

Helena Parjanen

# GC-MS-menetelmän kehittäminen kuitusuolen pinnoitteelle

---

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Laboratorioanalyttikko (AMK)

Laboratorioala

Opinäytetyö

5.3.2016

Tekijä(t) Otsikko	Helena Parjanen GC-MS menetelmän kehittäminen kuitusuolen pinnoitteelle
Sivumäärä Aika	20 sivua + 1 liite 26.2.2016
Tutkinto	Laboratorioanalyttikko (AMK)
Koulutusohjelma	Laboratorioala
Suuntautumisvaihtoehto	
Ohjaaja(t)	Lehtori Mia Ruismäki Laatupäällikkö Max Lönngren
<p>Työssä kehitettiin määritysmenetelmä kuitusuolen pinnoitteen kvantitatiiviseksi määrittämiseksi Oy Viskoteepak Ab:n Hangon tehtaalla. Kuitusuoli on tuote, joka on valmistettu makkaranvalmistuksen tarpeisiin, ja kuitusuoli toimii makkaranvalmistuksessa makkarankuorena. Kuitusuolen pinnoitteena käytetään pinta-aktiivisia aineita, jotka muodostavat kuitusuolen sisäpinnalle hydrofobisen pinnan.</p> <p>Tässä työssä tutkittavana oli kuitusuolen pinnoitteena toimiva alkyyliketeni dimeeri, eli AKD. AKD muodostaa kuitusuolen sisäpintaan hydrofobisen kerroksen, joka helpottaa makkaranvalmistuksessa makkaran irtoamista kuitusuolesta.</p> <p>AKD:n määrittämiseksi kuitusuolesta oli olemassa kvalitatiivinen menetelmä. Asiakasvaatimusten kasvamisen myötä tuli tarve kehittää myös kvantitatiivinen menetelmä AKD:n pitoisuudelle kuitusuolella.</p> <p>Työssä kehitettiin näytteenkäsittelymenetelmä ja määritysmenetelmä AKD:n kvantitatiiviseksi määrittämiseksi kuitusuolesta. Määritysmenetelmänä toimi GC-MS-menetelmä ja näytteenkäsittelyyn kehitettiin menetelmä, jolla AKD saadaan määritettävään muotoon kuitusuolesta. Menetelmän kvantitointiin käytettiin sisäisen standardin menetelmää ja SIM-tekniikkaa.</p> <p>Työ onnistui hyvin, koska työssä saatiin kehitettyä kvantitatiivinen menetelmä AKD:n määrittämiseksi kuitusuolesta. Jatkossa menetelmää täytyy kehittää edelleen. Menetelmän mittausaluetta täytyy laajentaa ja määrittää mittauksen tarkkuus. Työn vaativin ja aikaavievin osuus oli näytteenkäsittelytekniikan kehittäminen, koska kuitusuolelle ei ole aikaisemmin kehitetty GC-MS-menetelmää pinnoitteen määrän mittaamiseksi.</p>	
Avainsanat	AKD, kuitusuoli

Author(s) Title Number of Pages Date	Helena Parjanen Method Development for Analyzing Coating in Fibrous Casing by GC-MS 20 pages + 1 appendix 26 February 2016
Degree	Bachelor of Laboratory Sciences
Degree Programme	Laboratory Sciences
Specialisation option	
Instructor(s)	Max Lönngren, Quality Manager Mia Ruismäki, Senior Lecturer
<p>In this thesis, the goal was to develop a quantitative analysis method for coating in fibrous casing at Oy Viskoteepak Ab factory in Hanko Finland. Fibrous casing is a product, which is used in sausage manufacturing. Fibrous casing works in sausage manufacturing as a sausage casing. As coating material in fibrous casing, surfactants are used. They make the inner side of fibrous casing hydrophobic.</p> <p>The coating analyzed in this thesis is alkyl ketene dimer, also called AKD. The AKD forms hydrophobic layer that eases peeling in sausage manufacturing.</p> <p>For determination of AKD content in fibrous casing, there exists already a qualitative method. Because of the increased customer demands there was also a need for quantitative method for AKD content.</p> <p>In this study, a method for sample preparation and analysis method for quantitative determination for AKD quantity in fibrous casing were developed. The sample preparation method was developed to get AKD from fibrous casing in a form that is possible to analyze. As analyzing method, GC-MS was used. In quantitation, the internal standard method was used. Also SIM-measurement was used in quantitation.</p> <p>The goal for this study was achieved. The method for quantitative analysis for AKD in fibrous casing was developed. However, the method must be refined in the future. The measurement range must be expanded and accuracy for the method must be measured. The most difficult part of the study was to develop the sample preparation for evaluation because this is the first time when fibrous casing is used in GC-MS-method development.</p>	
Keywords	AKD, fibrous casing

## Sisällys

### Lyhenteet

1	Johdanto	1
2	Kuitusuolen pinnoitteena toimiva alkyyliketeeeni dimeeri	2
2.1	Rakenne	2
2.2	Ominaisuudet	3
2.3	Reaktiot paperinvalmistuksessa	3
2.4	Pinnoite kuitusuoliprosessissa	5
2.5	Analysointitekniikoita paperista	6
3	Menetelmäkehityksessä käytetyt laitteet	9
3.1	Uuttolaite Soxtec	9
3.2	GC-MS	11
4	AKD:n määrittäminen	12
4.1	Kvalitatiivinen määrittäminen	12
4.2	Kvantitatiivisen menetelmän kehitys	16
4.3	Standardisuora ja tulokset	18
5	Loppupäätelmät	20
	Lähteet	21
	Liitteet	
	Liite1.Näytteenkäsittely,salainen	

## Lyhenteet

AKD Alkyyliketeenidimeeri. Pinta-aktiivinen aine, jota käytetään pinnan saamiseksi hydrofobiseksi.

GC Kaasukromatografi

GC-MS Kaasukromatografi, jonka detektorina on massaspektrometri.

## 1 Johdanto

Työssä kehitettiin analysointimenetelmä kuitusuolen pinnoitteille. Työ tehtiin Oy Viskoteepak Ab:n Hangon tehtaassa laboratoriossa.

Oy Viskoteepak Ab on kuitusuolivalmistaja, joka valmistaa kuitusuolta makkaravalmistajien tarpeisiin. Kuitusuoli on tuote, joka on valmistettu viskoosilla pinnoitetusta paperista. Kuitusuolen pohjana oleva paperi on apaca-puusta valmistettua paperia, joka antaa kuitusuolelle esimerkiksi erinomaisen kestävyuden.

Oy Viskoteepak Ab on kansainvälinen yritys, jonka pääkonttori sijaitsee Maarianhaminassa Ahvenanmaalla. Konsernin tehtaassa sijaitsevat Hangossa, Lommelissa Belgiassa ja Nuevo Laredossa Meksikossa. Jälkikäsitteilylaitokset sijaitsevat Kenosassa USA:ssa, Delfzijlissa Alankomaissa ja Brnossa Tšekissä. Lisäksi myyntikonttoreita on Hampurissa, Moskovassa, Shanghaissa, Tokiossa, Meksiko Cityssä ja Zürichissä.

