



HAIHTUVIEN ORGAANISTEN  
YHDISTEIDEN KVANTITOINTI  
PAPERISTA

Emilia Viitikko

Opinnäytetyö  
Joulukuu 2012  
Laboratorioalan koulutusohjelma  
Tampereen ammattikorkeakoulu

TAMPEREEN AMMATTIKORKEAKOULU  
Tampere University of Applied Sciences

## TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu  
Laboratorioalan koulutusohjelma

EMILIA VIITIKKO:

Haihtuvien orgaanisten yhdisteiden kvantitointi paperista

Opinnäytetyö 41 sivua, josta liitteitä 7 sivua  
Joulukuu 2012

---

Paperissa esiintyy satoja haihtuvia orgaanisia yhdisteitä (volatile organic compounds, VOC). Osa näistä yhdisteistä aiheuttaa paperiin hajua, joka voi rajoittaa paperin käytettävyyttä tietyissä sovelluksissa. Yhdisteet ovat peräisin paperin valmistusprosessin eri vaiheissa käytettävistä lisäaineista sekä puusta itsestään. Hajua aiheuttavia yhdisteitä ovat muun muassa erilaiset amiinit, aldehydit, ketonit ja alkoholit. Haju paperissa aiheuttaa ongelmia lähes kaikissa käyttötarkoituksissa, mutta erityisesti elintarviketeollisuudessa.

Yhtenä kemiallisena analyysimenetelmänä haihtuvien orgaanisten yhdisteiden tutkimiseen käytetään staattista headspace-näytteenkäsittelytekniikkaa yhdistettynä kaasukromatografimassaspektrometriin. Staattisessa headspace-tekniikassa tutkittava näyte sijoitetaan suljettuun näytepulloon, jossa sitä kuumennetaan. Kuumennettaessa näytteen ja sen yläpuolelle muodostuvan kaasufaasin (headspace) välille muodostuu tasapaino, jolloin haihtuvat näytekemponentit vapautuvat näytematriisista kaasufaasiin. Kaasua injektoidaan kaasukromatografille, joka erottelee yhdisteet. Massaspektrometri tuottaa yhdisteistä massaspektrin, jonka perusteella se tunnistaa yhdisteet vertaamalla niitä kaupalliseen spektrikirjastoon.

Työn tarkoituksena oli kehittää haihtuvien yhdisteiden analysointia kvantitatiivisemmaksi, jotta kyettäisiin vertaamaan paperin valmistus- ja jalostusprosessin eri vaiheiden näytteissä esiintyvien haihtuvien yhdisteiden määrää ja näin selvittämään niiden alkupe-  
rää. Pyrittiin löytämään erilaisten haihtuvien yhdisteiden analysointiin soveltuva standardi jolla pystyttäisiin samalla valvomaan analyysilaitteen toimintakuntoa pitkällä aikavälillä ja erilaisissa mittausolosuhteissa. Tavoitteena oli helpottaa hajuvalitusnäytteiden analysointia UPM:n tutkimuskeskuksessa, nopeuttaa tulosten käsittelyä ja kehittää laitteen toimintakunnon valvonta.

Standardien A ja B soveltuvuutta analyysimenetelmän semikvantitointiin tutkittiin. Standardi A todettiin soveltuvaksi standardiksi VOC-yhdisteiden kvantitointiin paperista. Standardi A:lle määritettiin sopiva pitoisuustaso näytteiden analyttien pitoisuuksiin nähden. Menetelmän toistettavuus todettiin useilla rinnakkaismäärittäyksillä. Standardi A antaa toistettavia ja luotettavia tuloksia näytteiden vaatimissa erilaisissa mittausolosuhteissa. Työlle asetetut tavoitteet saavutettiin ja toimiva menetelmä saatiin kehitettyä. Menetelmän kehityksen onnistuttua työ luokiteltiin salaiseksi.

---

Avainsanat: paperi, VOC-yhdisteet, headspace, kaasukromatografia

## ABSTRACT

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

EMILIA VIITIKKO:

The Quantitation of Volatile Organic Compounds in Paper

Bachelor's thesis 41 pages, appendices 7 pages  
December 2012

---

There are hundreds of different volatile organic compounds (VOC) in paper. Some of these compounds cause unpleasant odor, which makes the utilization of paper difficult. Compounds are originated from additives of paper process or the wood itself. Amines, aldehydes, ketones and alcohols are the main compounds causing the odor. Paper odor causes problems especially in food industry.

One useful chemical analysis method for VOC-compounds is a static headspace sampling technique connected to a gas chromatograph-mass spectrometer. The sample is placed in a closed bottle, which is heated. During heating equilibrium is reached between the sample and the gas phase (headspace) above it. Thus sample particles are transferred from sample matrix to the gas phase. The gas is injected to the gas chromatograph, which separates the compounds based on their retention time. Mass spectrometer produces a mass spectrum of compounds and identifies them by comparing them with spectrum library.

The main purpose of this study was to develop a quantitative analysis method for VOC-compounds typically present in paper. This gives the opportunity to compare the amount of VOC-compounds in different samples from paper making process and helps to determine the origin of odor. The second goal was to find a standard that also evaluates the operation of GC/MS during time and in different measurement conditions. The aim of the study was to make the analysis of odor complain samples easier in UPM Research Center, speed up the resulting and develop the monitoring of devices' working order.

Suitability of standards A and B on semiquantitation of analysis method was tested. Standard A was found suitable for quantitation of VOC compounds in paper. The correct concentration for standard A was determined depending on sample concentrations. Method repeatability was established with several replicates. Standard A gives repeatable and reliable results in samples in different measurement conditions. The goals set to the thesis were achieved and an usable method was developed. Because suitable method was developed, the thesis was classified confidential.

---

Key words: paper, VOC-compounds, headspace, gas chromatography

SISÄLLYS	
LYHENTEET JA TERMIT .....	5
1 JOHDANTO .....	6
2 HAIHTUVAT YHDISTEET PAPERISSA .....	7
2.1 Paperin valmistus.....	7
2.2 Haihtuvat yhdisteet ja syitä niiden muodostumiseen.....	8
2.2.1 Dimetyyli- ja trimetyyliamiini.....	10
2.2.2 Heksanaali, pentanaali, muut aldehydit, ketonit ja alkoholit .....	11
2.3 Paperin haihtuvien yhdisteiden ominaishajut .....	12
3 ANALYYSIMENETELMÄT           HAIHTUVIEN           YHDISTEIDEN	
TUNNISTAMISEEN .....	14
3.1 Kaasukromatografimassaspektrometri .....	14
3.1.1 Toimintaperiaate.....	14
3.1.2 Injektointi .....	14
3.1.3 Yhdisteiden erottelu ja detektointi.....	16
3.2 Headspace-tekniikka .....	17
4 TYÖN TAVOITTEET .....	19
4 MENETELMÄN KEHITYS JA TULOKSET .....	20
4.1 Käytetyt ajo-olosuhteet.....	20
4.2 Paperissa esiintyvien haihtuvien yhdisteiden kvalitatiivinen tunnistaminen ....	22
4.3 Standardien testauksen alkuvaiheet.....	22
4.4 Standardisuorat .....	23
4.5 Standardisuorat paperin kanssa.....	25
4.6 Standardi A:n oikean pitoisuustason selvittäminen .....	25
4.7 Toistettavuuden määrittäminen.....	26
4.8 Lämpötilan vaikutus.....	27
4.9 Standardiliuosten säilyvyys .....	28
6 POHDINTA.....	29
LÄHTEET .....	32
LIITTEET.....	35
Liite 1. Standardi B:n 2500x standardisuora ja piikkien pinta-alat.....	35
Liite 2. Paperin kanssa ajettu standardi A:n 1000x standardisuora ja piikkien	
pinta-alat .....	36
Liite 3. Paperin kanssa ajettun 2500x standardi B:n piikkien pinta-alat .....	37
Liite 4. Paperin kanssa ajettun standardi A:n 25000x standardisuora ja piikkien	
pinta-alat .....	37
Liite 5. Kuumentamattoman paperin kromatogrammi .....	39
Liite 6. Kuumennetun paperin kromatogrammi.....	40
Liite 7. Esimerkinäytteen kromatogrammi .....	41

**LYHENTEET JA TERMIT**

ECF	Kloorikaasuton massan valkaisu (elemental chlorine free)
DMA	Dimetyyliamiini
GC	Kaasukromatografi
GC/MSD	Kaasukromatografi massaspektrometrisellä detektorilla
HS	Headspace-tekniikka
HS-GC/MSD	Headspacekaasukromatografi massaspektrometrisellä detektorilla
SIM	Selektiivinen ionien monitorointi (selective ion monitoring)
TCF	Täysin kloorivapaa massan valkaisu (total chlorine free)
TIC	Kokonaisionikromatogrammi (total ion chromatogram)
TMA	Trimetyyliamiini
VOC	Haihtuvat orgaaniset yhdisteet (volatile organic compounds)

## 1 JOHDANTO

Paperissa esiintyy jopa 200 erilaista 3-9-hiilistä orgaanista haihtuvaa yhdistettä. Osa on peräisin puusta, osa valmistusprosessin muista vaiheista. Jotkut näistä aiheuttavat paperiin hajua. Haisevia yhdisteitä muodostuu paperiin bakteeritoiminnan ja homeiden aiheuttamana, painovärien reagoidessa paperin kanssa, uuteaineiden, hartsien, hiilihydraattien sekä paperinvalmistusprosessissa käytettyjen kemikaalien ja lisäaineiden hapettumistuotteena. Haju paperissa aiheuttaa asiakasvalituksia ja on erityisen suuri ongelma esimerkiksi elintarviketeollisuudessa, jossa pakkausten pitäisi olla hajuttomia ja mauttomia ja ennen kaikkea suojata tuotetta, ei muuttaa sen ominaisuuksia.

Haihtuvien yhdisteiden tutkimiseen käytetään kaasukromatografimassaspektrometria ja staattista headspace-tekniikkaa. Staattisessa headspace-tekniikassa nestemäistä tai kiinteää näytettä kuumennetaan suljetussa, tiiviissä pullossa kunnes näytteen ja sen yläpuolella olevan kaasufaasin välillä vallitsee tasapaino. Kaasufaasiin siirtyneet näytepartikkelit injektoidaan kaasukromatografille, joka erottelee yhdisteet. Detektorina toimiva massaspektrometri muodostaa yhdisteistä massaspektrit ja tunnistaa ne vertaamalla niitä kaupalliseen spektrikirjastoon.

Työn tarkoituksena on kehittää paperin haihtuvien yhdisteiden analyysimenetelmää semikvantitatiiviseksi. Tavoitteena on löytää sisäinen tai ulkoinen standardi, jonka avulla voidaan arvioida erilaisten haihtuvien yhdisteiden määrää eri aikoina mitatuissa ja erityyppisissä papereissa. Myös massadetektorin vastetta voidaan tutkia muuttuvissa mitausolosuhteissa ajamalla tasaisin väliajoin tunnettua määrää standardia.

Opinnäytetyö toteutettiin syksyn 2012 aikana UPM:n Lappeenrannan tutkimuskeskuksen mikroskopiaalaboratoriossa. Työn ohjaajana toimi vanhempi tutkija Vesa Miikki (UPM Tutkimuskeskus) ja opettajaohjaajana Outi Heiniö (Tampereen ammattikorkeakoulu).

## 2 HAIHTUVAT YHDISTEET PAPERISSA

### 2.1 Paperin valmistus

Kemiallista massaa valmistettaessa puun kuituja toisiinsa sitova ligniini erotetaan kuumennuksen ja kemikaalien avulla puuaineksesta. Sulfaattisellua valmistettaessa kuorittua ja haketettua puuta keitetään valkolipeäliuoksessa, jolloin kuituja sitova ligniini liukenee lipeään korkean paineen ja lämpötilan vaikutuksesta. Keiton jälkeen massasta pestään pois keittoliemi eli mustalipeä. Mustalipeän sisältämä puuperäinen aines käytetään hyödyksi polttamalla se soodakattilassa energiaksi. Liuoksesta saadaan talteen kemikaalit ja bioenergia, jotka käytetään prosessissa hyödyksi. Pesun jälkeen massa valkaistaan aluksi hapen ja lipeän avulla. Valkaisun viimeinen vaihe tehdään nykyisin usein hapen, vetyperoksidin, otsonin ja entsyymien avulla, jolloin on kyse TCF-valkaisusta, eli valkaisu tehdään täysin ilman klooria. Valkaisu voidaan tehdä myös klooridioksidilla ja happipohjaisilla kemikaaleilla, jolloin kyseessä on ECF-valkaisu. Massa etenee valkaisun jälkeen paperin valmistusprosessiin. (Avain Suomen metsäteollisuuteen 2006, 88–89; Metso 2012.)

