliuoksen gradientti tai eri lämpötila) ja signaalin puhtausanalyysin (esim. absorptiomaksimin ja muiden absorptiohuippujen keskinäinen vertailu) avulla varmistaa, ettei tutkittavan yhdisteen signaalin alle ole piiloutunut toisen yhdisteen signaalia.

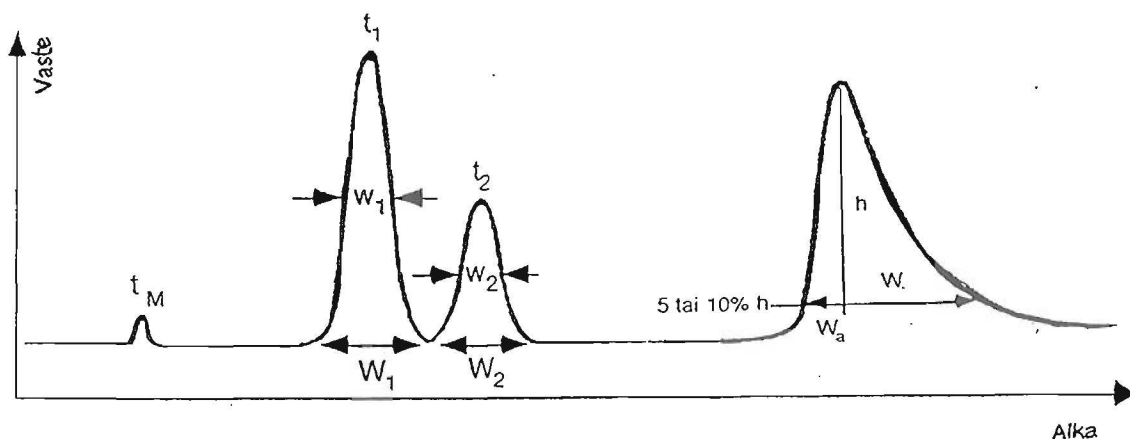
Epäorgaanisissa menetelmissä, esim. ICP-MS -mittauksessa, saattaa esiintyä spektraalisia peittämiä. Näiden vaikutusta voidaan vähentää tai poistaa käyttämällä määritettävän alkuaineen jotakin muuta absorptioviivaa. ICP-MS:llä käytetään toista isotooppia (eri massalukua). AAS-menetelmissä matriisihäiriötä vähennetään ns. matriisimuuntajilla, jotka esimerkiksi estävät häiriön aiheuttajan toiminnan (ks. esimerkki 2).

Kromatografisissa menetelmissä spesifisyyttä voidaan arvioida taulukossa 2 esitetyillä parametreilla, kuten resoluutio, suhteellinen retentio, kapasiteettitekijä ja symmetrisyyskijä (Bruce 1994). Näiden parametrien määrittäminen ei kuitenkaan riitä, jos yhdisteet eluoituvat täydellisesti päällekkäin. Näytteiden kohdalla yleiseksi käytännöksi kaasukromatografiassa on tullut tulosten tarkistaminen toisella, poolisuudeltaan erilaisella kolonnilla. Tällöin oletetaan, että mahdolliset häiriötekijät käyttäytyvät eri tavoin kuin tutkittava yhdiste ja täten eluoituvat toisella kolonnilla eri aikaan. Eri kolonneilta saatujen tulosten poiketessa huomattavasti toisistaan, voidaan olettaa, että suurempaan tulokseen vaikuttaa häiritsevä yhdiste. Tällöin lopulliseksi analyysitulokseksi valitaan pienempi tulos. Joissain määrittämissä tiettyjen yhdisteiden olemassaolo voidaan varmistaa myös näytteen lisäpuhdistuksilla, joissa tutkittavan yhdisteen tulee hävitä. Massaspektrometri on oiva apuväline kromatografisten menetelmien spesifisyystutkimuksissa.

Taulukko 2. Erottumista kuvaavat kromatografiset parametrit optimiarvoineen.

Parametri	Laskukaava ¹	Optimiarvot
R , resoluutio (<i>resolution</i>)	$R = \frac{1,177(t_2 - t_1)}{(w_2 + w_1)}$	$R = 1$, piikit 3% päällekkäin, mutta erottuneet toisistaan. Usein vaaditaan $R > 1$. Kun $R > 1,5$ piikit ovat erottuneet pohjaviivaan.
α , suhteellinen retentio, selektiivisyys (<i>relative retention, separation factor</i>)	$\alpha = \frac{t_2 - t_M}{t_1 - t_M}$	$1,05 < \alpha < 2,0$
k' , kapasiteettitekijä (<i>capacity factor, retention factor</i>)	$k' = \frac{t_R - t_M}{t_M}$	$k' = 2$ optimiresoluutio lyhyimmässä mahdollisessa ajassa. Optimalue: $2 < k' < 10$.
T , symmetrisyystekijä (<i>tailing factor, symmetry factor</i>)	$T = \frac{W}{2W_a}$	$T = 1$, piikki täysin symmetrinen. $0,8 < T < 1,2$ piikin korkeutta saa käyttää kvantitointiin, muutoin suositellaan pinta-alaa.
N , teoreettisten pohjien lukumäärä, kolonin tehokkuus (<i>number of theoretical plates, plate number</i>)	$N = 5,545 \left[\frac{t_R}{W} \right]^2$	Kolonnityypistä riippuva: mitä suurempi, sen tehokkaampi kolonni.

¹ Symbolit: retentioajat: t_M = pidättymätön yhdiste, $t_R = t_1$ = analyytti, t_2 = lähimpänä analyyttiä eluoi-tuva yhdiste; piikin leveydet: w_i = piikin puolikorkeuden leveys, W = piikin leveys 5 tai 10 %:n korkeudella pohjasta ja W_a = piikin etureunan leveys vastaavalla etureunalla. Parametrien mittaamistavat on esitetty kuvassa 2.



Kuva 2. Erottumista kuvaavien parametrien mittaaminen kromatogrammista.

Esimerkki 1. Spesifisyys ionikromatografiassa.

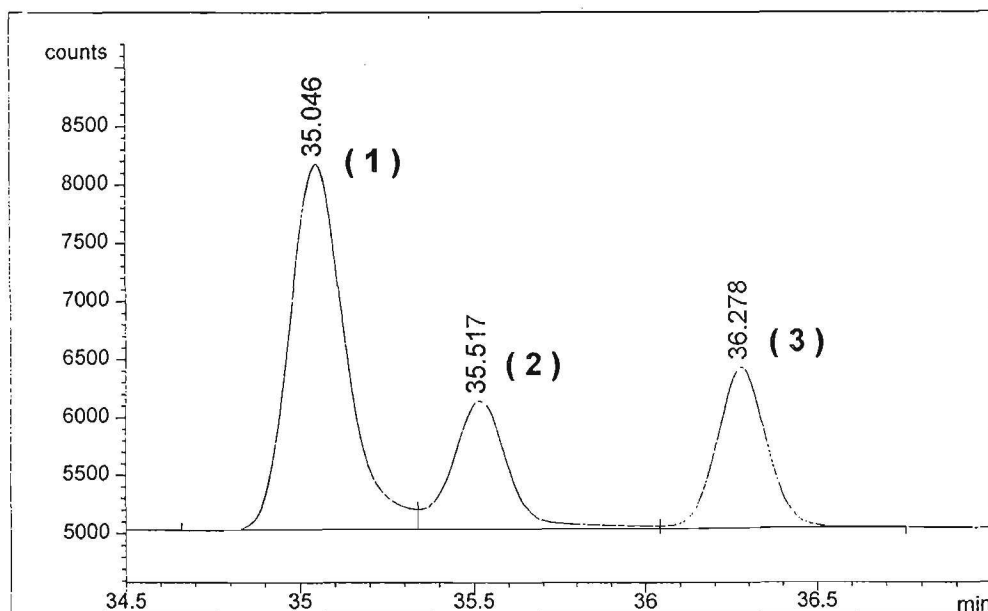
Määrittäessä anioneja ionikromatografilla saattavat esim. fosfaatti- ja nitraattihiikki eluotua päällekkäin. Tämä voidaan tarkistaa määrittämällä kolonnin resoluutio erotuskykyliuksella, joka sisältää tunnetuimmat häiritsevät yhdisteet. Kolonnin resoluution tulisi olla eri piikkien kohdalla $> 1,3$. Mikäli näin ei ole, mittausolosuhteita on muutettava (SFS-EN ISO 10304-1).

Esimerkki 2. Spesifisyys ICP-MS -mittauksissa.

ICP-MS -mittauksen isobaarisilla spektraalisilla peittämällä tarkoitetaan niitä peittämiä, jotka esiintyvät atomien pysyvien isotooppien välillä (esim. ^{58}Ni ja ^{58}Fe). Useimmat tämän tyyppiset häiriöt voidaan korjata automaattisesti laitteiston ohjelmistosta käsin. Taustaspektri käsittää vedestä ja käytetyistä hapoista sekä itse plasmakamerasusta peräisin olevien ionien signaalit. Häiriötä voidaan vähentää esim. käyttämällä typpihappoa, sillä sen spektri on yksinkertainen ja hyvin veden spektrin kaltainen. Häiriötä aiheuttavat myös tutkittavan aineen oksidi-, hydroksidi- ja kahdenarvoiset ionit. Näiden vaikutus minimoidaan laitteen optimoinnin yhteydessä. Myös näytematriisi voi aiheuttaa spektraalisia peittämiä. Matriisin vaikutusta voidaan vähentää esim. laimentamalla näytettä.

Esimerkki 3. Spesifisyys kaasukromatografiassa.

Seuraavassa on laskettu kromatografisia parametreja kloorihiilivetymäärityksestä (HP-5 -kolonni). Piikki (1) on tuntematon yhdiste, piikki (2) on p,p'-DDT ja piikki (3) on PCB-138.



Kuva 3. Osa kloorihiilivetymäärityksen kromatogrammista.

Määritetään kromatogrammista seuraavat arvot (ks. selitykset taulukosta 2):

<u>Piikki 1</u>	<u>Piikki 2</u>	<u>Piikki 3</u>
$t_1 = 35,046$ min	$t_2 = 35,517$ min	$t_3 = 36,278$ min
$w_1 = 0,167$ min	$w_2 = 0,159$ min	$w_3 = 0,159$ min
$W_1 = 2,0$ cm	$W_2 = 1,8$ cm	$W_3 = 1,8$ cm
$W_{a1} = 0,9$ cm	$W_{a2} = 0,85$ cm	$W_{a3} = 0,85$ cm

$t_M = 2,737$, iso-oktaani (ei näy kuvassa 3)

Lasketaan kromatografiset parametrit (ks. taulukko 3).

Taulukko 3. Lasketut parametrit.

Parametri	Piikki 1	Piikki 2	Piikki 3
R	-	1,70	2,82
α	1,09	1,01	1,02
k'	11,8	12,0	12,2
T	1,10	1,06	1,06
N	244200	276681	288665

Taulukosta havaitaan, että piikkien resoluutio (R) ja symmetrisyys (T) ovat kunnossa. Kolonni on muutenkin tehokas (suuri N). Sen sijaan suhteellinen retentio (α) on hie-man alle ja kapasiteettitekijä (k') hieman yli optimiarvon, joten mittalaitteen ajo-olo-suhteita tulisi vielä optimoida. Kloorihiilivetymäärityksessä on kaiken kaikkiaan 36 eri yhdistettä, jotka tulostuvat samanaikaisesti kahdelta kolonnilta. Kaikille yhdisteille optimiarvoisten ajo-olosuhteiden löytäminen on hyvin hankalaa, jopa mahdotonta, joten ko. menetelmän voidaan katsoa olevan riittävän spesifinen.

4.1.2 Selektiivisyyskokeet

Selektiivisyyskokeilla pyritään selvittämään erilaisten taustatekijöiden aiheuttamaa systemaattista virhettä (ks. myös 4.6). Näytematriisi voi sisältää aineita, jotka häiritse-vät analyysiä vahvistamalla tai heikentämällä yhdisteen signaalia. Nämä aineet itse eivät kuitenkaan välttämättä anna havaittavaa signaalia. Häiriö on paljastettavissa ainoastaan systemaattisilla kokeilla ja koetulosten tilastollisella käsittelyllä.

Eriolaisten taustahäiriöiden aiheuttamaa systemaattista virhettä voidaan tutkia vertaa-malla standardiliuoksen signaalia ennen näytematriisilisäystä ja sen jälkeen. Kokeiden tuloksia arvioidaan yksisuuntaisella t -testillä. Siinä verrataan keskenään kahden tut-kittavan yhdisteen pitoisuuden suhteen identtisen näytejoukon tuloksia. Näytejoukot eroavat toisistaan vain näytematriisin osalta.

Lasketaan mitattujen vasteiden avulla testiarvo t :

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{s^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}} \quad (1)$$

missä

$$s^2 = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \quad (2)$$

Kaavoissa (1) ja (2) \bar{x}_1 ja \bar{x}_2 ovat tulosjoukkojen (ilman näytematriisia ja näytematriisia sisältävät) vasteiden keskiarvot, s_1 ja s_2 ovat näiden tulosjoukkojen keskihajonnat sekä n_1 ja n_2 rinnakkaisten lukumäärät vastaavissa tulosjoukoissa.

Saatus t -arvoa verrataan t -taulukkoarvoon halutulla todennäköisyydellä ja vapausasteilla $n_1 + n_2 - 2$. Mikäli t on pienempi kuin t -taulukkoarvo, näytematriisilla ei ole vaikutusta yhdisteen vasteeseen.

Esimerkki 4. Atratsiinin nestekromatografisen määrittelyn selektiivisyys.

Atratsiinista valmistettiin kahdella pitoisuustasolla kaksi näytejoukkoa, jotka olivat pitoisuudeltaan identtisiä. Kummassakin pitoisuustasossa standardiliuoksia pipetoitiin aina sama määrä kymmeneen 50 ml mittapulloon. Puolet kummankin sarjan mittapulloista täytettiin tislattulla vedellä merkkiin ja puolet runsaasti humusta sisältävällä järvivedellä. Ensimmäinen lisäys vastaa pitoisuustasoa 0,01 mg/l ja toinen 1,0 mg/l. Näytteet sekoitettiin, suodatettiin ja analysoitiin nestekromatografisesti UV-detektorilla. Saadut tulokset on esitetty taulukossa 4.

Taulukko 4. Atratsiinin määrityksen selektiivisyyskokeen mittaustulokset.

Pitoisuus	Piikin korkeus (tislattu vesi)	Piikin korkeus (järvivesi)
0,01 mg/l	162	174
	163	161
	160	179
	158	179
	157	168
1,0 mg/l	12003	12103
	11853	12021
	11992	12033
	12100	11910
	11900	12100

Lasketaan kummallekin pitoisuustasolle erikseen testisuure t .

Pitoisuus 0,01 mg/l: $\bar{x}_1 = 160$, $\bar{x}_2 = 172$, $s_1 = 2,55$, $s_2 = 7,73$ ja $n_1 = n_2 = 5$.

$$s^2 = \frac{4 \cdot 2,55^2 + 4 \cdot 7,73^2}{8} = 33,13$$

$$t = \frac{|160 - 172|}{\sqrt{33,13 \left(\frac{1}{5} + \frac{1}{5}\right)}} = 3,30$$

Pitoisuus 1,0 mg/l: $\bar{x}_1 = 11970$, $\bar{x}_2 = 12033$, $s_1 = 96$, $s_2 = 78$ ja $n_1 = n_2 = 5$.

$$s^2 = \frac{4 \cdot 96^2 + 4 \cdot 78^2}{8} = 5808$$

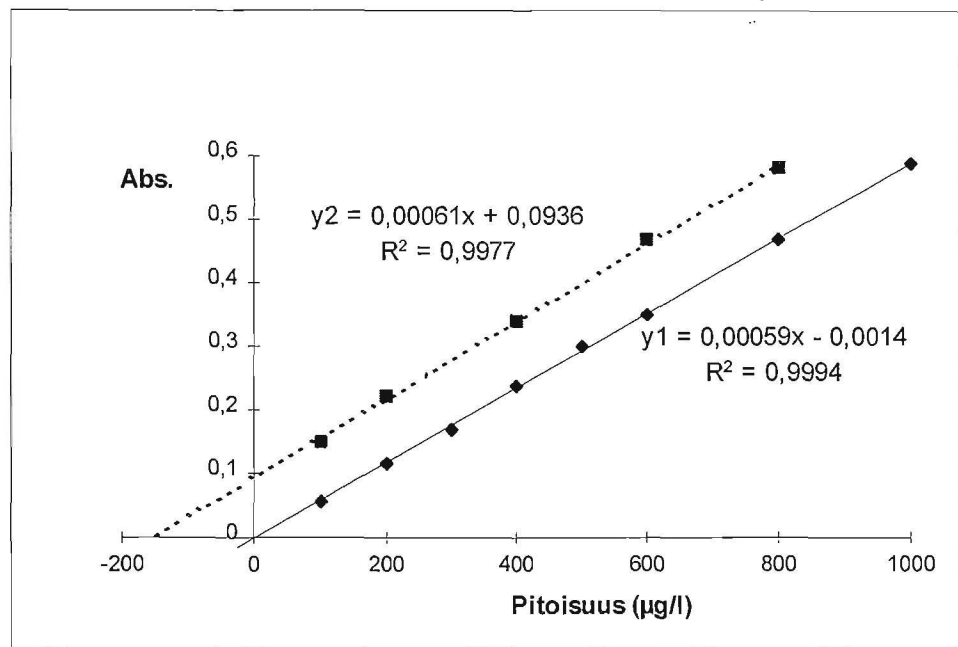
$$t = \frac{|11970 - 12033|}{\sqrt{5808 \left(\frac{1}{5} + \frac{1}{5}\right)}} = 1,14$$

t :n taulukkoarvo vapausasteilla $5 + 5 - 2 = 8$ ja 95 % todennäköisyydellä on 1,860, joten pitoisuustasolla 0,01 mg/l näytematriisi häiritsee atratsiinin mittausta, mutta pitoisuustasolla 1,0 mg/l ei. Atratsiinimääritys ei siis ole selektiivinen pitoisuustasolla 0,01 mg/l, joten näin pienten pitoisuuksien määrittämiseen on käytettävä standardilisäysmenetelmää. Myös menetelmän määritysrajaa voidaan tarkistaa näiden tulosten perusteella.

Selektiivisyyskokeissa voidaan myös tutkia standardilisäyksen takaisinsaantoa (ks. kohta 4.6.2) tai analysoida varmennettua vertailuainetta (ks. kohta 4.6.2). Lisäksi menetelmää voidaan tarkistaa toisella, periaatteiltaan erilaisella menetelmällä (ks. kohta 5). Selektiivisyyttä voidaan arvioida myös käyttäen kalibrintisuoria - etenkin silloin, kun näytematriisia ei ole saatavilla ilman tutkittavaa yhdistettä. Tällöin verrataan normaalia kalibrintisuoria näytematriisiin tehtyyn kalibrintisuoraan (ns. standardilisäyssuora). Kun lineaarisen regressiosovituksen kulmakertoimet ovat kummallakin samat ($\pm 5\%$), voidaan olettaa, että ero suorien välillä aiheutuu matriisin alkuperäisestä analyyttipitoisuudesta eikä matriisi aiheuta häiriötä eri pitoisuustasoilla.

Esimerkki 5. Fosforimäärityksen selektiivisyys.

Fosforin kalibrintisuora valmistettiin sekä tislattuun veteen (y_1) että fosforia sisältävään jäteveeseen (y_2). Määritetyt kalibrintisuorien kulmakertoimet eivät poikkea toisistaan kuin n. 3 % (kuva 5), joten näytematriisi (jätevesi) ei aiheuta häiriötä fosforin määrittämiseen.



Kuva 4. Fosforin kalibrointisuora tehtynä tislattuun veteen (y1) ja jäteveeseen (y2).

4.2 Mittausalue

Menetelmän kalibrointi on tutkittavan yhdisteen pitoisuuden ja mittalaitteen vasteen välisen yhteyden määrittämistä. Kalibroinnin tulee olla jäljitettävissä SI-yksikköihin (kg, l, mol). Tämä toteutuu, kun kalibrointinäytteet tehdään puhtaista aineista kalibroidulla vaa'alla punnitsemalla, tai kun käytetään varmennettuja vertailuaineita (esim. orgaanisessa analytiikassa).

Kvantitatiivisille menetelmille on tarpeellista määrittää se analyytin pitoisuusalue, jossa menetelmää voidaan käyttää. Mittausalueen alkupäässä on rajoittavana tekijänä menetelmän toteutamis- tai määrittämissärajat. Mittausalueen loppupäässä on rajoittavana tekijänä puolestaan mittalaitteen kyky havainnoida analyytin pitoisuuden muutoksia eli mittalaitteen detektio-ominaisuudet.

Mittausalue voi sisältää useitakin lineaarisuusalueita (ks. 4.3). Tällöin voidaan esimerkiksi käyttää eri kalibrointisuoria näytteiden pienille ja suurille pitoisuuksille. Mittausalue voi myös sisältää vain yhden pitoisuusalueen, jossa käytetään lineaarista kalibrointia, tai tätä laajempaa pitoisuusalueen, jossa käytetään epälineaarista kalibrointia. Mittausalueen (kuten myös lineaarisuusalueiden) rajat on syytä määrittää tarkasti, jotta päivittäinen menetelmien kalibrointi olisi mahdollisimman yksinkertaista.

4.3 Kalibrointisuoran lineaarisuuden arviointi

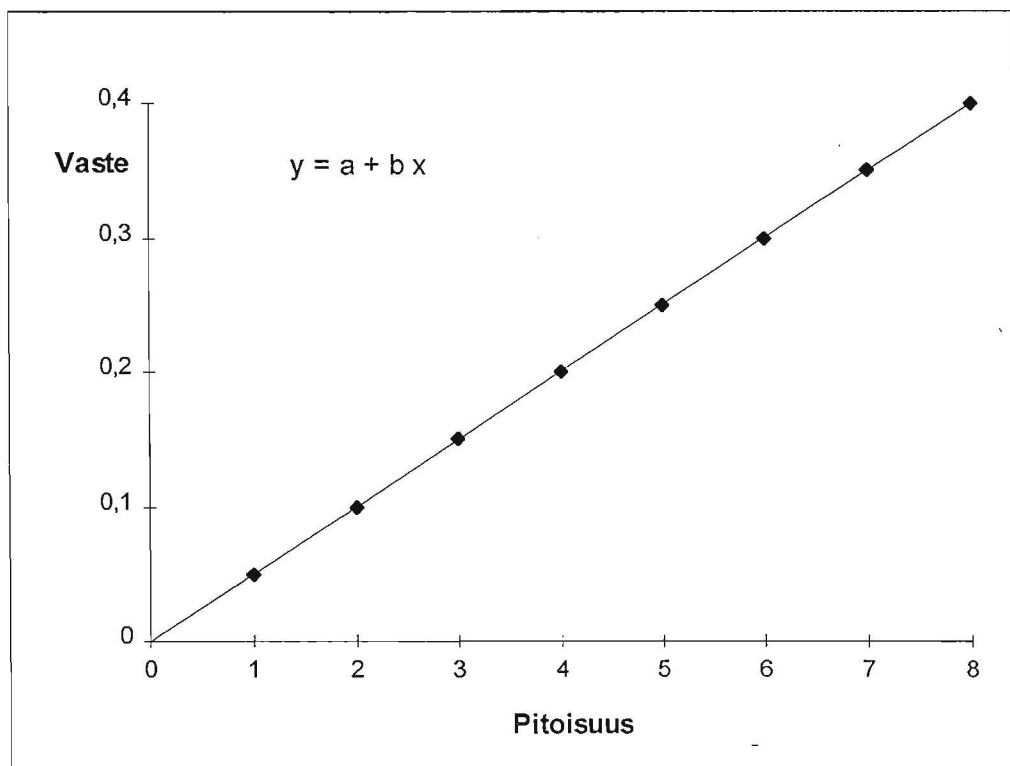
Lineaarisuuden arvioinnin tavoitteena on selvittää se mittausalueen pitoisuusalue, jossa kalibrointisuora täyttää lineaarisuuden ehdot. Ensimmäiseksi pyritään käyttämään ns. pienimmän neliösumman suoraa kalibrointifunktion sovittamisessa. Mikäli tämä ensimmäisen asteen yhtälö ei kuitenkaan sovellu tutkittavaan pistejoukkoon, voidaan

kokeilla esim. vastearvon muuntamista logaritmilla tai neliöjuurella, tai pistejoukkoon voidaan sovittaa toisen tai sitä korkeamman asteen yhtälö. Tilastomatematiikan mukaan myös toisen tai sitä korkeamman asteen yhtälö on lineaarinen muuttujiensa suhteen. **Tässä ohjeessa tarkoitetaan kuitenkin lineaarisella kalibroinnilla ensimmäisen asteen yhtälöä ja epälinearisella kalibroinnilla vain toisen asteen yhtälöä.**

4.3.1 Lineaarinen kalibrointi

Kalibroitinäytteiden pitoisuuden x ja mittalaitteen vasteen y välille saadaan ensimmäisen asteen yhtälössä: $y = a + bx$ (kuva 5). Regressiosuoran kulmakerroin on b , y -akselin leikkauspiste a sekä suoran sovitukseen liittyvä korrelaatiokerroin r saadaan tilasto-ohjelmistojen avulla. Tarvittaessa niiden laskukaavat löytyvät useista kirjallisuusviitteistä (mm. Youden 1977, Caulcutt ja Boddy 1983). Korrelaatiokerrointa pidetään usein virheellisesti lineaarisuuden mittana. Itse asiassa r^2 tarkoittaa, kuinka paljon y :n muutoksesta x :n funktiona selittyy havaintomateriaalista lasketulla lineaarisella mallilla (Mittatekniikan keskus 1996). Seuraavassa lineaarisuutta arvioidaan tarkastelemalla ns. residuaaleja, tutkimalla y -akselin leikkauspistettä sekä arvioimalla lineaarisen mallin sopivuutta F -testin avulla.

Lineaarisuutta arvioidaan samaan tapaan, jos vaste on korvattu logaritmi- tai neliöjuuriarvolla. Käytettäessä sisäisen standardin kalibrointimenetelmää vaste korvataan puolestaan ns. suhdetekijällä (*response factor*), joka on tutkittavan yhdisteen vaste jaettuna sisäisen standardin vasteella ottaen huomioon myös sisäisen standardin pitoisuus.