Kuitusuolen valmistuksessa suoleen lisätään erilaisia pinnoitteita, jotka parantavat makkaravalmistusprosessia. Tässä työssä tutkittavat pinnoitteet ovat pinta-aktiivisia aineita, jotka vaikuttavat makkaramassan kiinnittymiseen kuitusuoleen. Tässä työssä tutkittava yhdiste vaikuttaa makkaran irtoamiseen kuitusuolesta ja näin ollen helpottaa kuitusuolen kuorittavuutta makkaravalmistusprosessissa. Kuitusuolen valmistuksessa käytetään tutkittavan yhdisteen lisäksi muitakin pinnoitteita, jotka vastaavat asiakkaiden eri tarpeisiin makkaravalmistuksessa.

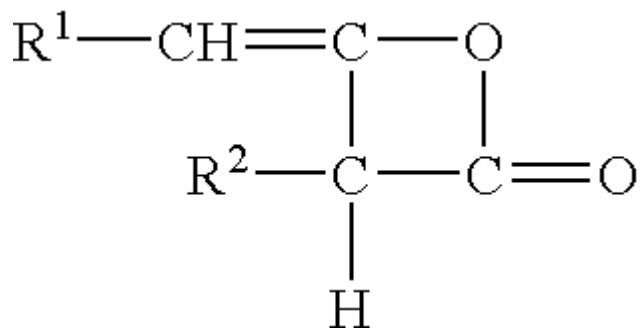
Oy Viskoteepak Ab:n Hangon tehtaassa laboratoriossa on ollut tähän saakka kvalitatiivinen menetelmä näiden pinnoitteiden toteamiseen. Tämä menetelmä perustuu kuitusuolen sisäpinnan hydrofobisuuteen. Kuitusuolen laaduntarkkailuun haluttiin lisää tarkkuutta ja siksi haluttiin kehittää menetelmä, jolla kuitusuolen pinnoitteet saadaan analysoitua kvantitatiivisesti.

## 2 Kuitusuolen pinnoitteena toimiva alkyyliketeeeni dimeeri

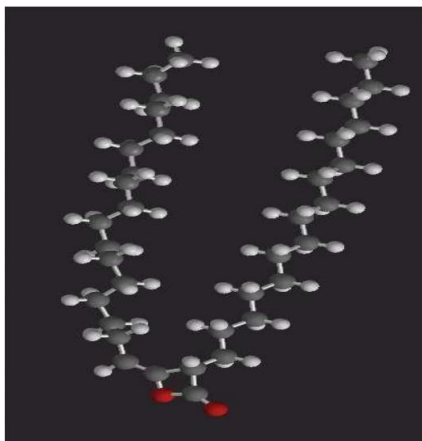
### 2.1 Rakenne

AKD eli alkyyliketeeeni dimeeri on pääasiassa paperinvalmistuksessa käytettävä apuaine. Paperinvalmistuksessa tätä ainetta käytetään, jotta paperin pinta saadaan hydrofobiseksi ja näin esim. paperin painatus onnistuu paremmin ja painomuste pysyy hyvin paperin pinnassa.

Kuvassa 1 on AKD, joka on synteettinen reaktiivinen aine, jota käytetään paperinvalmistuksessa joko neutraalissa tai alkalisessa prosessissa. Tällöin aikaansaadaan tietty hydrofobisuus paperin tai kartongin pintaan. (1, s.1.) AKD on kuvattuna kolmiulotteisesti kuvassa 2.



Kuva 1. AKD:n rakenne



Kuva 2. AKD kuvattuna kolmiulotteisessa muodossa (2, s. 14)

## 2.2 Ominaisuudet

AKD on vahamainen, veteen liukenematon materiaali, ja sen sulamispiste on noin 50 °C. Sulamispiste riippuu hiiliketjujen pituudesta sekä AKD:n kemiallisesta muodosta. Kaupallisesti myytävä AKD on usein valmistettu luonnollisista rasvahapoista, joissa hiiliketjut sisältävät 14--20 hiiltä. Teollisesti valmistettu AKD voi sisältää usean mittaisia hiiliketjuja. (1, s. 2.)

AKD on hyvin yleisesti käytössä oleva paperinvalmistuksen apuaine, jota käytetään korkealuokkaisissa tulostuspapereissa. AKD valmistetaan rasvahappokloridien seoksesta, joka sisältää pääasiassa palmitiinihappoa ja steariinihappoa. Näistä syntyvässä vastaavassa alkyyliketteenidimeerissä on laktaattirengas, joka osallistuu helposti kemiallisiin reaktioihin. (3, s. 115.)

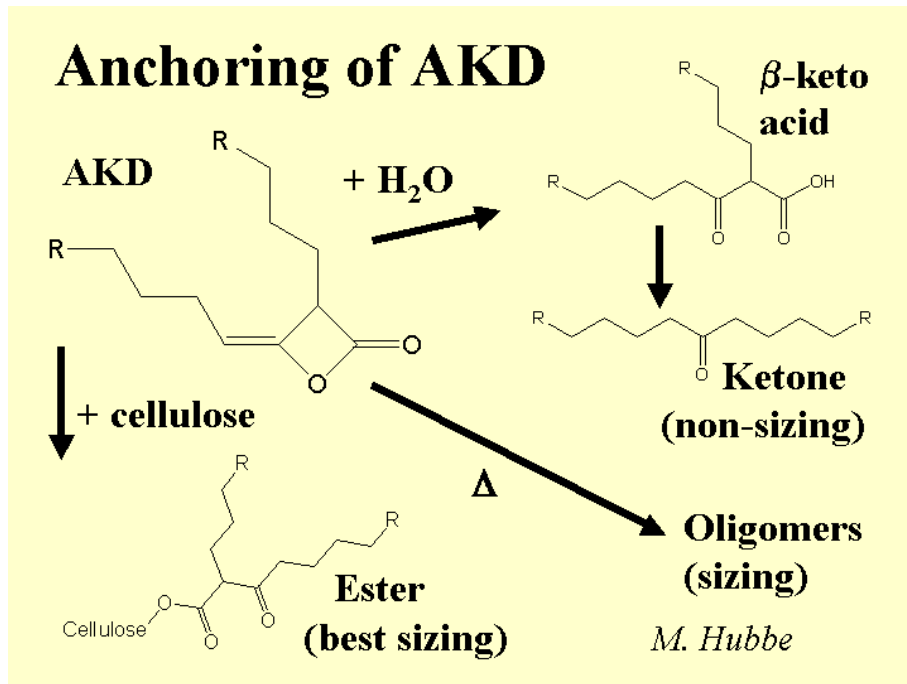
Paperinvalmistuksessa AKD:tä käytetään dispersiomuodossa ja koska AKD on luontaisesti vaha, se vaatii esikäsitteilyä, jotta se saadaan dispersiomuotoon. AKD hajotetaan korkeassa paineessa homogenisaattorissa stabilisaattoreiden läsnä ollessa. Usein stabilisaattorina on käytössä kationinen tärkkelys. Joskus stabilisaattorina on myös anioninen tärkkelys. Näin syntyvän dispersion partikkelikoko on välillä 0,2--2 µm. (1, s. 2.)

Paperinvalmistuksessa AKD:n kiinnittyminen paperikuituun tapahtuu paperin kuivausvaiheessa. Tämä kiinnittyminen on hyvin riippuvainen tapahtuman eri parametreista kuten pH-arvosta, kuitususpensiosta, kuivausajasta ja lämpötilasta. (3, s. 116.)