Mekaanista massaa valmistettaessa kuidut irrotetaan toisistaan mekaanisesti hiomalla tai hiertämällä. Ligniini pehmenee mekaanisessa rasituksessa ja kuitusidokset aukeavat. Kuidut paitsi irtoavat toisistaan myös lyhenevät mekaanisessa rasituksessa ja ligniini jää massaan. Mekaanista irrotusta voidaan nopeuttaa höyrykäsittelyllä tai lisäämällä kemikaaleja. Hiokkeen ja hierteen raaka-aineena käytetään usein kuorittuja kuusipölkkyjä. Hioke valmistetaan painamalla puuta pyörivää hiomakiveä vasten ja hiertämisessä haketettu puu jauhetaan pyörivien kiekkojen välissä massaksi. Hiontaa voidaan tehostaa lisäämällä painetta ja hiertämistä lisäämällä lämpöä, höyryä ja kemikaaleja. (Avain Suomen metsäteollisuuteen 2006, 89–90.)

Mekaanista massaa käytetään paino- ja sanomalehtipapereissa. Mekaanisella paperilla on hyvä painettavuus ja se on ohutta ja läpikuultavaa, mitkä ovat painopapereille hyviä ominaisuuksia. Sisältämänsä ligniinin ja lyhytkuituisuutensa vuoksi mekaanista paperia ei käytetä kopiopaperin valmistukseen. Ligniiniä sisältävä massa kellastuu ajan myötä ja lyhytkuituisella massalla on huonot lujuusominaisuudet. (Avain Suomen metsäteollisuuteen 2006, 89–90.) Kemiallista havumassaa käytetään lujitemassana kohteissa, joissa vaaditaan hyviä lujuusominaisuuksia ja ajettavuutta paperikoneella. Koivusellua käytetään

tään parantamaan tuotteen lopullisia ominaisuuksia, se antaa paperille hyvät painatus-, kopiointi- ja tulostusominaisuudet. (Nieminen, Kallio & Lankia: Paperin kemiaa 2005.)

Paperin valmistuksessa voidaan käyttää joko kemiallista tai mekaanista massaa, mutta usein yhdistetään molempia ja lisätään kierrätyskuitua. Paperimassan koostumuksen valinta riippuu sen käyttökohdeesta. (Metso 2012.) Ennen paperikoneelle syöttämistä paperimassaan sekoitetaan mm. täyteaineita, jotka parantavat paperin painatusominaisuuksia. Paperikoneen märkäpään perälaatikosta laimennettu kuituseos levitetään liikkuvalla viiralle, jossa rainan kuiva-ainepitoisuus alkaa kasvaa. Loput vedestä poistetaan imun, puristuksen ja kuumennuksen avulla. Paperin käyttötarkoituksesta riippuvia laatuominaisuuksia säädetään kalanteroinnilla eli kiillotuksella ja päällystyksellä. Näiden vaiheiden jälkeen konerulla leikataan pituusleikkurilla asiakasrulliksi ja toimitetaan asiakkaalle. Kartongin valmistusprosessi on pääpiirteittäin samanlainen, kartonki muodostuu useista kuitukerroksista kun paperissa kuitua on vain yksi kerros. (Avain Suomen metsäteollisuuteen 2006, 91.)

## **2.2 Haihtuvat yhdisteet ja syitä niiden muodostumiseen**

Paperi sisältää haihtuvia orgaanisia 3-9-hiilisiä yhdisteitä, jotka aiheuttavat siihen hajua. Massan ja paperin kaasufaaseja tutkittaessa on löydetty yli 200 haihtuvaa, haisevaa yhdistettä. Näistä suurin osa on peräisin muualta kuin puusta. (Donetzhuber 1981, 136–138, Räsänen 2004, 4 mukaan.) Paperissa esiintyviä hajua aiheuttavia yhdisteitä ovat mm. heksanaali, pentanaali, bentsaldehydi ja muut aldehydit, hiilivedyt, asetoni, dimeytyyliamiini (DMA) ja trimetyyliamiini (TMA) (Helle & Wiik 1998, 3). Paperi ei koskaan ole täysin hajutonta, vaan sisältää aina haisevia yhdisteitä (Dyer 1996, Helle & Wiikin 1998, 1, mukaan). Toisinaan tiettyjä haisevia yhdisteitä muodostuu niin paljon, että ihmisnenä erottaa ne epämiellyttävänä hajuna.

Useat eri komponentit voivat aiheuttaa haisevien yhdisteiden muodostumista paperiin. Paperin sisältämässä kuitumateriaalissa on uuteaineita, ligniinin hapettumistuotteita ja hiilihydraatteja. Paperin valmistuksessa käytetyt kemikaalit, sideaineet, biosidit, vaahdonestoaineet sekä paperin leikkaaminen pituusleikkurilla voivat katalysoida haihtuvien yhdisteiden muodostumista. Painatuskemikaalit sisältävät sidosaineita, pigmenttiä, liuotinta ja lisäaineita, jotka kaikki vaikuttavat paperiin muodostuvien yhdisteiden syntymiseen. Myös paperin valmistuksen ja – painatuksen mikrobiologiset reaktiot lisäävät



VOC-yhdisteiden muodostumista. (Ristolainen 2004, 6.) Haihtuvia yhdisteitä muodostuu paperiin muun muassa bakteeritoiminnan ja homeiden seurauksena sekä painovärien reagoidessa paperin kanssa. Myös uuteaineiden, hartsien, hiilihydraattien ja paperin valmistusprosessissa käytettyjen lisäaineiden hapettuminen lisää haihtuvien yhdisteiden muodostumista. (Donetzhuber 1981, 136–138, Räsänen 2004, 4 mukaan.)

Paperitehtaiden suljettu vesikierto ja kierrätyskuidun käyttö lisäävät paperin mikrobiotoimintaa ja sitä kautta haisevien yhdisteiden muodostumista. Paperikoneella eri vaiheissa muodostuvan hylkymassa ja -paperi kierrätetään takaisin perälaatikolle, jossa se palaa takaisin hyötykäyttöön prosessiin. Hylkyä muodostuu prosessin eri vaiheissa, ja se voi sisältää päällystysaineita, täyteaineita, kemikaaleja ja lateksia, jotka saattavat aiheuttaa ongelmia paperikoneen märänpään kemiallisten ominaisuuksien säätelyssä. (Dyer 1996, Helle & Wiikin 1998, 1, mukaan.)

Erityisesti ongelmia paperin haisevat yhdisteet aiheuttavat elintarviketeollisuudessa, jossa pakkausmateriaalina käytetään paperia ja kartonkia. Haisevat yhdisteet voivat kulkeutua elintarvikkeeseen ja aiheuttaa siihen sivumakua. (Helle & Wiik 1998, 1.) Haisevien yhdisteiden tutkiminen on haastavaa, sillä usein voimakkaankin hajun aiheuttavaa yhdistettä on paperissa vain hyvin pieni määrä. Yhdisteet myös häviävät nopeasti avatuista pakkauksista haihtuvuutensa vuoksi. Usein haisevat yhdisteet myös muodostuvat paperiin vasta pitempiaikaisen varastoinnin jälkeen. (Helle & Wiik 1998, 1.) Siksi ongelmat havaitaan usein vasta tuotteen kuljettua paperitehtaalta jatkokäyttäjille.

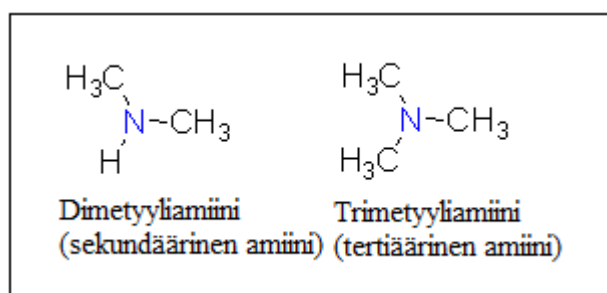
Vaikka osa haisevia yhdisteitä aiheuttavista tekijöistä on tiedossa, niitä on hyvin vaikea poistaa. Esimerkiksi paperiin hajua aiheuttavalle kemikaalille, joka muuten ominaisuuksiltaan on hyvä, on vaikea löytää korvaavaa vaihtoehtoa. Myöskään paperissa tapahtuvaa puun uuteaineiden hapettumista ei voida estää. Prosessin aikana käytettävien kemikaalien ja lisäaineiden valinnalla ja prosessin hallinnalla voidaan vähentää paperiin muodostuvaa hajua. (Helle & Wiik 1998, 8.) Haasteita hajun vähentämiseen aiheuttaa myös se, että haju on aina syntynyt useiden yhdisteiden yhteisvaikutuksesta, ei yhdestä tai kahdesta yhdisteestä. Hajun aiheuttajat voivat siis olla peräisin useasta eri lähteestä, ja haju muodostuu paperiin, kun niiden pitoisuudet ja keskinäiset suhteet ovat oikeat. Hajun voimakkuus riippuu pitoisuuden lisäksi lämpötilasta, ilmanpaineesta ja kosteudesta, ja käyttäjät voivat kokea hajun eri tavalla muun muassa sukupuolesta, iästä ja

mielialasta riippuen. (Ristolainen 2004, 4-5.) Seuraavassa on kerrottu paperin yleisimmistä haihtuvista yhdisteistä ja niiden alkuperästä.

### 2.2.1 Dimetyyli- ja trimetyyliamiini

Amiinit ovat yhdisteitä, joissa typpiatomiin on kiinnittynyt orgaanisia ryhmiä. Orgaanisten ryhmien määrän perusteella amiinit on luokiteltu primäärisiin (metyyliamiini), sekundäärisiin (dimetyyliamiini) ja tertiäärisiin (trimetyyliamiini). Amiinit ovat poolisia yhdisteitä ja haihtuvilla amiineilla on hyvin yksilöllinen ja voimakas haju. Pienimolekyyllisiä amiineja käytetään kumien, muovien, polymeerien, väriaineiden ja ruosteenestoaineiden valmistuksessa. Amiineja muodostuu mikro-organismien, kasvien ja eläinten metabolisissa reaktioissa. (Önal 2006; Claeson, Östin & Sunesson 2004, Karvisen 2007, 3, mukaan.)

Dimetyyliamiinissa (kuva 1) on typpiatomi, johon on liittynyt yksi vetyatomi ja kaksi metyyliiryhmää. Dimetyyliamiini on pistävä, kalan- ja ammoniakkin hajuinen väritön, helposti syttyvä kaasu. Sitä esiintyy mm. ihmisen virtsassa. Kemikaalina DMA:a käytetään mm. maataloudessa torjunta-aineena. (Genome Alberta: Human Metabolome Database 2005–2012.) Trimetyyliamiinissa (kuva 1) typpiatomiin on liittynyt kolme metyyliiryhmää, myös se esiintyy huoneenlämmössä kaasuna. TMA on väritön, hygroskooppinen ja helposti syttyvä. Pienissä pitoisuuksissa TMA haisee kalalta, suuremmissa pitoisuuksissa sillä on ammoniakkin kaltainen haju. (Nevalainen: Amiinit 2010; Genome Alberta: Human Metabolome Database 2005–2012.)



