

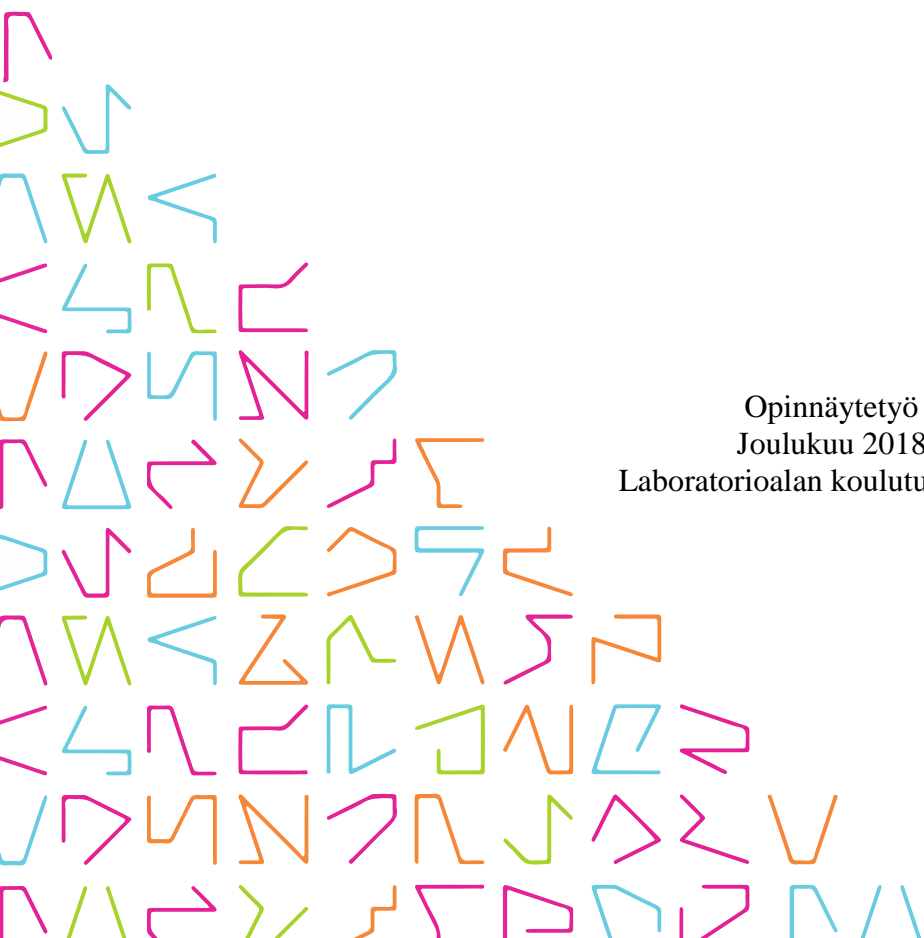


TAMPEREEN  
AMMATTIKORKEAKOULU

# MINERAALIÖLJYHIILIVETYJEN MIGRAA- TION MÄÄRITYSMENETELMÄ

Sakari Kauppi

Opinnäytetyö  
Joulukuu 2018  
Laboratorioalan koulutusohjelma



## TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu  
Laboratorioalan koulutusohjelma

KAUPPI, SAKARI:

Mineraaliöljyhiilivetyjen migraation määrittäminen

Opinnäytetyö 40 sivua, joista liitteitä 7 sivua  
Joulukuu 2018

---

Opinnäytetyön tavoitteena oli testata analyysimenetelmää, jolla voidaan vertailla elintarvikepakkausmateriaalien vaikutusta mineraaliöljyhiilivetyjen migraatioon elintarvikkeisiin. Työn kokeellinen osuus suoritettiin Tampereen teknillisen yliopiston paperi- ja pakkaustekniikan laboratoriossa materiaaliopin –laitoksella vuonna 2017. Tarkoituksena oli useita toistuvia analyysieja suorittamalla kerätä tilastollista tietoa mineraaliöljyhiilivetyjen migraation määrittämiseen käytetystä analyysimenetelmästä, sen tarkkuuden arvioinniksi.