## 2.3 Reaktiot paperinvalmistuksessa

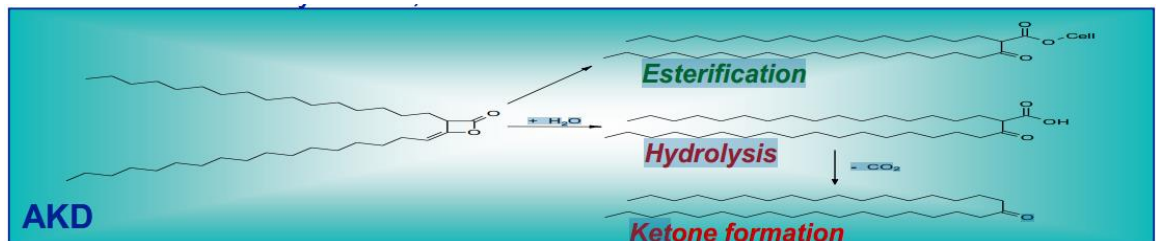
Paperinvalmistusprosessissa AKD reagoi selluloosassa olevien hydroksyyliyhmiin kanssa. Tällöin muodostuu β-ketoesteri AKD:n ja selluloosassa olevien vapaiden OH-ryhmien välille. Laktaattirengas AKD:ssa rikkoutuu ja AKD:n ja OH-ryhmän välille syntyy asyylihapposidos. (3, s. 116.) AKD:n reaktiot on kuvattuna kuvassa 3.





Kuva 3. AKD:n reaktiot (4, s. 1.)

AKD ei reagoi kuitenkaan kokonaan kemiallisesti OH-ryhmien kanssa. Osa siitä hydrolysoituu veden vaikutuksesta ja muodostaa epästabiilin  $\beta$ -ketohapon, joka dekarboksyloituu vastaavaksi ketoniksi.(3, s. 116.) Tämä reaktio on kuvattuna kuvassa 4.



Kuva 4. AKD:n reaktiot (2, s. 16)

Kemiallisesti OH-ryhmien kanssa reagoiva AKD:n osa absorboituu kuituihin alkuperäisessä muodossaan. Nykytiedon mukaan tämä kemiallisesti sitoutunut AKD saa pääasiassa aikaan paperiin toivotut ominaisuudet. Sitoutumattoman AKD:n eli ketonien ja dimeerien rooli toivotussa lopputuloksessa on edelleen epäselvä. Yleisesti kuitenkin ajatellaan, että nämä sitoutumattomat muodot heikentävät AKD:n sitoutumistehokkuutta. (3, s.116)

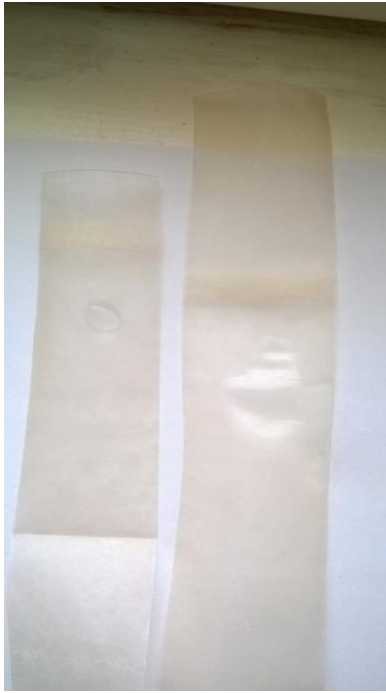
## 2.4 Pinnoite kuitusuoliprosessissa

Kuitusuolen valmistuksessa AKD:ta käytetään kuitusuolen sisäpinnan pinnoitteena, jotta sisäpinnalle saadaan muodostumaan hydrofobinen pinta. Hydrofobinen pinta kuitusuolen sisäpinnassa aiheuttaa sen, että makkaramassa ei pääse kiinnittymään kuitusuoleen tiukasti. Tämä ominaisuus helpottaa makkaranvalmistusprosessissa kuitusuolen kuorintaa valmiin makkaran pinnalta. (5)

Kuitusuolen valmistuksessa AKD lisätään kuitusuoleen sisäpinnalle. AKD on tällöin dispersiomuodossa ja tämän dispersion stabilisaattorina toimii kationinen tärkkelys. AKD saapuu tehtaalte dispersiona, josta laimennetaan vedellä erilaisia pitoisuuksia käyttöliuoksiksi. Kuitusuolen valmistuksessa on käytössä useita erilaisia käyttöliuoksia, joiden uskotaan antavan kuitusuolelle eri pitoisuuksia sitoutumatonta ja sitoutunutta AKD:ta. Eri pitoisuuksia AKD:ta on käytössä, koska asiakkailta on erilaisia vaatimuksia makkaranvalmistuksessa. (5)

Kuitusuolenvalmistusprosessissa kuitusuoli kuivataan AKD:n lisäyksen jälkeen. Kuivaukseen käytetään kuumaa ilmaa, jolloin lämpötila nousee myös kuitusuolen sisäpinnalla. Tällöin AKD kiinnittyy kuitusuolen sisäpintaan. AKD:n pitoisuutta kuitusuolella on määritetty ulkopuolisessa laboratoriossa joitakin kertoja, mutta säännöllisiä ja toistettuja tuloksia AKD:n pitoisuuksista ei ole. Kirjallisuuden perusteella nimenomaan sitoutunut AKD:n muoto aiheuttaa hydrofobisuuden, joten tämän kvantitatiivinen määrä on hyvin kiinnostava parametri. (5)

Jatkuvassa laadunvarmistuksessa AKD:illa käsitellyt kuitusuolet tarkastetaan tiputtamalla vettä niiden sisäpinnalle. Veden käyttäytymisen perusteella arvioidaan sisäpinnan hydrofobisuutta. Jos sisäpinnalle ei ole lisätty AKD:ta, vesi imeytyy kuitusuolen sisäpintaan. Mikäli sisäpinnalla on AKD:ta, vesi jää pisaraksi kuitusuolen pinnalle. Näin voidaan todeta kvalitatiivisesti AKD-reaktion onnistuminen. (5)



Kuva 5. Vesipisara AKD:lla käsitellyn ja käsittelemättömän kuitusuolen pinnalla.