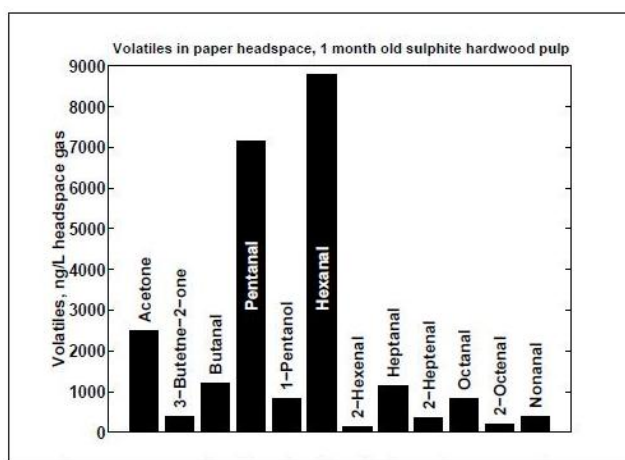
KUVA 1. Dimetyyli- ja trimetyyliamiinien rakenne. (Nevalainen: Amiinit 2010, muokattu)

Paperiin muodostuneet amiinit ja muut typpiyhdisteet ovat usein peräisin prosessin suljetusta vesikierrosta, kierrätyskuidusta. Myös neutraalit ja emäksiset prosessiolosuhteet

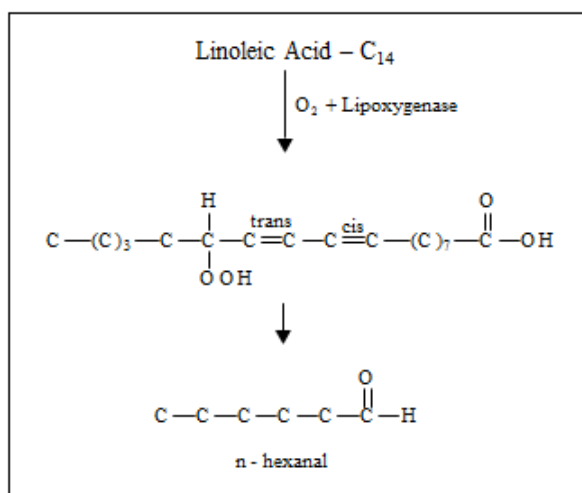
paperinvalmistusprosessissa lisäävät tyypiyhdisteiden muodostumista. Usein haisevia yhdisteitä muodostuu paperiin myös mikrobiologisen toiminnan ja raaka-aineiden modifioinnin seurauksena, esimerkiksi kationisen tärkkelyksen kationisointikemikaalin jäämistä voi muodostua amiineja paperiin. (Ristolainen 2004, 19.)

### 2.2.2 Heksanaali, pentanaali, muut aldehydit, ketonit ja alkoholit

Paperissa esiintyvistä haihtuvista yhdisteistä yleisimmin ja eniten esiintyy heksanaalia ja pentanaalia, mutta usein havaitaan myös butanaalia, heptanaalia, oktanaalia ja pentanolia. Tyypillisimmät haihtuvat yhdisteet ja niiden määrä sulfiittipaperissa on esitetty kuviossa 1. (Helle & Wiik 1998, 3.) Heksanaalia muodostuu paperin ja painovärien tyydyttymättömien rasvahappojen hapettuessa ja puun sisältämän rasvahapon, linolihapon hapettumisreaktion lopputuotteena (Ristolainen 2004, 19). Reaktiossa (kuva 2) tyydyttymätön rasvahappo tuottaa vapaan radikaalin, joka hapen kanssa tuottaa peroksidiradikaalin. Lopuksi rasvahappovetyperoksidi hajoaa heksanaaliksi. (Ekman, Hämäläinen, Jäkärä ja Lassila 2005).



KUVIO 1. Tyypillisimmät haihtuvat yhdisteet sulfiittipaperissa. (Helle & Wiik 1998, 3)



KUVA 2. Heksanaalin muodostuminen linolihapon hapettumisreaktiossa. (Belitz, Grosch & Schieberle 2009, 206, muokattu)

Heksanaalin syntymiseen voi vaikuttaa massan valkaisu, jossa käytettävät hapettavat kemikaalit voivat käynnistää paperissa linolihapon hapettumisen. Paperin heksanaalipitoisuus kasvaa varastointiajan myötä, mikäli sitä varastoidaan valolta suojattuna, kasvua ei tapahdu. Heksanaalin muodostumisen kiihtymistä voidaan ehkäistä mm. käsittelemällä paperimassa pelkistävällä yhdisteellä, esim. SO<sub>2</sub>:lla valkaisun jälkeen. (Ekman, Hämmäläinen, Jäkärä ja Lassila 2005.) Myös painovärien on todettu lisäävän heksanaalin muodostumista. Linolihapon hapettumisreaktio käynnistyy yli 20 °C:n lämpötiloissa ja heksanaalin määrä on korkeimmillaan 40–50 °C:n alueella. Korkeammassa lämpötiloissa heksanaali alkaa hajota tai hapettumisreaktioita heksanaalin muodostumiseksi ei tapahdu. Lähes kaikki paperissa hajua aiheuttavat haihtuvat yhdisteet, aldehydit, ketonit ja alkoholit muodostuvat erilaisten rasvahappojen hapettuessa. (Donetzhuber, Johansson, Lövgren & Sarin 1999, 48-60, Räsänen 2004, 11-12 mukaan.)

### 2.3 Paperin haihtuvien yhdisteiden ominaishajut

Dimetyyli- ja trimetyyliamiinin ominaishajuiksi on ilmoitettu pistävä, kalan tai ammoniakkin kaltainen haju (Amoore & Hautala 1981, 272–290, Karvisen 2007, 50 mukaan). Alkoolien haju on luokiteltu makeaksi ja liuotinmaiseksi. Pentanaali ja muut aldehydit aiheuttavat paperiin makeaa, tunkkaista, ruohoista, terävää ja sienimäistä hajua. Ketoni-haju paperissa on terävä ja tunkkainen. Hiilihydraatit aiheuttavat paperissa liuottimen ja lakan kaltaista hajua. (Ristolainen 2004, 22.) Standardien testauksessa käytettiin UPM:n Yes Silver multifunction-kopiointipaperia, jonka neliömassa on 80 g/m<sup>2</sup> (UPM Kymmene 2012). Paperista tutkittaessa havaitut haju olivat liima, liuotin, maali, kalan

haju ja mädäntynyt. Haju oli melko voimakas ja erottui paperista selvästi vielä viikkoja riisin avaamisen jälkeen.

### 3 ANALYYSIMENETELMÄT HAIHTUVIEN YHDISTEIDEN TUNNISTAMISEEN

#### 3.1 Kaasukromatografimassaspektrometri

##### 3.1.1 Toimintaperiaate

Kaasukromatografian ja massaspektrometrian analyttiset ominaisuudet on yhdistetty kaasukromatografi-massaspektrometrissa (GC/MS). Kaasukromatografiassa yhdisteet erottuvat kiinteän faasin ja liikkuvan faasin vuorovaikutuksessa. Kiinteänä faasina toimii kolonnin sisällä oleva stationäärifaasikerros ja liikkuvana faasina toimii kolonnin läpi virtaava kantajakaasu. Menetelmää käytetään sellaisten orgaanisten yhdisteiden analysointiin, jotka ovat höyrystyviä mutta eivät hajoa höyrystyessään. Näytteen molekyylit tarttuvat kolonnin sisäpinnalla olevaan stationäärifaasiin ja irtoavat siitä adsorptiokykynsä mukaisessa järjestyksessä. Molekyylin adsorptiokyky määräytyy sen höyrönpaineen ja liukoisuuden perusteella. Yhdisteet erottuvat usein kiehumispisteidensä mukaisessa järjestyksessä, mutta myös stationäärifaasin ominaisuudet, esim. poolisuus voi vaikuttaa järjestykseen. (Jaarinen & Niiranen 2008, 183.)

##### 3.1.2 Injektointi

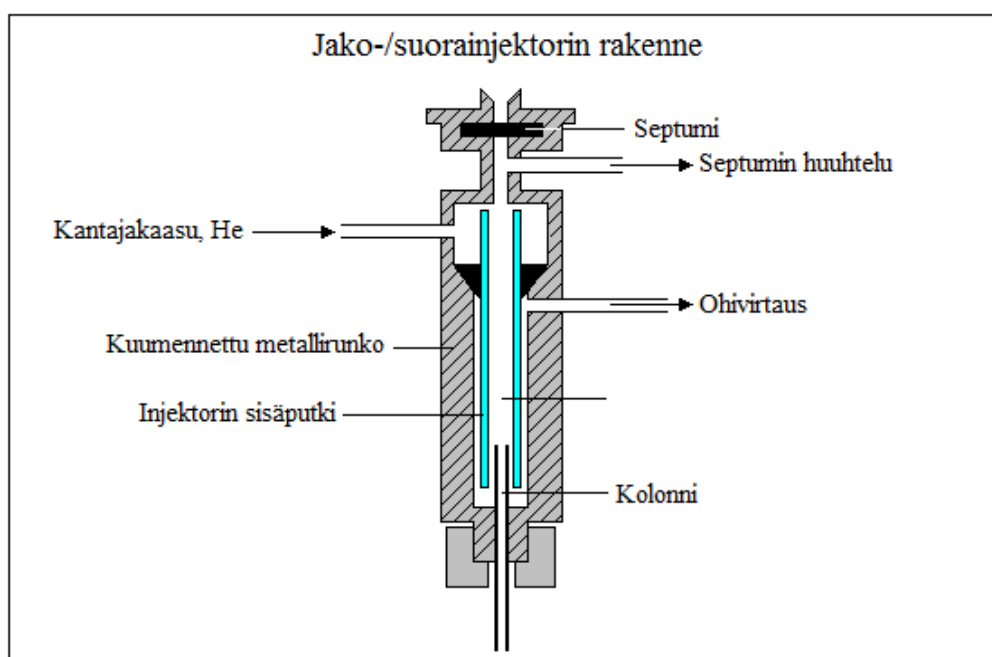
Näyte syötetään injektoriin, jonka lämpötila on säädetty erotettavien yhdisteiden höyrystymislämpötilan mukaisesti. Injektorissa näyte höyrystyy ja kulkeutuu kantajakaasun mukana kaasukromatografian uunissa sijaitsevaan kolonniin. Kolonnin lämpötila säädetään uunin lämpötilaa muuttamalla. Yhdisteiden höyrystyminen ja niiden adsorboituminen stationäärifaasiin riippuu kolonnin lämpötilasta ja stationäärifaasin materiaalista. (Jaarinen & Niiranen 2008, 183.)

Näyte voidaan injektoida kolonniin kolmella eri tavalla. Jakoinjektiossa (split injection, kuva 3) vain osa injektoidusta näytteestä menee kolonniin, loppu kulkeutuu kantajakaasun mukana ohivirtauksena jakoventtiilin kautta pois. Injektointitapa soveltuu hyvin lämpöä kestäville ja näytteille, joilla on suuri pitoisuus. Näyte injektoidaan neulalla septumin läpi injektorin lasiseen sisäputkeen. Injektorin lämpötila säädetään niin korkeaksi, että koko näytemäärä höyrystyy. Septumi estää kantajakaasun vuotamisen kimmoisan pintansa avulla. Septumin alapintaa huuhdellaan kantajakaasulla, jotta septumi puhdis-

tuu ja vältytään kontaminaatioilta. Injektorin sisäputkesta näyte virtaa kantajakaasun mukana jakoventtiilille. Jakoventtiilin kautta suurin osa kaasusta virtaa jätteenä kaasun-suodattimelle. Jakoinjektiosuhteen mukaan säädetty näytemäärä menee kolonniin. Injektorille syötetystä kokonaiskaasuvirtauksesta osa huuhtelee septumia, loppuosaan sekoittuu höyrystynyt näyte ja tästä vielä suurin osa kulkeutuu jakoventtiilin kautta pois. (Jaarinen & Niiranen 2008, 187–189; SGE Analytical Science Pty Ltd 2012.)

Suorainjektiossa injektorin rakenne on samanlainen kuin jakoinjektorin. Jakoventtiili pidetään suorainjektiossa suljettuna injektioinnin ajan ja sen jälkeen niin kauan kunnes lähes kaikki näyte on mennyt kolonniin, jolloin se avataan. Osa kantajakaasusta huuhtelee septumin alapintaa, loppu kuljettaa näytettä kolonniin niin kauan kunnes jakoventtiili avataan. Höyrystynyt näyte tiivistyy kolonnin alkuosaan jossa se konsentroituu kantajakaasun kuljettaessa liuotinta eteenpäin. Liuottimen haihduttua jakoventtiili avataan ja konsentroitunutta näytettä aletaan erotella kolonnin lämpötilaohjelman edetessä. Suorainjektio soveltuu pienille näytemäärille. (Jaarinen & Niiranen 2008, 187–189; SGE Analytical Science Pty Ltd 2012.)

Kolonniin injektiossa näyte injektoidaan höyrystämättä kokonaisuudessaan suoraan kolonniin. Tämä injektointitapa soveltuu näytteille, jotka eivät kestä korkeita lämpötiloja vaativaa höyrystämistä. (Jaarinen & Niiranen 2008, 189; SGE Analytical Science Pty Ltd 2012.)



KUVA 3. Injektorin rakenne (Sheffield Hallam University 2012, muokattu)

### 3.1.3 Yhdisteiden erottelu ja detektointi

Kaasukromatografimassaspektrometrissä (GC/MS) detektorina on massaspektrometri. Kaasukromatografi erottaa yhdisteet toisistaan ja massaspektrometri tunnistaa spektreihin. Kvantitointi tapahtuu yleensä sisäisen standardin tai kalibraatiosuoran perusteella. Kolonnilta tulevat yhdisteet ionisoidaan useimmiten elektronipommituksella ionisaattorissa, myös kemiallista ionisointia voidaan käyttää. (Jaarinen & Niiranen 2008, 124.)