Mineraaliöljyhiilivedyt ovat pääasiassa peräisin pakkausten merkinointeihin käytettyjen painomusteiden liuottimista ja kierrätettyjen paperituotteiden valmistukseen käytettyjen papereiden painomusteista. Mineraaliöljyhiilivedyt ovat terveydelle haitallisia, Euroopan elintarviketurvallisuusviranomaisen mukaan ne ovat mutageenisinä ja karsinogeenisinä niiden sisältämien aromaattisten yhdisteiden vuoksi. Paperista ja kartongista valmistettujen elintarvikkeiden pakkaus- ja kontaktimateriaalien turvallisuutta koskeva lainsäädäntö on vielä puutteellista. Elintarviketurvallisuusviranomaiset ovat kuitenkin alkaneet kiinnittää huomiota mineraaliöljyhiilivetyjä sisältävien pakkausmateriaalien turvallisuuteen.

Mineraaliöljyjen migraatiota elintarvikepakkausten lävitse ja niiden sisällä elintarvikkeisiin varasto-oloissa simuloitiin laboratoriossa. Simulaatioon käytettiin lasisia migraatiokennoja lämpökaapissa ja modifioitua polyfenyleenioksidia elintarvikesimulanttina. Määritettävät mineraaliöljyhiilivedyt uutettiin MPPO:sta orgaanisella liuottimella ja erotettiin fraktioihin kiinteäfaasiuutolla. Fraktiot konsentroidiin haihduttamalla pyöröhaihduttimella. Konsentroitujen näytteiden mineraaliöljy-yhdistepitoisuus määritettiin käyttäen kaasukromatografiaa ja liekki-ionisaatiodektooria.

Vertailtaessa tuloksia huomattiin rinnakkaisten näytteiden pitoisuuksien vaihtelevan odotettua enemmän. Muutamien ylimääräisenä tehtyjen selvyyttä tuovien analyysien perusteella todetaan suuren vaihtelun syyksi näytteiden kontaminoituminen näytteenkäsittelyn aikana. Kontaminaation todennäköisimmäksi lähteeksi epäiltiin riittämättömästi puhdistettuja lasitarvikkeita. Lasitavara pyrittiin puhdistamaan työohjeen mukaisesti orgaanisilla liuottimilla huuhtelemalla. Jatkossa lasitavaran puhdistukseen suositellaan käytettävän uunia, tai tarkistamaan orgaanisilla liuottimilla suoritettavan puhdistuksen teho.

---

Asiasanat: mineraaliöljyhiilivedyt, migraatio, näytteenkäsittely, GC-FID

## ABSTRACT

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

KAUPPI, SAKARI:

Method for Analysis of Mineral Oil Hydrocarbon Migration

Bachelor's thesis 40 pages, appendices 7 pages  
December 2018

---

The objective of this thesis was to test an analysis method for measuring migration of mineral oil hydrocarbons from and through food packaging materials. The method would be used to compare barrier properties of food packaging materials. The practical portion of the thesis was concluded at Tampere University of Technology in 2017. The purpose was to collect and analyze enough statistical information on the analytical method to be able to evaluate its accuracy.

Mineral oil hydrocarbons are mainly originated from solvents of printing inks used to mark the packaging and residual ink from waste materials used to make recycled paper products. Mineral oil hydrocarbons are detrimental to health, European Food Safety Authority considers them mutagenic and carcinogenic based on the presence of aromatic hydrocarbons. Legislation concerning packaging and food contact materials made of paper and paper board is still incomplete, but the authorities have started paying closer attention to the safety of packaging materials containing mineral oil hydrocarbon.

Migration of mineral oils through and from food packaging into food in storing conditions were simulated in laboratory conditions using migration cells made of glass in a hot air oven. Modified polyphenylene oxide was used as the food simulant. Mineral oil hydrocarbons were extracted from MPPO using an organic solvent and then separated into fractions by solid phase extraction. The fractions were then concentrated by using a rotary evaporator. The mineral oil hydrocarbon concentration in the concentrated samples was then measured using a gas chromatograph together with a flame ionization detector.