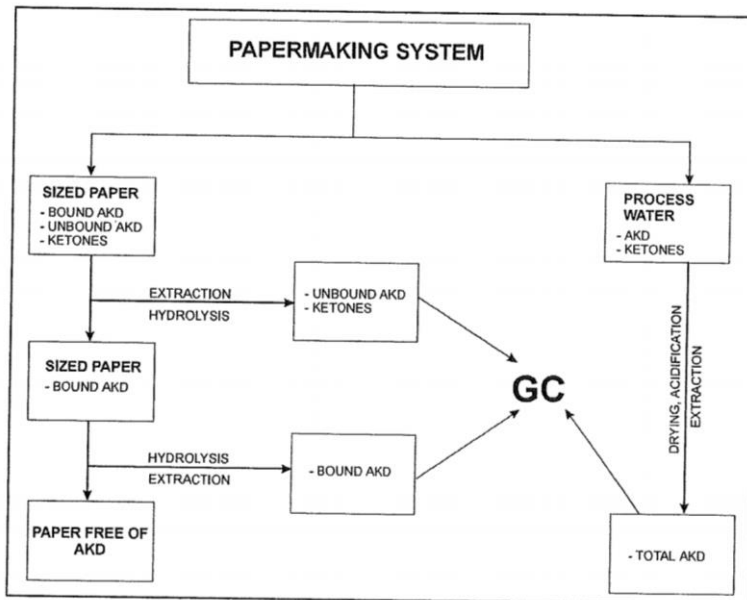
AKD on ollut käytössä kuitusuolen valmistuksessa pitkään. Visko, myöhemmin Oy Viskoteepak Ab, aloitti AKD:n käyttämisen noin 25 vuotta sitten, jolloin AKD:lla pinnoitetulle kuitusuolelle tehtiin pitkät migraatiotestit, joissa selvitettiin AKD:lla käsitellyn kuitusuolen elintarvikepakkauskelpoisuus. Migraatiotestit hyväksyttiin ja näin AKD:lla pinnoitetusta kuitusuolesta tuli elintarvikepakkauskelpoinen. Ajan kuluessa asiakasvaatimukset ovat nousseet ja sen vuoksi vaatimukset myös analysointitekniikoille ovat nousseet. Yhä useammin asiakkaille tarjotaan räätälöityjä tuotteita, jolloin tarkka kvantitatiivinen määrittäminen pinnoitteista on tarpeellinen. Tämän vuoksi syntyi tarve kehittää kvantitatiivinen menetelmä AKD:n pitoisuuden määrittämiseksi. (5)

## 2.5 Analysointitekniikoita paperista

AKD:n eri muotoja ei pystytä määrittämään paperista yksinkertaisilla laboratoriomittauksilla. Erilaisia analysointitekniikoita AKD:n määrittämiseksi on kuitenkin tutkittu ja kehitetty. Julkaistuja AKD:n analyysitekniikoita on esimerkiksi GC-FID, GC-MS, NMR ja FTIR-spektroskopia. (3, s. 117.)

Tässä työssä kiinnitettiin erityisesti huomiota GC-FID- tai GC-MS -julkaisuihin, joita tutkittiin tarkemmin ja joita käytettiin pohjana menetelmäkehityksessä.

Zule ja Dolenc ovat artikkelissaan (3) *Determination of AKD sizing agents in papermaking systems by gas chromatography* kuvanneet analyysiketjua, jossa sitoutumaton ja sitoutunut AKD on määritetty kvantitatiivisesti sekä paperinäytteistä että paperinvalmistusprosessin vesinäytteistä. Tässä artikkelissa analyysiketju kuvattiin kuvan 6 mukaisesti.



Kuva 6. AKD:n analyysiketju paperinvalmistusprosessissa (4, s. 118.)

Kaikki AKD hydrolysoitiin ketonimuotoon GC-analysointia varten. Tämä AKD:n määrittäminen perustuu hydrolyysin ja uuton yhdistelmään. Sitoutumaton AKD paperista määritetään punnitsemalla pieneksi leikattua paperia 10 grammaa. Näytettä uutettiin heksaanilla Soxhlet-uuttolaitteella kahdeksan tuntia. Uutos haihdutettiin kuiviin. Tätä jäännöstä refluksioitiin 6 M:n suolahappoliuoksessa yhden tunnin ajan. Hydrolysoinnin jälkeen tätä uutettiin kolmesti neljällä millilitralla lämmintä heksaania. Uutokset kerättiin ja liuosta konsentroidtiin niin, että lopputilavuus oli noin yksi millilitra. Ketonien määrä analysoitiin GC-laitteistolla, jonka detektorina oli FID. (3, s. 118-119.)

Analyysiketjua jatketaan määrittämällä samasta paperinäytteestä sitoutunut AKD. Heksaanilla uutettu paperinäyte kuivattiin ja siihen lisättiin 150 millilitraa 6 M:n suolahappoa ja 50 millilitraa iso-oktaania. Tätä seosta refluksioitiin kahden tunnin ajan. Refluksioinnin jälkeen seos suodatettiin lasisuodatattimen läpi. Suodatetut kuidut pestiin kolmesti 25 millilitralla lämmintä heksaania. Orgaaninen faasi ja vesifaasi erotettiin toisistaan erotussuppilossa ja orgaanista faasia haihdutettiin niin, että lopputilavuus oli

yksi millilitra. Tämän näytteen ketonipitoisuus analysoitiin GC-laitteistolla, jonka detektorina oli FID. (3, s. 119.)

Kaikista näytteistä saatiin samansuuntainen tulos. Kromatogrammiin saatiin kolme erillistä piikkiä, jotka ovat ketonit  $C_{16}COC_{16}$ ,  $C_{16}COC_{18}$ ,  $C_{18}COC_{18}$ . Tämä tulos oli odotettu, koska tutkittava AKD oli syntetisoitu palmitiini- ja steariinihappoklorideista. AKD:ta ei pystytä määrittämään GC-laitteistolla, koska sen haihtuvuus on hyvin matala. Tästä syystä kaikki AKD on ensin hydrolysoitava ketonimuotoon. Standardit valmistettiin puhtaasta AKD-vahasta, joka hydrolysoitiin ketonimuotoon samalla tavalla kuin näytteet. (3, s. 119.)

Peter J. Dart ja Davis V. McCalley ovat *Analyst*-lehdessä tammikuussa 1990 julkaistussa artikkelissaan *Determination of Alkylketene Dimer Sizing Agent Products in Paper by Capillary Gas Chromatography* kehittäneet menetelmän AKD:n analysointiin. Tämän menetelmä perustuu hydrolyyttiseen uuttoon ja pitkäketjuisten ketonien määrittämiseen. Määrittäminen tapahtuu GC-MS-laitteistolla. (6, s. 13.)

Määrittämisessä 2,5 grammaa paperia leikattiin palasiksi ja näytettä refluksoitiin kahden tunnin ajan 0,1 M:n natriumkarbonaattiliuoksessa. Tämän jälkeen näytettä keitettiin niin, että tilavuus oli 2--3 millilitraa. Näyte siirrettiin Soxhlet-laitteeseen ja sitä uutettiin asetonilla neljän tunnin ajan. Näyte kuivattiin ja sitä uutettiin kiehuvalle heksaanille kolme kertaa 5 millilitralla. Heksaani kerättiin 25 millilitran mittapulloon, jonne ennen merkkiin täyttämistä lisättiin sisäiseksi standardiksi oktakosaani-liuosta. (6, s. 115.)

Kalibrintiliuokset valmistettiin kiinteästä AKD:sta. Liuokset analysoitiin GC-MS-laitteistolla. Tuloksina saatiin muutamia tyypillisiä massaioneita, jotka syntyvät AKD:n hydrolyysituotteista eli ketoneista.