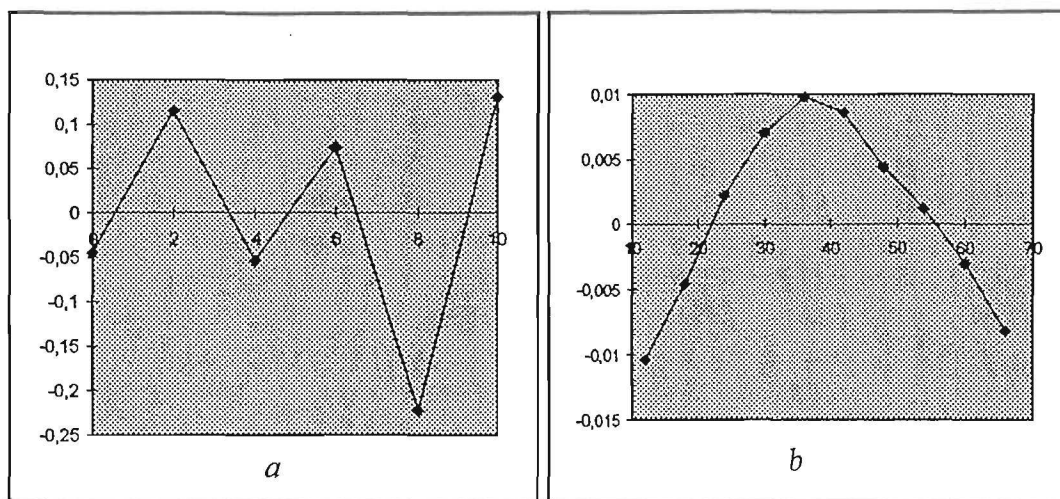
Kuva 5. Ensimmäisen asteen yhtälö.

4.3.1.1 Residuaalien tarkastelu

Residuaalit (ε) ovat mitattujen (y_i) ja regressiosuoralta laskettujen (\hat{y}_i) y -arvojen erotuksia:

$$\varepsilon = y_i - \hat{y}_i \quad (3)$$

Residuaaleista piirretään kuvaaja x :n funktiona. Kuvaajaa tarkastelemalla voidaan helposti todeta lineaarisen mallin sopivuus tutkittavaan pistejoukkoon. Jos kalibrointisuora on lineaarinen, residuaalit jakautuvat vuorotellen nollatason molemmin puolin (kuva 6a). Jos residuaalit muodostavat selvän käyrän (kuva 6b), tulisi tutkittavaa pitoisuusaluetta pienentää, kokeilla vasteen korvaamista esim. logaritmillä tai käyttää toisen asteen yhtälöä suoran sovitukseseen (ks. 4.3.2). Residuaalien kuvaajista voidaan havaita myös selvästi kalibrointisuoran poikkeavat arvot (engl. *outliers*), jotka on syytä tarkistaa lisämittauksilla. Näiden poikkeavien arvojen hylkääminen, mikäli se on perusteltua, parantaa regressiokertoimien luotettavuutta. Mikäli residuaalit kasvavat selvästi x :n kasvaessa, mutta ovat silti vuorotellen jakautuneita nollatason molemmin puolin, tulisi suoran sovitukseseen käyttää painotettua lineaarista regressiota (*weighted linear regression*). Tätä ei kuitenkaan tässä ohjeessa käsitellä (ks. Caulcutt ja Boddy 1983).



Kuva 6. Residuaalien kuvaajia (a ja b).

4.3.1.2 Lineaarisen mallin soveltuvuuden testaus

Lineaarisen mallin soveltuvuus tutkittavaan pistejoukkoon todetaan yleensä helpoiten residuaalikuvaajan avulla. Mikäli tämän kuvaajan perusteella on kuitenkin epäselvää, soveltuuko ensimmäisen vai toiseen asteen yhtälö parhaiten tutkittavaan pistejoukkoon, sitä voidaan testata tilastollisesti F -testin avulla (SFS-ISO 8466-1). Tällöin verrataan ensin lineaaristen ja epälineaaristen käyrien variansseja laskemalla niiden erotus DS^2 :

$$DS^2 = (n - 2)s_{(Y/X)1}^2 - (n - 3)s_{(Y/X)2}^2 \quad (4)$$

missä $s_{(y/x)1}$ on lineaarisen suoran hajonta (ks. kaava 6), $s_{(y/x)2}$ on epälineaarisen suoran hajonta (ks. kaava 15) ja n on suoran lukuparien (x_i, y_i) määrä.

Tämän F -testin testiarvo PG lasketaan varianssien erotuksen ja epälineaarisen suoran varianssin suhteena:

$$PG = \frac{DS^2}{s_{(y/x)2}^2} \quad (5)$$

Mikäli $PG < F$ -taulukkoarvo (95 % todennäköisyys, vapausasteet 1 ja $n - 3$), lineaarinen malli soveltuu hyvin tutkittavaan aineistoon. Mikäli $PG > F$ -taulukkoarvo, tutkittavaa lineaarisuusaluetta tulee pienentää tai suoran sovittukseen on käytettävä epälineaarista yhtälöä.

4.3.1.3 y -akselin leikkauspisteen a tarkastelu

Valmiilla tilasto-ohjelmistoilla laskettaessa saadaan y -akselin leikkauspisteelle a lähes aina jokin nolasta poikkeava arvo. Tämän nolasta poikkeavuuden merkitsevyys voidaan testata t -testin avulla. Jos a ei merkitsevästi eroa nolasta, voidaan se jättää pois ja pisteaineistoon voidaan sovittaa yksinkertaisempi suoran malli $y = bx$ (Minkkinen 1994).

y -akselin leikkauspisteen a arvioimiseksi lasketaan ensin sen keskihajonta. Tämän laskemiseksi lasketaan ensin regressiosuoran hajonta eli ns. residuaalien keskihajonta $s_{y/x}$ (tai s_y, s_0) kaavalla:

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}} \quad (6)$$

missä n = lukuparien (x_i, y_i) lukumäärä.

Regressiokertoimen a keskihajonta s_a voidaan nyt laskea kaavalla:

$$s_a = s_{y/x} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^2}{(n-1) s_x^2}} \quad (7)$$

missä \bar{x} = x -arvojen keskiarvo ja s_x = kaikkien x -arvojen keskihajonta.

y -akselin leikkauspistettä a voidaan nyt arvioida kaksisuuntaisen t -testin avulla laske-
malla testiarvo t vapausastein $n - 2$ (Ranta ym. 1994 ja Youden 1977):

$$t = \frac{a - 0}{s_a} \quad (8)$$

a :n poikkeavuutta nolasta voidaan tarkastella myös laskemalla sen luotettavuusväli (95 % todennäköisyydellä) kaksisuuntaisen t -jakauman arvolla, joka vastaa vapausasteita $n - 2$ (Minkkinen 1994).

$$a : a \pm t_{(0,05, n-2)} \cdot s_a \quad (9)$$

Jos $t < t_{(0,05, n-2)}$ tai jos 0 sisältyy a :n luotettavuusväliin, suoran voidaan katsoa kulkevan origon kautta.

4.3.1.4 Lineaarisuuden arviointiin tarvittavien kalibrointinäytteiden määrä

Tässä luvussa havainnollistetaan tilastollisin perustein, kuinka monta kalibrointinäytettä tarvitaan lineaarisuuden arviointiin. Ensinnäkin määritetään näytteiden pitoisuuden luotettavuusväli. Esitettyjä laskentatapoja ja -kaavoja ei ole tarpeen sisällyttää normaalivalidointiin.

Tuntemattomista näytteistä mitataan vaste y_k (mittausten keskiarvo, jos tuntemattoman näytteen vaste mitataan useammin kuin kerran), ja kalibrointiyhtälön avulla ratkaistaan sitä vastaava pitoisuus x_k :

$$x_k = \frac{y_k - a}{b} \quad (10)$$

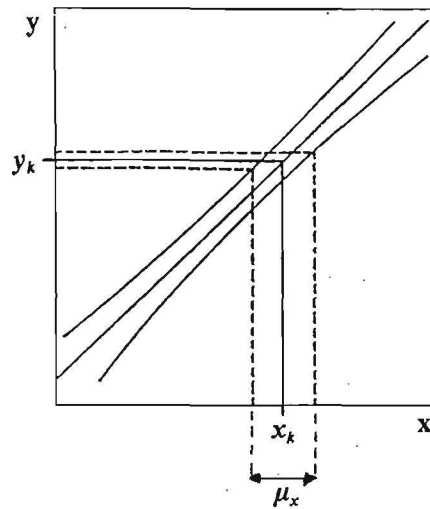
Näytteen pitoisuuden keskihajonta s_{x_k} , joka sisältää kalibroinnista ja mittalaitteen kohinasta aiheutuvan virheen, lasketaan seuraavalla kaavalla:

$$s_{x_k} = \frac{s_{y/x}}{b} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(x_k - \bar{x})^2}{\sum (x_i - \bar{x})^2}} \quad (11)$$

missä $s_{y/x}$ on suoran hajonta, m on näytteen vasteen y_k mittausten lukumäärä, n on kalibrointinäytteiden lukumäärä ja \bar{x} on kalibrointinäytteiden pitoisuuksien x_i keskiarvo.

Keskihajonnan avulla voidaan laskea näytteen pitoisuudelle luotettavuusväli μ_x (ks. kuva 7), joka 95 % todennäköisyydellä sisältää oikean pitoisuusarvon x_k :

$$\mu_x : x_k \pm t_{(0,05, n-2)} \cdot s_{x_k} \quad (12)$$



Kuva 7. Kalibrointisuora, sen luotettavuusvälit ja tutkittavan näytteen pitoisuus luotettavuusväleineen.

Kaavojen 11 ja 12 perusteella voidaan myös päätellä kalibrointisuoran määrittämiseen tarvittavien kalibrointinäytteiden lukumäärä. Tarkastellaan esim. suoran keskipistettä, jossa sekä suoran että pitoisuuden luotettavuusväli on pienimmillään ($x_k = \bar{x}$). Tällöin kaava 12 muuttuu muotoon:

$$\mu_x : x_k \pm t_{(0,05, n-2)} \cdot \frac{s_{y/x}}{b} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n}} \quad (13)$$

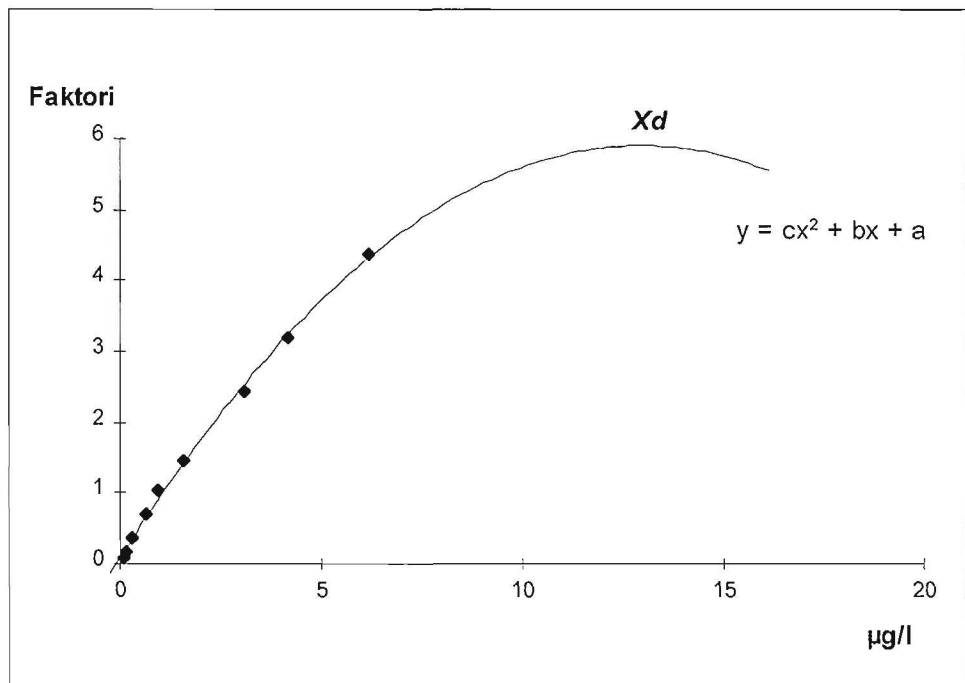
Kaavan 13 mukaan luotettavuusväli on suoraan verrannollinen t :n taulukkoarvoon ja kalibrointinäytteiden lukumäärään. Tapauksessa $m = 1$ saadaan luotettavuusväleille taulukon 5 mukaiset kertoimet. Taulukosta havaitaan, ettei ainakaan kuudennen kalibrointipisteen jälkeen enää saavuteta merkittävää parannusta luotettavuusväleihin, joten suositukseksi voidaan pitää juuri kuuden kalibrointinäytteen tekemistä (Caulcutt 1993).

Taulukko 5. Kalibrointinäytteiden luotettavuusvälin laskenta.

Kalibrointi- näytteiden lukumäärä n	t -taulukkoarvo (0,05; $n-2$)	95 % luotettavuusvälin leveys $\pm t_{(0,05, n-2)} \cdot \frac{s_{y/x}}{b} \sqrt{1 + \frac{1}{n}}$
3	12,71	$\pm 14,68 (s_{y/x} / b)$
4	4,30	$\pm 4,81 (s_{y/x} / b)$
5	3,18	$\pm 3,48 (s_{y/x} / b)$
6	2,78	$\pm 3,00 (s_{y/x} / b)$
10	2,31	$\pm 2,42 (s_{y/x} / b)$

4.3.2 Epälineaarinen kalibrointi

Mikäli ensimmäisen asteen yhtälö ei sovi kalibrointiaineistoon, voidaan siihen kokeilla toisen asteen yhtälöä $y = a + bx + cx^2$ (kuva 8). Toisen asteen yhtälö on periaatteessa ns. paraabeli. Todellisuudessa mittalaitteen vaste ei käyttäydy paraabelin tavoin, vaan mittalaitteen kyky havainnoida pitoisuuden muutoksia tyrehtyy suurissa pitoisuuksissa. Toisen asteen yhtälön kaartumisen takia standardipisteitä on oltava enemmän kuin lineaarisen regression sovituksessa, jotta käyrän kaartumisesta voidaan varmistua. Toisen asteen yhtälön regressiokertoimet saadaan tilasto-ohjelmistoista. Niiden laskutapa on esitetty esim. kirjallisuusviitteessä SFS-ISO 8466-2.



Kuva 8. Toisen asteen yhtälö.

Arvioitaessa toisen asteen yhtälön soveltuvuutta kalibrointiaineistoon voidaan residuaalit laskea yhtälön 3 mukaan ja piirtää niistä kuvaaja x :n funktiona. Residuaalikuvaajan tulisi olla kuvan 6a mukainen.

Epälineaarisen suoran sovituksen testaamiseen ei tässä ohjeessa esitetä tilastollisia testejä. Kalibrointitarkoituksiin sopiva mittausalue on kuitenkin syytä määrittää. Koska toisen asteen yhtälön kuvaaja on paraabeli, jossa yhtä y -arvoa voi vastata kaksi pitoisuuden arvoa, kalibrointikäyrällä ei saa olla maksimia eikä minimiä käytettävällä mittausalueella ($x_1 - x_n$). Mahdollinen maksimi tai minimi etsitään määrittämällä ensimmäisen derivaatan nollakohta. Derivaatan määritelmästä $y' = b + 2cx_d = 0$ saadaan x_d :n laskemiseen tarvittava yhtälö:

$$x_d = -b/2c. \quad (14)$$

Jos $x_1 < x_d < x_n$, kalibrointialueella on minimi tai maksimi, eikä ko. suoraa voi käyttää kalibrointitarkoituksiin. Jos $x_d < x_1$ tai $x_d > x_n$, kalibrointialueella ei ole minimiä tai maksimia ja ko. suora soveltuu kalibrointiin (SFS-ISO 8466-2). Koska

käyrä kaartuu voimakkaasti x_j :n läheisyydessä, mittausalue ei voi myöskään ulottua kovin lähelle tätä kohtaa.

Epälineaarisen suoran keskihajonta $s_{y/x}$ lasketaan residuaalien avulla. Neliöjuurilausekkeen nimittäjänä on $n - 3$, sillä arvioituja suoran muuttujia on kolme:

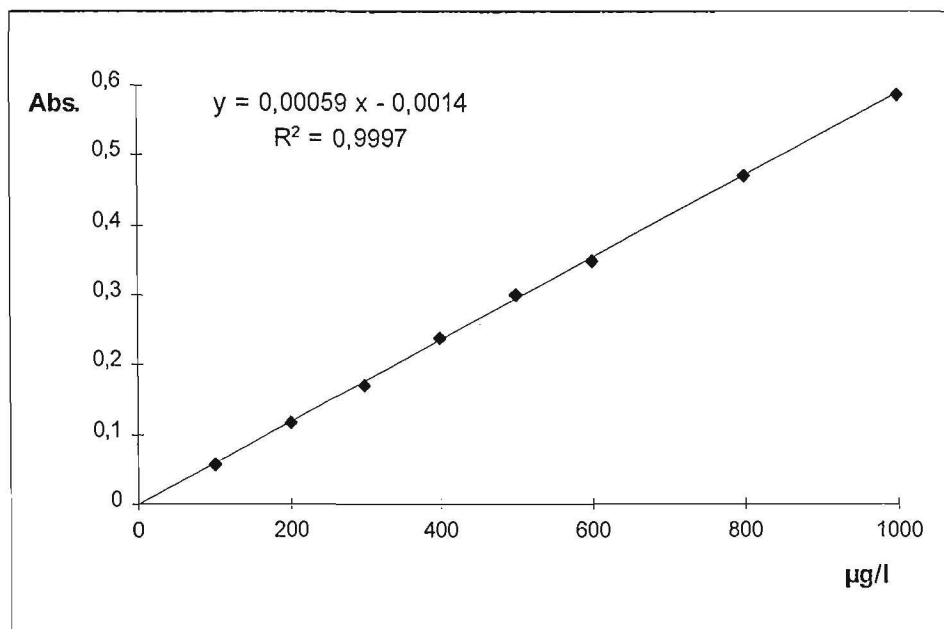
$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y})^2}{n-3}} \quad (15)$$

Esimerkki 6. Veden kokonaisfosforin spektrofotometrinen määrittäminen (SFS 3026).

Fosforin kalibroitamiseksi saatiin taulukon 6 mukaiset tulokset. Taulukkoon on myös laskettu ko. aineistoon sovitettujen suorien pitoisuuksia vastaavat vasteet \hat{y} . Kuvassa 9 esitetään lineaarisen mallin sovituksesta saatu kuvaaja.

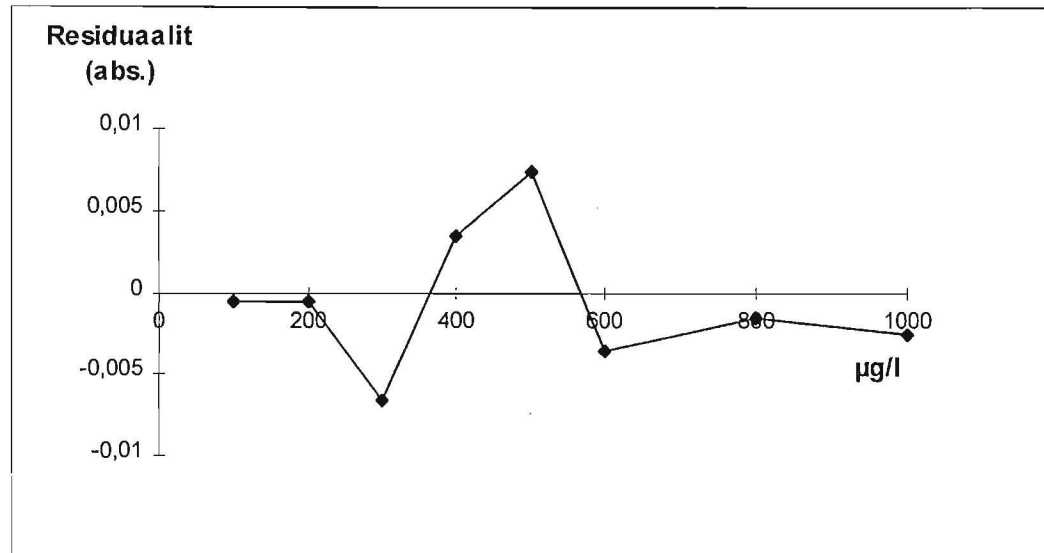
Taulukko 6. Kokonaisfosforin kalibroitamiskäyrien arvot.

x (µg/l)	100	200	300	400	500	600	800	1000
y (abs.)	0,057	0,116	0,169	0,238	0,301	0,349	0,469	0,586
\hat{y} (abs.)	0,0576	0,1166	0,1756	0,2346	0,2936	0,3526	0,4706	0,5886



Kuva 9. Kokonaisfosforin kalibroitamiskäyrä (lineaarinen sovitus).

Kuvaajan ja regressiokerrointen perusteella käyrä näyttää olevan lineaarinen. Lineaarisuutta voidaan tarkastella lähemmin myös piirtämällä residuaalien ($y - \hat{y}$) kuvaaja (kuva 10):



Kuva 10. Kokonaisfosforin kalibrintikäyrän residuaalikuvaaja.

Residuaalit eivät ole aivan ideaalisesti jakautuneet nollassa molemmin puolin, mutta kuvaajassa ei myöskään ole selvää käyrää havaittavissa. Toisen asteen yhtälön sovituksista ei ole täten tarpeen testata.

y -akselin leikkauspiste a (0,0014) poikkeaa nollassa hyvin vähän, mutta ero voidaan testata vielä t -testin avulla. Lasketaan ensin suoran hajonta (kaava 6),

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{8-2}} = \sqrt{\frac{0,0001325}{6}} = 0,0047$$

minkä jälkeen voidaan laskea a :n keskihajonta (kaava 7). Kalibrintisuoran x -arvojen keskiarvo $\bar{x} = 487,5 \mu\text{g/l}$ ja keskihajonta $s_x = 304,4316 \mu\text{g/l}$.

$$s_a = 0,0047 \sqrt{\frac{1}{8} + \frac{(487,5)^2}{(8-1)(304,4316)^2}} = 0,0033$$

Nyt voidaan laskea t :n testiarvo (kaava 8)

$$t = \frac{|-0,0014 - 0|}{0,0033} = 0,424 < t_{(0,05, 6)} = 2,45$$

Täten α ei merkitsevästi poikkea nolasta, joten kalibrintisuora kulkee origon kautta.

Fosforimäärityksen lineaarisuusalue on 3 ... 1000 $\mu\text{g/l}$ (menetelmän määrittäjä on 3 $\mu\text{g/l}$).

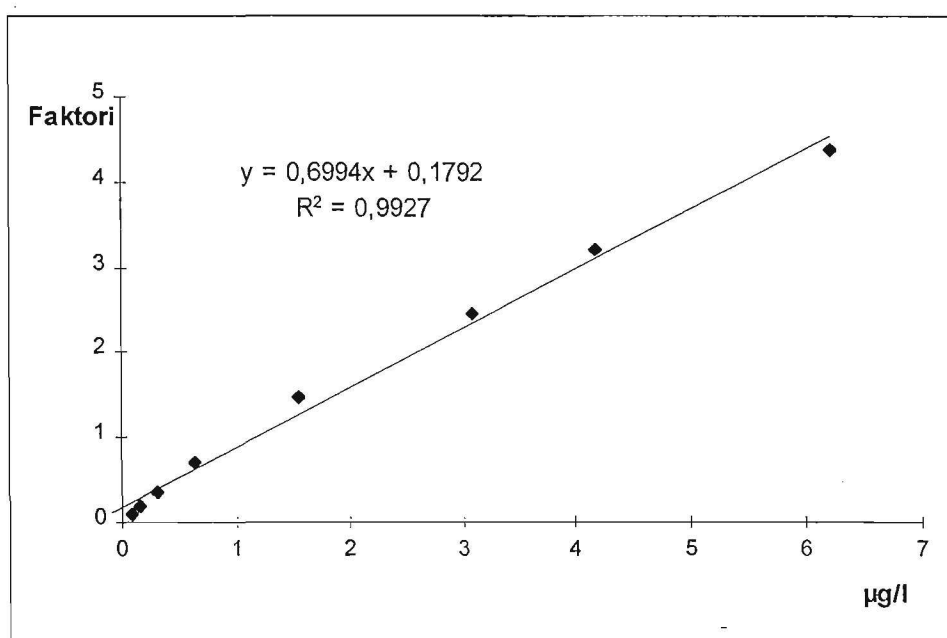
Esimerkki 7. Pentakloorifenolin määrittäjä vedestä kaasukromatografisesti (GC-ECD).

Pentakloorifenolin (PCP) kalibrintisuoralle saatiin HP-5 -kolonnilta taulukon 7 mukaiset tulokset. Koska PCP kvantitoidaan sisäisen standardin avulla, mittalaitteen vasteena on nyt ns. suhdetekijä (faktori), joka lasketaan jakamalla PCP:n piikin korkeus sisäisen standardin piikin korkeudella. Koska jokaisessa kalibrintipisteessä on sama määrä sisäistä standardia, sen pitoisuutta ei tarvitse ottaa huomioon.

Taulukko 7. Pentakloorifenolin kalibrintinäytteiden arvot.

x ($\mu\text{g/l}$)	0,08	0,16	0,31	0,64	1,56	3,09	4,19	6,22
y (faktori)	0,0907	0,1801	0,3522	0,6905	1,4698	2,4489	3,2049	4,3618

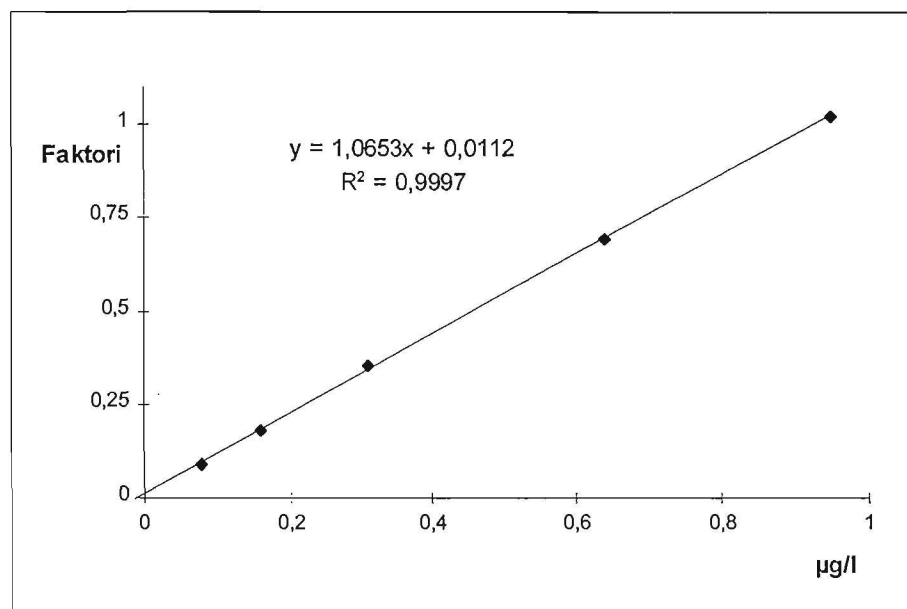
Saadun aineiston perusteella piirretään kuvaaja sovittaen ensin lineaarisen suoran mallia.