While reviewing the analyses results it was noted that concentrations of the parallel samples differed much more from each other than expected. More analysis were concluded in order to bring clarity to the issue. It was found that the reason for these differences was a contamination of the samples that occurred during the sample preparation procedure. The most likely source of the contamination was suspected to be insufficiently cleaned glassware. An attempt had been made to clean the glassware by rinsing it with organic solvents according to the German Federal Institute for Risk Assessments procedure. It is recommended to use an oven to clean the glassware or to verify effectiveness of the cleaning procedure using organic solvents when using this method in the future.

---

Key words: mineral oil hydrocarbons, migration, sample preparation, GC-FID

## SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	6
2	TEORIA .....	8
	2.1 Mineraaliöljyhiilivetyjen migraatio .....	8
	2.2 Mineraaliöljyhiilivedyt .....	9
	2.3 Näytteenotto.....	11
	2.4 Näytteenkäsittely .....	12
	2.5 GC-FID määrittäminen .....	13
3	TYÖN SUORITUS .....	15
	3.1 Esivalmistelut.....	15
	3.2 Näytteenotto.....	17
	3.3 Näytteenkäsittely .....	19
	3.3.1 Ututto.....	19
	3.3.2 Fraktiointi kiinteäfaasiuutolla .....	19
	3.3.3 Konsentroidin pyöröhaihduksella .....	20
	3.4 GC –määrittäminen .....	21
4	TULOKSET .....	22
	4.1 Standardit .....	22
	4.2 Analyysinäytteet .....	24
	4.3 Nollanäytteet .....	27
	4.4 Näytteet joiden konsentroidin epäonnistui .....	28
5	POHDINTA.....	29
	LÄHTEET.....	32
	LIITTEET .....	34
	Liite 1. Työohje .....	34

**LYHENTEET JA TERMIT**

BfR	saksalainen turvallisuusarviointaja tuottava viranomainen (Bundesinstitut für Risikobewertung)
EFSA	European Food Safety Authority
FID	liekki-ionisaatiodetektor
GC	kaasukromatografi -laite
ISTD	sisäinen standardi
MOH	mineraaliöljyhiilivety (engl. mineral oil hydrocarbon)
MOAH	aromaattinen mineraaliöljyhiilivety (engl. mineral oil aromatic hydrocarbon)
MOSH	tyydyttynyt mineraaliöljyhiilivety (engl. mineral oil saturated hydrocarbon)
MPPO	modifioitu polyfenyleenioksidi
VTT	Valtion Teknologian Tutkimuskeskus, Teknologian Tutkimuskeskus VTT Oy
SFS	Suomen Standardisoimisliitto SFS ry
SPE	kiinteäfaasiutto
PE-LD	matalatiheyksinen polyeteenimuovi

## 1 JOHDANTO

Tämä opinnäytetyö on tehty Tampereen teknillisen yliopiston materiaaliopin laitoksella toimivan paperinjalostus- ja pakkaustekniikan yksikön toimeksiannosta. Tavoitteena oli testata analyysimenetelmää, jolla voitaisiin vertailla erilaisten pakkausmateriaalien kykyä estää mineraaliöljyjen migraatiota kierrätetystä kuidusta valmistetuista pakkausmateriaalista elintarvikkeisiin. Tarkoituksena oli suorittaa useita määrittäyksiä, joiden avulla voidaan laskennallisesti arvioida analyysimenetelmän tarkkuutta ja luotettavuutta. Tämän lisäksi kirjoitettiin lyhyt ja käytännöllinen näytteenoton, näytteenkäsittelyn ja kaasukromatografi määrittäystä kuvaava työohje opinnäytetyön liitteeksi.

Testatulla analyysimenetelmällä mineraaliöljyhiilivedyt määritetään kahdessa fraktiossa, jotka erotetaan toisistaan monivaiheisella näytteenkäsittelymenetelmällä. Näytteet uutetaan elintarvikesimulantista, fraktioidaan kiinteäfaasiuutolla, konsentroidaan pyöröhaihduttimella ja sitten analysoidaan kaasukromatografilla.