Compound	<i>m/z</i>	Possible identity
C <sub>15</sub> H <sub>31</sub> COC <sub>15</sub> H <sub>31</sub> . . .	450	$M^{++}$
	254	$\left[ \begin{array}{c} \text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{C}=\text{CH}_2 \\   \\ \text{OH} \end{array} \right]^{++}$
	239 85, 71, 57, 43	C <sub>15</sub> H <sub>31</sub> C=O <sup>+</sup> Alkyl-chain fragments
C <sub>15</sub> H <sub>31</sub> COC <sub>17</sub> H <sub>35</sub> . . .	478	$M^{++}$
	282	$\left[ \begin{array}{c} \text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{C}=\text{CH}_2 \\   \\ \text{OH} \end{array} \right]^{++}$
	267	C <sub>17</sub> H <sub>35</sub> C=O <sup>+</sup>
	254	$\left[ \begin{array}{c} \text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{C}=\text{CH}_2 \\   \\ \text{OH} \end{array} \right]^{++}$
	239 85, 71, 57, 43	C <sub>15</sub> H <sub>31</sub> C=O <sup>+</sup> Alkyl-chain fragments
C <sub>17</sub> H <sub>35</sub> COC <sub>17</sub> H <sub>35</sub> . . .	506	$M^{++}$
	282	$\left[ \begin{array}{c} \text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{C}=\text{CH}_2 \\   \\ \text{OH} \end{array} \right]^{++}$
	267 85, 17, 57, 43	C <sub>17</sub> H <sub>35</sub> C=O <sup>+</sup> Alkyl-chain fragments

Kuva 7. Muutamia AKD:n hydrolyysituotteille eli ketoneille tyypillisiä massaioneita. (6, s. 15.)

### 3 Menetelmäkehityksessä käytetyt laitteet

#### 3.1 Uttolaite Soxtec

Analyysimenetelmän näytteenkäsittelyssä on käytössä laitteisto, Soxtec 8000 Extraction unit.



Kuva 8. Uttolaite Soxtec 8000

Uttolaitteella voidaan määrittää liuotettavissa olevat materiaalit, kuten esimerkiksi raakarasva, esimerkiksi elintarvike- ja rehunäytteistä. Laite koostuu uuttoyksiköstä sekä ohjausyksiköstä, jolla ohjataan uuttoyksikön toimintaa. (7, s. 2:2)

Uttolaitteessa on mahdollista uuttaa samanaikaisesti kuutta näytettä. Uttolaitteessa näytteet punnitaan uuttohylsyihin, jotka asetetaan uuttolaitteessa oleviin kiinnikkeisiin. Uuttoliuotin laitetaan uuttokuppeihin, jotka laitetaan uuton ajaksi lämpölevyjien päälle. Laite lämmittää lämpölevyt, jolloin liuotin alkaa kiehua. Laitteessa on jäähdytyn jokaiselle uuttopaikalle ja jäähdyttimen avulla estetään liuottimen haihtuminen uuton aikana. Uuton lopuksi liuotin haihdutetaan ja kerätään talteen. (7, s. 2:2)

Uttolaite suorittaa uuton neljässä eri vaiheessa. Itse uutto tapahtuu kahdessa ensimmäisessä vaiheessa, keitto- ja huuhteluvaiheessa. Ensimmäisessä vaiheessa uuttohylsyyn punnittu näyte upotetaan kiehuvaan liuottimeen, jossa suurin osa uutettavissa olevista aineista uutetaan. Toisessa vaiheessa näytteet nostetaan liuottimen pinnan yläpuolelle ja huuhdellaan tiivistyneellä liuottimella, joka johdetaan takaisin hylsyssä olevan näytteen läpi. (7, s. 2:3)

Kun uutto on päättynyt, liuotin johdetaan keräyspulloon ja näin vain uutettu aine jää uuttokoppiin. Keräysvaiheen loppuminuuteilla loput liuottimesta puhalletaan ilmalla pois jäähdytysjärjestelmästä. Kerätty liuotin voidaan useissa tapauksissa käyttää uudelleen.



Haihdutusvaiheen jälkeen kupit nostetaan lämpölevyltä ja tämän jälkeen ne voi poistaa laitteesta. (7, s. 2:3)

### 3.2 GC-MS

AKD:n analysoinnissa käytettiin Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra -laitetta, johon on kiinnitetty näytteensyöttäjä AOC-20S. Laitteisto koostuu kahdesta päälaitteistosta, GC-laitteesta ja MS-laitteesta, joka toimii GC-laitteiston detektorina. Laitteisto on kuvattuna kuvassa 9.



Kuva 9. Analyysilaitteisto Shimadzu GC-MS

GC-laitteistossa näyte injisoidaan laitteeseen nestemuodossa ja injektion jälkeen näyte höyrystyy korkeassa lämpötilassa. Höyrystynyt näyte kuljetetaan kolonniin inertin kantajakaasun avulla. Kantajakaasuna toimii helium. Kolonnissa näytteen eri komponentit erottuvat toisistaan. Näytteen eri komponentit kiinnittyvät kolonniin eri voimakkuuksilla ja tulevat kolonnista ulos eri aikoina. (8)

MS-detektorissa kolonnista ulos tulevat fragmentit ionisoidaan ionisointikammiossa, jolloin yhdisteet hajoavat niille tyypillisesti. MS-detektori mittaa hajoanneiden massafragmenttien massa-varaus-suhdetta, jolloin tuloksena saadaan massaspektri. Massaspektrin avulla näytteen komponentit voidaan tunnistaa, koska massaspektri



kuva molekyylin rakennetta. Massaspekttriä voidaan verrata kirjastosta löytyviin massaspektreihin ja näin yhdiste voidaan tunnistaa. (8)

## 4 AKD:n määrittäminen

### 4.1 Kvalitatiivinen määrittäminen

Näytteenkäsittely on kuvattuna liitteessä 1.

Menetelmäkehitys tapahtui yhteistyössä laitemyyjän eli Ordiorin edustajien kanssa. Ennen laitteen hankintaa pohdittiin yhteistyössä mahdollista analyysiketjua, mistä kannattaisi lähteä liikkeelle.

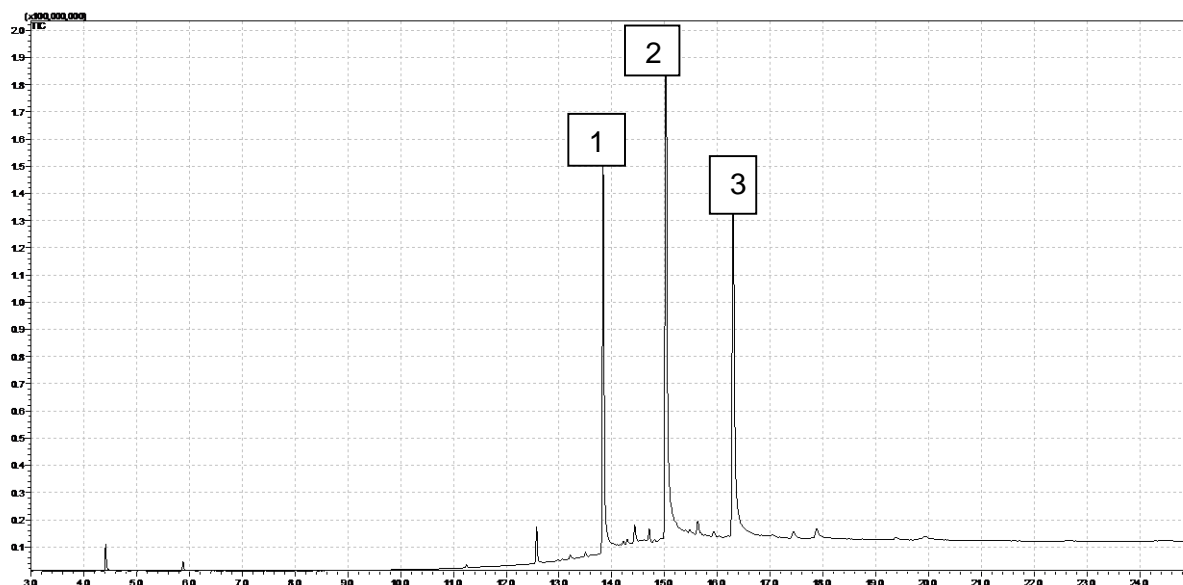
Kirjallisuuden perusteella oletettiin, että AKD on hydrolysoitava ennen analysointia. Oletuksena oli, että vasta ketonimuotoon saatettu AKD-molekyylipystyttäisiin analysoimaan GC-MS-laitteistolla.