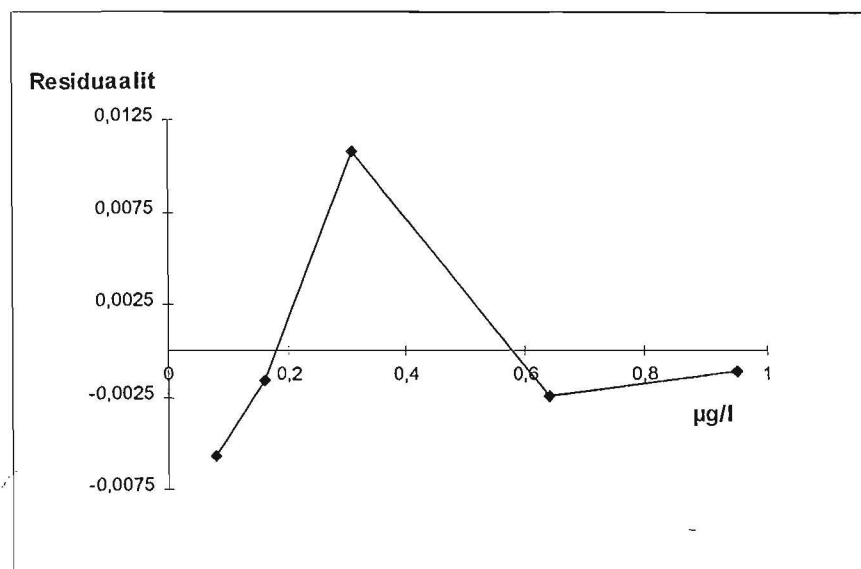
Kuva 11. Pentakloorifenolin kalibrintikäyrä käyttäen lineaarista sovitusta.

Kuvaajasta havaitaan ilman residuaalien piirtämistäkin, ettei lineaarisen suoran sovitusta sovellettu ko. aineistoon. Koska ko. menetelmässä käytetään päivittäiskalibroinnissa pääsääntöisesti yhden pisteen kalibrointia, tästä aineistosta on löydettävä se alue, jossa lineaarisen mallin ehdot toteutuvat. Kuvaajaa tarkastelemalla jätettiin neljä viimeistä kalibrointipistettä pois, minkä jälkeen sopiva lineaarinen alue löytyi. Koska lineaarisuuden tarkasteluun jäi vain neljä pistettä, päätettiin mitata kaksi kalibrointinäytettä lisää: 0,95 ja 1,26 µg/l, joille saatiin faktorit vastaavasti 1,0221 ja 1,2564. Lisäämällä nämä kuvaajaan havaittiin, ettei näistäkään enää 1,26 µg/l soveltunut, joten lopullisesta lineaarisesta kalibrointisuorasta tuli kuvan 12 mukainen.

Residuaalien kuvaaja (kuva 13) ei kuitenkaan ole aivan ideaalinen, vaan siinä on havaittavissa hiukan käyrämyisyyttä.



Kuva 12. Lopullinen PCP:n kalibrointikäyrä.



Kuva 13. Pentakloorifenolin kalibrointikäyrän residuaalikuvaaja.

y -akselin leikkauspiste a poikkeaa nolasta hyvin vähän, mutta ero voidaan tässäkin testata t -testin avulla. Lasketaan t :n testiarvo edellisen esimerkin mukaan (kaavat 6 - 8).

$$s_{y/x} = 0,00727, \quad s_a = 0,00538$$

$$t = \frac{0,0112 - 0}{0,00538} = 2,082 < t_{(0,05, 3)} = 3,182$$

Koska residuaalikuvaajassa (kuva 13) oli vielä hiukan käyrämäisyyttä, testataan saataisiinko toisen asteen yhtälön sovituksella merkittävää parannusta tuloksiin (ks. 4.3.1.2). Lasketaan ensin epälineaarisen käyrän keskihajonta $s_{(y/x)2}$ kaavan 15 mukaan ($s_{(y/x)1}$ on jo laskettuna edellä):

$$s_{(y/x)2} = 0,00759$$

Lasketaan varianssien erotus DS^2 (kaava 4) ja F -testin testiarvo PG (kaava 5):

$$DS^2 = 3 \cdot 0,00727^2 - 2 \cdot 0,00759^2 = 4,33 \cdot 10^{-5}$$

$$PG = \frac{4,33 \cdot 10^{-5}}{0,00759^2} = 0,752 < F_{(0,05; 1, 2)} = 18,51$$

Edellä saatujen kuvaajien ja tilastollisten testien perusteella PCP:n lineaarisuusalue on määritysrajasta 0,02 $\mu\text{g/l}$ pitoisuuteen 1,0 $\mu\text{g/l}$ asti. PCP:n mitta-alue on 0,02 ... 6 $\mu\text{g/l}$.

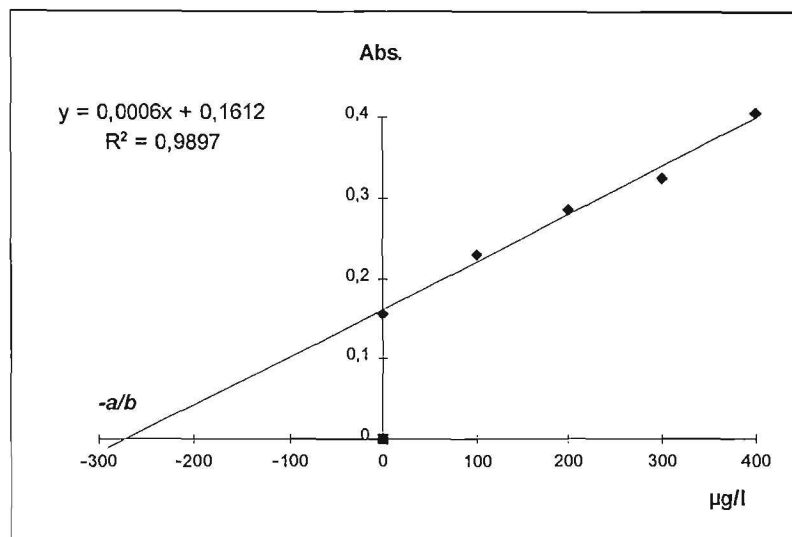
4.3.3 Kalibrointi standardilisäysmenetelmällä

Mikäli todetaan, että matriisi aiheuttaa häiriöitä näytteen pitoisuuden määrittämisessä, näytteet tulisi kvantitoida standardilisäysmenetelmällä. Häiriöt on tarkemmin selvitetty selektiivisyyden ja spesifisyyden yhteydessä (kohta 4.1). Kvantitointi on tällöin aina näytekohtaista, joten se ei suoranaisesti liity menetelmän kalibrointiin ja validointiin. Menetelmän validoinnin yhteydessä kalibrointisuora tehdään tutkittavalle yhdisteelle normaaliin tapaan ilman näytematriisia ja kalibrointisuoran lineaarisuus määritetään edellä esitettyjen kohtien mukaisesti. Itse kalibrointisuoran on oltava lineaarinen, jotta näytteen pitoisuuden määrittäminen standardilisäysmenetelmällä olisi luotettava.

Kvantitoitaessa standardilisäysmenetelmällä mitataan tutkittavan näytteen vaste ($= y_0$) ensin ilman standardilisäyksiä. Kalibrointisuoralta arvioidaan tätä vastaava pitoisuus ($= x_0$). Näytteeseen tehdään vähintään neljä standardilisäystä (x_{Ai}) mieluummin tasavä-

lein siten, että suurimman lisäyksen määrä on vähintään $x_0:n$ suuruinen. Näiden näytteiden vasteet (y_{Ai}) mitataan. Kaikkien lisäysten vasteiden tulisi olla lineaarisella alueella. Neljä standardilisäystä on optimimäärä menetelmän luotettavuuden ja siihen kuluvaan työmäärän välillä.

Mittauspareista $(0, y_0)$ ja (x_{Ai}, y_{Ai}) piirretään kuvaaja ja määritetään regressiosuoran yhtälö (kuva 14). Myös standardilisäyssi suoran tulee olla lineaarinen. Tämä voidaan todeta tarkastelemalla erikseen tämän suoran residuaaleja (kohta 4.3.1.1). Tutkittavan yhdisteen pitoisuus näytteessä saadaan suoran ja x-akselin leikkauspisteen itseisarvosta eli laskemalla yhtälöstä $x = | - a/b |$.



Kuva 14. Kalibrintisuora standardilisäysmenetelmällä.

4.4 Herkkyys

Herkkyys (*sensitivity*) tarkoittaa menetelmän kykyä havaita näytepitoisuuksien pienet vaihtelut. Menetelmä on herkkä, kun pieni muutos pitoisuudessa aiheuttaa suuren muutoksen detektorin vasteessa.

Menetelmän herkkyys määritetään kalibrintisuoran kulmakertoimen avulla. Käytettäessä lineaarista kalibrointia herkkyys on suoran kulmakerroin b (SFS-ISO 8466-1). Epälinearisessa kalibroinnissa herkkyys (e) on puolestaan määritelty toisen asteen yhtälön ensimmäisen derivaatan mukaan eli $e = b + 2cx$. Koska tämä herkkyys muuttuu pitoisuuden mukaan, itse menetelmän herkkyys (E) määritetään kalibrointialueen keskipisteen \bar{x} tangentin kulmakertoimen avulla seuraavasti (SFS-ISO 8466-2):

$$E = b + 2c\bar{x} \quad (16)$$

missä

$$\bar{x} = \sum x_i / n \quad (17)$$

Esimerkki 8. Kokonaisfosfori- ja pentakloorimenetelmien herkkyydet.

Esimerkissä 6 fosforimäärityksen herkkyys on:

$$e = 0,0059 \left(\frac{\text{abs}}{\mu\text{g/l}} \right)$$

ja esimerkissä 7 PCP-määrityksen herkkyys on:

$$e = 1,0653 \left(\frac{\text{faktori}}{\mu\text{g/l}} \right)$$

Mikäli esimerkissä 7 käytettäisiin koko mittausalueen kattavaa epälineaarista kalibrointia ($y = -0,0328x^2 + 0,891x + 0,0732$), menetelmän herkkyys (E) olisi tällöin

$$E = 0,891 + 2 \cdot (-0,0328) \cdot 2,03 = 0,758 \left(\frac{\text{faktori}}{\mu\text{g/l}} \right)$$

4.5 Toteamisraja ja määritysraja

4.5.1 Määritelmiä

Toteamisrajan ja määritysrajan määrittelemine ja arviointi vaihtelee eri kirjallisuuslähteissä. Lisäksi niiden määrittäminen käytännössä on usein erilainen eri analytiikan alueilla. Seuraavassa käytetään termejä ja menettelyjä, jotka on esitetty mm. standardiehdotuksessa (prENV ISO/CD 13530) "Guide to Analytical Quality Control for Water Analysis", FINAS S26/1994 -ohjeessa (Mittatekniikan keskus 1994) sekä EURACHEM-ohjeessa (luonnos 1) "Method Validation Guide".

Toteamisraja (*limit of detection*) on se pitoisuus, jolla voidaan todeta, onko näytteessä määritettävää yhdistettä vai ei, ja joka eroaa nollanäytteen arvosta merkittävästi.

Määritysraja (*limit of determination, limit of quantitation*) on se pitoisuus, joka voidaan määrittää hyväksyttävällä tarkkuudella ja täsmällisyydellä. Tällöin tietyllä tilastollisella todennäköisyydellä (yleensä 95 %) voidaan sanoa, että näytteessä oleva pitoisuus poikkeaa merkittävästi nolasta. Määritysraja tulisi todeta käyttäen sopivaa standardia tai näytettä.

Varsinkin pieniä pitoisuuksia määritettäessä on tärkeä tietää, milloin menetelmällä pystytään luotettavasti havaitsemaan määritettävää yhdistettä.

4.5.2 Toteamisrajan ja määritysrajan arviointi

Toteamisrajan ja määritysrajan kvantitatiivinen määrittäminen voidaan tehdä laskemalla keskihajonta s sellaisen näytteen rinnakkaismääritysten tuloksista, joka ei sisällä määritettävää yhdistettä tai se sisältää määritettävää yhdistettä hyvin vähän. Käytännössä toteamisrajan ja määritysrajan arviointiin tulisi valita matriisiltaan

samanlainen näyte kuin määritettävä näyte. Tämä ei ole kuitenkaan aina mahdollista. Testaukseen voidaan valita tällöin nollanäyte. Tapauksissa, joissa nollanäyte ei anna mittasignaalia, voidaan mm. määrittäjäarvo arviointiin käyttää lähellä määrittäjäarvoa olevaa standardiliuosta. Kahdessa jälkimmäisessä tapauksessa tulee kuitenkin seurata, ettei määrittäjäarvoksi saada arvoa, joka on liian optimistinen.

Toteamis- ja määrittäjäarvo arvioidaan yleensä todennäköisyydellä 95 %. Nollanäytteiden kuten näytteidenkin tulosten oletetaan noudattavan normaalijakaumaa.

Toteamisraja voidaan arvioida esim. seuraavan kaavan avulla (Mittatekniikan keskus 1994):

$$\text{Toteamisraja} = \mu_B + 3s \quad (18)$$

missä

$$\begin{aligned} \mu_B &= \text{nollanäytteen tulosten keskiarvo} \\ s &= \text{nollanäytteen tulosten keskihajonta.} \end{aligned}$$

Määrittäjäarvo voidaan myös arvioida yhtälöstä

$$\text{Määrittäjäarvo} = \mu_B + 5s, 6s, \text{ tai } 10s \quad (19)$$

Silloin, kun nollanäytteestä tehdään rinnakkaismittaukset esim. pitemmällä aikavälillä, nollanäytteen rinnakkaismittausten erotuksesta lasketaan keskihajonta s käyttäen kaavaa

$$s = \sqrt{\sum d^2 / 2m} \quad (20)$$

missä

$$\begin{aligned} d &= \text{nollanäytteiden erotus (pitoisuutena)} \\ m &= \text{näytesarjojen lukumäärä.} \end{aligned}$$

Laskemisessa voidaan käyttää tässä tapauksessa myös arviota $4,65s$, mikäli määrittäjäarvojen lukumäärä on riittävän suuri.

Määrittäjäarvo lasketaan tällöin kaavasta

$$\text{Määrittäjäarvo} = 2\sqrt{2} t_{0,05} s \quad (21)$$

Orgaanisessa analytiikassa, erityisesti kromatografiassa, joudutaan käyttämään muunlaisia menettelyjä toteamis- ja määrittäjäarvo arvioimiseksi. Toteamisraja arvioidaan kertomalla taustan signaali-kohinasuhde kolmella. Saatua vastearvoa vastaava pitoisuus arvioidaan kalibrointisuoran avulla. Menetelmän määrittäjäarvo saadaan kertomalla toteamisraja tietyllä kertoimella, joka vaihtelee menetelmän sekä näytemäärän ja -tyypin mukaan.

Toteamisrajan ja määrittämissrajan välillä on "harmaata aluetta", jossa voidaan olettaa olevan määritettävää yhdistettä. Lopullinen päätös joudutaan tekemään sen perusteella, millainen luotettavuus pienimmälle ilmoitettavalle pitoisuudelle halutaan. Tärkeää on, että samassa laboratoriossa käytetään samaa menettelyä samalle yhdisteelle ja pystytään tarvittaessa ilmoittamaan, miten määrittämissraja on arvioitu.

Esimerkki 9. Määrittämissrajan arvioiminen nollanäytteiden rinnakkaismäärittysten avulla kokonaisfosforin määrittämissessä.

Kokonaisfosforille vedessä (P_{tot} , $\mu\text{g/l}$) saatiin seuraavat nollanäytteiden rinnakkais-
tulokset:

Taulukko 8. Nollanäytteiden rinnakkais-
tulokset (P_{tot} , $\mu\text{g/l}$).

Sarja	Määrittämys 1	Määrittämys 2	Erotus d	d^2
1	3,530	2,824	0,706	0,498
2	2,471	2,824	0,353	0,125
3	2,457	2,808	0,351	0,123
4	2,106	2,106	0	0
5	1,755	2,808	-1,053	1,109
6	1,755	1,755	0	0
7	3,159	4,563	-1,404	1,971
8	1,755	1,755	0	0
9	1,412	1,059	0,353	0,125
10	2,118	2,824	-0,706	0,498
$m = 10$				$\sum d^2 = 4,449$

$$s = \sqrt{\sum d^2 / 2m} = \sqrt{4,449 / 20} = 0,472 \mu\text{g/l}$$

$$\text{Määrittämissraja} = 2\sqrt{2}t_{0,05(9)}s = 2\sqrt{2} \cdot 1,833 \cdot 0,472 \mu\text{g/l} \approx 3 \mu\text{g/l}$$

Esimerkki 10. Määrittämissrajan arvioiminen nollanäytteiden rinnakkaismäärittysten avulla.

AOX-määrittämissessä 15 määrittämisskerran jälkeen nollanäytteiden tulosten keskiarvo oli $\mu_B = 0,677 \mu\text{g/l}$ ja keskihajonta (erotuksen avulla laskettuna, edellisen esimerkin mukaan) $s = 0,220 \mu\text{g/l}$.

$$\text{Määrittämissraja} = \mu_B + 10s = 0,677 + 10 \cdot 0,220 = 2,88 \mu\text{g/l} \approx 3 \mu\text{g/l}$$

Esimerkki 11. Määritysrajan arvioiminen vertailukäyrän pienimmän pitoisuuden avulla.

TOC-määrityksen vertailukäyrän pienimmän pitoisuudelle (TOC, 0,2 mg/l) saatiin seuraavat tulokset:

1. päivä	2. päivä
0,19	0,30
0,21	0,27
0,20	0,24
0,16	0,22
0,22	0,37
	0,21
$n_1 = 5$	$n_2 = 6$

Rinnakkaismääritysten lukumäärä on vaihdellut eri päivinä, joten tässä lasketaan yhdistetty keskihajonta yhtälöstä

$$s = \sqrt{\frac{\sum v_i s_i^2}{\sum v_i}} \quad (22)$$

$$s_1 = 0,023, \quad v_1 = 4 \quad (n - 1)$$

$$s_2 = 0,060, \quad v_2 = 5$$

$$s = \sqrt{(4 \cdot 0,023^2 + 5 \cdot 0,060^2) / 9} = 0,047 \text{ mg/l}$$

$$\text{Määritysraja} = 2\sqrt{2} t_{0,05(9)} s = 2\sqrt{2} \cdot 1,833 \cdot 0,047 = 0,24 \approx 0,3 \text{ mg/l}$$

Esimerkki 12. Määritysrajan arvioiminen pentakloorifenolille (PCP) vedessä.

Luonnonnäytteen kromatogrammista saatiin signaali-kohinasuhteeksi 25 (= korkeus). Tämä kerrotaan kolmella, jolloin korkeutta 75 vastaava pitoisuus kalibrointisuoralta laskettuna on 0,01 µg/l. Määritysrajan laskemiseksi käytetään kerrointa 2, joten määritysrajaksi saadaan 0,02 µg/l.

Määritysraja on tarkistettu lisäämällä luonnonnäytteeseen määritysrajaa pienempi määrä (0,006 µg/l) PCP:tä. Lisäyksen saanto oli 66 % määritysrajaa huomattavasti pienemmässä pitoisuudessa, joten edellä saatua määritysrajaa voidaan pitää hyväksyttävänä.

Esimerkki 13. Määritysrajan arvioiminen pentakloorifenolille (PCP) haukinäytteestä.

Haukinäytteiden kromatogrammeista arvioidaan 0,5 cm:n korkuisen piikin eroavan riittävästi taustakohinasta eli tällöin on signaalin kohinasuhde suurempi kuin 3. Tätä vastaava pitoisuus näytteen tuorepainoa kohti kalibroitistandardin avulla laskettuna on 0,16 ng/g. Saatu luku kerrotaan kahdella, jolloin PCP:n määritysraja hauen lihasnäytteelle on 0,3 ng/g.

4.6 Tarkkuus ja systemaattinen virhe

4.6.1 Määritelmiä

Analyysitulosten oletetaan olevan mahdollisimman tarkkoja ja todellisia. Tällöin niissä ei saisi olla systemaattista virhettä ja satunnaisvirheenkin tulisi olla mahdollisimman pieni.

Käsitettä tarkkuus käytetään silloin, kun menetelmällä pyritään saamaan todellisia pitoisuuksia näytteistä tai kun tuloksia verrataan muiden laboratoriodien tulosten kanssa. Tarkkuuteen vaikuttaa systemaattisten virheiden (*systematic errors, bias*) sekä satunnaisvirheiden (*random errors*) esiintyminen. Tarkkuus rinnastetaan usein kokonaisvirheeseen (*total error*), jolla tarkoitetaan systemaattisen virheen ja satunnaisvirheen summaa.

Määrityksessä on systemaattista virhettä, kun saatu tulos on suurempi tai pienempi kuin todellinen arvo. Virhe (β) on

$$\beta = X - \mu \quad (23)$$

missä

X = määrittämällä saatu tulos (esim. usean määrityksen keskiarvo).
 μ = todellinen arvo.

Systemaattisen virheen esiintymiseen vaikuttavat mm. virheellinen kalibrointi, virheellinen nollanäytteen arviointi, kyvyttömyys määrittää kaikkia analyysin muotoja, määritysolosuhteet ja näytteen mahdollinen muuttuminen ennen analysointia.

Menetelmän tarkkuus (*accuracy*) on tulosten keskiarvon yhtäpitävyys todellisen tai hyväksytyyn arvon kanssa.

4.6.2 Tarkkuuden ja systemaattisen virheen arviointi

Tarkkuus voidaan määrittää silloin, kun näytteen todellinen pitoisuus (*true value*) tunnetaan (esim. varmennettu vertailumateriaali). Tarkkuus lasketaan poikkeamana todellisesta tai odotetusta arvosta ja ilmoitetaan yleensä prosentteina.

$$\text{Tarkkuus-\%} = \frac{100(X - \mu)}{\mu} \quad (24)$$

missä

μ = todellinen arvo
 \bar{X} = määrittämällä saatu arvo.

Tarkkuutta voidaan arvioida myös vertaamalla tuloksia toisella menetelmällä saatuihin tuloksiin (luku 5) sekä osallistumalla vertailukokeisiin. Satunnaiset virheet vaikuttavat myös tarkkuuteen.

Arvioimiseen käytetään t -testiä seuraavan kaavan mukaisesti:

$$t = \frac{|\bar{X} - \mu|}{s/\sqrt{n}} \quad (25)$$

missä

\bar{x} = tulosten keskiarvo
 μ = vertailumateriaalille ilmoitettu arvo
 s = tulosten keskihajonta.

Systemaattisen virheen arviointi voidaan tehdä saantokokeella standardin lisäyksen avulla (*spiking recovery*). Lisäysmenettelyn tarkoituksena on osoittaa, onko analysoidavassa näytteessä yhdisteitä, jotka mahdollisesti häiritsevät määrittystä. Tunnettu määrä määritettävää yhdistettä lisätään näytteeseen, joka analysoidaan alkuperäisen näytteen lisäksi. Lisäys voidaan tehdä n kertaa ja saatua keskiarvoa verrataan tilastollisesti ennakoita tavoitteeksi asetettuun saantoon. Saanto (R) lasketaan kaavasta

$$R = \frac{(S-U)100\%}{C} \quad (26)$$

missä

C = lisätyn standardiliuoksen pitoisuus (tunnettu)
 U = näytteen alkuperäinen pitoisuus (mitattu)
 S = lisäyksen sisältävän näytteen pitoisuus (mitattu).

Määrittys voidaan tehdä useassa eri sarjassa (m) usean rinnakkaismäärittymisen (n) avulla.

Keskivirhe (s_R) m sarjan keskiarvolle saadaan kaavasta

$$s_R = s/\sqrt{m} \quad (27)$$

missä m on sarjojen lukumäärä, joista keskihajonta s on laskettu.

Saannon keskiarvon R voidaan olettaa olevan välillä $R \pm t_{0,05} s_R$ 95 % todennäköisyydellä. Useimmissa tapauksissa R voidaan hyväksyä, jos se on välillä 95 ... 105 %.

Esimerkki 14. Tarkkuuden arviointi kuparin määrittämisessä vertailumateriaalin avulla

Kuparin määrittämisen varmistamiseksi analysoidiin vertailumateriaalia, jonka varmennetuksi arvoksi oli ilmoitettu $1,35 \pm 0,07 \mu\text{g/l}$ (95 % todennäköisyys).

Laboratorio teki eri päivinä yhteensä 15 määrittystä, joiden keskiarvo oli 1,44 µg/l ja keskihajonta 0,06 µg/l.

Poikkeaako tulosten keskiarvo merkitsevästi ilmoitetusta arvosta?

t -arvoksi tulosaineistosta saadaan edellä olevan kaavan 25 mukaisesti

$$t = 5,81.$$

Saatu t -arvo on suurempi kuin vertailuarvo $t_{0,05(14)} = 2,145$ (2-suuntainen testaus, 95 % todennäköisyys).

Kuparin määrittämiselle saatu keskiarvo on merkitsevästi suurempi kuin vertailumateriaalille ilmoitettu arvo. Tässä tapauksessa erolla ei ole käytännössä merkitystä ottaen huomioon kuparin alhainen pitoisuus sekä tulosten ilmoitustarkkuus, joka on kaksi desimaalia.

t -testiä voidaan käyttää myös samalla tavalla tilanteessa, jossa halutaan tietää, eroaako saatu tulos sallitusta raja-arvosta (esim. saatu Hg-pitoisuus myytävälle kalalle asetusta raja-arvosta).