Mineraaliöljyhiilivedyillä tarkoitetaan tiettyjä hiilivety-yhdisteitä, jotka voivat käsittää kymmenestä viiteenkymmentä hiiliatomia. Ne ovat peräisin teollisuuden käyttöön jalostetusta raakaöljystä, kivihiilestä, maakaasusta ja biomassasta. (European Food Safety Authority 2013, 3) Elintarvikkeiden sisältämät mineraaliöljyhiilivedyt ovat tyypillisesti peräisin valmistuksessa käytetyistä lisäaineista ja elintarvikeparanteista, valmistusympäristön kontaminaatiosta ja pakkausmateriaaleista. Elintarvikkeiden sisältämät luonnolliset orgaaniset hiilivedyt eivät sisälly mineraaliöljyhiilivetyjen määritelmään. (Graudreault, Brochu, Sandrock, Deglmann, Seyffer. and Tétreault 2013, 909)

Viime vuosina on alettu huomioimaan paperista ja kartongista valmistettujen pakkausmateriaalien elintarvikeeturvallisuutta. Elintarvikkeiden paperi- ja kartonkipakkauksista ei vielä ole olemassa vastaavanlaisia Euroopan Unionin, EU:n, asettamia erityisiä migraation rajoituksia, kuten esimerkiksi muovista (Baren, Sinclair ja Watson 2007, 334).. European Food Safety Authority (EFSA) kiinnostui mineraaliöljyhiilivetyjen säännöstelyn tarpeen arvioinnista vuonna 2010. (European Food Safety Authority 2010; Aurela 2001, 11–12) Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus 1831/2003, joka kieltää elintarvikkeiden kanssa kosketuksessa olevien terveydelle haitallisten materiaalien käytön, sovelle-

taan myös paperi ja kartonki pakkauksiin. Elintarvikkeiden sisältämien mineraaliöljyhii-  
livetyjen vaikutuksesta terveyteen ei tiedetä vielä paljoa, mutta ESFA pitää tyydyttyneitä  
mineraaliöljyjä mahdollisesti haitallisina ja pitää aromaattisia mineraaliöljyhii-  
livetyjä mutageenisia ja karsinogeenisiä. (Graudreault ym. 2013, 909).

## 2 TEORIA

### 2.1 Mineraaliöljyhiilivetyjen migraatio

Elintarvikkeiden ja pakkausmateriaalien väliset vuorovaikutukset voidaan jakaa kolmeen osaan: absorptioon, permeaatioon ja migraatioon. Migraatiolla tarkoitetaan komponenttien siirtymistä pakkausmateriaalista elintarvikkeisiin. Absorptio on komponenttien siirtymistä elintarvikkeista pakkausmateriaaliin ja permeatio komponenttien siirtymistä pakkausmateriaalin lävitse kumpaan tahansa suuntaan. (Aurela 2001, 14; Barnes, Sinclair ja Watson 2007, 6) Mineraaliöljyhiilivedyt voivat myös siirtyä pintojen kosketuksen välityksellä, esimerkiksi paperin painetun pinnan koskettaessa painamatonta pintaa, kun paperia rullataan. (Barnes, Sinclair ja Watson 2007, 304)

Mineraaliöljyjen migraatiossa kierrätetystä kartongista elintarvikkeisiin on kyse diffuusiosta, eli pakkausmateriaalin korkeamman mineraaliöljypitoisuuden pyrkimyksestä tasapainottua elintarvikkeen matalamman mineraaliöljypitoisuuden kanssa. Diffuusion nopeus riippuu diffusoituvan molekyylin ominaisuuksista, taustalämpötilasta, ympäristön kosteudesta, altistumisen kestosta sekä pakkausmateriaalien että elintarvikkeen kemiallisista ja fysikaalisista ominaisuuksista. (Aurela 2001, 15; Robertson 2013, 623)