Ionisaattorin hehkulangasta eli filamentista irtoaa korkeissa lämpötiloissa elektroneja. Elektronien liikevauhtia kiihdytetään jännitteellä sähkökentässä. Kiihdytettäessä elektronit saavat liike-energiaa ja niillä pommitetaan näytemolekyylejä. Molekyyli menettää elektronin jolloin syntyy positiivinen radikaali, joka ohjautuu positiivisesti varautuneen repellerin ansiosta kohti massa-analysaattoria. Radikaaliin jäänyt energiaylimäärä mahdollistaa positiivisen molekyylin sidosten katkeamisen ja ioni hajoaa massafragmenteiksi. Mikäli elektronien kiihdytykseen on käytetty suurta jännitettä, esim. 70 V, ylimääräistä energiaa jää niin paljon, että massafragmentit voivat hajota edelleen pienemmiksi osiksi. Itse massaspektri syntyy tästä tapahtumasta, spektrissä näkyy ensin isommat massafragmentit. Edettäessä spektrissä pienemmille massaluvuille havaitaan isompien massafragmenttien hajoaminen pienemmiksi osiksi uusina piikkeinä (kuva 6). (Suomela 2006, 8; Jaarinen & Niiranen 2008, 122–129.)

Massa-analysaattoreista yleisin on kvadrupolianaalysaattori, jossa neljä yhdensuuntaista, sähköisesti toisiinsa kytkettyä sauvaa ohjaavat ionien kulkua. Sauvojen jännitettä vaihdellaan ja tietyn massaluvun omaavat ionit pääsevät lentämään kvadrupolisauvaston läpi. Jännitettä vaihtelemalla kaikki ionit saadaan lentämään sauvaston läpi detektorille. Mitä kauemmin ionit pysyvät analysaattorissa, sitä tarkemmin ne saadaan eroteltua. Sauvaston jälkeen ionit lentävät detektorin elektronimonistimelle, jossa ne irrottavat elektroneja. Elektronit lentävät eteenpäin elektronimonistimessa ja törmätessään seinämiin monistuvat. Elektronimonistimen päästä ulostuleva signaali vahvistetaan ja se on verrannollinen analysaattorin läpi tulevien ionien määrään. Detektorilla voidaan tunnistaa ainoastaan positiivisesti varautuneita molekyylejä. Tämän vuoksi ennen detektoria sijoitetaan poikkeutuslevy, joka ohjaa neutraalit ja negatiivisesti varautuneet ionit detek-

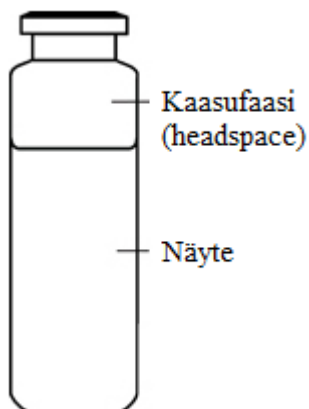


torista pois päin. Detektorille päätyessään ne aiheuttaisivat kohinaa ja detektorin likaantumista. (Jaarinen & Niiranen 2008, 122–129.)

### 3.2 Headspace-tekniikka

Headspace on kaasukromatografiassa käytetty tekniikka, jolla voidaan tutkia haihtuvia yhdisteitä kiinteistä, nestemäisistä tai kaasumaisista näytteistä. Sanalla headspace tarkoitetaan näytepullon (kuva 4) yläosassa olevaa kaasufaasia, joka syntyy kuumennettaessa haihtuvaa yhdistettä sisältävää näytettä suljetussa pullossa. Tekniikalla tutkitaan erityisesti kevyitä ja suhteellisen matalassa lämpötilassa höyrystyviä yhdisteitä, jotka erottuvat helposti erilliseksi kaasufaasiksi nestemäisistä, kiinteistä tai kaasumaisista näytematriiseista. Korkeassa lämpötilassa haihtuvia tai osittain haihtuvia yhdisteitä ei voida tutkia niiden vaikean erottumisen vuoksi. (SMI-LabHut 2012.)

Vaikeat näytteet, jotka ennen analysointia muuten vaatisivat uuttamista tai muuta esikäsittelyä, on helppo tutkia headspace-menetelmällä, sillä näytteet voidaan analysoida sellaisenaan tai hyvin vähäisellä esikäsittelyllä (SMI-LabHut 2012). Headspace-tekniikan etuna on myös, että sillä kyetään tutkimaan hyvin pieniä määriä analyyyttiä suuresta näytematriisista. Menetelmä suojaa GC/MS:a epäpuhtauksilta, kun koko näytematriisia ei tarvitse injektoida kolonniin. Headspace-tekniikkaa voidaan käyttää monissa sovelluksissa, yleisimmin käytetään kuitenkin kaasukromatografiassa, sillä kaasukromatografit soveltuvat parhaiten kaasujen analysointiin. (Kolb & Ettre 1997, 3.)



KUVA 4. Headspace-pullo (SMI-LabHut 2012, muokattu)

Headspace-tekniikassa näyte esikäsitellään tai laitetaan sellaisenaan suljettuun näytepulloon. Näytepulloa lämmitetään halutussa lämpötilassa tietyn ajan, kunnes muodostuu

tasapainotila pullon pohjalla olevan näytteen ja sen yläpuolella olevan kaasutilan välille. Tällöin näytteen sisältämät haihtuvat yhdisteet vapautuvat pullon yläosassa olevaan kaasutilaan. Yhdisteiden konsentraatio kaasufaasissa riippuu niiden osapaineista, joihin voidaan vaikuttaa mm. lämpötilalla. Kaasu erotetaan näytepullosta ja se kulkeutuu GC/MS:n injektorille ja kolonniin. Näytteen siirtäminen voidaan suorittaa joko manuaalisesti kaasutiiviillä ruiskulla tai automaattisesti, jolloin näytepullon painetta tasataan ja näyte siirretään siirtolinjaa pitkin GC:lle. (Kolb & Ettre 1997, 2-7; Suomela 2006, 8.)

Staattinen headspace-analyysi on verrattavissa nesteuttoon, uuttavana komponenttina on nesteen sijasta kaasu, sillä haihtuvat yhdisteet uuttuvat parhaiten kaasuun. Staattisella headspace-analyysillä tarkoitetaan menetelmää, jossa näyte kuumennetaan pullossa ensin lämpötilaan, jossa faasien välille muodostuu tasapaino ja lopuksi injektoidaan kaasufaasi GC-ajoon. Dynaamisessa headspace-analyysissä kaasua kerätään jatkuvasti kuumennuksen aikana ja tasapainoa ei missään vaiheessa saavuteta. (Kolb & Ettre 1997, 3-4.) Tässä työssä viitattaessa headspaceen tarkoitetaan staattista headspace-analyysiä.

#### 4 TYÖN TAVOITTEET

Tavoitteena oli löytää yhdiste, joka rakenteensa ja ominaisuuksiensa perusteella käyttäytyy näytteessä haisevien yhdisteiden tavoin. Rakenteen tulee kuitenkin olla riittävän erilainen, jotta se erottuu kromatogrammissa erilleen tutkittavista yhdisteistä. Kyseisen menetelmän kehitys oli UPM:n tutkimuskeskuksessa aloitettu aiemmin. Aiemmin testatut yhdisteet eivät kuitenkaan soveltuneet standardeiksi huonon erottumisensa tai epäso- pivan retentioajan vuoksi.

Tarkoituksena oli etsiä yhdiste, joka korreloisi riittävän luotettavasti paperissa esiintyvi- en haihtuvien yhdisteiden määrää. Samalla standardilla oli myös tarkoitus arvioida lait- teen toimintakuntoa. Kyseisestä standardista oli tarkoitus ajaa tunnettuja pitoisuuksia tasaisin väliajoin, ja piikin pinta-alan muutosta seuraamalla tutkia detektorin vasteen muutosta.

## 4 MENETELMÄN KEHITYS JA TULOKSET

### 4.1 Käytetyt ajo-olosuhteet

Opinnäytetyön kokeellinen osuus suoritettiin Agilentin 7890A-kaasukromatografilla, jossa oli detektorina 5975C-massaspektrometri ja näytteensyöttäjänä G1888-headspace-näytteensyöttäjä (kuva 5). Laitteistoa ohjataan Agilent Headspace Control Software B.01.03 for MSD Chemstation-ohjelmistolla. Kolonnina GC/MS:ssa on HP-5MS-kolonne, jonka pituus on 30 metriä, halkaisija 0,25 mm ja stationäärifaasin paksuus 0,25  $\mu\text{m}$ . Kolonnissa on stationäärifaasina pooliton (5 % -fenyyli)metyylipolysiloksaani. (Agilent Technologies 2000–2012). GC/MS:n tunnistamia massaspektrejä verrattiin kaupalliseen NIST '08-massaspektritietokantaan.



KUVA 5. Vasemmalta oikealle Agilentin G1888-headspace-näytteensyöttäjä, 5975C-massaspektrometri ja 7890A-kaasukromatografi. Kaasunsiirtolinja menee HS-näytteensyöttäjältä kaasukromatografille. (Kuva: Emilia Viitikko 2012)

Testattavien standardien erilaisten kiehumispisteiden vuoksi jouduttiin standardeja ajettaessa käyttämään kummallakin eri lämpötiloja headspace-uunissa. Standardi A:ta ajettaessa headspaceuunin lämpötila säädettiin 80 °C:een ja standardi B:tä ajettaessa 100 °C:een. Kaasukromatografimassaspektrometrin injektorin jakosuhteeksi säädettiin 20:1, jolloin 1/20 injektoidusta näytteestä menee kolonniin, loppu kulkeutuu kantajakaasun ohivirtauksen mukana jakoventtiilin kautta pois. Kaikki ajoparametrit on esitetty taulukossa 1.

TAULUKKO 1. Ajoparametrit headspace-näytteensyöttäjälle ja GC:lle

Headspace-näytteensyöttäjä	
Näytteen tasapainotuslämpötila	120 °C /100 °C /80 °C
Tasapainotusaika	60 min
GC-syklin kesto	65 min
Kaasinsiirtolinjan lämpötila	175 °C
Paineistusaika	30 s
Luupin täyttöaika	0,2 min
Luupin tasapainotusaika	0,2 min
Luupin lämpötila	150 °C
Injektointiaika	1,0 min
Luupin tilavuus	3 ml
GC	
Injektion jakosuhte	1:20
Injektorin lämpötila	250 °C
GC-uunin lämpötilaohjelma	40 °C 4 min 5 °C/min 150 °C:een 15 °C/min 300 °C:een 300 °C 15 min
Kantajakaasu	Helium

Näytteen tasapainotuslämpötilalla tarkoitetaan sitä lämpötilaa, jossa näytettä kuumennetaan HS-uunissa. Tasapainotusaika kuvaa kuumennuksen kestoja. GC-syklin kesto on ohjelman itse laskema aika, jonka perusteella ohjelma laskee, milloin seuraava näyte otetaan kuumennettavaksi uuniin, jottei GC/MSD:n tarvitse odotella näytteitä. HS-uuniin voidaan siis ottaa useita näytteitä ja näytteet kuumennetaan niin, että ne siirtyvät GC/MSD:lle ajon heti kuumennuksen jälkeen. Siirtolinjan, jota pitkin näyte siirtyy HS-näytteensyöttäjältä GC/MSD:lle, lämpötila säädettiin 175 °C:een. Näytteen kuumennuksen jälkeen, ennen injektointia, näytepulloa paineistetaan 30 sekunnin ajan. Luuppi täyttyy 0,2 minuutissa, jonka jälkeen sitä tasapainotetaan 0,2 minuuttia ennen näytteen siirtoa GC/MSD:lle. Luupin lämpötila on säädetty 150 °C:een ja sen tilavuus on 3 ml. Luupin täytön ja tasapainotuksen jälkeen näytettä injektoidaan GC/MSD:lle 1 minuutin ajan.

GC/MSD:lla injektio jakosuhteena käytetään 1:20 ja injektorin lämpötila on säädetty 250 °C:een näytteen höyryttämiseksi. Näytteitä ajettaessa lämpötilaohjelmalla käytetään taulukossa lueteltua ohjelmaa. Koska standardeja testattaessa ainoastaan standardipiikki oli merkittävä, lämpötilaohjelmaa lyhennettiin. Molemmat standardit erottuivat lämpötilaohjelman ensimmäisessä vaiheessa eli 4 minuutin aikana, joten ohjelman loppuosaa lyhennettiin nopeuttamalla lämpötilan nousua 300 °C:een.