Esimerkki 15. Systemaattisen virheen arviointi saantokokeen ja keskiarvon keskivirheen avulla.

Kokonaistypen määritysmenetelmän testaamista varten lisättiin jäteveteen glysiini-liuosta, jonka N-pitoisuus oli 15 mg/l. Alkuperäisestä näytteestä ja lisäyksellä saadusta näytteestä tehtiin rinnakkaismääritykset 10 päivänä. Tulokset olivat seuraavat:

Taulukko 9. Saantokokeen tulokset (N_{tot}).

Päivä	Näyte	Näyte + lisäys mg/l	Saanto-%	Saanto-%:n keskiarvo
1	32,92	46,79	92,47	
	33,06	47,21	94,33	93,40
2	33,62	47,77	101,0	
	33,76	48,05	95,27	98,14
3	32,92	47,49	97,13	
	32,94	47,91	99,80	98,47
4	32,78	48,33	103,4	
	32,78	48,47	104,6	104,0
5	32,64	47,49	99,00	
	32,78	47,63	99,00	99,00
6	32,36	46,51	94,33	
	32,50	46,65	94,33	94,33
7	31,80	45,96	94,40	
	32,08	46,37	95,27	94,83
8	32,87	46,65	92,47	
	32,78	46,93	94,33	93,40
9	31,94	47,35	102,7	
	32,36	47,49	100,9	100,6
10	32,50	46,79	95,27	
	32,64	47,07	96,20	95,74
Keskiarvo	32,70	47,25		97,19

Saantojen (R) keskihajonta on 3,47 % ja keskiarvo oli 97,2 %, mitä voidaan pitää hyväksyttävänä.

Keskivirhe keskiarvolle on

$$s_R = s/\sqrt{m} = 3,47\%/\sqrt{10} = 1,10 \%$$

Todellinen saannon arvo sijoittuu 95 % todennäköisyydellä välille $97,19 \pm (1,833 \cdot 1,10) \%$ (t -jakauma, 2-suuntainen, 9 vapausastetta) eli välille 95 ... 99 %. Todettu saanto ei ole merkitsevästi tavoitevälin 95 ... 105 % ulkopuolella eli menetelmässä ei ole systemaattista virhettä.

Systemaattista virhettä voidaan arvioida myös näytteisiin tehtyjen lisäysten suhteellisen erotuksen avulla. Näin menetellään mm. mittausepävarmuutta arvioitaessa useasta eri näytteestä (4.9.3).

4.6.3 Tarkkuuden ja systemaattisen virheen seuranta

Menetelmän tarkkuutta ja systemaattisen virheen suuruutta voidaan seurata laadunohjaustulosten avulla. Laboratoriolla voi olla itse valmistettuja kontrollinäytteitä tai varmennettuja vertailunäytteitä tarkkuuden seuraamiseksi. Tarkkuutta arvioidaan mm. Shewartin X -kortin avulla (Haapala 1988), jolloin vertailuarvona pidetään todellista arvoa, jos pitoisuus tunnetaan. Tapauksissa, joissa todellista pitoisuutta ei tunneta, käytetään vertailuarvona keskiarvoa. Kontrollirajat lasketaan $2s$ - ja $3s$ -arvojen avulla.

Tarkkuutta voidaan seurata myös osallistumalla vertailukokeisiin. Laboratorioiden välisissä vertailukokeissa on todettu yleensä systemaattinen virhe vallitsevaksi.

Systemaattisen virheen suuruutta voidaan seurata myös saantokokeiden ja niiden tuloksista tehdyn valvontakortin (D -kortti) avulla (Haapala 1988).

Systemaattisen virheen suuruutta tarvitaan myös mittausepävarmuutta arvioitaessa (4.9.3).

4.6.4 Systemaattisen virheen arviointi tapauksessa, jossa näytteen pitoisuutta ei tunneta

Systemaattinen virhe voi olla luonteeltaan "lisäävästä siirtymästä" (*additive shift*) aiheutuvaa (esim. nollanäytteen lukemaa ei ole otettu huomioon) tai "moninkertaistavasta siirtymästä" (*multiplicative shift*) aiheutuvaa (esim. titrausliuoksen väärä pitoisuus). Systemaattisen virheen esiintymistä näytteessä voidaan arvioida epäsuoran regression (*indirect regression*) avulla silloin, kun pitoisuudeltaan tunnettuja näytteitä on saatavilla (Doerffel 1994). Näyte jaetaan (punnitsemalla tai pipetoimalla) kolmeen erään $p_1 : p_2 : p_3 = 1 : 2 : 1$. Tämä edellyttää kuitenkin, että menetelmässä näytteen määrää voidaan vaihdella ja että näyte esikäsitellyn jälkeen näytemäärästä riippumatta täytetään tiettyyn lopputilavuuteen. Testaukseen otetaan m näytettä ($m \geq 5$), joita analysoidaan kolmessa erässä ($p_1 : p_2 : p_3 = 1 : 2 : 1$). Seuraavana olevien kaavojen symbolit selviävät esimerkeistä 16 ja 17.

Vakiota a lineaarisen regression yhtälössä ($y = a + bx$) voidaan arvioida käyttämällä arvoja x_1 ja x_2 erissä p_1 ja p_2 ($p_1 : p_2 = 1 : 2$) seuraavasti:

$$a = 2x_1 - x_2. \quad (28)$$

Jos $a \neq 0$, systemaattinen virhe aiheutuu lisäävästä siirtymästä.

Määritettävää yhdistettä on lisätty x_+ -määrä erään p_3 . Lineaarisen regressiosuoran kulmakerroin b saadaan yhtälöstä

$$b = (x_3 - x_1)/x_+. \quad (29)$$

Jos $b \neq 1$, systemaattinen virhe aiheutuu moninkertaistavasta siirtymästä.

Testin merkittävyys m :lle eri näytteelle arvioidaan analysoimalla em. kolme eri erää.

Lasketaan a -arvojen keskiarvo \bar{a} ja b -arvojen keskiarvo \bar{b} sekä keskihajonnat

$$s_a = \sqrt{\frac{\sum(a_j - \bar{a})^2}{(m-1)}} \quad (30)$$

$$s_b = \sqrt{\frac{\sum(b_j - \bar{b})^2}{(m-1)}} \quad (31)$$

Merkittävyys testataan t -testillä:

$$t_a = |\bar{a}| \sqrt{m} / s_a \quad (32)$$

$$t_b = (1 - \bar{b}) \sqrt{m} / s_b \quad (33)$$

Menetelmässä on systemaattista virhettä, jos $t_a > t$ ja $t_b > t$ (95 % todennäköisyys, vapausasteiden lukumäärä $f = m - 1$).

Esimerkki 16. Systemaattisen virheen arviointi kiinteästä näytteestä, kun alkuperäistä pitoisuutta ei tunneta (Doerffel 1994).

Arseni määritettiin hiivasta AAS-hydridimenetelmällä. Hiivan arseenipitoisuutta ei tunnettu tarkkaan. Systemaattisen virheen arvioimiseksi analysoitiin viisi näytettä ($m = 5$) jokainen kolmessa erässä, joiden suhde oli $p_1 : p_2 : p_3 = 1 : 2 : 1$. Erää p_2 varten otettiin alkuperäistä näytettä kaksinkertainen määrä p_1 -erään verrattuna. p_3 -erää varten lisättiin p_1 -erään arsenia (As) 10 μg . Mittausta varten eri erien lopputilavuus säädettiin samaksi. Määrittäksessä saatiin seuraavat tulokset:

Taulukko 10. Eri osien tulokset systemaattisen virheen arvioinnissa (As).

Näyte	Tulokset				
	x_{j1}	x_{j2}	x_{j3}	a_j	b_j
1	5,8	13,8	15,2	-2,2	0,94
2	14,0	30,0	23,3	-2,0	0,93
3	20,0	43,0	29,6	-3,0	0,96
4	26,8	55,7	36,0	-2,1	0,92
5	32,0	66,8	41,3	-2,8	0,93

$$\begin{aligned} \bar{a} &= -2,42 & s_a &= 0,45 \\ \bar{b} &= 0,936 & s_b &= 0,015 \end{aligned}$$

Merkitsevyyden testaus:

$$t_a = 2,42 \sqrt{5} / 0,45 = 12,03$$

$$t_b = (|1 - 0,936|) \sqrt{5} / 0,015 = 9,54$$

Koska t_a - ja t_b -arvot ovat suurempia kuin t -taulukkoarvo ($t_{0,05(4)} = 2,78$), lisäävästä ja moninkertaistavasta siirtymästä johtuvaa systemaattista virhettä esiintyy määrittämissä. Tällä menetelmällä saadut tulokset voivat poiketa todellisesta arvosta noin $-2,5 \mu\text{g As}$ (absoluuttinen ero) ja suhteellisesti noin 5 %.

Esimerkki 17. Systemaattisen virheen arviointi nestemäisestä näytteestä, kun näytteen alkuperäistä pitoisuutta ei tunneta.

Kokonaisfosforin määrittämismenetelmää testattiin vesinäytteille (menetelmä prEN 1189:1996). Systemaattisen virheen arvioimiseksi analysoitiin viisi näytettä ($m = 5$). Jokainen näyte analysoitiin kolmessa erässä siten, että erien suhde oli $p_1 : p_2 : p_3 = 1 : 2 : 1$. Erät valmistettiin siten, että p_1 -erää varten otettiin näytettä 20 ml, p_2 -erää varten 40 ml sekä p_3 -erää varten otettiin näytettä 20 ml ja siihen tehtiin lisäys 150 $\mu\text{g/l}$ fosforia. Mittausta varten eri erien lopputilavuus säädettiin samaksi.

Taulukko 11. Eri erien tulokset systemaattisen virheen arvioinnissa (P_{tot}).

Näyte	Tulokset				
	x_{j1}	x_{j2}	x_{j3}	a_j	b_j
1	145,8	289,3	292,2	2,3	0,976
2	125,4	237,1	267,1	13,7	0,945
3	89,6	182,1	242,2	2,9	1,017
4	93,3	175,4	237,6	11,2	0,962
5	239,7	470,6	385,1	8,8	0,969

$$\bar{a} = 7,78 \quad s_a = 5,04$$

$$\bar{b} = 0,974 \quad s_b = 0,027$$

Merkitsevyyden testaus:

$$t_a = 7,78 \sqrt{5} / 5,04 = 3,45$$

$$t_b = (|1 - 0,974|) \sqrt{5} / 0,027 = 2,153$$

$t_a = 3,45 > t_{0,05(4)} = 2,78$ ja $t_b = 2,15 < t_{0,05(4)} = 2,78$. Määrittämissä esiintyy lisäävästä siirtymästä johtuvaa systemaattista virhettä (t_a merkitsevä). Mm. nollanäytteen suuruudella voi olla vaikutusta tässä tapauksessa systemaattisen virheen aiheuttajana. Tällä menetelmällä saadut tulokset voivat poiketa n. 8 $\mu\text{g/l}$ todellisesta arvosta tarkoitettulla pitoisuusalueella (100 ... 200 $\mu\text{g/l}$).

4.7 Täsmällisyys, toistettavuus, uusittavuus ja satunnaisvirhe

4.7.1 Määritelmiä

Kun määritystä toistetaan useita kertoja, tulosten yhtäpitävyyttä keskenään kutsutaan täsmällisyydeksi (*precision*). Siitä käytetään myös termejä täsmäävyys ja toistotarkkuus. Se on yleiskäsite, joka liittyy tulosten väliseen hajontaan ja arvioidaan keskihajonnan avulla. Käytännössä tarvitaan kaksi täsmällisyyden mittausta, toistettavuus ja uusittavuus. Täsmällisyyssäsiteä käytettäessä tulisi ilmoittaa, mitä sillä tarkoitetaan.

Toistettavuudella (*repeatability*) tarkoitetaan mittatulosten yhtäpitävyyttä, kun mittaukset tehdään lyhyin aikaväleihin samalla menetelmällä, saman tai eri tekijän toimesta, samoilla tai eri mittauslaitteilla samassa laboratoriossa.

Uusittavuudella (*reproducibility*) tarkoitetaan mittausten välistä yhtäpitävyyttä, kun yksittäiset mittaukset suoritetaan samalla tai eri menetelmällä, eri mittauslaitteilla, eri laboratorioissa, eri tekijöiden toimesta aikaväleihin, jotka ovat pitkät verrattuna yksittäisen mittauksen kestoajaan. Uusittavuusvaihtelu on yleensä suurempi kuin toistettavuusvaihtelu. Varsinaisesti uusittavuusvaihtelua käytetään laboratorioiden välisten vertailukokeiden tulosten yhteydessä eli kun useiden eri laboratorioiden tuloksia verrataan keskenään.

Laboratorion sisäisestä uusittavuudesta tietylle menetelmälle voidaan puhua silloin, kun mittaukset on tehty samassa laboratoriossa pitkähkön ajan kuluessa (SFS-ISO 5725). Tällöin laite on sama, mutta esim. määrityksen tekijä voi vaihtua. Jos laboratorion sisäinen uusittavuus on olennaisesti huonompi kuin laboratorioiden välinen uusittavuus, laboratorion on syytä tutkia menetelmäänsä.

4.7.2 Toistettavuuden arviointi ilman rinnakkaismäärittystä

Toistettavuutta voidaan arvioida laboratorion sisällä. Toistettavuus määritetään analysoimalla erityyppisiä näytteitä. Kutakin näytettä analysoidaan monena päivänä. Varsinkin vaikeissa ja monivaiheisissa analyysissä ei pystytä tekemään rinnakkaismäärittäksiä, jolloin toistettavuus arvioidaan keskihajonnan avulla ja se ilmoitetaan usein prosentteina keskiarvosta.

Esimerkki 18. Toistettavuus mineraaliöljyjen määrittämiselle vedestä.

Mineraaliöljyjen kontrollinäytettä määritettiin kymmenenä eri päivänä. Pitoisuuksiksi saatiin:

0,922, 0,930, 0,939, 0,942, 0,967, 1,005, 0,949, 0,980, 0,958 ja 0,999 mg/l.

Keskiarvo $\bar{x} = 0,959$ mg/l ja keskihajonta $s = 0,028$ mg/l.

Toistettavuus ko. pitoisuudessa on 0,028 mg/l tai 3,0 %.

4.7.3 Toistettavuuden arviointi parittaisten rinnakkaismääritysten avulla

Toistettavuutta voidaan arvioida myös tekemällä eri näytteistä parittaisia rinnakkaismäärityksiä. Tulosten käsittely useasta eri näytteestä tehdään rinnakkaismääritysten keskihajonnan avulla (ks. 4.7.5).

4.7.4 Toistettavuustulosten käsittely varianssianalyysin avulla

Tulosten hajonta voi muodostua hajonnasta määrittäjäsarjan sisällä ja/tai hajonnasta eri määrittäjäsarjojen välillä. Kokonaisvariانسsi on näiden kahden eri osatekijän summa

$$s_t^2 = s_w^2 + s_b^2 \quad (34)$$

missä

s_t^2 = tulosten kokonaisvariانسsi

s_w^2 = sarjan sisäinen variانسsi

s_b^2 = sarjojen välinen variانسsi.

Satunnaisvirhe (*random error*) jakaantuu näin ollen kahteen osaan, sarjan sisäiseen hajontaan (*within batch variation*) ja sarjojen väliseen hajontaan (*between batch variation*). Sarjojen väliseen hajontaan vaikuttavat mm. muutokset kalibrointisuorassa. Sarjan sisäiseen hajontaan vaikuttaa taas merkittävästi mm. kontaminaatio.

4.7.4.1 Näytteet ja niiden lukumäärä toistettavuuden arvioinnissa

Toistettavuus on yleensä pitoisuudesta riippuvainen ja tulee määrittää useissa eri pitoisuuksissa, mikäli se on mahdollista. Vaikeissa ja monivaiheisissa menetelmissä joudutaan tyytymään vähempään näytemäärään kuin suhteellisen yksinkertaisten menetelmien testauksessa.

Jos toistettavuusmittaukset tietylle menetelmälle tehdään yhdessä sarjassa, tulosten toistettavuus on yleensä parempi kuin jos mittaukset tehdään pitemmän aikajakson kuluessa. Satunnaisvirhe johtuu sekä vaihtelusta sarjan sisällä että sarjojen välisestä vaihtelusta. Toistettavuuden testaus vain yhdellä analyysisarjalla antaa usein liian optimistisen käsityksen määrittäjätoistettavuudesta. Tämän vuoksi toistettavuustestaukset suositellaan tehtäväksi useasta eri näytesarjasta, mikäli se on mahdollista.

Sarjojen lukumäärä riippuu siitä, minkä tyyppiset virhelähteet aiheuttavat eniten satunnaisvirhettä. Silloin kun oletetaan, että sarjojen välinen hajonta on vallitseva, valitaan määrittäjätoistettavuuden lukumäärä sarjassa n pieneksi (esim. $n = 2$) ja sarjojen lukumäärä m suureksi (esim. $m = 10$). Jos vastaavasti voidaan sarjan sisäisen hajonnan olettaa olevan merkittävä, voidaan valita $n = 4$ ja $m = 5$. Sarjan sisäisen hajonnan suuruus selviää menetelmästä tehtävien alkutestien perusteella. Näytteiden mittaaminen tehdään satunnaisessa järjestyksessä.

Testattavien näytteiden tulee olla homogeeniset. Testauksessa voidaan käyttää näytteinä luonnonvesinäytteitä, standardiliuoksia, nollanäytteitä tai näytteitä, joihin on tehty tunnetun pitoisuuden lisäys esim. seuraavan taulukon mukaisesti:

Taulukko 12. Suunnitelma toistettavuuden testaamiseksi luonnonvesistä (näytteistä tehdään rinnakkaismääritykset xx).

Näyte	1. päivä	2. päivä	3. päivä	n. päivä	Pitoisuus
Nollanäyte	xx	xx	xx	xx	0
Standardi1	xx	xx	xx	xx	0,1
Standardi2	xx	xx	xx	xx	0,9
Näyte	xx	xx	xx	xx	0,2
Näyte + lisäys	xx	xx	xx	xx	0,8

Nollanäyte on yleensä näyte, jossa ei ole juuri ollenkaan määritettävää ainetta. Vesinäytteille se voidaan tehdä myös tislattusta vedestä. Jos esim. kromatografisissa määrityksissä nollanäytteelle ei saada vastetta, siihen voidaan lisätä pieni määrä määritettävää yhdistettä. Nollanäytteen testaus on aiheellista silloin, kun ollaan kiinnostuneita myös määritysrajan lähellä olevien pitoisuuksien hajonnasta. Nollanäytteen tuloksia voidaan käyttää myös määritysrajan arvioimiseen.

Yleensä pelkkä standardien toistettavuuden testaaminen ei riitä, koska hajonta näytteissä voi olla eri suuri kuin standardeissa. Jos varsinaisessa näytteessä määritettävä yhdiste ei ole säilyvä, sarjojen välinen hajonta joudutaan arvioimaan esim. standardien avulla. Kun testaukseen otetaan mukaan eri tyyppisiä näytteitä eri pitoisuusalueella, saadaan samalla tietoa mm. mittausalueesta, kalibroinnin pysyvyydestä pitemmällä aikavälillä (standardit), toistettavuudesta määritysrajalla (nollanäyte) ja eri pitoisuusalueilla sekä tarkkuudesta (tunnetun pitoisuuden lisäys näytteeseen).

4.7.4.2 Tulosten tilastollinen käsittely

Testauksessa on aiheellista ilmoittaa tulokset yhtä merkitsevää numeroa tarkemmin kuin se yleensä tehdään. Jos määrityksessä mitataan myös nollanäyte, sen lukema vähennetään näytteiden lukemasta.

Toistettavuustestauksen tulosten tilastollisessa käsittelyssä lasketaan:

- Sarjan sisäinen hajonta s_w , joka kuvaa lyhytaikaista vaihtelua ja jota on usein vaikea vähentää.
- Sarjojen välinen hajonta s_b , joka kuvaa pitkäaikaista vaihtelua ja jonka lähteitä on yleensä mahdollisuus selvittää ja vähentää.
- Kokonaishajonta s_t , joka kuvaa yksittäisten tulosten kokonaisvaihtelua.

Toistettavuustestauksen tulosten tilastollisessa käsittelyssä käytetään varianssianalyysia. Se mahdollistaa vaihtelun eri lähteiden ja kokonaishajonnan selvittämisen. Varianssianalyysi on esitetty teoreettisesti tilastollisissa oppikirjoissa. Varianssianalyysia käytetään sarjan sisäisen MS-arvon (*within-batch mean square*) M_0 ja sarjojen välisen MS-arvon (*between-batch mean square*) M_1 laskemiseen. M_0 on arvio sarjan sisäisestä varianssista ja M_1 sisältää sekä sarjan sisäisen että sarjojen välisen vaihtelun. MS-arvojen avulla verrataan, onko M_1 merkitsevästi suurempi kuin M_0 eli onko

olemassa merkittävää sarjojen välistä virhelähdettä. Jos M_j on merkitsevästi suurempi kuin M_o , sarjojen välillä esiintyy todellista vaihtelua.

Varianssianalyysin laskeminen käy helpoimmin valmiiden ATK-ohjelmien avulla. Kaupalliset ATK-ohjelmat varianssianalyysin laskemiseksi on tarkoitettu erilaisiin sovellutuksiin. Ennestään tunnetulla laskuesimerkillä on syytä varmistaa, että havaintomateriaali on syötetty oikein ja että menetelmän vaatimat parametrit on testattu oikein (Mittatekniikan keskus 1996).

Manuaalista laskemista varten esitetään seuraava esimerkki, jonka yhteyteen on sisällytetty laskemisessa tarvittavat kaavat seuraamisen helpottamiseksi.

Esimerkki 19. Sarjan sisäisen hajonnan, sarjojen välisen hajonnan ja kokonaishajonnan arviointi.

Kokonaisfosforin määrittämisen validoinnissa analysoitiin näyte (120 µg/l) kymmenenä eri päivänä. Määrittäminen tehtiin joka päivä rinnakkaismäärittäisinä. Aineistosta arvioidaan sarjan sisäinen, sarjojen välinen hajonta ja kokonaishajonta sekä sarjojen sisäisen ja kokonaishajonnan merkitsevyys.

Taulukko 13. Toistettavuustestauksen tulokset (P_{tot} , 120 µg/l).

Sarja	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Rivien summa
	119,0	118,3	118,3	119,7	118,3	118,3	117,9	120,7	122,1	118,6	
	120,0	121,4	118,6	119,7	116,9	119,3	119,7	121,4	120,4	120,4	
<i>B</i>	239	239,7	236,9	239,4	235,2	237,6	237,6	242,1	242,5	239	2389
<i>B</i> ²	57121	57456	56122	57312	55319	56454	56454	58612	58806	57121	570777

Taulukossa 13 *B* on sarjan rinnakkaistulosten summa ja *B*² summan neliö.

Tulosten keskiarvo on 119,45 µg/l.

Tulosten jatkokäsittelyssä tarvitaan seuraavia termejä:

$$\begin{aligned}
 m &= \text{sarjojen lukumäärä} = 10 \\
 n &= \text{rinnakkaisten lukumäärä} = 2 \\
 \sum X^2 &= 285400,40 \quad (X^2 \text{ on yksittäisen tuloksen neliö}) \\
 \sum B^2 / n &= 570777 / 2 = 285388,50 \\
 (\sum B)^2 / mn &= 2389^2 / (10 \cdot 2) = 285366,05.
 \end{aligned}$$

Varianssianalyysi voidaan esittää edellä käytettyjen termien avulla seuraavasti:

Vaihtelun lähde	Neliösumma	Vapausaste	MS
Välinen	$SS_1 = (\sum B^2/n) - (\sum B)^2/mn$	$N_1 = m - 1$	$M_1 = SS_1/N_1$
Sisäinen	$SS_0 = \sum X^2 - \sum B^2/n$	$N_0 = m(n - 1)$	$M_0 = SS_0/N_0$

Tässä tapauksessa saadaan:

Vaihtelun lähde	Neliösumma	Vapausaste	MS
Välinen	22,45	9	$M_1 = 2,49$
Sisäinen	11,90	10	$M_0 = 1,19$

MS-termejä verrataan keskenään sen arvioimiseksi, onko M_1 merkittävästi suurempi kuin M_0 (95% todennäköisyys) eli arvioidaan, onko sarjojen välinen hajonta merkitsevä.

Sarjan sisäinen hajonta s_w arvioidaan kaavasta

$$s_w^2 = M_0 \quad (35)$$

$$s_w^2 = 1,19, \quad s_w = 1,091.$$

Seuraavaksi arvioidaan varianssisuhde F :

$$F = \frac{M_1}{M_0} \quad (36)$$

$$F = 2,49 / 1,19 = 2,092.$$

Tässä esimerkissä on $M_1 > M_0$.

Laskettu arvo on pienempi kuin kriittinen arvo $F_{0,05} = 3,02$ (vapausasteet 9 ja 10). Tästä seuraa, että s_b ei ole merkitsevä, mutta se voidaan kuitenkin laskea kaavaa $M_1 = ns_b^2 + s_w^2$ muuntamalla.

Sarjojen välinen hajonta s_b lasketaan kaavasta

$$s_b^2 = \frac{(M_1 - M_0)}{n} \quad (37)$$

$$s_b^2 = (2,49 - 1,19) / 2 = 0,650, \quad s_b = 0,806.$$

Kokonaishajonta lasketaan kaavasta

$$s_t^2 = s_b^2 + s_w^2 = \frac{M_1 + (n-1)M_0}{n} \quad (38)$$

$$s_t^2 = 1,840, s_t = 1,356$$

Suhteellinen hajonta s (%) lasketaan jakamalla hajonta s tulosten keskiarvolla.

Arviot eri hajonnoille ovat:

- Sarjan sisäinen hajonta, $s_w = 1,091$, s_w (%) = 0,9 %
- Sarjojen välinen hajonta, $s_b = 0,806$, s_b (%) = 0,7 % (N.S., ei merkitsevä)
- Kokonaishajonta, $s_t = 1,356$, s_t (%) = 1,1 %.

Tämän esimerkin tapauksessa sarjojen välinen hajonta ei ole merkitsevä. Yksittäisen keskiarvon vaihteluun vaikuttaa eniten sarjan sisäinen vaihtelu.

Joissakin tilanteissa M_1 - ja M_0 -termin suuruusjärjestys voi olla $M_1 < M_0$. Tällöin lasketaan ensin varianssisuhde F . Jos laskettu $F < F_{0,05}$, s_b^2 on silloin ≈ 0 ja $s_w^2 = M_0$.