GC-MS-laitteen ajo-olosuhteet, jolla analysointi tehtiin on kuvattuna taulukossa 1.

Taulukko 1. GC-MS-laitteen ajo-olosuhteet

Kolonne	Zebron ZB-5MSi			
Injektorin lämpötila	300 °C			
Kolonnin lämpötila	nousunopeus, °C/min	lämpötila, °C	lämpötila pysyvä, min	
		200	1	
	10	340	10	
Split-suhde	20			
Ionisointikammion lämpötila	200 °C			
Väliosan lämpötila	280 °C			
<i>Solvent cut time</i>	2,9 min			

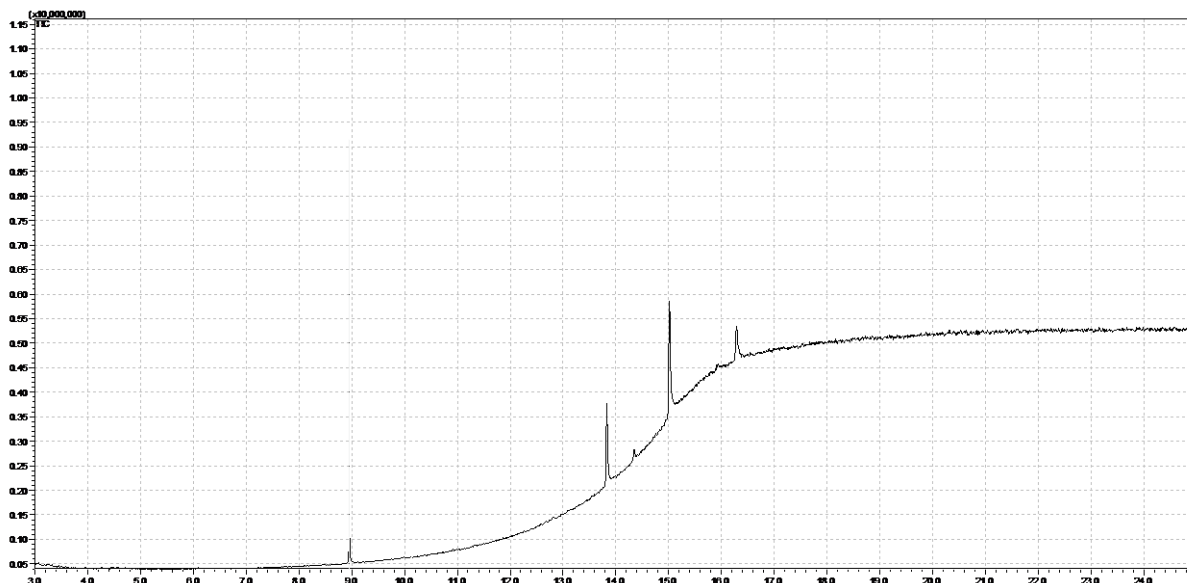
Kuvassa 10 on esitetty kromatogrammi, joka saatiin tuloksena kiinteästä AKD:sta.



Kuva 10. AKD:n GC-MS kromatogrammi SCAN, piikki 1 C16-C16 AKD, piikki 2 C16-C18 AKD ja piikki 3 C18-C18 AKD

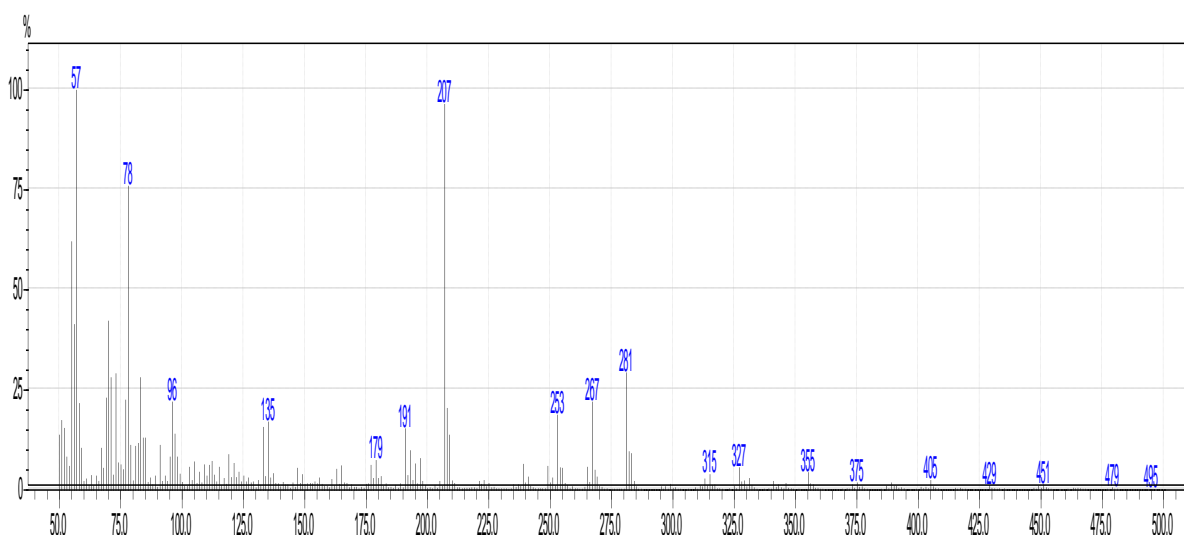
Kromatogrammissa näkyi kolme AKD-piikkiä, jotka varmistettiin GC-MS:llä AKD:n hydrolysoituneiksi ketoneiksi  $C_{16}COC_{16}$ ,  $C_{16}COC_{18}$ ,  $C_{18}COC_{18}$ . Tiedettiin, että käytetty AKD-vaha on valmistettu rasvahapoista, joiden hiiliketjut vastaavat oletettuja ketoneita.

Kuitusuolen näytteenkäsittely on kuvattuna liitteessä 1. Tuloksena saatiin kromatogrammi, josta löytyi kiinteästä AKD:sta saadun kromatogrammin kaltaiset yhdisteet. Tämä kromatogrammi on kuvattuna kuvassa 11.



Kuva 11. Ensimmäinen kuoriutoksesta saatu GC-MS-kromatogrammi, SCAN-ajo

Kromatogrammissa näkyy kolme piikkiä, jotka tulevat samalla retentioajalla kuin hydrolysoidusta kiinteästä AKD:sta saadut piikit. Näin ollen ne voitiin tunnistaa AKD:n hydrolysoituneiksi ketoneiksi. Lisäksi massaspektrit vahvistivat tämän tunnistuksen. Massaspektreistä löytyivät ionit, jotka kirjallisuuden mukaan ovat tyypillisiä AKD:n ketoneille. Tyypillisiä massafragmentteja ovat esimerkiksi ionit 239, 255, 267 ja 283. Kuvassa 14 on kuvattuna oletetun 16-16-AKD:n massaspektri.