## 4.2 Paperissa esiintyvien haihtuvien yhdisteiden kvalitatiivinen tunnistaminen

Paperista erottuvia yhdisteitä ja niiden haihtumista tutkittiin ajamalla UPM Yes Silver multifunction-kopiopaperia suoraan riisistä ottamisen jälkeen ja kuumennuksen jälkeen. Paperin pinta-ala mitattiin ja se punnittiin ja laitettiin välittömästi headspacen näytepulloon. Tutkittiin yhdisteiden haihtumista kuumennuksessa kuumentamalla paperia 150 °C:ssa lämpökaapissa kolmen tunnin ajan. Tämän jälkeen paperin pinta-ala mitattiin ja se punnittiin. Paperinäytteet ajettiin samalla menetelmällä kuin standardit. Kaikki kromatogrammit on listattu liitteisiin 6-8. Kuumentamattoman ja kuumennetun paperin kromatogrammit ovat liitteissä 6 ja 7.

## 4.3 Standardien testauksen alkuvaiheet

Oikean pitoisuustason selvittämiseksi standardeja ajettiin aluksi laimentamattomina pieniä määriä HS-GC/MSD:llä, jotta nähtiin, millä retentioajalla yhdiste erottuu. Laimentamattomasta yhdisteestä erottuneen piikin koon perusteella arvioitiin sopiva laimennuskerroin, jotta standardista erottuvan piikin pinta-alassa ja korkeudessa päästään samalle alueelle paperista erottuvien yhdisteiden kanssa (liite 8). Näytteitä analysoidaan erilaisilla menetelmillä, joissa HS-uunin lämpötila on 80 °C, 100 °C tai 120 °C. Lämpötilan muuttuminen vaikuttaa huomattavasti näytteistä erottuvien piikkien kokoihin. Laboratoriossa aiemmin ajetuista näytteistä ei ollut tiedossa käytettyä HS-uunin lämpötilaa. Tämä vaikeutti oikean pitoisuustason määrittämistä. Arvioitiin, että näytteiden piikkien pinta-alat ovat pääasiassa muutaman miljoonan luokkaa, joten pyrittiin laimentamaan standardit niin, että niistä erottuvat piikit ovat samaa suuruusluokkaa. Ensimmäisenä testattu standardi A laimennettiin ottamalla standardia 0,5 ml ja laimentamalla metanolilla 50 ml:ksi (100x-laimennus). Tätä laimennusta otettiin ajoon 1, 5 ja 10 µl. Kaikissa opinnäytetyön HS-GC/MSD-ajoissa jokaisesta näytteestä tehtiin aina vähintään kolme rinnakkaismääritystä. Annostelu headspacen näytepulloihin suoritettiin 5 µl:n kapillaariruiskulla.

Standardi A:n piikkien todettiin olevan liian suuria paperista erottuvien yhdisteiden piikkeihin verrattuna, joten laimennuskerroin vaihdettiin suuremmaksi. A erottui kromatogrammissa toivottua lyhyemmällä retentioajalla. Epäsopivan retentioajan vuoksi alettiin etsiä uutta standardia, A:n testausta kuitenkin jatkettiin. Huonosti erottuvia piikkejä saadaan kromatogrammista paremmin esiin ns. ionien erottelutoiminnolla (SIM,

selective ion monitoring), jossa kromatogrammista voidaan hakea kaikki tietyn moolimassan omaavat yhdisteet ja hävittää muut, jolloin huonosti erottuvat ja pienet piikit erottuvat selvästi suurempien, erimassaisten piikkien hävitessä. Normaalisti piikit integroidaan kokonais-ionikromatogrammista (TIC, total ion chromatogram), jossa näkyy kaikki näytteestä erottuneet, erimassaiset yhdisteet. SIM-toiminnolla voidaan erottaa erimassaiset molekyylit toisistaan, vaikka niiden piikit osuisivat TIC-kromatogrammiin päällekkäin.

#### 4.4 Standardisuorat

Standardi A:sta tehtiin toinen laimennus, johon otettiin 0,5 ml standardia ja laimennettiin metanolilla 50 ml:ksi. Tätä välilaimennusta otettiin 1 ml ja laimennettiin metanolilla 250 ml:ksi (25000x-laimennus). Tästä liuksesta otettiin ajoon, 5, 10, 15, 20 ja 25 µl standardisuoraa varten. Annostelu tehtiin 5 µl:n ja 10 µl:n kapillaariruiskuilla.

Standardisuorien teossa ja tulosten laskennassa standardin massa näytepullossa on laskettu seuraavilla kaavoilla:

$$\frac{\delta * V_1}{V_2} * 1000 = c_1 , \quad (1)$$

jossa

$\delta$  = standardin tiheys, g/cm<sup>3</sup>

$V_1$  = standardia otettu laimennukseen, ml

$V_2$  = tilavuus, johon standardi on laimennettu, ml

$c_1$  = laimennuksen pitoisuus, g/l

$$\frac{c_1 * V_3}{V_4} = c_2 , \quad (2)$$

jossa

$V_3$  = välilaimennusta pipetoitu, ml

$V_4$  = tilavuus, johon standardi on laimennettu, ml

$c_2$  = laimennuksen pitoisuus, g/l

$$c_2 * V_5 = m , \quad (3)$$

jossa

$V_5$  = tilavuus, joka standardin laimennusta on annosteltu näytepulloon, l

$m$  = standardin massa näytepullossa, g

Standardisuorasta ei tullut lineaarinen, tulokset eivät kasvaneet lineaarisesti ja rinnakkaismäärityksissä oli hajontaa. Arveltiin virheen johtuvan kapillaariruiskun käytöstä ja etenkin suurimmilla standardeilla käytetystä toistuvasta annostelusta yhden näytteen kohdalla. Koska yhdiste on helposti haihtuvaa, osa pulloon jo annostellusta standardista ehtii annostelun aikana haihtua ennen korkin sulkemista. Suora uusittiin ja pyrittiin nopeuttamaan standardin käsittelyä annostelun yhteydessä. Otettiin käyttöön automaattipipetti, jolla saatiin suurimmat tilavuudet mitattua kerralla.

Uusitusta suorasta ei tullut lineaarinen, rinnakkaismääritysten välillä ja tulosten lineaarisuudessa oli eniten hajontaa suurimpien tilavuuksien kohdalla. Otettiin suuremmille tilavuuksille soveltuva kapillaariruisku käyttöön. Standardisuoran onnistuminen 25000x-laimennoksella oli epätodennäköistä, joten tehtiin väkevämpiä laimennoksia, ja tutkittiin, mikä on A:n standardisuoran alin pitoisuus josta alkava standardisuora olisi lineaarinen. Myös toisen tutkittavan yhdisteen, standardi B:n kohdalla oli sama tilanne, suurten laimennosten ja annosteluongelmien kautta päädyttiin kokeilemaan väkevämpää laimennosta. Myös standardi B laimennettiin metanolilla.

Standardi A:sta tehtiin laimennus ottamalla 0,5 ml standardia ja laimentamalla se 50 ml:ksi. Tätä välilaimennosta otettiin 5 ml ja laimennettiin metanolilla 50 ml:ksi (1000x-laimennus). 1000x-metanolilaimennusta otettiin ajoin 2, 5, 10 ja 20 µl. Annostelu suoritettiin tällä kertaa 5 µl:n ja 10–100 µl:n kapillaariruiskuilla. Standardisuoran korrelaatiokertoimeksi saatiin 0,9986. Rinnakkaismäärityksistä piirrettyssä suorassa piikin pinta-ala on standardin massan funktiona. Korrelaatiokertoimella (Pearsonin korrelaatiokerroin)  $R$ , kuvataan kahden muuttujan välistä riippuvuutta. Luvun ollessa lähellä  $-1$  tai  $+1$ , muuttujien välillä on suuri riippuvuus. Korrelaatiokerrointa käytetään yhtenä kriteerinä standardisuoran lineaarisuuden arvioinnissa. Arvioitaessa nousevaa standardisuoraa korrelaatiokertoimen tulisi olla vähintään 0,99.

B:n kohdalla standardisuora tehtiin laimentamalla ensin 0,5 ml standardia 50 ml:ksi metanolilla. Tätä välilaimennusta otettiin 2 ml ja laimennettiin metanolilla 50 ml:ksi (2500x-laimennus). Tätä laimennusta otettiin ajoin 5, 10, 15, 20 ja 30 µl. Standardisuoran korrelaatiokertoimeksi saatiin 0,9981 otettaessa suoralle neljä pistettä, 10–30 µl (liite 1).



#### 4.5 Standardisuorat paperin kanssa

Koska standardia on tarkoitus ajaa paperinäytteiden kanssa, A- ja B-standardien standardisuorat toistettiin paperin kanssa. Headspace-näytepulloon punnittiin noin 2 g kuumentamatonta kopiopaperia, jonka pinta-ala oli mitattu ja lisättiin edellä mainitut tilavuudet standardia. Standardi A:n 1000x-standardisuoran korrelaatiokertoimeksi saatiin 0,9982 (liite 2). Varsinaisissa näytteissä tutkittavien yhdisteiden piikkien pinta-alat ovat muutaman miljoonan luokkaa, joten 1000x-metanolilaimennus A:sta on liian väkevä. Standardi B ei erottunut paperista kunnolla, vaan piikit olivat pieniä ja tulokset eivät kasvaneet lineaarisesti (liite 3). Tämän vuoksi B:n testaus lopetettiin.

#### 4.6 Standardi A:n oikean pitoisuustason selvittäminen

Standardi A:n 25000x-laimennuksen standardisuora uusittiin nopeuttamalla käsittelyn eri vaiheita. Lisäksi mahdollisimman matalan määritysrajan saavuttamiseksi tehtiin standardisuora myös 50000x-laimennuksesta. 25000x-laimennus laimennettiin vielä ottamalla 5 ml laimennusta ja laimentamalla se 10 ml:ksi metanolilla. Molemmat suorat tehtiin paperin kanssa, 50000x-laimennusta otettiin ajoon 5 µl, 10 µl, 15 µl, 20 µl ja 25 µl ja 25000x-laimennusta 10 µl, 15 µl, 20 µl, 25 µl, 30 µl, 35 µl, 40 µl ja 60 µl. Tarkoituksena oli myös arvioida laimentamisen ja annostelun aiheuttaman virheen eroja.

50000x-laimennuksesta ei saatu lineaarista suoraa, mutta annostelun nopeuttaminen paransi standardi A:n tulosten lineaarisuutta niin, että 25000x-laimennuksen TIC-kromatogrammeista saatiin muodostettua standardisuora pisteillä 10 µl, 15 µl, 25 µl, 35 µl ja 40 µl. Suoran korrelaatiokertoimeksi saatiin 0,9952. SIM-kromatogrammeista tehdyille suoralle saatiin korrelaatiokerroin 0,9958 kaikilla ajossa olleilla pisteillä. Suora uusittiin vielä pienillä tilavuuksilla. Ajoon otettiin 1, 2, 3, 4 ja 5 µl. Tulokset eivät kasvaneet lineaarisesti, luotettavaa standardisuoraa ei saatu muodostettua. Lopulliseksi standardisuoraksi jäi 25000x-laimennuksen suora, josta otettiin ajoon 10 µl, 15 µl, 25 µl, 35 µl ja 40 µl (liite 4).

Näytteistä ei ole tarkoitus laskea tuloksia vertaamalla piikkejä standardisuoraan, vaan lisäämällä näytteeseen ennen ajoa tunnettu määrä standardi A:ta ja vertaamalla sen piikin pinta-alaa näytteen piikkeihin. Verrattaessa TIC- ja SIM-kromatogrammin pinta-aloja havaitaan, että A:n kanssa samalla retentioajalla erottuu muitakin yhdisteitä. SIM-

kromatogrammista saadaan A:n todellinen pinta-ala. Standardisuoria arvioidessa keskiytettiin kuitenkin TIC-kromatogrammien pinta-aloihin, sillä todellisia näytteitä ajettaessa tulosten käsittelyssä käytetään TIC-toimintoa. Todettiin, että 25000x-laimennus on suuruusluokaltaan näytteisiin nähden sopiva ja tuottavan lineaarisia tuloksia. Siirryttiin anostelutilavuuden ja erottumisen toistettavuuden määrittämiseen.