Jos taas laskettu $F > F_{0,05}$, menetelmä tulee tarkistaa kriittisesti poikkeavien virhelähteiden selvittämiseksi.

F -testiä käytetään arvioitaessa, onko kokonaishajonta s_t merkitsevästi suurempi kuin asetettu tavoite Z . Tätä varten lasketaan ensin s_t :lle vapausasteiden lukumäärä kaavasta

$$f = \frac{m(m-1)[M_1 + (n-1)M_0]^2}{mM_1^2 + (m-1)(n-1)M_0^2} \quad (39)$$

F -jakaumalla arvioidaan, onko s_t merkittävästi suurempi kuin tavoitearvo Z . $F = s_t^2/Z^2$ ja verrataan saatua arvoa taulukkoarvoon $F_{0,05}$ vapausasteilla f ja ∞ . Jos $F < F_{0,05}$, menetelmän täsmällisyyttä tulee parantaa.

Esimerkin 19 tapauksessa s_t :n vapausasteiden lukumäärä on

$$f = \frac{10 \cdot 9 (2,49 + 1 \cdot 1,19)^2}{10 \cdot 2,49^2 + 9 \cdot 1 \cdot 1,19^2} = 16,31 \approx 16$$

Kokonaishajonnalle asetetaan tavoitteeksi $Z = 0,05 \cdot 119,45 = 5,9725$ (5% koko aineiston keskiarvosta 119,45).

$$F = \frac{s_t^2}{Z^2} \quad (40)$$

$$F = 1,356^2 / 5,9725^2 = 0,052 < F_{0,05} = 1,674 \quad (\text{vapausasteet } 16 \text{ ja } \infty).$$

Tässä tapauksessa kokonaishajonta on merkittävästi pienempi kuin asetettu 5 %:n tavoite keskiarvosta.

Jos havaitaan, että s_i on merkitsevästi suurempi kuin asetettu tavoite Z , tulee tutkia mahdolliset virhelähteet. Jos s_i on jonkin verran (muttei merkitsevästi) suurempi kuin asetettu tavoite, tekemällä lisämääryksiä voidaan päästä aikaisempaa parempaan arvioon.

Esimerkki 20. Toistettavuuden testaus maanäytteen Pb-määrittelykselle.

Tulostuksessa on käytetty Suomen ympäristökeskuksen laboratoriossa tehtyä sovellutusta varianssianalyysin laskemiseksi

Suomen ympäristökeskus
Laboratorio

TOISTETTAVUUSTESTI

27.5.1996
15:09

Datatiedosto		e:\excel\muu\maapb.xls			
Aineiston kuvaus		Pb µg/g			
Keskipitoisuus (\bar{x})		9.3586			
Vaihtelun lähde		Neliösumma		Vapausaste	
Sarjojen välinen		SS ₁ =	0.552271	N ₁ =	6
Sarjan sisäinen		SS ₀ =	0.457100	N ₀ =	7
				M ₁ =	0.092045
				M ₀ =	0.065300
F _{0,05} (6,7)		3.865978		M ₁ > M ₀	
F = M ₁ / M ₀		1.409575			
⇒ Sarjojen välinen hajonta ei ole merkitsevä.					
		Absoluuttinen	Suhteellinen		
Sarjan sisäinen hajonta (s_w)		0.255539	2.73 %		
Sarjojen välinen hajonta (s_b)		0.115640	1.24 %		ei merkitsevä
Kokonaishajonta (s_t)		0.280486	3.00 %		ei merkitsevä
F _{0,05} (12,00)		1.753140			
Z-tavoite (5% keskiarvosta)		0.46793			
F = s_t^2 / Z^2		0.35931			
⇒ Kokonaishajonta pienempi kuin asetettu 5% tavoite keskiarvosta.					

Tulos 1	Tulos 2	Tulos 3	Tulos 4	Tulos 5	Tulos 6
9.55	9.33				
9.62	9.74				
9.75	9.04				
9.14	9.18				
8.94	9.12				
9.23	9.41				
9.75	9.22				

Edellä esitettyssä esimerkissä sarjojen välinen hajonta ei ole merkitsevästi suurempi kuin sarjan sisäinen hajonta. Päinvastoin sarjan sisäinen hajonta on jonkin verran

suurempi kuin sarjojen välinen hajonta. Tähän ilmeni syyksi näytteiden esikäsitteilyjärjestys. Myös kokonaishajonta ei poikkea merkittävästi ennakkoon asetetusta tavoitteesta (5 %).

Esimerkki 21. Toistettavuuden testaus vesinäytteistä reaktiiviselle, monomeeriselle alumiinille.

Table 1 The data is based on ten days run. Sample analysis consists of a duplicate of blank, two different standards, one natural sample and one spiked sample.

The between batch error was dominant, therefore it was correct to process the data in no less than ten days run.

RESULTS (not corrected for blank)

Blank	2.60	4.20	2.10	4.90	3.70	3.60	-1.10	6.40	1.40	4.70
	2.10	2.90	2.80	6.80	5.10	4.60	0.50	5.10	2.60	2.30
40 µg/l	42.80	42.60	43.10	39.30	40.60	38.30	43.20	42.70	40.80	41.50
	43.40	39.40	39.30	41.70	42.60	43.10	40.40	42.20	39.50	40.60
250 µg/l	253.90	250.80	253.10	258.10	254.90	254.50	257.40	252.20	256.10	259.70
	254.70	253.30	253.10	257.20	250.30	252.40	254.60	255.80	257.50	259.40
Lake Lehmilampi	80.10	80.90	77.90	78.80	78.60	81.30	79.40	87.40	74.40	81.10
	82.20	82.30	75.90	77.60	77.50	83.20	80.40	83.10	77.30	81.10
Lake Lehmilampi + 200 µg/l	263.00	265.10	264.60	268.20	256.60	261.50	267.40	271.50	265.20	263.20
	270.00	269.00	263.90	267.50	265.20	260.80	273.20	271.20	268.50	268.80

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE

	Blank	40 µg/l	250 µg/l	Lake Lehmilampi	Lake Lehmilampi + 200 µg/l
Overall mean value	3.365	41.355	254.950	80.025	266.220
Between-batch variance	6.820	1.635	11.979	15.910	23.271
Within-batch variance	1.022	3.421	2.806	2.226	10.781
Observed F-value [1]	6.670	0.478	4.269	7.146	2.159
Significance of between-batch variability [2]	**	N.S.	*	**	N.S.
Between-batch st.dev. [3]		0.945	2.142	2.616	2.499
Within-batch st.dev. [4]	1.011	1.850	1.675	1.492	3.283
Total st.dev. [5]		1.590	2.719	3.011	4.128
Coefficient of total st.dev (CV%) [6]		3.845	1.066	3.763	1.550
Calculated d.f. [7]		17	13	11	16
Tabled F-value (p=0.05)		1.648	1.752	1.804	1.674
Calculated F-value [8]		0.591	0.045	0.566	0.096
Total st.dev. less than 5% from overall mean value? [9]		PASS	PASS	PASS	PASS
Limit of detection [10]		5.177			

RECOVERY CALCULATION

Mean spiking recovery [11]	186.195 ± 2.125
Percentage spiking recovery	93.10 ± 1.06

Monomeerisen alumiinin määrittäminen FIA-tekniikalla on erittäin herkkä menetelmä sekä hyvin riippuvainen ympäristöolosuhteista. Tällöin eri päivinä saadut tulokset poikkeavat helposti toisistaan. Nollanäytteille sarjojen välinen hajonta on merkitsevä. Tämä on luonnollista, koska niiden pitoisuus on alle määritysrajan (5 µg/l). Sarjojen välinen hajonta on merkitsevä myös luonnonvesinäytteelle "Lake Lehmilampi". Koska testausta tehtiin usean viikon aikana, näytteen reaktiivisen, monomeerisen alumiinin alkuperäisissä pitoisuuksissa on voinut tapahtua muutoksia. Kokonaishajonta ei poikkea merkitsevästi ennakkoon asetetusta tavoitteesta 5 %.

4.7.5 Satunnaisvirheen seuranta

Satunnaisvirhe ei välttämättä pysy vakiona, joten sen vaihteluita rutiinimittauksessa tulee seurata sisäisen laadunohjauksen avulla.

Satunnaisvirheen suuruuden seuraaminen pitäisi tehdä yleensä varsinaisten näytteiden rinnakkaistulosten avulla esimerkin 22 mukaisesti.

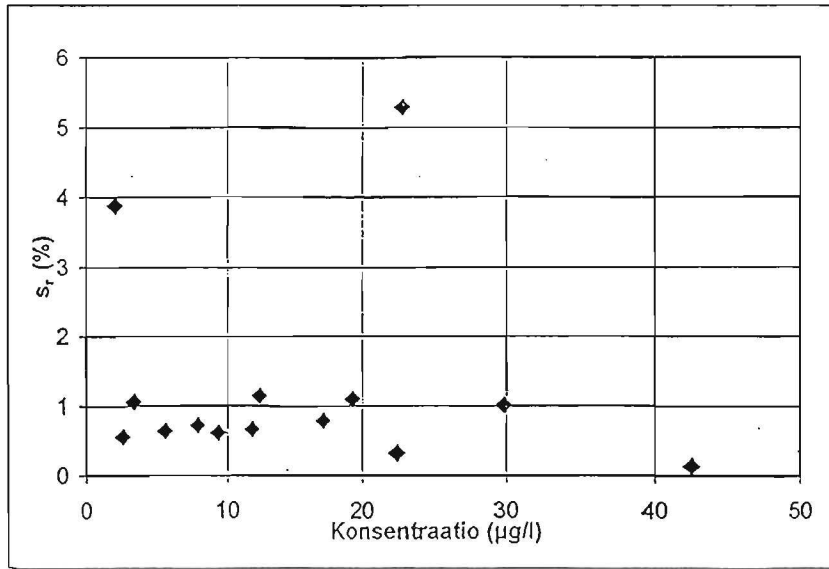
Esimerkki 22. Satunnaisvirheen seuranta TOC-määrityksessä.

Rinnakkaisnäytteiden tuloksista lasketaan näytekohtaisesti suhteelliset keskihajonnat (taulukko 14).

Taulukko 14. TOC-määrityksen rinnakkaistulokset ja suhteelliset keskihajonnat.

Näyte	x_1 µg/l	x_2 µg/l	\bar{x} µg/l	$s_{ri} =$ $100s/\bar{x}$ %
1	2,06	1,95	2,01	3,88
2	2,57	2,55	2,56	0,55
3	3,29	3,34	3,32	1,07
4	5,54	5,59	5,57	0,64
5	7,92	7,84	7,88	0,72
6	9,30	9,38	9,34	0,61
7	11,73	11,84	11,79	0,66
8	12,21	12,41	12,31	1,15
9	17,18	16,99	17,09	0,79
10	19,12	19,42	19,27	1,10
11	22,43	22,53	22,48	0,31
12	23,69	21,98	22,84	5,30
13	29,63	30,06	29,85	1,02
14	42,38	42,45	42,42	0,13

x_1 ja x_2 = rinnakkaismääritykset
 \bar{x} = rinnakkaismääritysten keskiarvo
 s = keskihajonta (keskihajonnan kaavan avulla laskettu)
 s_{ri} = suhteellinen keskihajonta



Kuva 15. Suhteellinen keskihajonta pitoisuuden funktiona.

Suhteellinen keskihajonta riippuu usein pitoisuudesta, mutta optimaal alueella se on yleensä vakio. Edellä olevan esimerkin tapauksessa suhteellinen keskihajonta näyttää olevan pitoisuudesta riippumaton (kuva 15). Tällöin voidaan pitoisuusalueen suhteelliset keskihajonnat yhdistää (Minkkinen 1996):

$$s_r = \sqrt{\frac{1}{n} \sum s_r^2} = 1,9 \% \quad (41)$$

Satunnaisvirheen luottamusväli on (95 % todennäköisyys):

$$\pm t_{0,05} \cdot s_r = \pm 2,145 \cdot 1,9 \% = \pm 4,1 \%$$

Satunnaisvirheen arvioimiseksi käytettävät tulokset voidaan esittää suuruusjärjestyksessä, jolloin saadaan jonkinlainen käsitys mahdollisesta keskihajonnan riippuvuudesta pitoisuudesta. Tapauksissa, joissa suhteellinen keskihajonta riippuu pitoisuudesta, satunnaisvirhe voidaan estimoida mallittamalla. Mallittamiseen voidaan kokeilla mm. Thompsonin ja Howardin yhtälöä $\sigma_c = \sigma_o + kc$ (Minkkinen 1996).

Satunnaisvirhettä voidaan seurata myös $r\%$ -kortin avulla (Haapala 1988). Tällöin voidaan pitää kriittisenä arvona keskimääräistä suhteellista erotusta. Tulosaineistoa käsiteltäessä tulee ottaa huomioon mahdollinen suhteellisen erotuksen riippuvuus keskihajonnasta mm. laatimalla $r\%$ -kortti useammalle kuin yhdelle pitoisuusalueelle.

4.7.6 Määrityksen uusittavuus

Laboratorioiden välisissä vertailukokeissa selvitetään nimenomaan määrittelyn uusittavuutta. Osallistumalla laboratorioiden välisiin vertailukokeisiin laboratorio saa selville käyttämänsä menetelmän pätevyyden ja vertailukelpoisuuden. Pätevyydestä ja tulosten jäljitettävyydestä laboratorio saa tietoa myös analysoimalla varmennettuja vertailuaineita.

Laboratorioiden välisissä vertailukokeissa laboratoriot ilmoittavat näytettä kohden yhden tuloksen tai usean rinnakkaismäärityksen tulokset. Jälkimmäistä menettelyä käytetään varsinkin kollaboratiivisissa testeissä, kun menetelmää testataan mm. tiettyyn tarkoitukseen.

Kun vertailukokeessa ilmoitetaan samasta näytteestä usean rinnakkaismäärityksen tulokset, niistä voidaan laskea laboratorioiden sisäinen hajonta, laboratorioiden välinen hajonta ja kokonaishajonta. Viime mainittu ilmoittaa määrittelyn uusittavuuden (SFS-ISO 5725).

Vertailukokeiden uusittavuustuloksia voidaan hyödyntää mm. mittausepävarmuutta arvioitaessa (4.9.3). Epävarmuusarvion lopuksi verrataan, miten laboratorion menetelmälle saama epävarmuusarvio suhtautuu vertailukokeissa saatuihin tuloksiin.

4.8 Häiriöalttius

Luotettavan analyysimenetelmän ominaisuuksiin kuuluu, ettei menetelmä ole herkkä häiriöille eli sen häiriöalttius (engl. *ruggedness, robustness*) on mahdollisimman pieni. Tämä tarkoittaa, etteivät pienet poikkeamat analyysitekniikassa vaikuta analyysitulokseen. Häiriöalttiuden testaus on erittäin tärkeää etenkin silloin, kun uusi menetelmä aiotaan esittää standardi- tai referenssimenetelmäksi. Menetelmää kehittävän laboratorion tulee tehdä perusteellinen häiriöalttiuden testaus esim. ennen menetelmän kollaboratiivista tutkimusta. Testauksessa pitää ottaa huomioon olosuhdemuuttajat (esim. reagenssien määrä ja pitoisuus, lämpötila, aika, pH) ja matriisihäiriöt.

Menetelmän häiriöalttiutta ilmaisevia numeerisia arvoja ei ole olemassa, mutta sitä voidaan testata esim. tekemällä tahallisesti pieniä muutoksia menetelmään ja tutkimalla näiden vaikutusta. Koejärjestelyissä on hyvä käyttää apuna jotain tilastollista koesuunnittelua, josta seuraavassa esitetään yksi esimerkki.

Testausesimerkissä on käytetty teoksen Standard Methods (1995, s. 1 - 14) ohjetta, joka perustuu teoksessa Youden and Steiner (1975, s. 33 - 36, 50 - 55) esitettyyn yksityiskohtaisempaan ohjeeseen. Se soveltuu vain päävaikutusten, ei yhdysvaikutusten, testaamiseen. Testauksen kohteena oli standardin ISO 9963-1 esittämä alkaliniteettimenetelmä.

Testauksessa menetelmän seitsemää tekijää (ks. taulukko 15) muutettiin hieman standardissa ISO 9963-1 annetuista ohjeista. Suoritettiin kahdeksan määritystä, joista ensimmäisessä olosuhteet olivat samat kuin alkuperäisessä standardissa ja seitsemässä muussa määrityksessä kussakin oli muutettu neljää eri tekijää taulukon 16 mukaisesti. Testaustulosten käsittely muutosten vaikutuksen arvioimiseksi esitetään taulukossa 17. Tässä esimerkissä saadut valmiit tulokset esitetään taulukoissa 18 ja 19.

Taulukko 15. Luettelo muutetuista tekijöistä ja tiedot muutoksista.

Tekijä	Normaali (A...G)	Poikkeama (a...g)
1. Sekoitus titrauksen aikana	A: juuri havaittava	a: voimakas
2. Titrausnopeus	B: normaali	b: hyvin hidas
3. Indikaattorimäärä	C: 0,10 ml	c: 0,15 ml
4. Näytteen lämpötila	D: 22 °C	d: 16 °C
5. Kloorin poisto	E: tehty	e: ei tehty
6. Näytemäärä	F: 100 ml	f: 98 ml
7. Titrausliuoksen ¹⁾ tarkistus	G: 0,1 mol/l HCl-liuoksen konsentraation tarkistus	g: 0,02 mol/l HCl-liuoksen konsentraation tarkistus

¹⁾ Kaikki määritykset tehty 0,02 mol/l HCl:lla.

Taulukko 16. Kahdeksan yhdistelmää seitsemälle tekijälle, joita on käytetty testattaessa menetelmän häiriöalttiutta

Tekijä	Yhdistelmä (ja määritys)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1 (A tai a)	A	A	A	A	a	a	a	a
2 (B tai b)	B	B	b	b	B	B	b	b
3 (C tai c)	C	c	C	c	C	c	C	c
4 (D tai d)	D	D	d	d	d	d	D	D
5 (E tai e)	E	e	E	e	e	E	e	E
6 (F tai f)	F	f	f	F	F	f	f	F
7 (G tai g)	G	g	g	G	g	G	G	g
Saatu tulos	s	t	u	v	w	x	y	z

Yhdistelmän 1 määrityksestä saadaan tulos s, yhdistelmän 2 määrityksestä tulos t, jne. Jotta havaitaan, onko tulokseen vaikutusta esim. tekijän 1 muuttamisella A:sta a:ksi, verrataan keskiarvoa $(s + t + u + v)/4$ keskiarvoon $(w + x + y + z)/4$. Taulukosta 16 nähdään, että tekijä 1 on normaali (= A) määrityksissä 1, 2, 3 ja 4 ja tekijää 1 on muutettu (= a) määrityksissä 5, 6, 7 ja 8. Kaikille seitsemälle tekijälle saadaan kaksi ryhmää, jotka kumpikin koostuvat neljästä eri määrityksestä. Jokainen ryhmä sisältää vuorollaan yhden tekijän neljäksi normaalina (isot kirjaimet) ja neljäksi muutettuna (pienet kirjaimet) sekä muut kuusi tekijää kahdesti normaalina ja kahdesti muutettuna. Ks. taulukkoa 17.

Taulukko 17. Testitulosten käsittely muutoksen vaikutuksen toteamiseksi.

Tekijä	Keskiarvoparien erotus
1 (A → a)	$(s+t+u+v)/4 - (w+x+y+z)/4$
2 (B → b)	$(s+t+w+x)/4 - (u+v+y+z)/4$
3 (C → c)	$(s+u+w+y)/4 - (t+v+x+z)/4$
4 (D → d)	$(s+t+y+z)/4 - (u+v+w+x)/4$
5 (E → e)	$(s+u+x+z)/4 - (t+v+w+y)/4$
6 (F → f)	$(s+v+w+z)/4 - (t+u+x+y)/4$
7 (G → g)	$(s+v+x+y)/4 - (t+u+w+z)/4$

Lasketaan kaikki seitsemän keskiarvoparia ja vähennetään vastaavat parit toisistaan, jolloin saadaan muutosten vaikutukset selville yksitellen ($A \rightarrow a, B \rightarrow b, \dots, G \rightarrow g$). Erotukset listataan suuruusjärjestykseen (ks. taulukko 19). Jos muutokset eivät merkittävästi vaikuta tuloksiin, lasketaan kahdeksan tuloksen (s, t, ..., z) keskiarvo ja keskihajonta. Saatu keskihajonta on menetelmän täsmällisyyden realistinen arvio.

Taulukko 18. Kokonaisalkaliniteettitulokset (mmol/l) kahdeksasta eri määrittäyksestä.

Määrittäys	1	2	3	4	5	6	7	8
Tulos	s	t	u	v	w	x	y	z
	0,590	0,573	0,562	0,587	0,574	0,574	0,573	0,579

Taulukko 19. Menetelmän tekijöiden muutosten vaikutus kokonaisalkaliniteettitulokseen (mmol/l) (järjestys suurimmasta vaikutuksesta pienimpään).

Tekijä	Keskiarvoparit	Keskiarvojen erotus
6. Näytämäärä	0,582; 0,570	0,012
7. Titrausliuoksen tarkistus	0,581; 0,572	0,009
4. Näytteen lämpötila	0,579; 0,574	0,005
3. Indikaattorimäärä	0,575; 0,578	-0,003
1. Sekoitus titrauksen aikana	0,578; 0,575	0,003
2. Titrausnopeus	0,578; 0,575	0,003
5. Kloorin poisto	0,576; 0,577	-0,001
Kaikkien tulosten keskiarvo = 0,576 mmol/l ja keskihajonta = 0,009 mmol/l		

Taulukon 19 tulosten perusteella nähdään, että standardin ISO 9963-1 esittämä menetelmä on vakaa testattujen tekijöiden suhteen, jos tulokset ilmoitetaan kahden desimaalin tarkkuudella. Suurin ero tuloksiin saatiin, kun määrittämiin otettiin näytettä 100 ml (tekijä 6 normaali eli F) ja 98 ml (tekijän 6 poikkeama eli f). Lopputulosta laskettaessa oletettiin tilavuuden olevan 100 ml molemmissa tapauksissa (standardissa ISO 9963-1 näytetilavuus on $100 \text{ ml} \pm 2 \text{ ml}$). Jos tapauksessa f otettiin huomioon määrittämiseen käytetty näytemäärä tarkasti (= 98 ml), saatiin sama tulos kuin tapauksessa F. Hieman toisistaan poikkeavia tuloksia saatiin myös, kun titrausliuoksen pitoisuus (0,02 mol/l) määritettiin suoraan laimeasta (0,02 mol/l) liuksesta eikä väkevämmästä (0,1 mol/l) liuksesta, joka edelleen laimennettiin 0,02 mol/l:ksi, kuten standardiohjeessa esitetään.

4.9 Mittausepävarmuus

4.9.1 Määritelmiä

Mittausepävarmuus (*uncertainty*) on testaustulokseen liittyvä arvio, joka ilmoittaa rajat, joiden välissä todellisen arvon voidaan valitulla todennäköisyydellä katsoa olevan (ISO 3534-1). Epävarmuusarvio voidaan tehdä, vaikkei "oikeaa arvoa" tunnetakaan (Piepponen 1996). Mittausepävarmuus antaa käsityksen myös tulosten laadusta. Menetelmän mittausepävarmuus on riippuvainen analysoitavasta matriisista ja pitoisuustasosta.

Mittausepävarmuuden kvantitatiivinen ilmoittaminen tulosten yhteydessä on tärkeää, sillä sitä tarvitaan mm. arvioitaessa tulosten luotettavuutta, verrattaessa tuloksia keskenään, tehtäessä johtopäätöksiä tuloksista ja arvioitaessa tieteellistä työtä.

Mittausepävarmuutta arvioitaessa tulisi ottaa huomioon kaikki mahdolliset mittaukseen vaikuttavat epävarmuustekijät. Tärkeimmät virhelähteet selviävät yleensä menetelmän testauksen yhteydessä. Tässä julkaisussa tarkastellaan mittausepävarmuuden arviointia pääasiassa satunnaisvirheen ja systemaattisen virheen avulla.

Yksityiskohtaisempia ohjeita on mm. julkaisussa "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurements" (EURACHEM 1995) sekä ohjeessa FINAS S33/1996 (Mittatekniikan keskus 1996).

4.9.2 Mittausepävarmuuden määrittäminen

Mittausepävarmuus voidaan määrittää kontrollinäytteiden tai varmennettujen vertailumateriaalien avulla, jolloin saadaan selville systemaattinen virhe. Satunnaisvirheen osuus arvioidaan varsinaisten näytteiden rinnakkaismäärittysten hajonnan avulla.

Mittausepävarmuus voidaan määrittää mm.

- suorittamalla laboratoriossa kokeellisia mittauksia, joilla eri epävarmuustekijät - kartoitetaan
- hyödyntämällä laboratorion tuottamia aikaisempia mittaustuloksia, esim. valvontakorttien tuloksia
- hyödyntämällä vertailumateriaaleista saatuja tuloksia.

Tuloksista otetaan huomioon mm.

- vertailumateriaalin sertifikaatissa mainittu epävarmuus
- vertailumateriaalilla tehtyjen mittausten uusittavuus
- varmennetun ja mitatun tuloksen erotus
- erot vertailumateriaalin ja näytteen koostumuksissa
- työvaiheet, jotka suoritetaan näytteelle, mutta ei vertailumateriaalille, esim. näytteenotto (Mittatekniikan keskus 1996).

Saatuja mittausepävarmuusarvoja verrataan vertailukokeista saatuihin tuloksiin. Systemaattisen virheen ja satunnaisvirheen arviointitapoja on esitetty kohdissa 4.6 ja 4.7.

4.9.3 Mittausepävarmuuden laskeminen

Mittausepävarmuus koostuu yksittäisistä epävarmuustekijöistä u_i . Kun eri vaiheiden epävarmuustekijät yhdistetään, saadaan kokonaisepävarmuus eli yhdistetty mittausepävarmuus, joka on

$$u_c = \sqrt{\sum u_i^2} \quad (42)$$

Edelleen voidaan laskea laajennettu epävarmuus U , joka saadaan kokonaisepävarmuudesta kertomalla se kertoimella k , joka on tyypillisesti 2 ... 3. Kerroin 2 vastaa 95 prosentin luotettavuusväliä.

$$U = k \cdot u_c \quad (43)$$

Esimerkki 23. Laajennetun epävarmuuden arviointi kokonaistyyppimenetelmälle pitoisuusalueelle $> 100 \mu\text{g/l}$. Menetelmä perustuu standardiin SFS 3031.