Kuva 12. Oletetun 16-16-ketonin massaspektri

Näin ollen voitiin todeta, että AKD oli pystytty tunnistamaan sekä kiinteästä AKD:sta valmistetusta standardista että kuoriuutoksesta.

#### 4.2 Kvantitatiivisen menetelmän kehitys

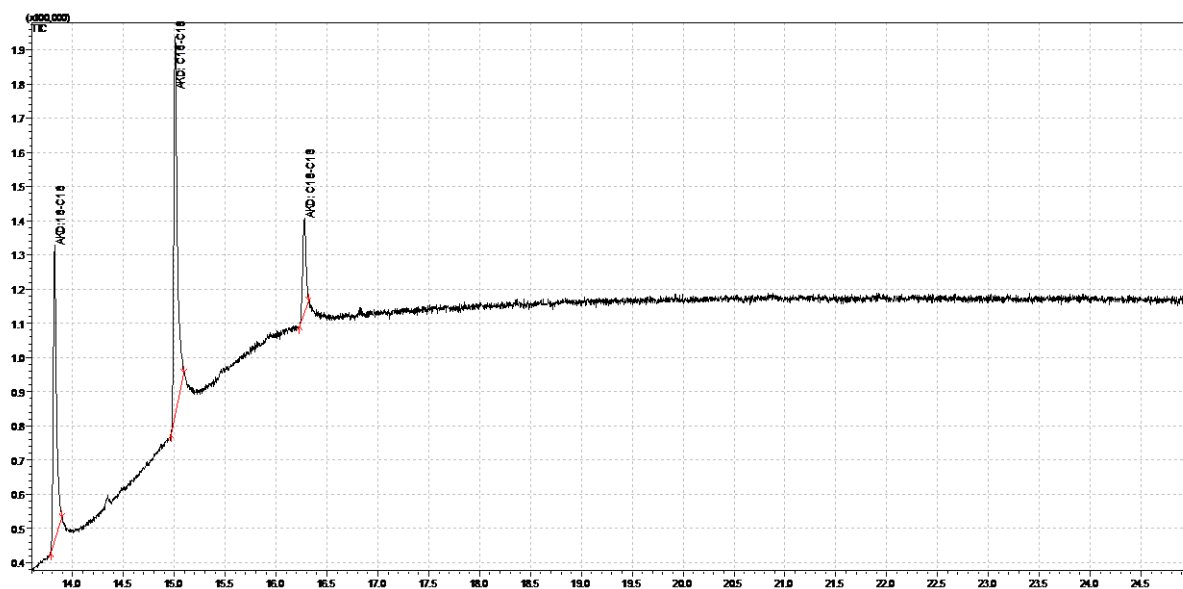
Menetelmää haluttiin spesifimmäksi ja tarkemmaksi nimenomaan AKD:lle, joten päätettiin siirtyä SCAN-ajosta SIM-menetelmään. Mittausmenetelmät eroavat toisistaan siten, että SCAN-menetelmässä massaspektrometri mittaa kaikkia massa-arvoja tietyllä alueella ajon edetessä. SIM-menetelmässä valitaan vain tietyt ionit, joita massaspektrometri mittaa, ja näin ollen saadaan tarkempi menetelmä juuri näille ioneille. Samalla päästään eroon epäpuhtauspiikeistä kromatogrammissa, jos näissä epäpuhtauksissa ei esiinny juuri näitä mitattavia ioneita. Samalla menetetään tuntemattomien piikkien tunnistamismahdollisuus, kun piikeistä ei mitata täysiä massaspektrejä vaan pelkästään tietyt ionit. Todettiin kuitenkin, että kvantitatiivisesta menetelmästä saadaan tarkempi käyttämällä SIM-menetelmää. SIM-tekniikalla pystytään analysoimaan pienempiä pitoisuuksia ja näin myös määritysrajaa saadaan alemmaksi.

SIM-ioneiksi AKD:lle valittiin ionit 239, 255, 267 ja 283. Nämä ionit valittiin siksi, että ne ovat hyvin spesifit nimenomaan AKD-yhdisteelle. Nämä ionit löytyivät kirjallisuudesta, ja ne olivat löytyneet myös ajettujen näytteiden massaspektreistä. Sisäisen standardin ioneiksi valittiin 57 ja 85. Mitattavat ionit ja niiden aikaikkunat GC-MS-menetelmässä ovat kuvattuna taulukossa 2.

Taulukko 2. Mitattavat SIM-ionit ja niiden aikaikkunat

Analyytti	Mitattava ioni 1, m/z	Mitattava ioni 2, m/z	Mitattava ioni 3, m/z	Mitattava ioni 4, m/z	Aikaikkuna, min
ISTD	57	85			0-13.2
AKD	239	255	267	283	13.2-25.0

Sisäinen standardi pystyttiin tunnistamaan retentioajan perusteella. Aikaisemmin ajatun SCAN-kromatogrammin perusteella tiedettiin, että samalla retentioajalla ei tule muita yhdisteitä kuin sisäinen standardi. Kuvassa 13 on kuvattu kuitusuoliuutoksen kromatogrammi AKD:n aikaikkunasta SIM-menetelmällä.



Kuva 13. AKD-kuoriuutos, ajon loppupuoli, jossa SIM-ioneina 239, 255, 267 ja 283.

SIM-ajon kromatogrammin loppupuolesta huomataan, että AKD-piikit ovat erottuneet hyvin ja ne tunnistettiin hiiliketjujen pituuden perusteella kolmeksi eri yhdisteeksi.

### 4.3 Standardisuora ja tulokset

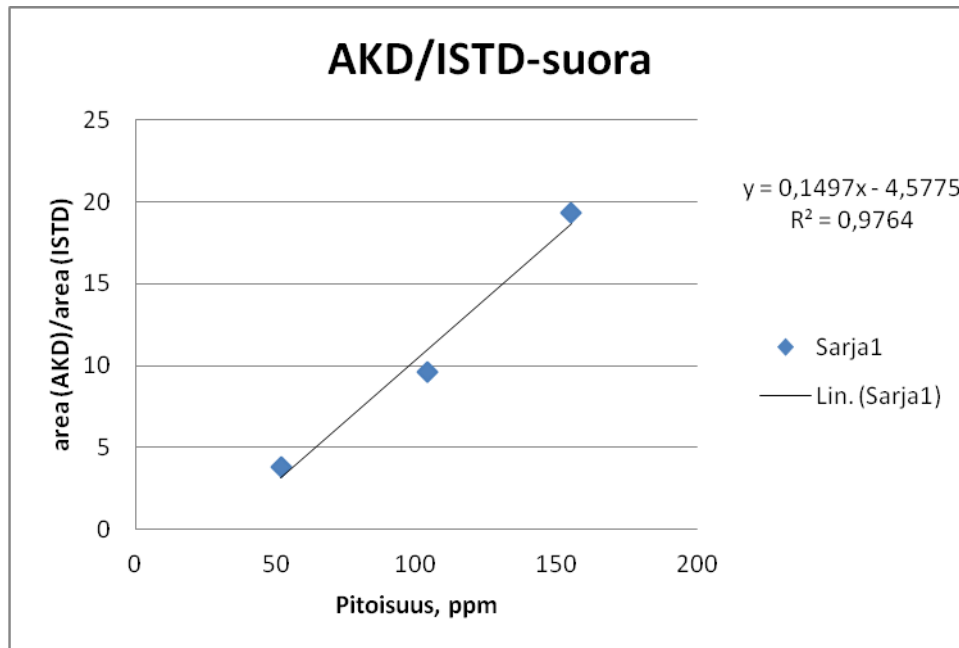
Standardit valmistettiin kiinteästä AKD:sta suoraan laimentamalla heksaaniin. Lisäksi standardeihin lisättiin sisäistä standardia sama määrä kuin näytteisiin. AKD:sta tulee kromatogrammiin kolme eri piikkiä, jotka syntyvät kolmesta eri kombinaatiosta hiiliketjuja. Nämä AKD:n muodot ovat AKD:sta hydrolysoituneet ketonit C<sub>16</sub>COC<sub>16</sub>, C<sub>16</sub>COC<sub>18</sub> ja C<sub>18</sub>COC<sub>18</sub>. Standardina käytetty kiinteä AKD sisältää kaikkia näitä muotoja eikä vain yhtä muotoa AKD:ta sisältävää vahaa ollut saatavilla. Näin ollen kvantitointi on tehtävä näiden kolmen piikin summana, koska yksittäisiä piikkejä ei pystytä kvantitoimaan. Tämä kvantitointitapa oli riittävä, koska AKD:n kokonaispitoisuus on riittävä tulos.