#### 4.7 Toistettavuuden määrittäminen

Standardi A:n 25000x-laimennuksesta ajettiin useita toistoja kahdesta eri tilavuudesta toistettavuuden selvittämiseksi. Tulokset on listattu taulukossa 2. Ajettaessa 4 µl:n viimeistä toistonäytettä headspace-uunin häiriön vuoksi näyte kuumennettiin kaksi kertaa ennen näytteen injektointia, jonka vuoksi nämä tulokset jouduttiin hylkäämään.

TAULUKKO 2. Tulokset toistettavuuden testauksesta

Standardi A: 25000x-laimennus josta paperin kanssa ajoon 4 µl ja 25 µl						
Standardin tilavuus, µl	Standardia, µg	Paperin määrä, g	Piikin pinta-ala			
			TIC	SIM		
4	0,13952	2,0666	1 223 218	28 407		
			2,0720	1 109 212	38 413	
			2,0312	1 236 819	23 984	
			2,0695	1 233 107	34 601	
			2,0846	1 307 187	23 525	
			2,0786	1 709 986	20 392	
			2,0628	1 627 608	31 442	
			2,0610	1 500 800	34 750	
			2,0801	1 628 186	29 239	
			2,0714	*	*	
<b>Keskiarvo</b>			<b>1 397 347</b>	<b>29 417</b>		
<b>Keskihajonta</b>			<b>220 502</b>	<b>5 990</b>		
<b>Hajontaprosentti (keskihajonta/keskiarvo)*100</b>			<b>15,78</b>	<b>20,36</b>		
25	0,872	2,0946	3 550 842	204 461		
			2,0667	3 829 839	203 335	
			2,0831	3 707 983	232 858	
			2,0832	3 760 911	211 889	
			2,0857	3 564 238	206 196	
			2,0740	3 828 240	226 651	
			2,0793	3 407 199	182 099	
			2,0820	3 328 057	204 752	
			2,0681	3 586 654	189 508	
			2,0858	3 644 174	199 550	
<b>Keskiarvo</b>			<b>3 620 814</b>	<b>206 130</b>		
<b>Keskihajonta</b>			<b>168 355</b>	<b>15 196</b>		
<b>Hajontaprosentti (keskihajonta/keskiarvo)*100</b>			<b>4,65</b>	<b>7,37</b>		

Todettiin 25 µl tulosten olevan toistettavampia, virheprosentti on sekä TIC- että SIM-kromatogrammissa alle 10, joten näytteeseen lisättäväksi tilavuudeksi valittiin 25 µl.

#### 4.8 Lämpötilan vaikutus

Koska todellisia näytteitä ajetaan näytemateriaalista riippuen joko 80 °C:ssa, 100 °C:ssa tai 120 °C:ssa, myös standardi A:n erottumista tutkittiin näissä olosuhteissa. Standardista tehtiin samanlaiset toistomittaukset kuin edellä muuttamalla headspace-uunin lämpötila. Tulokset on listattu taulukkoon 3.

TAULUKKO 3. Lämpötilan vaikutus standardi A:n erottumiseen

Standardi A: 25000x-laimennus, josta ajoon 25 µl									
	80 °C			100 °C			120 °C		
Standardin massa, µg	Paperin määrä, g	Piikin pinta-ala, TIC	Piikin pinta-ala, SIM	Paperin määrä, g	Piikin pinta-ala, TIC	Piikin pinta-ala, SIM	Paperin määrä, g	Piikin pinta-ala, TIC	Piikin pinta-ala, SIM
0,872	2,0946	3 550 842	204 461	2,0949	5 238 030	94 307	2,0785	8 782 431	35 217
	2,0667	3 829 839	203 335	2,0860	5 253 075	124 365	2,0412		*
	2,0831	3 707 983	232 858	2,0907	5 515 528	127 605	2,0922	10 401 229	30 475
	2,0832	3 760 911	211 889	2,0390	5 471 782	122 270	2,0389	10 215 387	32 818
	2,0857	3 564 238	206 196	2,1115	5 503 175	131 403	2,0521	10 604 979	32 853
	2,0740	3 828 240	226 651	2,0724	5 029 129	105 494	2,0874	10 495 414	42 481
	2,0793	3 407 199	182 099	2,0615	5 016 540	107 848	2,0587	10 248 079	41 620
	2,0820	3 328 057	204 752	2,0331	5 021 534	117 918	2,0663	10 096 730	36 775
	2,0681	3 586 654	189 508	2,0537	4 593 451	108 208	2,0452	10 350 663	48 220
	2,0858	3 644 174	199 550	2,0597	4 922 392	115 552	2,0479	10 436 537	43 644
<b>Keskiarvo</b>		<b>3 620 814</b>	<b>206 130</b>		<b>5 156 464</b>	<b>115 497</b>		<b>10 181 272</b>	<b>38 234</b>
<b>Keskihajonta</b>		<b>168355</b>	<b>15196</b>		<b>296333</b>	<b>11502</b>		<b>546578</b>	<b>6002</b>
<b>Hajontaprosentti (keskihajonta/keskiarvo)*100</b>		<b>4,65</b>	<b>7,37</b>		<b>5,75</b>	<b>9,96</b>		<b>5,37</b>	<b>15,70</b>

\* Split-suhde vaihdettiin 1:1 erottumisen parantamiseksi, piikki ei erottunut, ei voitu integroida

Taulukosta 3 nähdään, että TIC-kromatogrammien osalta virheprosentti on kaikissa lämpötiloissa alle 10, joka on riittävän pieni tulosten luotettavuuden toteamiseksi. 120 °C:n lämpötilassa SIM-kromatogrammin virheprosentti on niin suuri, että tulokset ovat ainoastaan suuntaa antavia. 120 °C:een lämpötiloja käytetään näytteiden ajossa kuitenkin harvoin, joten toistettavuustaso todettiin riittävän hyväksi näytteiden ajoon, koska haettiin semikvantitatiivista menetelmää.

#### 4.9 Standardiliuosten säilyvyys

Etsittävän standardin tarkoituksena on toimia myös laitteen kuntoa indikoivana yhdisteenä, jota ajetaan tasaisin väliajoin ja seurataan mahdollista piikin pinta-alan muutosta. Tämän vuoksi tutkittiin myös standardien metanolilaimennosten säilymistä 8 päivää aiemmin tehtyä ja ajettua liuosta juuri tehdyn liuoksen kanssa ja vertaamalla niistä erottuvien piikkien pinta-alaa. Laimennos oli säilytetty säilöpullossa, jääkaapissa ajojen välisen ajan. Tulokset on listattu taulukkoon 4.

TAULUKKO 4. Standardi A:n säilyvyys

<b>Standardi A: Standardin säilyvyyden testaus</b>			
<b>25000x-laimennus, josta ajoon 25 µl tuoreena ja 8 päivän säilytyksen jälkeen</b>			
	<b>1. rinnakkaismääritys</b>	<b>2. rinnakkaismääritys</b>	<b>3. rinnakkaismääritys</b>
Vanha liuos, piikin pinta-ala, TIC	2 269 723	2 396 117	2 031 843
Tuoreena ajettu, piikin pinta-ala, TIC	3 550 842	3 829 839	3 707 983
<b>Keskiarvo</b>	<b>2 910 283</b>	<b>3 112 978</b>	<b>2 869 913</b>
<b>Keskihajonta</b>	<b>905888</b>	<b>1013795</b>	<b>1185210</b>
<b>Hajontaprosentti</b>	<b>31,13</b>	<b>32,57</b>	<b>41,30</b>
Vanha liuos, piikin pinta-ala, SIM	179 731	188 531	138 432
Tuoreena ajettu, piikin pinta-ala, SIM	204 461	203 335	232 858
<b>Keskiarvo</b>	<b>192 096</b>	<b>195 933</b>	<b>185 645</b>
<b>Keskihajonta</b>	<b>17487</b>	<b>10468</b>	<b>66769</b>
<b>Hajontaprosentti</b>	<b>9,10</b>	<b>5,34</b>	<b>35,97</b>

Tuloksista nähdään, että 8 päivää vanhan liuoksen piikit ovat pienempiä kuin uusien laimennosten piikit. Liuos ei siis säily jääkaapissa pidettynä.

## 6 POHDINTA

Työssä saavutettiin sille asetettu tavoite, eli löydettiin standardi, jonka avulla voidaan sekä kvantitoida paperissa esiintyvien haihtuvien yhdisteiden määrää että valvoa laitteen toimintakuntoa ajamalla tasaisin väliajoin tunnettua määrää standardia.

Soveltuvaksi standardiksi todettiin standardi A. Standardi A:lle määritettiin lineaariset standardisuorat paperin kanssa 25000x-laimennuskertoimella, TIC-kromatogrammeista tehdyn suoran korrelaatiokertoimeksi saatiin 0,9952 ja SIM-kromatogrammien suoralle 0,9958. Menetelmän toistettavuutta tutkittiin ajamalla kahdesta eri tilavuudesta, 4 µl ja 25 µl useita rinnakkaismääryksiä. Toistettavammaksi annostelutilavuudeksi osoittautui 25 µl, jossa rinnakkaismäärysten hajontaprosentti oli TIC-kromatogrammissa 4,65 ja SIM-kromatogrammissa 7,37. Näytteisiin lisättäväksi tilavuudeksi valittiin 25 µl ja testattiin lämpötilan vaikutusta A:n erottumiseen. Näytteitä ajetaan erilaisissa lämpötiloissa ja standardin on sovelluttava käytettäväksi erilaisissa mittausolosuhteissa. Lämpötilan noustessa 80 °C:sta 100 °C:een toistettavuus pysyy riittävän hyvänä, mutta siirryttäessä 120 °C:een SIM-kromatogrammin hajontaprosentti nousee 15,70:een. Koska näytteitä harvoin ajetaan 120 °C:ssa, todettiin tulosten olevan riittävän luotettavia.

Kehitetyssä menetelmässä näytettä punnitaan headspace-näytepulloon tarkasti noin 2 g ja paperinäytteen ollessa kyseessä sen pinta-ala mitataan. Pulloon lisätään 25 µl A:n 25000x-metanolilaimennusta ja pullo suljetaan välittömästi. Näytematriisista riippuen näytettä ajettaessa HS-uunin lämpötila säädetään 80 °C:seen, 100 °C:seen tai 120 °C:seen. Standardi A:sta erottuvaa piikkiä verrataan näytteestä erottuvien yhdisteiden piikkeihin.

Haasteita työssä aiheutti standardien nopea haihtuvuus sekä annosteluvälineen valinta ja sitä kautta toistettavien määrytysten suorittaminen. Työn alkuvaiheessa havaittiin A:n haihtuvan käytettäessä toistuvaa annostelua kapillaariruiskulla. Myöskään automaattipipetillä annostellessa ei saatu toistettavia tuloksia. Toistettavuus saavutettiin 10–100 µl:n kapillaariruiskulla, jolla saatiin annosteltua tarvittava määrä kerralla headspace-näytepulloon. Kapillaariruisku soveltuu myös automaattipipettiä paremmin haihtuvien yhdisteiden annosteluun.

Pitkiä mittaussarjoja valmisteltaessa kaikki näytepaperit mitattiin ja punnittiin headspace-näytepulloihin ja asetettiin korkki pullon päälle. Tämän jälkeen standardi annosteltiin pulloihin yksitellen ja suljettiin korkki välittömästi standardin lisäyksen jälkeen. Tästä johtuen sarjan loppupään näytteet ehtivät olla ilman kanssa kosketuksissa pidempään kuin alkupään näytteet. Käsittely suoritettiin kuitenkin joka kerta samalla tavalla, joka parantaa toistettavuutta.

Työn toistettavuuden parantamiseksi näytteet tulisi säilyttää ilmalta ja valolta suojaavassa, tiiviissä, suljettavassa pakkauksessa, josta näytteet otettaisiin yksitellen, punnittaisiin ja mitattaisiin ennen headspace-näytepulloon lisäämistä. Tämän jälkeen lisättäisiin standardi näytteeseen heti ja suljettaisiin headspace-pullon korkki tiiviisti. Tämän jälkeen siirryttäisiin seuraavan näytteen käsittelyyn. Jokainen näyte käsiteltäisiin siis yksitellen, jolloin aika, jona näyte joutuu olemaan kosketuksissa ilman kanssa, olisi mahdollisimman pieni. Tämä ei kuitenkaan välttämättä ole käytännössä mahdollista ja hidastaa pitkien sarjojen tekoa huomattavasti. Helpoin tapa toistettavien tulosten saavuttamiseen on säilyttää näytteet suljetuissa pakkauksissa ja tehdä näytteen käsittely sarjoissa, joka kerta samalla tavalla. On myös otettava huomioon, että loppukäyttäjiltä tutkittavaksi tulevissa näytteissä suurin virhe syntyy ennen näytteen saapumista laboratorioon. Mikäli näytteet käsitellään laboratoriossa joka kerta samalla tavalla, suurta lisävirhettä ei synny.