Laajennetun epävarmuuden arviointi perustuu luonnonnäytteiden satunnaisvirheen ja synteettisten näytteiden systemaattisen virheen tarkasteluun.

Satunnaisvirheen arviointi:

Satunnaisvirhettä arvioitiin analysoimalla sadevesinäytteistä rinnakkaismäärittäyksiä. Tilastolliseen tarkasteluun valittiin rinnakkaismäärittäykset 22 eri näytteestä ($n_i = 22$), jotka sijoittautuivat useampaan eri näytesarjaan. Taulukon tulokset ovat laadultaan $\mu\text{g/l}$.

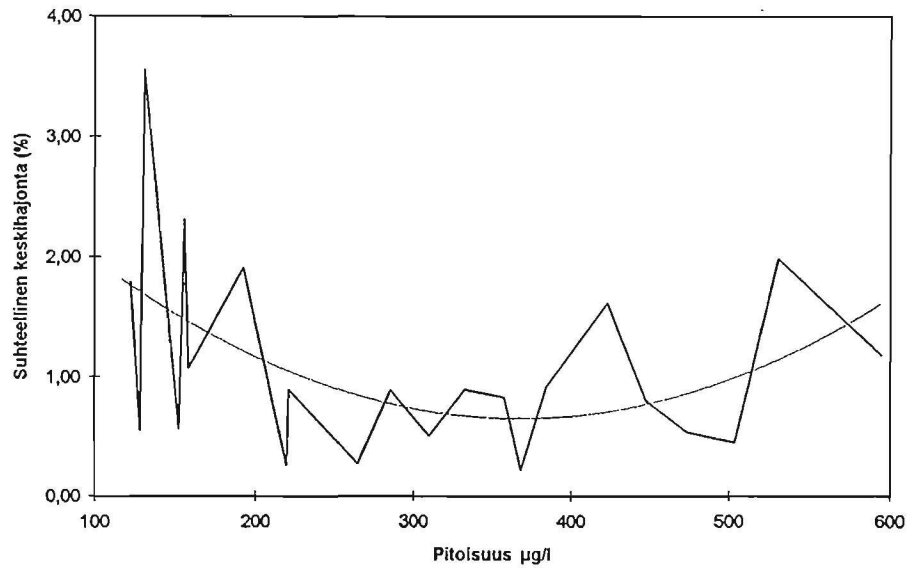
Taulukko 20. Kokonaistyyppimäärityksen rinnakkaistulokset ja suhteelliset keskihajonnat.

Näyte	x_{i1}	x_{i2}	\bar{x}_i	s_i	s_i (%)
1	124,1	121,0	122,6	2,19	1,79
2	128,0	129,0	128,5	0,71	0,55
3	127,9	134,5	131,2	4,67	3,56
4	153,2	152,0	152,6	0,85	0,56
5	158,7	153,6	156,2	3,61	2,31
6	159,6	157,2	158,4	1,70	1,07
7	189,9	195,1	192,5	3,68	1,91
8	220,0	219,2	219,6	0,57	0,26
9	219,7	222,5	221,1	1,98	0,90
10	265,0	264,1	264,6	0,71	0,27
11	286,9	283,3	285,1	2,55	0,89
12	308,6	310,8	309,7	1,56	0,50
13	334,6	330,4	332,5	2,97	0,89
14	359,6	355,4	357,5	2,97	0,83
15	368,8	367,7	368,3	0,78	0,21
16	387,0	382,0	384,5	3,54	0,92
17	427,9	418,2	423,1	6,86	1,62
18	445,0	450,1	447,6	3,61	0,81
19	475,3	471,7	473,5	2,55	0,54
20	505,0	501,8	503,4	2,26	0,45
21	538,1	523,2	530,7	10,54	1,99
22	600,0	590,0	595,0	7,07	1,19

Taulukossa 20 on käytetty seuraavia lyhenteitä:

- x_{i1}, x_{i2} = rinnakkaismääritysten tulokset
 \bar{x}_i = rinnakkaismääritysten keskiarvo $[(x_{i1} + x_{i2})/2]$
 s_i = rinnakkaismääritysten keskihajonta
 s_i (%) = rinnakkaismääritysten suhteellinen keskihajonta (= $s_i \cdot 100 \% / \bar{x}_i$).

Taulukon 20 tuloksissa näyttää olevan jonkin verran suhteellisen keskihajonnan riippuvuutta pitoisuudesta. Mittauksen optimialue on 200 ... 400 $\mu\text{g/l}$, missä suhteellinen keskihajonta on pienempi kuin tämän pitoisuusalueen ulkopuolella. Suhteellisesta keskihajonnasta pitoisuuden funktiona on piirretty kuvaaja sovittamalla tuloksiin toisen asteen yhtälön käyrä (kuva 16) (Backman 1996, henkilökohtainen tiedonanto). Kuvaajan avulla satunnaisvirheen u_i voidaan arvioida olevan enintään 2 %.



Kuva 16. Suhteellisen keskihajonnan riippuvuus pitoisuudesta kokonaistypen määrityksessä.

Systemaattisen virheen arviointi:

Laboratorio määrittä jokaisen näytesarjan yhteydessä synteettisen tarkistusliuoksen (glysiini), jonka teoreettinen kokonaistyyppikonsentraatio oli 200 µg/l. Tilastolliseen tarkasteluun valittiin eri päivien 25 tarkistusliuoksen määrittystä ($n_2 = 25$) (taulukko 21). Tuloksien mittayksikkö on µg/l.

Taulukko 21. Systemaattisen virheen arviointi kokonaistypelle.

Määrittys	x_i	$x_i - T$	d_r (%)
1	219,0	19,0	9,5
2	214,0	14,0	7,0
3	205,0	5,0	2,5
4	202,0	2,0	1,0
5	194,0	-6,0	-3,0
6	211,0	11,0	5,5
7	194,0	-6,0	-3,0
8	206,0	6,0	3,0
9	205,0	5,0	2,5
10	205,0	5,0	2,5
11	209,0	9,0	4,5
12	198,0	-2,0	-1,0
13	196,0	-4,0	-2,0
14	210,0	10,0	5,0
15	198,0	-2,0	-1,0
16	193,0	-7,0	-3,5
17	227,0	27,0	13,5
18	188,0	-12,0	-6,0
19	189,0	-11,0	-5,5
20	188,0	-12,0	-6,0
21	194,0	-6,0	-3,0
22	182,0	-18,0	-9,0
23	184,0	-16,0	-8,0
24	200,0	0	0
25	193,0	-7,0	-3,5

Taulukossa 21 on käytetty seuraavia merkintöjä:

x_i	= määritysten tulos
$x_i - T$	= määritysten tulos - teoreettinen arvo
d_r (%)	= määritysten ja teoreettisen arvon suhteellinen erotus $[(x_i - T) \cdot 100\% / T]$

Määritysten ja teoreettisen arvon suhteellisten erotusten keskiarvo \bar{d}_r (%) = 0,08 % ja suhteellisten erotusten keskihajonta saadaan kaavasta

$$s_{d_r}(\%) = \sqrt{\frac{\sum [d_r(\%) - \bar{d}_r(\%)]^2}{n_2 - 1}} \quad (44)$$

Tässä esimerkissä systemaattisen virheen osuus on

$$s_{d_r}(\%) = 5,52 \% \quad (u_2).$$

Systemaattisen virheen merkitsevyyttä normaalijakautuneille tuloksille $[d_r(\%):n$ poikkeama nollostaj voidaan arvioida t -testin avulla. Testisuure on tällöin

$$t = \frac{|\bar{d}_r(\%) - 0|}{s_{d_r}(\%)} \cdot \sqrt{n_2} \quad (45)$$

$$t = \frac{0,08 - 0}{5,52} \cdot \sqrt{25} = 0,072$$

t -arvoksi saadaan $t = 0,072$. 2-suuntaisen testauksen taulukkoarvo $t_{0,05(24)} = 2,07$. Kokeen perusteella systemaattinen virhe ei ole merkitsevä, koska laskettu t -arvo oli pienempi kuin taulukon t -arvo.

Vaikka systemaattinen virhe ei ole merkitsevä, se voidaan ottaa huomioon mittausepävarmuutta arvioitaessa, jotta mittausepävarmuudesta saadaan riittävän realistinen. Kokonaismittausepävarmuus on

$$u_c = \sqrt{(2\%)^2 + (5,5\%)^2} = 5,9\% \approx 6\%$$

Laajennettu mittausepävarmuus U on $2 \cdot u_c = 12\%$.

Systemaattisen virheen arviointi tulisi tehdä usealla eri pitoisuudella näytteiden pitoisuusalueella. Systemaattisen virheen aiheuttaja pyritään poistamaan analyysimenetelmästä.

SYKEN laboratorio on osallistunut vertailukokeisiin kokonaistypen määrittämisessä. Laskettua mittausepävarmuutta verrataan vertailukokeissa saatuihin tuloksiin (taulukko 22).

Taulukko 22. Vertailukokeiden tuloksia (N_{tot}).

Näyte	SYKEN tulos ($\mu\text{g/l}$)	Vertailu- arvo ($\mu\text{g/l}$)	Ero (%)
1	244,70	248,10	1,4
2	613,00	638,5	4,0
3	335,00	346,53	3,3
4	245,00	266,95	8,2
5	411,00	429,03	4,2

Ottaen huomioon myös vertailukokeista saadut tulokset, kokonaistypen laajennettu mittausepävarmuus on $\approx 12\%$.

Esimerkki 24. Pentakloorifenolimäärityksen (PCP) mittausepävarmuus vesinäytteille.

PCP-mittauksen satunnaisvirhettä arvioidaan luonnonnäytteiden rinnakkaismäärityksistä ja systemaattista virhettä luonnonnäytteisiin tehtyjen tunnettujen lisäysten avulla. Systemaattista virhettä voitaisiin arvioida myös referenssimateriaalin avulla, mutta harvoin tehtynä se ei välttämättä anna oikeaa kuvaa systemaattisesta virheestä.

Satunnaisvirheen arviointi:

Satunnaisvirhettä tarkastellaan tässä eri pitoisuusalueittain. Suuresta aineistosta ($n = 62$) johtuen rinnakkaisnäytteiden tuloksia ei ole taulukoitu. Rinnakkaistuloksista lasketaan erotukset d_{ri} ($= x_{i1} - x_{i2}$) ja suhteelliset erotukset $d_{ri}(\%)$ ($= d_{ri} \cdot 100\%/\bar{x}$). Valituilla pitoisuusalueilla lasketaan suhteellisten erotusten keskiarvot $\bar{d}_r(\%)$ ($= [\sum d_{ri}(\%)]/n$) ja suhteellisten erotusten keskihajonnat $s_{ri}(\%)$ kaavalla

$$s_{ri}(\%) = \sqrt{\frac{\sum [d_{ri}(\%)]^2}{2n}} \quad (46)$$

Eri pitoisuusalueille saadaan seuraavat $s_{ri}(\%)$:t :

$< 0,2 \mu\text{g/l}$:	$s_{ri}(\%) = 9,40\%$	$(n = 1)$
$0,2 \dots 5 \mu\text{g/l}$:	$s_{ri}(\%) = 4,54\%$	$(n = 16)$
$5 \dots 1000 \mu\text{g/l}$:	$s_{ri}(\%) = 4,71\%$	$(n = 36)$
$> 1 \mu\text{g/l}$:	$s_{ri}(\%) = 4,28\%$	$(n = 9)$

Pitoisuusalueella $< 0,2 \mu\text{g/l}$ ei ole kuin yksi rinnakkaisnäyte, joten satunnaisvirhettä ei voida arvioida tilastollisin keinoin. Tämän arvioidaan olevan n. 10%. Pitoisuusalueella $> 0,2 \mu\text{g/l}$ satunnaisvirhe on noin 5%.

Systemaattisen virheen arviointi:

Systemaattinen virhe lasketaan näytteisiin tehdyistä tunnetuista lisäyksistä taulukon 23 mukaan. Tässä esimerkissä systemaattista virhettä on testattu lähinnä PCP:n mittausalueella, jolloin esim. näytteen laimentamisista aiheutuva virhe ei tule huomioiduksi.

Taulukko 23. Systemaattisen virheen arviointi PCP:lle.

Määritys	T (µg/l)	x_i	$x_i - T$	d_r (%)
1	2,21	2,497	0,287	12,99
2	2,21	2,276	0,066	2,99
3	2,21	2,409	0,199	9,00
4	2,35	2,350	0,000	0,00
5	2,35	2,468	0,118	5,02
6	2,35	2,374	0,024	1,02
7	2,35	2,491	0,141	6,00
8	1,18	1,216	0,036	3,05
9	2,42	2,347	-0,073	-3,02
10	2,42	2,565	0,145	5,99
11	2,42	2,372	-0,048	-1,98
12	2,42	2,523	0,103	4,26
13	2,42	2,396	-0,024	-0,99
14	0,28	0,291	0,011	3,93
15	0,64	0,696	0,056	8,75
16	0,64	0,662	0,022	3,44

Taulukossa 23 käytetään seuraavia lyhenteitä:

T = tunnetun lisäyksen teoreettinen pitoisuus

x_i = määrittelyn tulos

$x_i - T$ = määrittelyn tulos - teoreettinen pitoisuus

d_r (%) = määrittelyn ja teoreettisen arvon suhteellinen erotus $[(x_i - T) \cdot 100\% / T]$

Esimerkin 23 tapaan lasketaan \bar{d}_r (%) = 3,78 ja s_{dr} (%) = 4,27.

Testataan jälleen systemaattisen virheen merkitsevyys t -testin avulla. Testisuureksi saadaan

$$t = \frac{3,78 - 0}{4,27} \cdot \sqrt{16} = 3,54$$

2-suuntaisen t -testin taulukkoarvo $t_{0,05(15)} = 2,13$, joten kokeen perusteella määrittelyssä on systemaattista virhettä ja se on n. 5 %.

Laajennetuksi mittausepävarmuudeksi saadaan eri pitoisuusalueille seuraavat:

$$U_{<0,2 \mu\text{g/l}} = 2 \sqrt{(10\%)^2 + (5\%)^2} = 22\%$$

$$U_{>0,2 \mu\text{g/l}} = 2 \sqrt{(5\%)^2 + (5\%)^2} = 14\%$$

Esimerkki 25. Mittausepävarmuuden arviointi reaktiiviselle, monomeeriselle alumiinille (esimerkin 21 tulosaineisto toistettavuustestauksessa).

Epävarmuuden arviointi tehdään pitoisuusalueelle $> 200 \mu\text{g/l}$ alumiinia. Satunnaisvirheen arvioimiseksi voidaan käyttää kontrollinäytteestä $250 \mu\text{g/l}$ ja luonnonvesinäytteestä "Lake Lehmilampi + $200 \mu\text{g/l}$ " saatuja tuloksia. Kokonaishajonnat s_i ovat:

$$\begin{array}{ll} 250 \mu\text{g/l} & s_i = 1,1 \% \\ \text{Lake Lehmilampi} + 200 \mu\text{g/l} \quad (\bar{x} = 266 \mu\text{g/l}) & s_i = 1,6 \% \end{array}$$

Satunnaisvirhe u_i ko. pitoisuusalueella on enintään 2 %.

Systemaattinen virhe arvioidaan käyttäen saantoprosenttia luonnonveteen tehdystä lisäyksestä (Lake Lehmilampi + $200 \mu\text{g/l}$). Saanto on 93 % ja systemaattinen virhe u_2 on 7 %.

Kokonaismittausepävarmuus pitoisuusalueella $> 200 \mu\text{g/l}$ on:

$$u_c = \sqrt{(2\%)^2 + (7\%)^2} = 7,3\% \approx 8\%$$

Laajennettu mittausepävarmuus U on $2 \cdot u_c = 16 \%$.

Pitoisuusalueella $< 200 \mu\text{g/l}$ systemaattisen virheen osuus voitaisiin arvioida käyttäen kontrollinäytteen $40 \mu\text{g/l}$ saantoprosenttia. Se antaisi tosin liian optimistisen käsityksen verrattuna luonnonnäytteeseen tehtyyn saantokokeeseen. Tässä tapauksessa systemaattisen virheen arvioimiseksi luonnonnäytteeseen olisi pitänyt tehdä lisäksi myös siten, että lopullinen pitoisuus olisi ollut noin $100 \mu\text{g/l}$.

4.9.4 Mittausepävarmuuden arviointi sertifioidulle vertailumateriaalille

Mikäli sertifioidun vertailumateriaalin ilmoitettuun arvoon voidaan luottaa ja mikäli sen matriisi on tutkittavan matriisin kaltainen, voidaan laskea kokonaismittausepävarmuus kaavasta (Marchandise 1993)

$$u = \sqrt{\Delta^2 + u_R^2 + u_C^2} \quad (47)$$

missä

- Δ = systemaattinen virhe (laboratorion saaman tuloksen ja ilmoitetun arvon erotus)
 u_R = satunnaisvirheen osuus määrittäyksessä ($u_R = t \cdot s / \sqrt{n}$)
 u_c = vertailumateriaalille ilmoitettu epävarmuus (95% todennäköisyys).

Laajennettu epävarmuus saadaan kertomalla kokonaisepävarmuus kahdella.

Esimerkin 14 (4.6.2) kuparimäärittäyksen vertailumateriaalille saadaan kokonaisepävarmuudeksi

$$u = \sqrt{0,09^2 + (2,145 \cdot 0,06 / \sqrt{15})^2 + 0,072} = 0,14 \mu\text{g/l}$$

Kuparimäärittäyksen laajennettu mittausepävarmuus pitoisuudessa 1,44 $\mu\text{g/l}$ on 20 %.

4.9.5 Mittausepävarmuuden merkityksestä käytännössä

Mittausepävarmuuden avulla on mahdollista kvantitoida tulosten laatua ja luotettavuutta. Käytännössä analyysikustannukset kasvavat silloin, kun mittausepävarmuus pienenee.

Varsinkin viranomaisohjeissa on annettu raja-arvoja sille, mitä eri yhdisteiden pitoisuudet eivät saa ylittää. Näissä tapauksissa tulisi ottaa huomioon myös mittausepävarmuuden merkitys lopputulokseen. Esim. pellolle levitettävän lietteen elohopeapitoisuuden raja-arvoksi on asetettu 1 mg/kg kuivaa ainetta. Laboratorion ilmoittama mittausepävarmuus on $\pm 15\%$ eli $\pm 0,15$ mg/kg. Tällöin esitetyn raja-arvon noudattamiseksi pellolle levitettävän lietteen elohopeapitoisuus ko. laboratoriossa määritettynä ei saisi olla suurempi kuin 0,85 mg/kg. Vastaavasti laboratoriossa, jossa mittausepävarmuudeksi on ilmoitettu $\pm 30\%$ eli $\pm 0,30$ mg/kg, lietteen elohopea pitoisuus ei saisi olla suurempi kuin 0,7 mg/kg. Suuren mittausepävarmuuden ylläpitäminen voi tulla halvemmaksi kuin alhaisemman mittausepävarmuuden ylläpitäminen, mutta se voi aiheuttaa vaikeuksia tiettyjen raja-arvojen noudattamisessa.

5 KAHDEN MENETELMÄN TOISIINSA VERTAAMINEN

Kun uusi menetelmä on validoitu edellä esitetyillä tavoilla, uudella menetelmällä saatuja tuloksia voidaan joutua vertaamaan jollakin toisella menetelmällä saatuihin tuloksiin esim. seuraavissa tilanteissa:

- käytössä olevaan menetelmään tehdään muutoksia (esim. mittalaite uusitaan, manuaalinen menetelmä muutetaan automaattiseksi)
- laboratorion oman menetelmän samanarvoisuutta verrataan ns. viralliseen menetelmään (esim. standardimenetelmään, referenssimenetelmään)
- uutta menetelmää verrataan vanhaan menetelmään (esim. jos uuden menetelmän validointiin ei ole saatavilla sopivia referenssimateriaaleja)
- halutaan tietää, vaikuttaako menetelmän vaihdos tulostasoon (esim. pitkäaikaisissa seurantatutkimuksissa).

Menetelmien välisessä vertailussa voidaan käyttää monenlaisia koejärjestelyjä ja tilastollisia testejä. Esimerkiksi saksalainen standardi DIN 38 402 Teil 71 (1987) kuvaa kahdella menetelmällä samasta näytteestä saatujen tulosten vertaamista. Tämän standardin avulla voidaan tutkia esim. menetelmien mittausaluetta, lineaarisuutta, herkkyyttä, tarkkuutta ja toistettavuutta sekä matriisin vaikutusta tuloksiin. Tilastollisessa tarkastelussa on käytetty mm. Grubbsin, F - ja t -testiä.

Standardista DIN 38 402 Teil 71 (1987) on julkaistu modifioitu versio ruotsin kielellä (Engberg 1990).

Seuraavassa esitetään kaksi esimerkkiä, kuinka kahden menetelmän samanarvoisuutta voidaan tutkia pienehköllä tulosaineistolla (tuloksia tai tulospareja < 30). Esimerkit perustuvat lähteeseen: Massart ym. (1988).

Esimerkki 26. Kahdella eri menetelmällä samasta näytteestä saatujen tulosten vertaaminen.

Tässä esimerkissä tutkitaan t -testillä, eroavatko samasta näytteestä menetelmillä 1 ja 2 saatujen tulosten (tulosten lukumäärä $n < 30$) keskiarvot toisistaan.

Menetelmillä 1 ja 2 saaduista tuloksista lasketaan keskiarvot \bar{x}_i ja varianssit s_i^2 (keskihajontojen s neliöt). Tulosaineisto ollessa pieni (n_1 ja/tai $n_2 < 30$) tulosten pitäisi jakautua normaalisti (kuten esimerkissä oletetaan) ja tulosten varianssien pitäisi olla samanlaisia, jotta testitulos olisi luotettava.

Varianssien yhtäsuuruus voidaan testata F -testin avulla:

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} \quad (s_1 > s_2) \quad (48)$$

Ovatko menetelmillä 1 ja 2 saatujen tulosten keskiarvot yhtäsuuret vai eroavatko ne tilastollisesti toisistaan, tutkitaan t -testin avulla:

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{s^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}} \quad (49)$$

Yhdistetty varianssi s^2 lasketaan kaavasta

$$s^2 = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \quad (50)$$

Jos molemmilla menetelmillä saatujen tulosten lukumäärä on yhtä suuri eli $n_1 = n_2$, yhdistetty varianssi $s^2 = (s_1^2 + s_2^2)/2$.

Esimerkkitapauksessa saatiin seuraavat tulokset:

$$\begin{array}{lll} \bar{x}_1 = 32,6 & s_1^2 = 6,55 & n_1 = 11 \\ \bar{x}_2 = 31,6 & s_2^2 = 4,05 & n_2 = 13 \\ F = 1,62 & & \\ s^2 = 5,19 & & \\ t = 1,071 & & \end{array}$$

Taulukosta saatu teoreettinen $F_{0,05}$ -arvo = 2,75 [vapausasteet $df = n - 1$; $df_1 = 10$ (suuremman varianssin) ja $df_2 = 12$ (pienemmän varianssin); 1-suuntainen testi 5 % merkitsevyystasolla]. Koska laskettu F -arvo = 1,62 on pienempi kuin teoreettinen arvo, variansseissa ei ole eroa 5 % merkitsevyystasolla.

Taulukosta saatu teoreettinen $t_{0,05(22)}$ -arvo = 1,717 ($df = n_1 + n_2 - 2 = 22$; 1-suuntainen testi 5 % merkitsevyystasolla). Koska laskettu t -arvo = 1,071 on pienempi kuin teoreettinen arvo, menetelmillä 1 ja 2 saatujen tulosten keskiarvojen ei voida osoittaa eroavan toisistaan 5 % merkitsevyystasolla.

Esimerkki 27. Kahdella eri menetelmällä useasta näytteestä saatujen tulosten vertaaminen.

Tässä esimerkissä kahta menetelmää 1 ja 2 verrataan keskenään määrittämällä 10 eri näytettä kummallakin menetelmällä.

Menetelmillä 1 ja 2 saaduista tuloksista (tulosparien lukumäärä n) lasketaan tulosparien x_1 ja x_2 erotusten d_i keskiarvo \bar{d} ja varianssi s_d^2 seuraavasti:

$$\bar{d} = \frac{\sum d_i}{n} \quad (51)$$

$$s_d^2 = \frac{\sum d_i^2 - (\sum d_i)^2/n}{n-1} \quad (52)$$

Ovatko menetelmillä 1 ja 2 saadut tulokset yhtä suuria vai eroavatko toisistaan tilastollisesti, tutkitaan allaesitetyn t -testin avulla. Tulosparien määrän ollessa pieni ($n < 30$) tulosten tai ainakin tulosparien erotusten pitäisi jakautua normaalisti, jotta tulosten vertailussa käytettävä t -testi antaisi luotettavan tuloksen.

$$t = \frac{\bar{d}}{\sqrt{s_d^2/n}} = \frac{\bar{d}\sqrt{n}}{s_d} \quad (53)$$

Esimerkkitapaus on laskettu taulukon 24 tuloksista.

Taulukko 24. Menetelmillä 1 ja 2 saadut tulokset.

Näyte	x_1	x_2	$d_i = x_1 - x_2$	d_i^2
1	114	116	-2	4
2	49	42	7	49
3	100	95	5	25
4	20	10	10	100
5	90	94	-4	16
6	106	100	6	36
7	100	96	4	16
8	95	102	-7	49
9	160	150	10	100
10	110	104	6	36
			$\Sigma d_i = 35$	$\Sigma d_i^2 = 431$

$$\begin{aligned} \bar{d} &= 3,50 \\ s_d^2 &= 34,28; \quad s_d = \sqrt{34,28} = 5,85 \\ t &= 1,89 \end{aligned}$$

Taulukosta saatu teoreettinen $t_{0,05(9)}$ -arvo = 2,262 ($df = n - 1 = 9$; 2-suuntainen testi 5 % merkitsevyystasolla). Koska laskettu t -arvo = 1,89 on pienempi kuin teoreettinen arvo, menetelmillä 1 ja 2 ei voida katsoa olevan eroa 5 % merkitsevyystasolla.

6 VALIDOINTITULOSTEN TULKINTA

Validointitulosten perusteella käyttäjä arvioi menetelmän soveltuvuuden tiettyyn analyysiin.