Vaikka elintarvike ei ole suoraan kontaktissa mineraaliöljykomponentteja sisältävien pakkausmateriaalien kanssa, voi tuotteen ulkopakkauksesta, tukkupakkauksesta tai varastointiympäristöstä siirtyä mineraaliöljyhiilivetyjä elintarvikkeeseen. Tällöin migraatio voi tapahtua esimerkiksi muovilla päällystetyn tai muovista valmistetun sisemmän pakkauksen läpi. (Biedermann, Ingenhoff, Dima, Zurfluh, Biedermann-Brem, Richter, Simat, Harling ja Grob 2012, 460) Muovikalvo elintarvikepakkauksen ympärillä tai sisäpakkauksena toimiva muovipussi voi toimia myös tärkeänä mineraaliöljyhiilivetyjen sitojana. Esimerkiksi polyeteenimuovi voi suhteessa massaansa sitoa merkittävän määrän pakkauksesta siirtyvistä mineraaliöljyhiilivedyistä elintarvikkeisiin verrattuna. (Biedermann, Ingenhoff, Barbanera, Garbini, ja Grob 2011, 287)

Elintarvikesimulanttien käyttö migraation määrittämisessä on yksi tapa saada vertailukelpoisia ja toistettavia tuloksia. Asianmukaisen elintarvikesimulantin valitsemiseen vaikut-



taa niiden kemiallinen ja fysikaalinen koostumus sekä niistä jo olemassa oleva tutkimustieto. Yleisesti käytettyjä elintarvikesimulantteja ovat esimerkiksi: vesi, etanolin ja veden seokset, etikkahappo, kasviöljy ja modifioitu polyfenyleenioksidi (MPPO). (10/2011/EU, 4, 6 75)

Laboratorio-olosuhteissa suoritetuissa testeissä, joilla mallinnetaan elintarvikkeiden varastointi olosuhteita, migraatiota tyypillisesti nopeutetaan keinotekoisesti. Tämän vuoksi analyysitulokset eivät vastaa todellisia elintarvikkeissa esiintyviä migraatiosta johtuvia mineraaliöljypitoisuuksia. Nopeutetut testit ja modifioidun polyfenyleenioksidin (MPPO) käyttäminen elintarvikesimulanttina voivat johtaa todellista suurempiin mineraaliöljypitoisuuksiin, mikä voi johtua MPPO:n vahvasta mineraaliöljyhiilivetyjen adsorptiokyvystä. (Zurfluh, Biedermann ja Grob 2013, 917) Simuloiduissa olosuhteissa suoritettavat testit varmistavat kuitenkin vertailukelpoisten tulosten saamisen epäsuotuisimmassa ennakoitavissa olevissa olosuhteissa. (Komission Asetus EU 10/2011, 4) Pitkäaikaisemman varastoinnin vaikutusten testaamiseksi laboratorio-oloissa on käytettävä EU:n komission asetusten mukaisia epäsuotuisimpia ennakoitavissa olevia kosketusolosuhteita vastaavia testiolosuhteita. (SFS-EN 1186-1, 30; Komission Asetus 10/2011/EU, 85–86)

## 2.2 Mineraaliöljyhiilivedyt

Mineraaliöljyhiilivedyt ovat hiilivety-yhdisteitä, joiden koostumukseen kuuluu kymmenestä viiteenkymmentä hiiliatomia. Ne ovat rakenteeltaan erittäin monimuotoisia ja siksi on tärkeää erottaa niiden määritelmä elintarvikkeissa luonnollisesti esiintyvistä hiilivety-yhdisteistä. Mineraaliöljyhiilivedyt jaetaan usein tyydyttyneisiin mineraaliöljyihin, (engl. mineral oil saturated hydrocarbons, MOSH) ja aromaattisiin mineraaliöljyihin, (engl. mineral oil aromatic hydrocarbons, MOAH). Mineraaliöljyhiilivedyt esiintyvät vaihtelevina ja monimutkaisina seoksina, joiden koostumusta on vaikea tarkasti määrittää. Aromaattisten yhdisteiden osuus seoksessa voi olla jopa 35 %. (European Food Safety Authority 2013, 3, 15)

Tyydyttyneiden mineraaliöljyhiilivetyjen fraktioon kuuluvat mineraaliöljyhiilivedyt koostuvat pitkäketjuisista hiilivedyistä, parafiineista ja sykloalkaaneista. Kaikki aromaattisen renkaan sisältävät hiilivedyt kuuluvat aromaattisten mineraaliöljyhiilivetyjen fraktioon. Nämä hiilivedyt voivat sisältää myös useita aromaattisia renkaita ja ovat erittäin

alkyloituneita. (Bundesinstitut für Risikobewertung, 1; European Food Safety Authority 2013, 15)