Opinnäytetyölle asetetut perimmäiset tavoitteet saavutettiin ja joillakin osa-alueilla myös ylitettiin. Perimmäisenä tavoitteena oli löytää sisäinen standardi haihtuvien orgaanisten yhdisteiden kvantitointiin ja GC/MSD:n detektorin toimintakyvyn seuraamiseen. Nämä tavoitteet saavutettiin ja toimiva menetelmä saatiin kehitettyä. Menetelmän ja tulosten toistettavuus todettiin useiden rinnakkaismääritysten perusteella. Standardin toimivuutta testattiin erilaisissa mittausolosuhteissa. Myös valmiin standardiliuoksen säilyvyys testattiin ajamalla tuoretta ja jääkaapissa säilöttyä liuosta.

Menetelmä nopeuttaa ja helpottaa tulosten käsittelijän työtä näytteitä analysoitaessa. Tulosten käsittelijän täytyi aiemmin integroida kromatogrammi, tunnistaa sen yhdisteet ja silmämääräisesti arvioida, onko haihtuvia yhdisteitä näytteessä paljon vai vähän. Nyt tulosten käsittelijä integroi kromatogrammin, tunnistaa yhdisteet, syöttää piikkien pinta-alat Excel-taulukkoon ja raportoi Excelin laskemat suhteelliset tulokset eteenpäin. Toistettava ja tulosten käsittelijästä riippumaton tulosten analysointi menetelmä myös paran-

taa tulosten luotettavuutta. Kehitetty menetelmä otetaan heti käyttöön UPM Tutkimuskeskuksella hajuvalitusnäytteiden analysoinnissa, se mahdollistaa uudentyyppisen analyysipalvelun tarjoamisen näytteiden tutkimiseen.

## LÄHTEET

Agilent Technologies. 2000-2012. GC & GC/MS Columns. HP-5ms. Luettu 4.10.2012. <http://www.chem.agilent.com/en-US/Products-Services/Columns-Sample-Preparation/GC-GC-MS-Columns/Capillary/HP-5ms/Pages/default.aspx?cid=4847>

Amoore, J.E. & Hautala, E. Odor as an aid to chemical safety: Odour thresholds compared with threshold limit values and volatilities for 214 industrial chemicals in air and water dilution. *Journal of Applied Toxicology* 6/1983, 3. vuosikerta, 272-290.

Belitz, H.-D., Grosch, W. & Schieberle, P. 2009. *Food Chemistry*. 4. painos. Berlin: Springer

Claeson, A.S., Östin, A. & Sunesson, A.L. Development of a LC-MS/MS method for the analysis of volatile primary and secondary amines as NIT (naphthylisothiocyanate) derivatives. *Anal Bioanal Chem*, 4/2004, 932-939.

Donetzhuber, A. Characterization of pulp and paper with respect of odor. *International Symposium on Wood and Pulping Chemistry 1981. Chemistry and Biochemistry of Wood-based Processes and Products*. 6-12.6.1981, 4. vuosikerta, 136-138.

Dyer, J. Odor Control in Recycled Fiber Mills. *Progress in Paper Recycling*, 4/1996, 5. vuosikerta, 87-90.

Ekman, K., Hämäläinen, H., Jäkärä, J. & Lassila, P. 2005. On the management of odor in chemical pulps: formation and removal of hexanal. 59th Appita Conference. 16-19 May 2005. Auckland.

Genome Alberta. 2005-2012. Human Metabolome Database. Dimethylamine. Luettu 4.10.2012. <http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB00087>

Genome Alberta. 2005-2012. Human Metabolome Database. Trimethylamine. Luettu 4.10.2012. <http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB00906>



Helle, T. & Wiik, K. 1998. Problems with paper odor – possible ways to solve them. Norjan tieteen ja teknologian yliopisto. Kemianteeniikan laitos. Opinnäytetyö.

Jaarinen, S. & Niiranen, J. 2008. Laboratorion analyysitekniikka. 5-6. painos. Helsinki: Edita Prima Oy.

Karvinen, A. 2007. Analysis of malodorous nitrogen-containing compounds in paper and board products. Jyväskylän yliopisto. Maisterityö ja tieteellinen tutkimus.

Kolb, B. & Ettre, L. 1997. Static Headspace-Gas Chromatography. Theory and Practice. Toronto: Wiley-VCH

Nieminen, A-K., Kallio, S. & Lankia, H. 2005. Paperin kemiaa. Luettu 24.10.2012. [http://www.helsinki.fi/kemia/opettaja/aineistot/paperi/massan\\_valmistus.htm](http://www.helsinki.fi/kemia/opettaja/aineistot/paperi/massan_valmistus.htm)

Metso. 2012. Sellun valmistus. Luettu 22.10.2012. [http://www.metso.com/fi/corporation/info\\_fin.nsf/WebWID/WTB-060629-2256F-773AE](http://www.metso.com/fi/corporation/info_fin.nsf/WebWID/WTB-060629-2256F-773AE)

Metsäteollisuus ry. 2006. Avain Suomen metsäteollisuuteen. Helsinki: Metsäteollisuus ry.

Nevalainen, T. 2010. Amiinit. Kuopion yliopisto. Luettu 4.10.2012. <http://www.uku.fi/~tanevala/KPF2/www/11-amiinit.htm>

Office of Environmental Health Hazard Assessment. 2002. Triethylamine. Luettu 4.10.2012. [http://oehha.ca.gov/air/chronic\\_rels/pdf/121448.pdf](http://oehha.ca.gov/air/chronic_rels/pdf/121448.pdf)

Ristolainen, M. 2004. Odours of printed paper grades. Esitelmä. Hampuri 29.10.2004. UPM Research Center.

Räsänen, R. 2004. Odour of Mechanical Papers. Jyväskylän yliopisto. Kemian laitos. Pro gradu-tutkielma.

SGE Analytical Science Pty Ltd. 2012. Splitless injection. Luettu 4.10.2012.  
<http://www.sge.com/support/training/injection/injectionsplit-and-splitless-injection/splitless-injection>

Sheffield Hallam University. 2012. Gas Chromatography. Luettu 2.10.2012.  
<http://teaching.shu.ac.uk/hwb/chemistry/tutorials/chrom/gaschrm.htm>

SMI-LabHut. 2012. What is GC Headspace Chromatography? Luettu 1.8.2012.  
<http://www.labhut.com/education-centre/headspace-gas-chromatography/what-is-headspace-gas-chromatography.html>

Suomela, M. 2006. GC/MS yritysten ongelmanratkaisun välineenä. *Analyysi* 2/2006, 8.

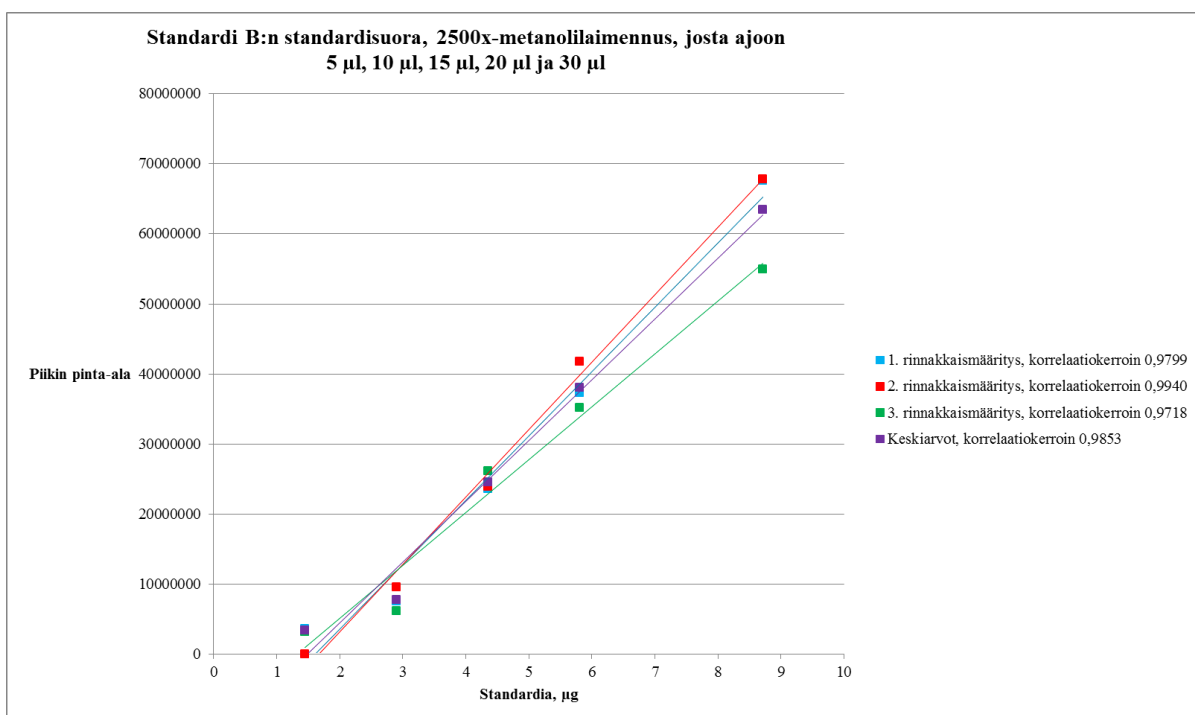
UPM Kymmene – Yes Paper. 2012. Yes Silver multifunction. Luettu 18.10.2012.  
[http://www.yes-paper.com/index.php?yespaper=yespaper-yes-silver-multifunction&ch\\_nav\\_eb2=yespaper-yes-silver-multifunction](http://www.yes-paper.com/index.php?yespaper=yespaper-yes-silver-multifunction&ch_nav_eb2=yespaper-yes-silver-multifunction)

Önal, A. A review: Current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods. *Food Chemistry*, 4/2007, 103. vuosikerta, 1475-1486.

## LIITTEET

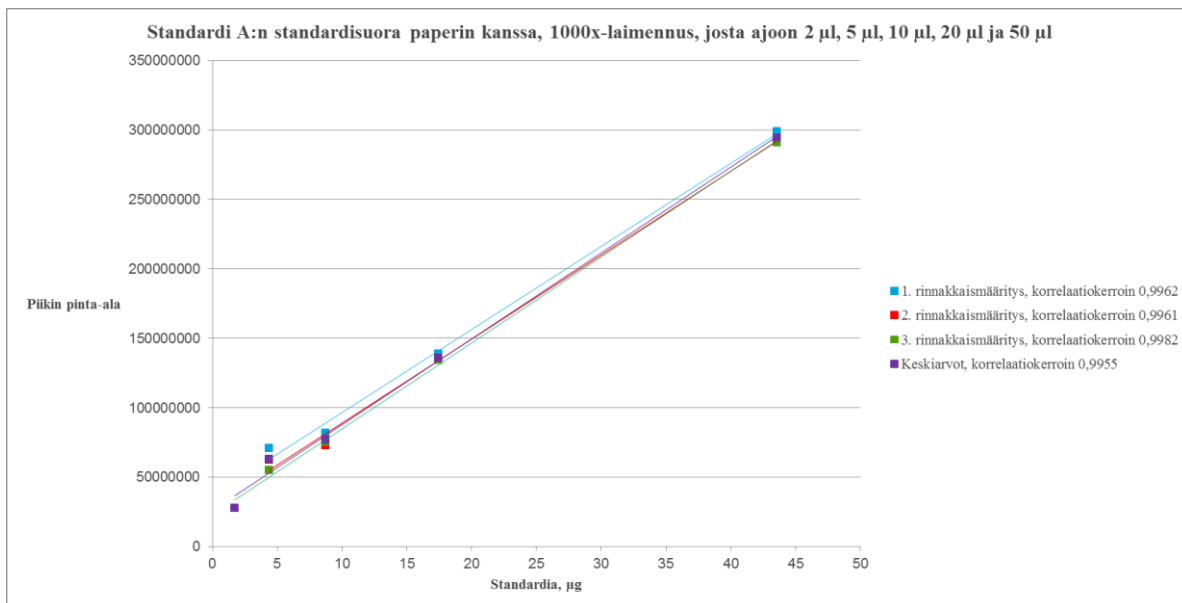
Liite 1. Standardi B:n 2500x standardisuora ja piikkien pinta-alat