Arviointi on selväpiirteinen otettaessa käyttöön standardimenetelmä. Tällöin laboratorion omia validointituloksia verrataan standardin vaatimuksiin.

Laboratorion sisäisten menetelmien validointituloksia arvioitaessa kriteerit on valittava ottamalla huomioon sovelluksen vaatimukset. Tärkein kriteeri on usein analyysin tarkkuus, toisin sanoen tuloksen oikeellisuus ja toistettavuus.

Menetelmälle asetettavien vaatimusten on oltava realistiset. Silloin, kun analysoitavat pitoisuudet ovat lähellä menetelmän toteamis- tai määritysrajaa, tai kun analysoitava matriisi aiheuttaa erityisiä ongelmia, tai kun näytteen käsittelyyn sisältyy kriittisiä vaiheita, menetelmälle voidaan joutua hyväksymään suurikin epävarmuus. Esimerkiksi pitoisuuksien pienetessä 100 $\mu\text{g/l}$:sta 5 $\mu\text{g/l}$:aan laboratorioden välinen suhteellinen hajonta kasvaa 5 ... 50 % (Nykänen 1994).

7 VALIDOINNIN SEURANTA JA UDELLEEN-VALIDOINTITARVE

Menetelmän validoinnissa saatuja tuloksia valvotaan säännöllisesti. Menetelmän pätevyyttä seurataan laadunohjauksen avulla esim. mittaamalla päivittäin synteettisiä kontrollinäytteitä ja seuraamalla varsinaisten näytteiden rinnakkaistulosten hajontaa. Kontrollinäytteiden tulosten avulla varmistetaan, että validoinnissa saadut tulokset pitävät edelleen paikkansa. Myös vertailukokeisiin osallistutaan säännöllisesti.

Uudelleenvalidointitarvetta esiintyy mm. silloin, kun aletaan mitata uutta matriisia tai kun laitteistoissa tapahtuu muutoksia tai työntekijät vaihtuvat. (Ks. kohta 3, Validointiasteen valinta.)

8 VALIDOINNIN DOKUMENTOINTI

Menetelmän validoinnista kirjoitetaan raportti, jossa esitetään mm. seuraavat asiat (Lund ym. 1994):

- validoinnin tavoite ja sen toteutus
- määritetyt näytteet ja parametrit
- validoinnin tulokset
- validoinnista tehdyt johtopäätökset.

Alkuperäinen tulosaineisto arkistoidaan.

Liitteessä 1 esitetään esimerkki sulfaattimenetelmän validoinnin raportista ja yhteenvedosta.

KIRJALLISUUS

- Bruce, P. 1994. Spesifisyys/Selektiivisyys. Laboratoriomenetelmien validointi 6. - 7.10.1994. AEL-INSKO, kurssimoniste.
- Bruce, P. 1994. Validointisuunnitelman laadinta. Laboratoriomenetelmien validointi. 6. - 7.10.1994. AEL-INSKO, kurssimoniste.
- Caulcutt, R. ja Boddy, R. 1983. *Statistics for Analytical Chemists*. Chapman and Hall, London. ISBN 0-412-23730-X.
- Dewey, D.J., Wilson, A.L., & Hunt, D.T.E. 1981. *Training Course on Analytical Quality Control for Water Analysis Laboratories*. Water Research Centre 226-M, Medmenham.
- DIN 38 402 Teil 71. 1987. Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Allgemeine Angaben (Gruppe A): Gleichwertigkeit zweier Analysenverfahren aufgrund des Vergleich der Untersuchungsergebnisse an der gleichen Probe (gleiche Matrix) (A 71). Berlin, DIN Deutsches Institut für Normung e.V. 15 s.
- Doerffel, K. 1994. Assuring trueness of analytical results. *Fresenius J. Anal. Chem.* 348, 183 - 187.
- Engberg, H. 1990. Jämförelse av analysmetoder.Handledning. Mätteknik och Kvalitetssäkring. Solna, Naturvårdsverket. 50 s. Naturvårdsverket Rapport 3844. ISBN 91-620-3844-3, ISSN 0282-7298.
- EURACHEM 1996. *Method Validation Guide. A Laboratory Guide*. Draft 1.0-3/96. Produced by the Laboratory of the Government Chemists with Support of the UK DTI VAM Initiative.
- EURACHEM 1995. *Quantifying uncertainty in analytical measurements*. First edition.
- Haapala, K. (toim.). 1988. *Laboratorion sisäinen laaduntarkkailu. Ohjekirja vesilaboratorioille*. 2. painos. Vesi- ja ympäristöhallituksen monistesarja 136. 41 s. ISBN 951-47-1751-1.
- ISO 3534-1:1993. *Statistics. Vocabulary and symbols. Part 1: Probability and general statistical terms*. 53 s.
- ISO 9963-1:1994. *Water quality. Determination of alkalinity. Part 1: Determination of total and composite alkalinity*. 6 s.
- Lajunen, L.H.J. 1986. *Atomispektrometria*. WSOY. Juva. ISBN 951-0-13631-X.
- Long, S.E. & Martin, T.D. 1991. Determination of Trace Elements in Waters and Wastes by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectroscopy. *ICP Information Newsletter* 16 (1991), 8, s. 460.

- Lund, U., Andersen, K., Settergren, P. & Sørensen, P.S. 1994. Handbok i metodvalidering før miljølaboratorier. Vandkvalitetsinstituttet, Hørsholm (VKI Sag Nr. 404444/910). 31 s + liitteet.
- Marchandise, H. 1993. Quality and accuracy in analytical chemistry. *Fresenius J. Anal. Chem.* 345, 82 - 86.
- Massart, D.L., Vandeginste, B.G.M., Deming, S.N., Michotte, Y. & Kaufman, L. 1988. Evaluation of Precision and Accuracy. Comparison of Two Procedures. Julk: Chemometrics: A Textbook. Data Handling in Science and Technology, vol. 2, Elsevier, Amsterdam. s. 33 - 48.
- Miller, J.N. 1991. Basic Statistical Methods for Analytical Chemistry. Part 2. Calibration and Regression methods. A Review. *Analyst*, vol. 116, s. 3 - 14.
- Minkkinen, P. 1994. Kalibrointi analytiikassa. Laboratoriomenetelmien validointi 6. - 7.10.1994. AEL-INSKO, kurssimoniste.
- Minkkinen, P. 1996. Toteamisraja, määrittäysraja ja muut päätöksentekorajat analytiikassa. Laboratoriomenetelmien validointi. AEL-INSKO, kurssimoniste Y3257J/96 V11.
- Mittatekniikan keskus 1994. Suositus akkreditointia hakeville kemian laboratorioille. FINAS S26/1994. Helsinki.
- Mittatekniikan keskus 1996. Laskuesimerkkejä mittausepävarmuuden määrittämisestä kemian laboratorioissa. FINAS S33/1996. Helsinki.
- Nykänen, I. 1994. Validointitulosten arviointi, raportointi ja hyödyntäminen. Laboratoriomenetelmien validointi. 6. - 7.10.1994. AEL-INSKO, kurssimoniste.
- Piepponen, S. 1996. Tarkkuus ja epävarmuuden arviointi. Laboratoriomenetelmien validointi. AEL-INSKO, kurssimoniste Y3257J/96 VIII.
- prEN 1189:1996. Water quality. Determination of phosphorus. Ammonium molybdate spectrometric method. 18 s.
- prENV ISO/CD 13530:1995, Guide to Analytical Quality Control for Water Analysis. 80 s.
- Ranta, E., Rita, H. & Kouki, J. 1994. Biometria. Tilastotiedettä ekologeille. 5. painos. Yliopistopaino. Helsinki. 569 s. ISBN 951-570-085-X.
- SFS 3026:1986. Veden kokonaisfosforin määrittäminen. Hapetus peroksidisulfaattilla. 11 s.
- SFS 3031:1990. Veden typen määrittäminen. Peroksidisulfaattihapetus. 6 s.
- SFS-EN ISO 10304-1:1995. Veden laatu. Liuenneiden fluoridi-, kloridi-, nitriitti-, ortofosfaatti-, bromidi-, nitraatti- ja sulfaatti-ionien määrittäminen ionikromatografialla. Osa 1. Menetelmä vähän likaantuneelle vedelle. 21 s.

- SFS-ISO 5725:1988. Testausmenetelmien täsmällisyys. Toistettavuuden ja uusittavuuden määrittäminen laboratorioiden välisissä kokeissa. 53 s.
- SFS-ISO 8466-1:1996. Veden laatu. Analyyttisten menetelmien kalibrointi ja arviointi sekä suorituservojen määrittäminen. Osa 1: Lineaarisen kalibrointifunktion tilastollinen arviointi. 8 s.
- SFS-ISO 8466-2:1996. Veden laatu. Analyyttisten menetelmien kalibrointi ja arviointi sekä suorituservojen määrittäminen. Osa 2: Epälineaaristen toisen asteen kalibrointifunktioiden kalibrointikäytäntö. 12 s.
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 1995. 19th edition. Washington, DC. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. ISBN 0-87553-223-3.
- Taylor, J.K., 1983. Validation of analytical methods. *Anal. Chem.* Vol 55, No. 6, 600A - 608A.
- Youden, W.J. 1977. Statistical Methods for Chemists. Robert E. Krieger Publishing Co., Inc. New York. 126 s. ISBN 0-88275-509-9.
- Youden, W.J. & Steiner, E.H. 1975. Statistical Manual of the Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA. The Association of Official Analytical Chemists. 88 s. ISBN 0-935584-15-3.

LIITE 1: ESIMERKKI VALIDOINNISTA

VALIDOINTIRAPORTTI

MENETELMÄ: Sulfaatin määrittäminen sadevesistä ionikromatografisesti (perustuu standardiin SFS-EN ISO 10304-1)

TAVOITE: Validoinnin tavoitteena oli varmistaa, että standardiin SFS-EN ISO 10304-1 perustuva menetelmä soveltuu sadevesille käytettäessä uutta mittalaitteistoa.

TOTEUTUS: Validoinnissa analysoitiin alla esitettyjä näytteitä sekä standardiliuoksia. Synteettisten näytteiden pitoisuudet valittiin määritettävän mittausalueen (0,5 ... 30 mg/l) ala- ja yläosasta. Synteettiset näytteet valmistettiin ensimmäisenä päivänä ja samoja liuoksia käytettiin koko viikon, ainoastaan lisäys näytteeseen tehtiin päivittäin.

	mg/l SO ₄ ²⁻
Näyte A: synteettinen näyte	0,5
Näyte B: sadevesinäyte	≈ 1
Näyte C: synteettinen näyte	2,0
Näyte D: sadevesinäyte	≈ 2
Näyte E: näyte D + 2 mg/l lisäys	≈ 4
Näyte F: synteettinen näyte	20,0
Näyte G: synteettinen näyte	30,0

LAITTEISTO: Dionex DX 500 ionikromatografi, jossa on CD 20 johtokykydetektori ja IP 20 isokraattinen pumppu.

MÄÄRITETTÄVÄT OMINAISUUDET:

Spesifisyys: Spesifisyys määritettiin ajamalla kolonnin läpi erotuskykyliuos, joka sisälsi useita eri anioneja.

Lineaarisuus: Lineaarisuus määritettiin analysoimalla kuusi standardiliuosta.

Määrittämiss raja: Määrittämiss raja määritettiin analysoimalla rinnakkaisnäytteenä pienen pitoisuuden omaavaa sadevesinäytettä (näyte B) kuutena eri sarjana.

Tarkkuus: Tarkkuus määritettiin neljällä synteettisellä näytteellä (näytteet A, C, F ja G) ja yhdellä lisäysnäytteellä (näyte E).

Täsmällisyys: Täsmällisyys määritettiin analysoimalla rinnakkaismäärittämiä kuutena eri sarjana (näytteet A - G).

Mittausepävarmuus: Mittausepävarmuus arvioitiin toistettavuuskokeiden ja lisäyksen saantojen perusteella.

Kahdella eri laitteella saatujen tulosten vertaaminen: Samoja sadevesinäytteitä määritettiin sekä aikaisemmin käytössä olleella että uudella laitteella.

KOESARJA:

1. päivä: Lineaarisuuden ja spesifisyyden määrittäminen.

2. ja 3. päivä: Määrittämissarjan, tarkkuuden ja täsmällisyyden määrittäminen. Analysoitiin kaikki näytteet A - G. Rinnakkaisnäytteet ajettiin satunnaisessa järjestyksessä.

4. ja 5. päivä: Määrittämissarjan, tarkkuuden ja täsmällisyyden määrittäminen. Analysoitiin kaikki näytteet A - G rinnakkaismäärittämiä kahtena eri sarjana, eli kaikki näytteet analysoitiin neljä kertaa yhteensä yhden päivän aikana.

KOKEIDEN MITTAUSTULOKSET

Taulukko 1. Lineaarisuusmäärittämissarjan mitaustulokset.

Konsentraatio (mg/l)	Piikin pinta-ala
0,5	25979
2,5	134872
7,5	422869
15,0	864928
22,5	1329220
30,0	1819016

Spesifisyys:

Erotuskykyliuoksen kromatogrammista laskettu sulfaatti-piikin resoluutio (R) oli 3,0. Tämä täyttää standardin SFS-EN ISO 10304-1 asettamat laatuvaatimukset ($R > 1,3$).

Taulukko 2. Määritysrajan, tarkkuuden ja täsmällisyyden määrittämisen mittaustulokset (mg/l SO₄²⁻).

Pvm.	Näyte A (synt. näyte)	Näyte B (sadev.- näyte)	Näyte C (synt. näyte)	Näyte D (sadev.- näyte)	Näyte E (sadev. + lis.)	Näyte F (synt. näyte)	Näyte G (synt. näyte)
23.4.96	0,479	0,685	1,96	2,08	4,00	19,53	29,85
	0,502	0,691	1,94	2,06	4,03	20,03	29,59
24.4.96	0,518	0,674	1,90	2,04	3,92	19,51	29,44
	0,537	0,698	1,92	2,05	3,91	19,57	30,10
25.4.96	0,524	0,706	2,00	2,08	4,02	19,99	30,01
	0,533	0,707	2,02	2,08	4,03	19,98	30,08
- " -	0,534	0,711	2,00	2,11	4,04	20,10	29,97
	0,525	0,726	2,00	2,09	4,02	20,04	29,97
26.4.96	0,533	0,691	2,00	2,10	4,06	19,98	29,94
	0,527	0,701	2,00	2,10	4,09	20,04	30,03
- " -	0,516	0,731	2,00	2,11	4,13	20,01	29,93
	0,544	0,731	1,97	2,14	4,11	20,20	30,27
keski- arvo	0,524	0,704	1,98	2,09	4,03	19,92	29,93
maks.	0,544	0,731	2,02	2,14	4,13	20,20	30,28
min.	0,497	0,674	1,90	2,04	3,91	19,51	29,44

Taulukko 3. Kahdella eri laitteella saadut sadevesien sulfaattipitoisuudet (mg/l).

Näyte	x_1	x_2
1	2,76	2,72
2	1,00	1,05
3	2,24	2,27
4	1,28	1,30
5	2,53	2,52
6	2,67	2,69
7	1,71	1,71
8	2,09	2,07
9	1,33	1,41
10	1,60	1,62
11	3,81	3,78
12	1,44	1,45
13	1,25	1,27
14	2,04	2,06
15	2,39	2,37
16	1,15	1,19
17	1,02	1,00
18	1,07	1,08
19	1,92	1,89
20	1,82	1,80

VALIDOINNIN TULOKSET

Lineaarisuuden tarkastelu:

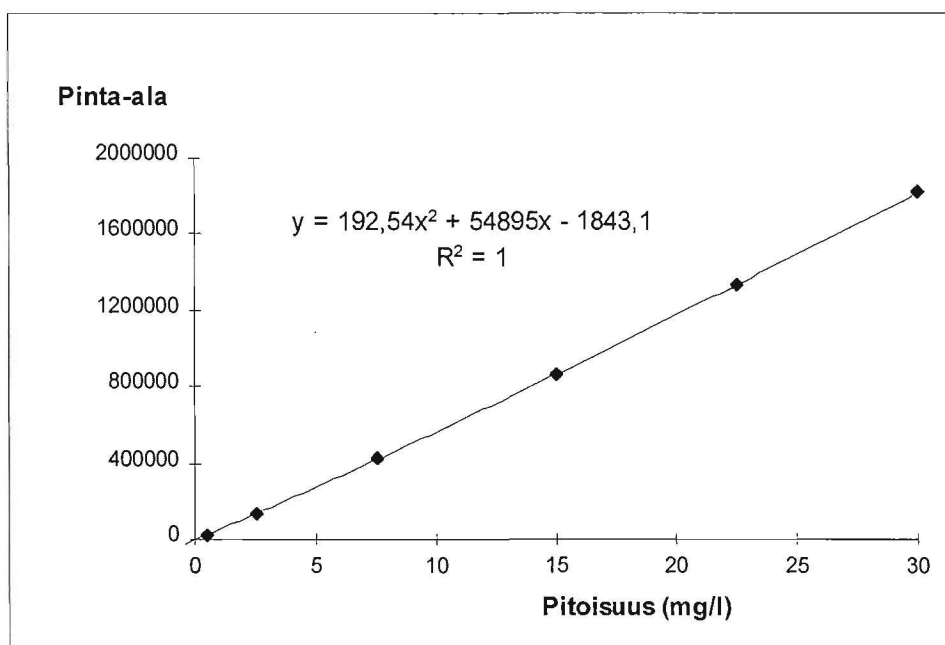
Sulfaattimäärityksen lineaarisuusalue on taulukon 3 mukainen, kun kalibrointi tehdään ensimmäisen asteen yhtälön mukaan. Kalibroitaessa toisen asteen yhtälöllä lineaarisuusalue on taulukon 4 mukainen. Jälkimmäisessä tapauksessa saatiin kuvan 1 mukainen kalibrointikäyrä. Tämän residuaalit on esitetty kuvassa 2.

Taulukko 4. Ensimmäisen asteen yhtälön mukainen kalibrointi.

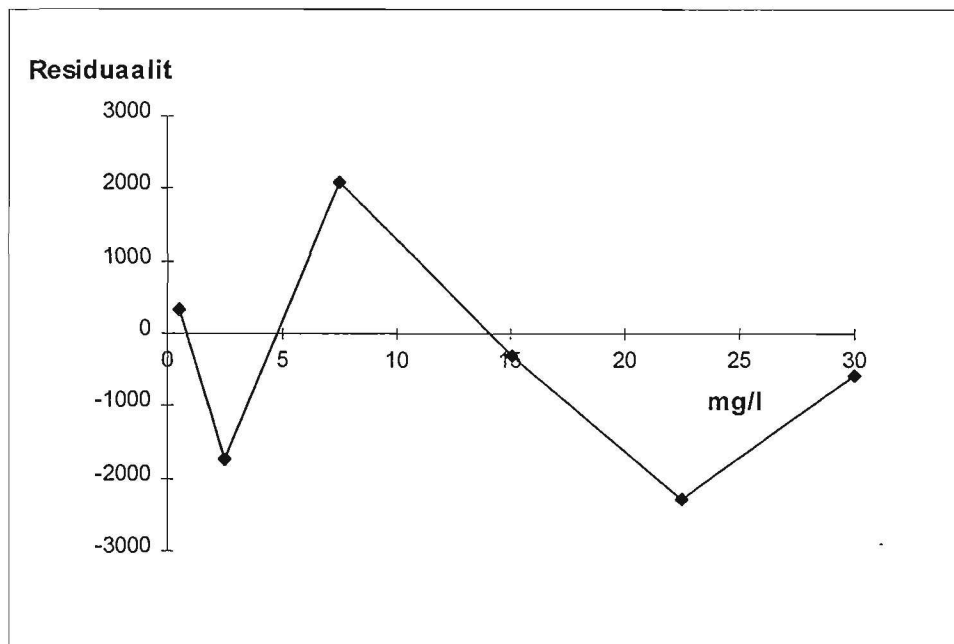
<i>Lineaarisuusalue</i>	0,5 ... 15 mg/l
<i>Kalibrointikäyrän yhtälö</i>	$y = 57997 x - 7568$
<i>Korrelaatiokerroin</i>	$r^2 = 0,9999$
<i>Pitoisuustasojen lkm 4</i>	<i>Rinnakkaisten lkm 1</i>
<i>Kalibrointikäyrän hajonta</i>	$s_{y/x} = 5209$
<i>Leikkauspisteen a hajonta</i>	$s_a = 3949$
<i>a:n luotettavuusväli</i>	- 24560 - 9425
<i>a:n t-testi</i>	$t_{cal} = 1,916 < t_{(0,05; n-2)}$
<i>F-testi (SFS-ISO 8466-1)</i>	$PG = 9,02 < F_{(0,05; 1, n-3)}$

Taulukko 5. Toisen asteen yhtälön mukainen kalibrointi.

Lineaarisuusalue	0,5 ... 30 mg/l
Kalibrointikäyrän yhtälö	$y = 194 x^2 + 54895 x - 1843$
Korrelaatiokerroin	$r^2 = 1$
Pitoisuustasojen lkm 6	Rinnakkaisten lkm 1
Kalibrointikäyrän hajonta	$s_{y/x} = 1889$
Leikkauspisteen a hajonta	$s_a = -$
a:n luotettavuusväli	-
a:n t-testi	$t_{cal} = -$
F-testi (SFS-ISO 8466-1)	$PG = 446 > F_{(0,05; 1, n-3)}$



Kuva 1. Sulfaatin kalibrointikäyrä toisen asteen yhtälön mukaan.



Kuva 2. Kuvan 1 kalibrointikäyrän residuaalikuvaaja.

Taulukko 6. Määrittämissä arviointi.

Pvm.	Määrittäminen 1 (mg/l)	Määrittäminen 2 (mg/l)	Eroitus d (mg/l)	d^2
23.4.1996	0,685	0,691	-0,006	0,000036
24.4.1996	0,674	0,698	-0,024	0,000576
25.4.1996	0,706	0,707	-0,001	0,000001
25.4.1996	0,711	0,726	-0,015	0,000225
26.4.1996	0,691	0,701	-0,010	0,000100
26.4.1996	0,731	0,731	0	0
$m = 6$			$\sum d^2 = 0,000938$	

$$s = \sqrt{\sum d^2 / 2m} = 0,0088412$$

$$\text{Määrittämissä raja} = 2\sqrt{2} \cdot t_{0,05(5)} \cdot s \approx 0,05 \text{ mg/l} \quad (1\text{-suuntainen testi})$$

Taulukko 7. Tarkkuuden ja täsmällisyyden arviointi.

Näyte- tyyppi	Pitoisuus SO ₄ ²⁻ , mg/l		Saanto % (min, max, ka.)	Mittaus- ten lkm	Täsmällisyys					
	Näyt- teen pitoi- suus	Saatu pitoi- suus (min, max)			s _w	s _w (%)	s _b	s _b (%)	s _t	s _t (%)
A synt. näyte	0,5	0,479 0,544	95,8 - 108,8 102,3	12	0,012	2,4	0,013 NS	2,5	0,018 NS	3,5
B sade- vesi- näyte		0,674 0,731		12	0,009	1,3	0,017 *	2,4	0,019 NS	2,7
C synt. näyte	2,00	1,90 2,02	95,0 - 101,0 98,0	12	0,012	0,6	0,036 **	1,8	0,038 NS	1,9
D sade- vesi- näyte		2,04 2,14		12	0,013	0,6	0,028 **	1,4	0,031 NS	1,5
E D + li- säys 2 mg/l	4,09	3,91 4,13	95,6 - 101,0 98,3	12	0,014	0,4	0,069 **	1,7	0,070 NS	1,7
F synt. näyte	20,00	19,51 20,20	97,6 - 101,0 99,3	12	0,157	0,8	0,186 NS	0,9	0,243 NS	1,2
G synt. näyte	30,00	29,44 30,28	98,1 - 100,9 99,5	12	0,230	0,8	≈ 0 NS	--	0,222 NS	0,7

Selitykset:s_w = sarjan sisäinen hajontas_b = sarjojen välinen hajontas_t = kokonaishajontas_w (%) = sarjan sisäinen suhteellinen hajontas_b (%) = sarjojen välinen suhteellinen hajontas_t (%) = suhteellinen kokonaishajonta

NS = sarjojen välinen hajonta ei poikkea merkitsevästi sarjan sisäisestä hajonnasta

* = sarjojen välinen hajonta > sarjan sisäinen hajonta (95 % todennäköisyys)

** = sarjojen välinen hajonta » sarjan sisäinen hajonta (99 % todennäköisyys)

Tarkkuus:

Saantokokeiden perusteella menetelmän tarkkuus on suurempi kuin 95 %. Tarkkuus näytteessä E, joka edustaa yleensä sulfaatin pitoisuutta sadevesissä (1 ... 7 mg/l), on 96 ... 101 %.

Täsmällisyys:

Sarjojen välinen hajonta on näytteiden B, C, D ja E määrittämisessä merkitsevästi (95 % tai 99 % todennäköisyys) suurempi kuin sarjan sisäinen hajonta. Näytteillä A, F ja G sarjojen välinen hajonta ei poikkea merkitsevästi sarjan sisäisestä hajonnasta. Sarjojen välinen hajonta on kuitenkin niin pieni ($\leq 2,5$ %), että merkitsevällä erolla ei ole käytännössä merkitystä. Hajonta sarjan sisällä on myös pieni mm. mittauksen automaattisuuden takia. Kokonaishajonta ei poikkea yhdelläkään näytteellä merkitsevästi tavoitearvosta 5 %.

Mittausepävarmuus:

Mittausepävarmuuden arviointiin voidaan käyttää taulukon 7 tuloksia.

Satunnaisvirhettä arvioidaan suhteellisen kokonaishajonnan avulla. Se on pitoisuusalueella ≤ 2 mg/l 3 % ja pitoisuusalueella > 2 mg/l 2 %.

Systemaattista virhettä arvioidaan vastaavasti saantokokeiden minimiarvojen perusteella. Se on pitoisuusalueella ≤ 2 mg/l 5 % ja pitoisuusalueella > 2 mg/l 3 %.

Kokonaismittausepävarmuus on pitoisuusalueella ≤ 2 mg/l

$$u_c = \sqrt{(3\%)^2 + (5\%)^2} = 5,8\% \approx 6\%$$

ja pitoisuusalueella > 2 mg/l

$$u_c = \sqrt{(2\%)^2 + (3\%)^2} = 3,6\% \approx 4\%$$

Laajennettu mittausepävarmuus on molemmissa tapauksissa kaksi kertaa suurempi eli 12 % ja 8 %.