GC-MS-laitteen ohjelmistoon pystyttiin määrittämään kaikille kolmelle piikille integrointiparametrit, mutta ohjelmisto ei pysty luomaan kalibrointisuoraa piikeille, joiden pinta-alat pitäisi käsitellä summana. Ainoa tapa saada kalibrointi onnistumaan suoraan GC-MS-laitteen ohjelmistolla olisi integroida koko retentioaika, jossa AKD-piikit tulevat yhtenä piikkinä. Tällä laskentamenetelmällä pohjaviivan nousu aiheutti integrointiin liikaa epävarmuutta. Todettiin, että standardisuorasta tulee paljon tarkempi, mikäli piikit integroidaan erikseen. Taulukossa 3 on esitetty standardien pitoisuudet ja niitä vastaavat pinta-alat.

Taulukko 3. Standardien pinta-alat

Standardin pitoisuus, ppm	ISTD area	C16-16 area	C16-18 area	C18-18 area	AKD-tot area	AKD/ISTD
51,75	146732	225186	248116	92334	565636	3,8549
104	145915	597484	687098	117211	1401793	9,6069
155	133095	934662	1123666	514381	2572709	19,3299

Kuvassa 14 on esitetty standardisuora, joka on laskettu taulukon 1 standardien mukaan.



Kuva 14. AKD:n standardisuora

Huomattiin, että standardisuoraa ei voi pakottaa kulkemaan origon kautta. Analysoitiin sarja kuitusuolia ja laskettiin niille AKD-pitoisuus standardisuoraa vastaan. Nämä saadut AKD-tulokset on kuvattuna taulukossa 4.

Taulukko 4. AKD-kuitusuoliuutteiden kvantitatiivisia tuloksia

Näyte	ISTD area	C16-16 area	C16-18 area	C18-18 area	AKD-tot area	AKD/ISTD	AKD-pit
näyte A	92566	445303	509183	191345	1145831	12,4	97,8
näyte A	78203	256569	293613	106033	656215	8,4	83,2
näyte B	44663	717313	861211	330116	1908640	42,7	295,4
näyte B	22958	382689	457561	177685	1017935	44,3	295,2
näyte C	26845	253889	300292	121963	676144	25,2	164,7
näyte C	22187	193553	217157	93633	504343	22,7	155,4
näyte D	22926	306447	385242	153233	844922	36,9	262,8
näyte D	30518	277763	360593	140052	778408	25,5	182,4

Kuitusuolinäytteistä saatiin kvantitatiivisia tuloksia. Kaikista näytteistä analysoitiin kaksi rinnakkaista ja näistä rinnakkaisista huomattiin, että menetelmä antaa samansuuntaisia



tuloksia rinnakkaisille. Osa pitoisuuksista oli standardisuoran ulkopuolella, joten todettiin, että jatkossa mittausaluetta täytyy laajentaa tai näytteitä laimentaa. Menetelmän todettiin olevan toimiva kuitusuolen kokonais-AKD-pitoisuuden määrittämiseksi.

## 5 Loppupäätelmät

Työn tavoitteena oli kehittää kvantitatiivinen menetelmä kuitusuolen pinnoitteen määrittämiseksi kuitusuolesta. Työssä onnistuttiin kehittämään näytteenkäsittelymenetelmä, jolla pinnoite saatiin kuitusuolesta määritettävään muotoon. Työn haastavin ja aikaavievin osuus oli sopivan näytteenkäsittelytekniikan kehittäminen. Kuitusuolelle ei ole aikaisemmin kehitetty GC-MS--menetelmää, ja kuitusuoli matriisina aiheutti haasteita näytteenkäsittelymenetelmän kehittämisessä. Referenssinä käytetyissä menetelmissä matriisina oli paperi, ja työn aikana huomattiin, että kuitusuoli ei toimi määrittämisessä paperin tavoin. Näytteenkäsittelyn lisäksi saatiin kehitettyä määritysmenetelmä, jolla pinnoitteelle saatiin kvantitatiivinen määrä. Jotta menetelmällä saadaan määritettyä kuitusuolen pinnoitteen kvantitatiivinen määrä tarkasti, menetelmä vaatii vielä kehitystä. Esimerkiksi työssä kehitettyä standardisuoraa täytyy vielä muokata vastaamaan näytteiden pitoisuuksia. Mittausaluetta täytyy laajentaa tai näytteitä laimentaa. Tässä työssä menetelmälle ei määritetty määritysrajaa, mittausepävarmuutta tai muita validointiparametreja. Jatkossa menetelmänkehityksessä nämäkin parametrit täytyy määrittää, jotta kuitusuolen AKD-pitoisuus saadaan määritettyä tarkasti.

## Lähteet

- 1 Sunil Kumar, Vipul S. Chauhan, Swapan K. Chakrabart. 2012. Separation and analysis techniques for bound and unbound alkyl ketene dimer (AKD) in paper Arabian Journal of Chemistry 23.4.2012, s. 2-7.
- 2 Reetta Strengell, Torbjörn Ahlskog. 2016. Sizing Agents. Kemira.
- 3 Janja Zule, Jozica Dolenc. 2003. Determination of AKD sizing agents in papermaking systems by gas chromatography. Acta Chim. Slov.50/ 2003, s. 115-122.
- 4 Mini-Encyclopedia of Papermaking Wet-End Chemistry. Verkkodokumentti. <<http://www4.ncsu.edu/~hubbe/AKD.htm>>, luettu 24.1.2016.
- 5 Fröman Pontus. 2016. Tekninen päällikkö, Oy Viskoteepak Ab, Hanko. Suullinen tiedonanto 15.1.2016.
- 6 Peter J. Dart, David V. McCalley. 1990. Determination of Alkylketene Dimer Sizing Agent Products in Paper by Capillary Gas Chromatography. Analyst January 1990, s. 13-16.
- 7 Soxtec 8000 käyttöohje, Foss Analytical AB.
- 8 Frederic Douglas. GC/MS Analysis. Scientific Testimony an Online Journal. Verkkodokumentti.< <http://www.scientific.org/tutorials/articles/gcms.html>>, luettu 24.1.2016.