STANDARDI B: 2500X-laimennos				
Standardin tilavuus	Piikkien pinta-alat			
	1. näyte	2. näyte	3. näyte	Keskiarvo
5 µl	3559889	ei piikkiä	3149476	3354682,5
10 µl	7527474	9595434	6122205	7748371
15 µl	23576281	23857990	26179676	24537982
20 µl	37301196	41765010	35127715	38064640
30 µl	67596900	67793185	54917624	63435903



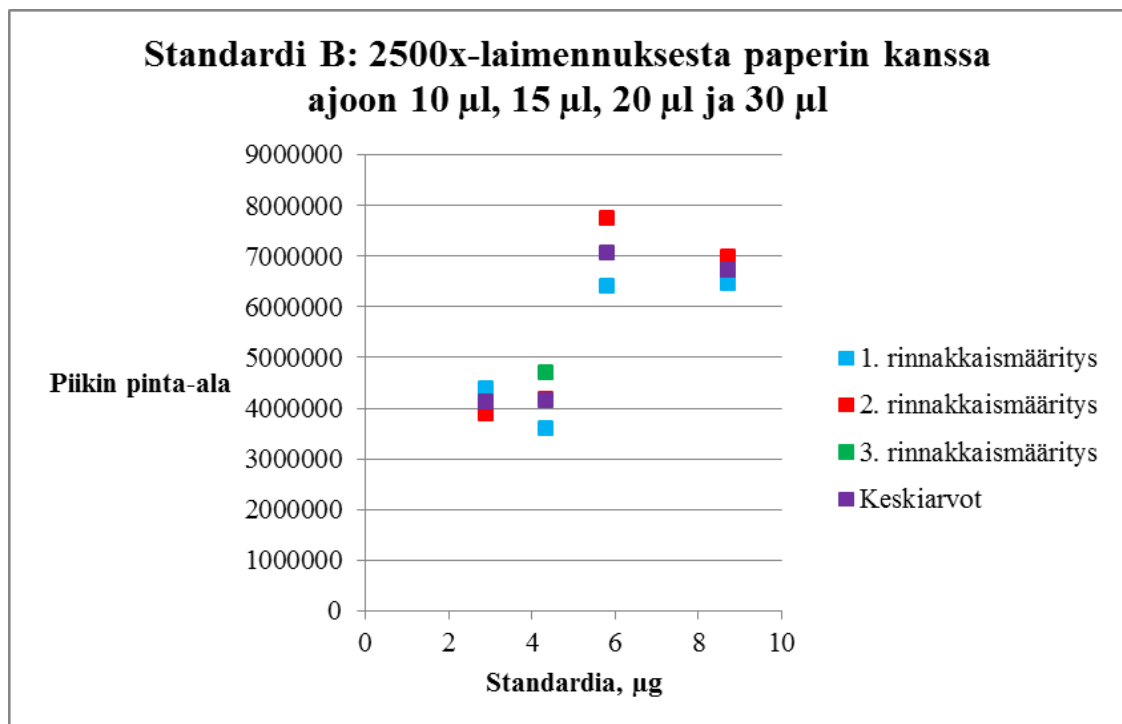
## Liite 2. Paperin kanssa ajettu standardi A:n 1000x standardisuora ja piikkien pinta-alat

STANDARDI A: 1000X-laimennos paperin kanssa				
Standardin tilavuus	Piikkien pinta-alat			
	1. näyte	2. näyte	3. näyte	Keskiarvo
2 µl			27609527	27609527
5 µl	71040884	62519536	55134779	62898400
10 µl	81796587	72713162	75325195	76611648
20 µl	138674155	134524830	134134107	135777697
50 µl	298988513	292746113	291023217	294252614



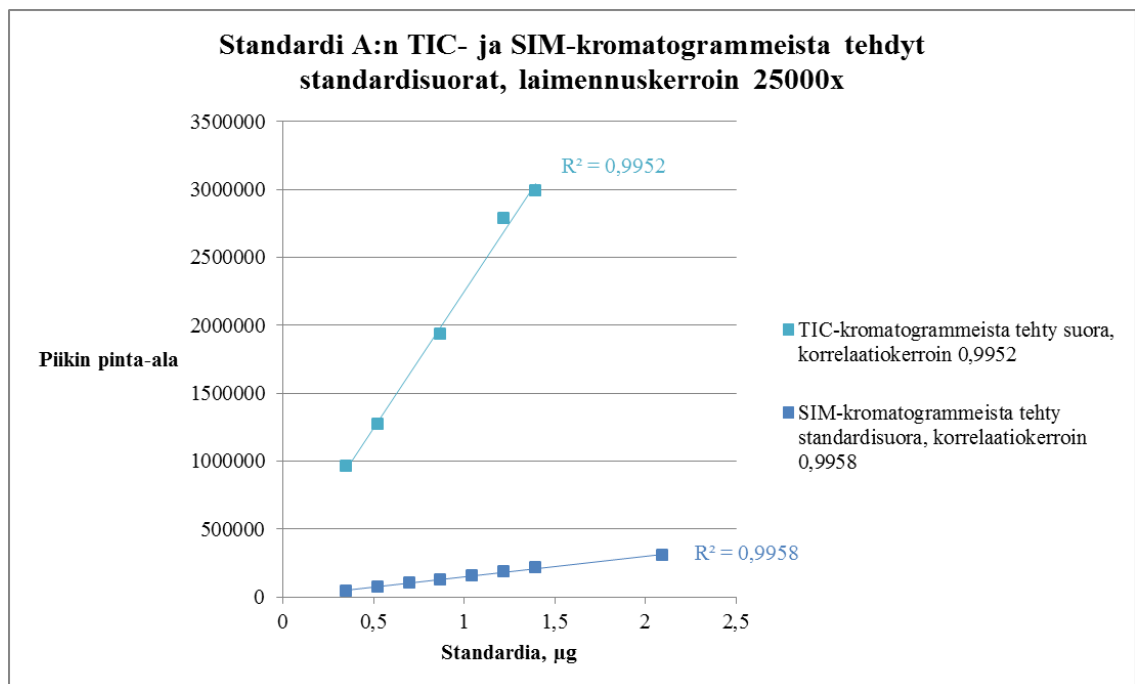
## Liite 3. Paperin kanssa ajetun 2500x standardi B:n piikkien pinta-alat

STANDARDI B: 2500X-laimennos paperin kanssa						
Piikkien pinta-alat, TIC						Hajontaprosentti
Standardin tilavuus	1. näyte	2. näyte	3. näyte	Keskiarvo	Keskihajonta	(keskihajonta/keskiarvo)*100
10 µl	4385730	3870721	4118656	4125036	257564	6,24
15 µl	3587777	4163540	4688055	4146457	550338	13,27
20 µl	6409512	7733346		7071429	936092	13,24
30 µl	6447500	6978672	6718598	6714923	265605	3,96

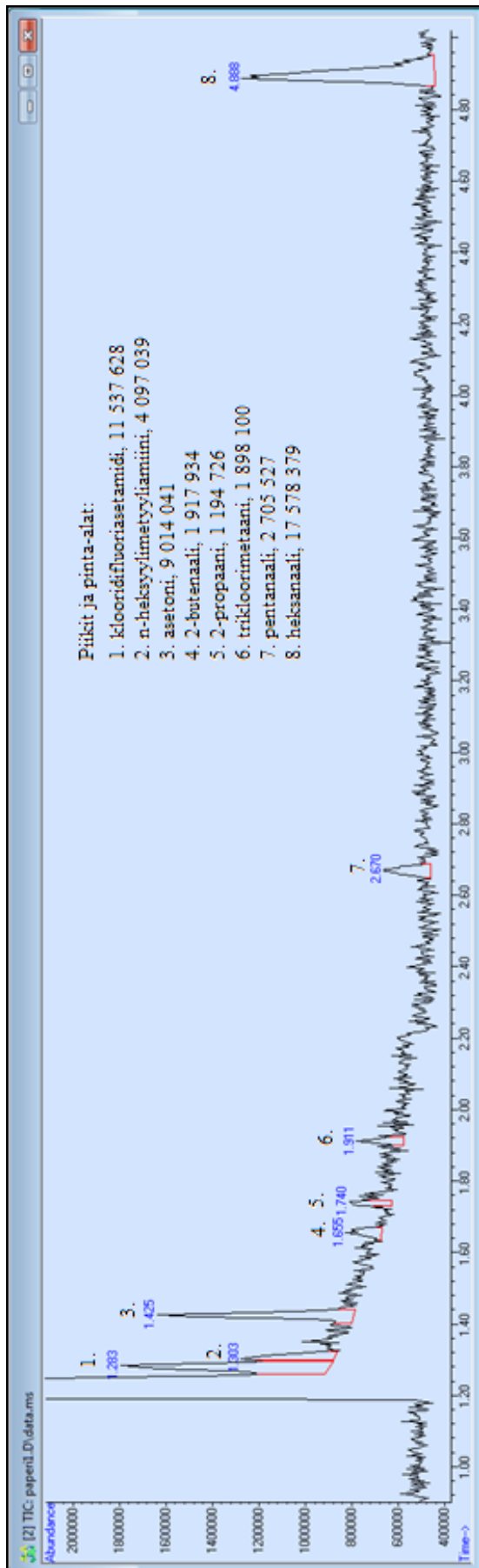


## Liite 4. Paperin kanssa ajetun standardi A:n 25000x standardisuora ja piikkien pinta-alat

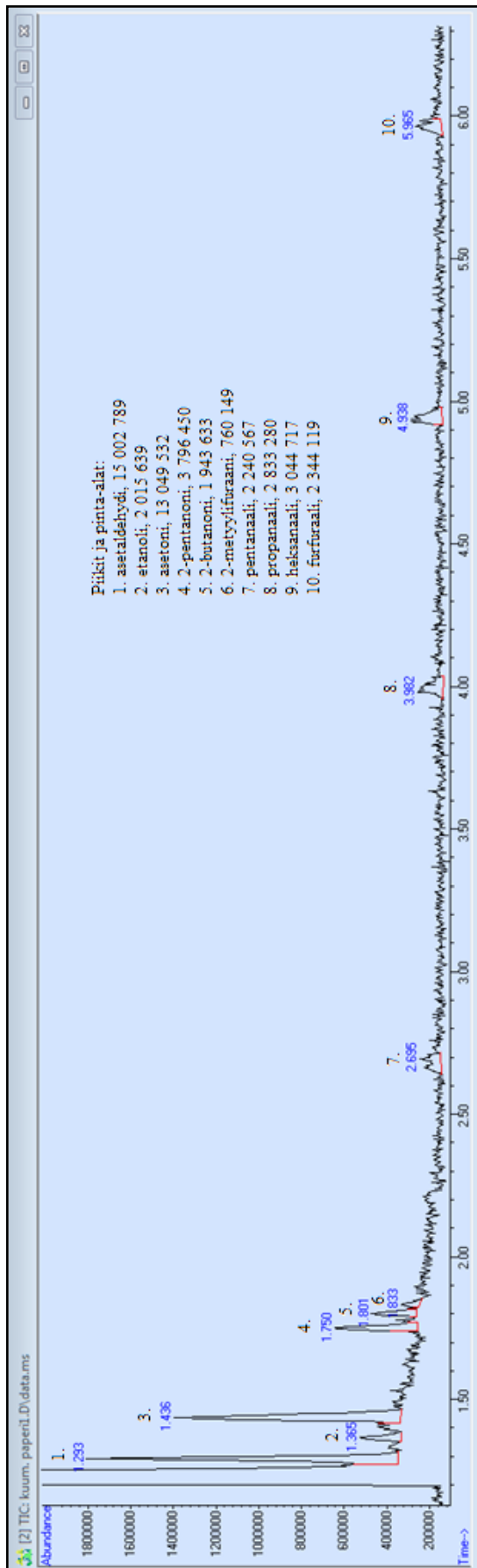
STANDARDI A: 25000X-laimennos paperin kanssa		
Standardin tilavuus	Piikkien pinta-alat, TIC	Piikkien pinta-alat, SIM
10 µl	964675	44921
15 µl	1268666	69019
20 µl		100327
25 µl	1933315	124897
30 µl		156419
35 µl	2785018	184213
40 µl	2992633	214366
60 µl		303064



Liite 5. Kuumentamattoman paperin kromatogrammi



## Liite 6. Kuumennetun paperin kromatogrammi





## Liite 7. Esimerkkinäytteen kromatogrammi