Kahdella eri laitteella saatujen tulosten vertaaminen:

Sadevesinäytteitä määritettiin sekä validoinnin kohteena olleella uudella laitteella (Dionex) että aikaisemmin käytössä olleella laitteella (Waters). Näytteitä määritettiin yhteensä 20. Saatuja tuloksia verrattiin toisiinsa *t*-testillä.

Taulukko 8. Kahdella eri laitteella saatujen sadevesien sulfaattipitoisuuksien (mg/l) tarkastelu.

Näyte	x_1	x_2	$d_i = x_1 - x_2$	d_i^2
1	2,76	2,72	0,04	0,0016
2	1,00	1,05	-0,05	0,0025
3	2,24	2,27	-0,03	0,0009
4	1,28	1,30	-0,02	0,0004
5	2,53	2,52	0,01	0,0001
6	2,67	2,69	-0,02	0,0004
7	1,71	1,71	0	0
8	2,09	2,07	0,02	0,0004
9	1,33	1,41	-0,08	0,0064
10	1,60	1,62	-0,02	0,0004
11	3,81	3,78	0,03	0,0009
12	1,44	1,45	-0,01	0,0001
13	1,25	1,27	-0,02	0,0004
14	2,04	2,06	-0,02	0,0004
15	2,39	2,37	0,02	0,0004
16	1,15	1,19	-0,04	0,0016
17	1,02	1,00	0,02	0,0004
18	1,07	1,08	-0,01	0,0001
19	1,92	1,89	0,03	0,0009
20	1,82	1,80	0,02	0,0004
			$\Sigma d_i = -0,13$	$\Sigma d_i^2 = 0,0187$

$$\bar{d} = -0,0065$$

$$s_d^2 = 0,0009; \quad s_d = \sqrt{0,0009} = 0,03$$

$$t = |-0,969| = 0,969$$

Taulukosta saatu teoreettinen $t_{0,05(19)}$ -arvo = 2,093 ($df = 19$; 2-suuntainen testi 5 % merkitsevyystasolla). Koska laskettu t -arvo 0,969 on pienempi kuin teoreettinen arvo, kahdella eri laitteella saadut tulokset samoista sadevesinäytteistä eivät eroa merkitsevästi toisistaan (95 % todennäköisyys).

YHTEENVETO VALIDOINNISTA

Menetelmä:	Sulfaatin määrittäminen ionikromatografisesti (perustuu standardiin SFS-EN ISO 10304-1).	
Tutkittu yhdiste:	SO ₄ ²⁻	
Menetelmän periaate:	Sulfaatti-ionit eluoidaan erotuskolonnista eluentilla ja syntynyt johtokyvyn muutos havaitaan johtokykydetektorin vasteen kasvuna.	
Validoinnin kuvaus:	Validointi tehtiin uuden laitteiston testaamiseksi. Validoinnissa testattiin spesifisyys, lineaarisuus kuudella standardiliuoksella, määrittämissä pitoisuuksilla ja pitoisuuden omaavaa sadevesinäytettä sekä tarkkuus ja täsmällisyys analysoimalla erityyppisiä näytteitä rinnakkaismäärittäksinä kuutena eri sarjana. Lisäksi verrattiin 20 näytteestä vanhalla ja uudella IC-laitteella saatuja tuloksia toisiinsa.	
Validoinnin tulokset:	Spesifisyys:	Sulfaattiinkin resoluutio on 3,0.
	Mittausalue:	0,5 ... 30 mg/l
	Lineaarisuusalue:	0,5 ... 15 mg/l (1. asteen yhtälö) 0,5 ... 30 mg/l (2. asteen yhtälö)
	Määrittämissä raja:	0,05 mg/l
	Tarkkuus:	Tarkkuus > 95 %
	Täsmällisyys:	
	Sarjan sisäinen hajonta:	1,3 % (sadevesinäyte 0,704 mg/l) 0,6 % (synteettinen näyte 2 mg/l) 0,8 % (synteettinen näyte 20 mg/l)
	Sarjojen välinen hajonta:	2,4 % (0,704 mg/l) 1,8 % (2 mg/l) 0,9 % (20 mg/l)
	Kokonaishajonta:	2,7 % (0,704 mg/l) 1,9 % (2 mg/l) 1,2 % (20 mg/l)
	Mittausepävarmuus:	Laajennettu mittausepävarmuus on pitoisuusalueella 0,5 ... 2 mg/l 12 % ja pitoisuusalueella > 2 mg/l 8 % (95 % todennäköisyys).

Kahdella eri laitteella saadut tulokset:

t-testin perusteella tulokset eivät eroa merkitsevästi toisistaan 95 % todennäköisyydellä.

Johtopäätökset:

Standardiin SFS-EN ISO 10304-1 perustuva ionikromatografinen määrittäminen sekä käyttöönotettu uusi laitteisto soveltuvat validoinnin tulosten perusteella sadevesien sulfaattipitoisuuden määrittämiseen.

Validoinnin tekijä:

Lea Kervinen 22. - 26.4.1996

Arkistointi:

Huone 246

Hyväksyjä:

Riitta Saares 30.4.1996

t-testin kriittiset arvot

Vapausasteet	1-suuntainen testi merkitsevyystasolla			2-suuntainen testi merkitsevyystasolla		
	5%	1%	0.1%	5%	1%	0.1%
1	6.314	31.82	318.3	12.71	63.66	636.6
2	2.920	6.965	22.33	4.303	9.925	31.60
3	2.353	4.541	10.21	3.182	5.841	12.92
4	2.132	3.747	7.173	2.776	4.604	8.610
5	2.015	3.365	5.894	2.571	4.032	6.869
6	1.943	3.143	5.208	2.447	3.707	5.959
7	1.895	2.998	4.785	2.365	3.499	5.408
8	1.860	2.896	4.501	2.306	3.355	5.041
9	1.833	2.821	4.297	2.262	3.250	4.781
10	1.812	2.764	4.144	2.228	3.169	4.587
11	1.796	2.718	4.025	2.201	3.106	4.437
12	1.782	2.681	3.930	2.179	3.055	4.318
13	1.771	2.650	3.852	2.160	3.012	4.221
14	1.761	2.624	3.787	2.145	2.977	4.140
15	1.753	2.602	3.733	2.131	2.947	4.073
16	1.746	2.583	3.686	2.120	2.921	4.015
17	1.740	2.567	3.646	2.110	2.898	3.965
18	1.734	2.552	3.610	2.101	2.878	3.922
19	1.729	2.539	3.579	2.093	2.861	3.883
20	1.725	2.528	3.552	2.086	2.845	3.850
21	1.721	2.518	3.527	2.080	2.831	3.819
22	1.717	2.508	3.505	2.074	2.819	3.792
23	1.714	2.500	3.485	2.069	2.807	3.768
24	1.711	2.492	3.467	2.064	2.797	3.745
25	1.708	2.485	3.450	2.060	2.787	3.725
26	1.706	2.479	3.435	2.056	2.779	3.707
27	1.703	2.473	3.421	2.052	2.771	3.689
28	1.701	2.467	3.408	2.048	2.763	3.674
29	1.699	2.462	3.396	2.045	2.756	3.660
30	1.697	2.457	3.385	2.042	2.750	3.646
31	1.696	2.453	3.375	2.040	2.744	3.633
32	1.694	2.449	3.365	2.037	2.738	3.622
33	1.692	2.445	3.356	2.035	2.733	3.611
34	1.691	2.441	3.348	2.032	2.728	3.601
35	1.690	2.438	3.340	2.030	2.724	3.591
36	1.688	2.434	3.333	2.028	2.719	3.582
37	1.687	2.431	3.326	2.026	2.715	3.574
38	1.686	2.429	3.319	2.024	2.712	3.566
39	1.685	2.426	3.313	2.023	2.708	3.558
40	1.684	2.423	3.307	2.021	2.704	3.551
41	1.683	2.421	3.301	2.020	2.701	3.544
42	1.682	2.418	3.296	2.018	2.698	3.538
43	1.681	2.416	3.291	2.017	2.695	3.532
44	1.680	2.414	3.286	2.015	2.692	3.526
45	1.679	2.412	3.281	2.014	2.690	3.520
46	1.679	2.410	3.277	2.013	2.687	3.515
47	1.678	2.408	3.273	2.012	2.685	3.510
48	1.677	2.407	3.269	2.011	2.682	3.505
49	1.677	2.405	3.265	2.010	2.680	3.500
50	1.676	2.403	3.261	2.009	2.678	3.496
51	1.675	2.402	3.258	2.008	2.676	3.492
52	1.675	2.400	3.255	2.007	2.674	3.488
53	1.674	2.399	3.251	2.006	2.672	3.484
54	1.674	2.397	3.248	2.005	2.670	3.480
55	1.673	2.396	3.245	2.004	2.668	3.476
56	1.673	2.395	3.242	2.003	2.667	3.473
57	1.672	2.394	3.239	2.002	2.665	3.469
58	1.672	2.392	3.237	2.002	2.663	3.466
59	1.671	2.391	3.234	2.001	2.662	3.463
60	1.671	2.390	3.232	2.000	2.660	3.460

F-testin kriittiset arvot

1-suuntainen testi 5%:n merkitsevyystasolla

Sarjojen välisen vaihtelun vapausasteet / suuremman varianssin vapausasteet

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5	241.9	243.0	243.9	244.7	245.4	245.9	246.5	246.9	247.3	247.7	248.0	248.3	248.6	248.8	249.1	249.3	249.5	249.6	249.8	250.0	250.1
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.40	19.41	19.42	19.42	19.43	19.43	19.44	19.44	19.44	19.45	19.45	19.45	19.45	19.45	19.46	19.46	19.46	19.46	19.46	19.46
3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.76	8.74	8.73	8.71	8.70	8.69	8.68	8.67	8.67	8.66	8.65	8.65	8.64	8.64	8.63	8.63	8.63	8.62	8.62	8.62
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.94	5.91	5.89	5.87	5.86	5.84	5.83	5.82	5.81	5.80	5.79	5.79	5.78	5.77	5.77	5.76	5.76	5.75	5.75	5.75
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.70	4.68	4.66	4.64	4.62	4.60	4.59	4.58	4.57	4.56	4.55	4.54	4.53	4.53	4.52	4.52	4.51	4.50	4.50	4.50
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	4.03	4.00	3.98	3.96	3.94	3.92	3.91	3.90	3.88	3.87	3.86	3.86	3.85	3.84	3.83	3.83	3.82	3.82	3.81	3.81
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.60	3.57	3.55	3.53	3.51	3.49	3.48	3.47	3.46	3.44	3.43	3.43	3.42	3.41	3.40	3.40	3.39	3.39	3.38	3.38
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.31	3.28	3.26	3.24	3.22	3.20	3.19	3.17	3.16	3.15	3.14	3.13	3.12	3.12	3.11	3.10	3.10	3.09	3.08	3.08
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.10	3.07	3.05	3.03	3.01	2.99	2.97	2.96	2.95	2.94	2.93	2.92	2.91	2.90	2.89	2.89	2.88	2.87	2.87	2.86
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.94	2.91	2.89	2.86	2.85	2.83	2.81	2.80	2.79	2.77	2.76	2.75	2.75	2.74	2.73	2.72	2.72	2.71	2.70	2.70
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90	2.85	2.82	2.79	2.76	2.74	2.72	2.70	2.69	2.67	2.66	2.65	2.64	2.63	2.62	2.61	2.60	2.59	2.59	2.58	2.58	2.57
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80	2.75	2.72	2.69	2.66	2.64	2.62	2.60	2.58	2.57	2.56	2.54	2.53	2.52	2.51	2.51	2.50	2.49	2.48	2.48	2.47	2.47
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71	2.67	2.63	2.60	2.58	2.55	2.53	2.51	2.50	2.48	2.47	2.46	2.45	2.44	2.43	2.42	2.41	2.41	2.40	2.39	2.39	2.38
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65	2.60	2.57	2.53	2.51	2.48	2.46	2.44	2.43	2.41	2.40	2.39	2.38	2.37	2.36	2.35	2.34	2.33	2.33	2.32	2.31	2.31
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59	2.54	2.51	2.48	2.45	2.42	2.40	2.38	2.37	2.35	2.34	2.33	2.32	2.31	2.30	2.29	2.28	2.27	2.27	2.26	2.25	2.25
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.46	2.42	2.40	2.37	2.35	2.33	2.32	2.30	2.29	2.28	2.26	2.25	2.24	2.24	2.23	2.22	2.21	2.21	2.20	2.19
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49	2.45	2.41	2.38	2.35	2.33	2.31	2.29	2.27	2.26	2.24	2.23	2.22	2.21	2.20	2.19	2.18	2.17	2.17	2.16	2.15	2.15
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	2.37	2.34	2.31	2.29	2.27	2.25	2.23	2.22	2.20	2.19	2.18	2.17	2.16	2.15	2.14	2.13	2.13	2.12	2.11	2.11
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42	2.38	2.34	2.31	2.28	2.26	2.23	2.21	2.20	2.18	2.17	2.16	2.14	2.13	2.12	2.11	2.11	2.10	2.09	2.08	2.08	2.07
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	2.31	2.28	2.25	2.22	2.20	2.18	2.17	2.15	2.14	2.12	2.11	2.10	2.09	2.08	2.07	2.07	2.06	2.05	2.05	2.04
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37	2.32	2.28	2.25	2.22	2.20	2.18	2.16	2.14	2.12	2.11	2.10	2.08	2.07	2.06	2.05	2.05	2.04	2.03	2.02	2.02	2.01
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34	2.30	2.26	2.23	2.20	2.17	2.15	2.13	2.11	2.10	2.08	2.07	2.06	2.05	2.04	2.03	2.02	2.01	2.00	2.00	1.99	1.98
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32	2.27	2.24	2.20	2.18	2.15	2.13	2.11	2.09	2.08	2.06	2.05	2.04	2.02	2.01	2.00	1.99	1.98	1.97	1.97	1.97	1.96
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30	2.25	2.22	2.18	2.15	2.13	2.11	2.09	2.07	2.05	2.04	2.03	2.01	2.00	1.99	1.98	1.97	1.96	1.95	1.95	1.95	1.94
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28	2.24	2.20	2.16	2.14	2.11	2.09	2.07	2.05	2.04	2.02	2.01	2.00	1.98	1.97	1.96	1.96	1.95	1.94	1.93	1.93	1.92
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27	2.22	2.18	2.15	2.12	2.09	2.07	2.05	2.03	2.02	2.00	1.99	1.98	1.97	1.96	1.95	1.94	1.93	1.92	1.91	1.91	1.90
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25	2.20	2.17	2.13	2.10	2.08	2.06	2.04	2.02	2.00	1.99	1.97	1.96	1.95	1.94	1.93	1.92	1.91	1.90	1.90	1.89	1.88
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24	2.19	2.15	2.12	2.09	2.06	2.04	2.02	2.00	1.99	1.97	1.96	1.95	1.93	1.92	1.91	1.91	1.90	1.89	1.88	1.88	1.87
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22	2.18	2.14	2.10	2.08	2.05	2.03	2.01	1.99	1.97	1.96	1.94	1.93	1.92	1.91	1.90	1.89	1.88	1.88	1.87	1.86	1.85
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21	2.16	2.13	2.09	2.06	2.04	2.01	1.99	1.98	1.96	1.95	1.93	1.92	1.91	1.90	1.89	1.88	1.87	1.86	1.85	1.85	1.84

Sarjojen sisäisen vaihtelun vapausasteet / pienemmän varianssin vapausasteet

F-testin kriittiset arvot

2-suuntainen testi 5%:n merkitsevyystasolla

Sarjojen välisen vaihtelun vapausasteet / suuremman varianssin vapausasteet

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1	648	799	864	900	922	937	948	957	963	969	973	977	980	983	985	987	989	990	992	993	994	995	996	997	998	999	1000	1000	1001	1001
2	38.51	39.00	39.17	39.25	39.30	39.33	39.36	39.37	39.39	39.40	39.41	39.41	39.42	39.43	39.43	39.44	39.44	39.44	39.45	39.45	39.45	39.45	39.46	39.46	39.46	39.46	39.46	39.46	39.46	39.46
3	17.44	16.04	15.44	15.10	14.88	14.73	14.62	14.54	14.47	14.42	14.37	14.34	14.30	14.28	14.25	14.23	14.21	14.20	14.18	14.17	14.16	14.14	14.13	14.12	14.12	14.11	14.10	14.09	14.09	14.08
4	12.22	10.65	9.98	9.60	9.36	9.20	9.07	8.98	8.90	8.84	8.79	8.75	8.72	8.68	8.66	8.63	8.61	8.59	8.58	8.56	8.55	8.53	8.52	8.51	8.50	8.49	8.48	8.48	8.47	8.46
5	10.01	8.43	7.76	7.39	7.15	6.98	6.85	6.76	6.68	6.62	6.57	6.52	6.49	6.46	6.43	6.40	6.38	6.36	6.34	6.33	6.31	6.30	6.29	6.28	6.27	6.26	6.25	6.24	6.23	6.23
6	8.81	7.26	6.60	6.23	5.99	5.82	5.70	5.60	5.52	5.46	5.41	5.37	5.33	5.30	5.27	5.24	5.22	5.20	5.18	5.17	5.15	5.14	5.13	5.12	5.11	5.10	5.09	5.08	5.07	5.07
7	8.07	6.54	5.89	5.52	5.29	5.12	4.99	4.90	4.82	4.76	4.71	4.67	4.63	4.60	4.57	4.54	4.52	4.50	4.48	4.47	4.45	4.44	4.43	4.41	4.40	4.39	4.39	4.38	4.37	4.36
8	7.57	6.06	5.42	5.05	4.82	4.65	4.53	4.43	4.36	4.30	4.24	4.20	4.16	4.13	4.10	4.08	4.05	4.03	4.02	4.00	3.98	3.97	3.96	3.95	3.94	3.93	3.92	3.91	3.90	3.89
9	7.21	5.71	5.08	4.72	4.48	4.32	4.20	4.10	4.03	3.96	3.91	3.87	3.83	3.80	3.77	3.74	3.72	3.70	3.68	3.67	3.65	3.64	3.63	3.61	3.60	3.59	3.58	3.58	3.57	3.56
10	6.94	5.46	4.83	4.47	4.24	4.07	3.95	3.85	3.78	3.72	3.66	3.62	3.58	3.55	3.52	3.50	3.47	3.45	3.44	3.42	3.40	3.39	3.38	3.37	3.35	3.34	3.34	3.33	3.32	3.31
11	6.72	5.26	4.63	4.28	4.04	3.88	3.76	3.66	3.59	3.53	3.47	3.43	3.39	3.36	3.33	3.30	3.28	3.26	3.24	3.23	3.21	3.20	3.18	3.17	3.16	3.15	3.14	3.13	3.13	3.12
12	6.55	5.10	4.47	4.12	3.89	3.73	3.61	3.51	3.44	3.37	3.32	3.28	3.24	3.21	3.18	3.15	3.13	3.11	3.09	3.07	3.06	3.04	3.03	3.02	3.01	3.00	2.99	2.98	2.97	2.96
13	6.41	4.97	4.35	4.00	3.77	3.60	3.48	3.39	3.31	3.25	3.20	3.15	3.12	3.08	3.05	3.03	3.00	2.98	2.96	2.95	2.93	2.92	2.91	2.89	2.88	2.87	2.86	2.85	2.85	2.84
14	6.30	4.86	4.24	3.89	3.66	3.50	3.38	3.29	3.21	3.15	3.09	3.05	3.01	2.98	2.95	2.92	2.90	2.88	2.86	2.84	2.83	2.81	2.80	2.79	2.78	2.77	2.76	2.75	2.74	2.73
15	6.20	4.77	4.15	3.80	3.58	3.41	3.29	3.20	3.12	3.06	3.01	2.96	2.92	2.89	2.86	2.84	2.81	2.79	2.77	2.76	2.74	2.73	2.71	2.70	2.69	2.68	2.67	2.66	2.65	2.64
16	6.12	4.69	4.08	3.73	3.50	3.34	3.22	3.12	3.05	2.99	2.93	2.89	2.85	2.82	2.79	2.76	2.74	2.72	2.70	2.68	2.67	2.65	2.64	2.63	2.61	2.60	2.59	2.58	2.58	2.57
17	6.04	4.62	4.01	3.66	3.44	3.28	3.16	3.06	2.98	2.92	2.87	2.82	2.79	2.75	2.72	2.70	2.67	2.65	2.63	2.62	2.60	2.59	2.57	2.56	2.55	2.54	2.53	2.52	2.51	2.50
18	5.98	4.56	3.95	3.61	3.38	3.22	3.10	3.01	2.93	2.87	2.81	2.77	2.73	2.70	2.67	2.64	2.62	2.60	2.58	2.56	2.54	2.53	2.52	2.50	2.49	2.48	2.47	2.46	2.45	2.44
19	5.92	4.51	3.90	3.56	3.33	3.17	3.05	2.96	2.88	2.82	2.76	2.72	2.68	2.65	2.62	2.59	2.57	2.55	2.53	2.51	2.49	2.48	2.46	2.45	2.44	2.43	2.42	2.41	2.40	2.39
20	5.87	4.46	3.86	3.51	3.29	3.13	3.01	2.91	2.84	2.77	2.72	2.68	2.64	2.60	2.57	2.55	2.52	2.50	2.48	2.46	2.45	2.43	2.42	2.41	2.40	2.39	2.38	2.37	2.36	2.35
21	5.83	4.42	3.82	3.48	3.25	3.09	2.97	2.87	2.80	2.73	2.68	2.64	2.60	2.56	2.53	2.51	2.48	2.46	2.44	2.42	2.41	2.39	2.38	2.37	2.36	2.34	2.33	2.33	2.32	2.31
22	5.79	4.38	3.78	3.44	3.22	3.05	2.93	2.84	2.76	2.70	2.65	2.60	2.56	2.53	2.50	2.47	2.45	2.43	2.41	2.39	2.37	2.36	2.34	2.33	2.32	2.31	2.30	2.29	2.28	2.27
23	5.75	4.35	3.75	3.41	3.18	3.02	2.90	2.81	2.73	2.67	2.62	2.57	2.53	2.50	2.47	2.44	2.42	2.39	2.37	2.36	2.34	2.33	2.31	2.30	2.29	2.28	2.27	2.26	2.25	2.24
24	5.72	4.32	3.72	3.38	3.15	2.99	2.87	2.78	2.70	2.64	2.59	2.54	2.50	2.47	2.44	2.41	2.39	2.36	2.35	2.33	2.31	2.30	2.28	2.27	2.26	2.25	2.24	2.23	2.22	2.21
25	5.69	4.29	3.69	3.35	3.13	2.97	2.85	2.75	2.68	2.61	2.56	2.51	2.48	2.44	2.41	2.38	2.36	2.34	2.32	2.30	2.28	2.27	2.26	2.24	2.23	2.22	2.21	2.20	2.19	2.18
26	5.66	4.27	3.67	3.33	3.10	2.94	2.82	2.73	2.65	2.59	2.54	2.49	2.45	2.42	2.39	2.36	2.34	2.31	2.29	2.28	2.26	2.24	2.23	2.22	2.21	2.19	2.18	2.17	2.17	2.16
27	5.63	4.24	3.65	3.31	3.08	2.92	2.80	2.71	2.63	2.57	2.51	2.47	2.43	2.39	2.36	2.34	2.31	2.29	2.27	2.25	2.24	2.22	2.21	2.19	2.18	2.17	2.16	2.15	2.14	2.13
28	5.61	4.22	3.63	3.29	3.06	2.90	2.78	2.69	2.61	2.55	2.49	2.45	2.41	2.37	2.34	2.32	2.29	2.27	2.25	2.23	2.22	2.20	2.19	2.17	2.16	2.15	2.14	2.13	2.12	2.11
29	5.59	4.20	3.61	3.27	3.04	2.88	2.76	2.67	2.59	2.53	2.48	2.43	2.39	2.36	2.32	2.30	2.27	2.25	2.23	2.21	2.20	2.18	2.17	2.15	2.14	2.13	2.12	2.11	2.10	2.09
30	5.57	4.18	3.59	3.25	3.03	2.87	2.75	2.65	2.57	2.51	2.46	2.41	2.37	2.34	2.31	2.28	2.26	2.23	2.21	2.20	2.18	2.16	2.15	2.14	2.12	2.11	2.10	2.09	2.08	2.07

KUVAILULEHTI

Julkaisija
Suomen ympäristökeskus

Julkaisun päivämäärä
Joulukuu 1996

Tekijä(t) (toimielimestä: nimi, puheenjohtaja, sihteeri)

Irma Mäkinen, Anna-Mari Suortti, Riitta Saares, Ritva Niemi ja (toim.) Jari J. Marjanen

Julkaisun nimi (myös ruotsinkielinen)

Ohjeita ympäristönäytteiden kemiallisten analyysimenetelmien validointiin

Julkaisun laji

Ohje

Toimeksiantaja

Toimielimen asettamispvm

Julkaisun osat

Tiivistelmä

Julkaisu sisältää Suomen ympäristökeskuksen (SYKE) laboratoriossa laaditut kemiallisten analyysimenetelmien validointiohjeet oman laboratorion ja alueellisten ympäristökeskusten laboratorioden tarpeisiin. Julkaisua voivat hyödyntää myös muut Suomen ympäristölaboratoriot.

Julkaisua laadittaessa on käytetty avuksi validoinnista ilmestynyttä kirjallisuutta, ja se perustuu myös laatijoiden omaan kokemukseen. Ohjeet on laadittu vesi- ja ympäristöanalytiikassa tarvittavien kemiallisten epäorgaanisten ja orgaanisten yhdisteiden määrittämismenetelmien validointiin. Ohjeita on selkeytetty pääosin SYKEN oman laboratorion toiminnasta otetuilla esimerkeillä.

Asiasanat (avainsanat)

Analyysimenetelmät, laadunohjaus, laadunvarmistus, laadunvalvonta, luotettavuus, testaus, validointi, ympäristöanalytiikka, laboratoriot, ympäristöntutkimus, kemiallinen analyysi

Muut tiedot

Sarjan nimi ja numero

Suomen ympäristökeskuksen moniste 59

ISBN

ISSN

Kokonaissivumäärä

82

Kieli

suomi

Hinta

Luottamuksellisuus

julkinen

Jakaja

Suomen ympäristökeskus
Asiakaspalvelu
Puh: (09) 4030 0100
Telefax: (09) 4030 0190

Kustantaja

Suomen ympäristökeskus
PL 140
00250 Helsinki