Mineraaliöljyhiilivedyt eivät ole välittömästi epäterveellisiä, vaan niiden haitalliset terveysvaikutukset johtuvat pitkäaikaisesta altistumisesta. Tyydyttyneet mineraaliöljyhiilivedyt kerääntyvät kehoon esimerkiksi maksaan ja suolistoon, mutta ne eivät välttämättä aiheuta oireita. Aromaattiset mineraaliöljyhiilivedyt ovat mutageenisia ja karsinogeenisiä ja siksi suurempi huolenaihe, siksi kaikkia mineraaliöljyhiilivetyjen seoksia pidetään mutageenisina ja karsinogeenisinä ellei niitä ole käsitelty aromaattisten mineraaliöljyhiilivetyjen poistamiseksi. (European Food Safety Authority 2013, 6, 134–136)

Elintarvikkeiden paperi- ja kartonkipakkausten sisältämät mineraaliöljyhiilivedyt ovat tyypillisesti peräisin painomusteiden liuottimista tai kierrätettyjen materiaalien raaka-aineina käytettyjen paperi- ja kartonkituotteiden sisältämistä painomusteista. Yksi tapa estää mineraaliöljyjen migraatiota paperista ja kartongista elintarvikkeisiin on käyttää funktionaalisia barrier -materiaaleja elintarvikepakkausten valmistuksessa. (Robertson 2013, 633–634)

### 2.3 Näytteenotto

Laboratoriossa simuloidussa migraatiomäärityksissä näyte voidaan kerätä elintarvikkeen sijaan elintarvikesimulanttiin, kuten modifioituun polyfenyleenioksidiin (MPPO), josta usein puhutaan myös kaupananimellä Tenax. MPPO on rakenteeltaan huokoinen jauheelta näyttävä muovi, joka vastaa ominaisuuksiltaan esimerkiksi murojen kaltaisia kuivia kiinteitä elintarvikkeita. MPPO on yleisesti käytetty elintarvikesimulantti, jonka ominaisuudet tunnetaan hyvin (SFS-EN 14338 2004 5; SFS-EN 1186-1 2003, 68). MPPO:ta on ennen käytetty esimerkiksi ilmasta mitattaviin haihtuvien orgaanisten yhdisteiden pitoisuuksien määrittämiseen (Lehtonen ja Sihvonen 2004, 57–59). MPPO:ta on käytetty elintarvikesimulanttina migraation määrittämiseen jo kauan. Sen käyttö on hiljattain lisätty myös EU lainsäädännön muovien migraatiota koskevan komission asetuksen 10/2011/EU myötä. (Zurfluh, Biederman ja Grob 2013, 909)

Elintarvikesimulanttien käyttö migraation määrittämisessä on yksi tapa saada verailukelpoisia ja toistettavia tuloksia. Asianmukaisen elintarvikesimulantin valitsemisessa on otettava huomioon niiden kemiallinen ja fysikaalinen koostumus, sekä niistä jo olemassa oleva tutkimustieto. Yleisesti käytettyjä elintarvikesimulantteja on esimerkiksi: vesi, etanolin ja veden seokset, etikkahappo, kasviöljy ja modifioitu polyfenyleenioksidi. (10/2011/EU, 4, 6 75)

Laboratorio-olosuhteissa suoritetuissa testeissä, joilla mallinnetaan elintarvikkeiden varastointi olosuhteita, migraatiota tyypillisesti nopeutetaan keinotekoisesti. Tämän vuoksi analyysitulokset eivät vastaa todellisia elintarvikkeissa esiintyviä migraatiosta johtuvia mineraaliöljypitoisuuksia. Nopeutetut testit ja modifioidun polyfenyleenioksidin käyttäminen elintarvikesimulanttina voivat johtaa todellista suurempiin mineraaliöljypitoisuuksiin, mikä voi johtua MPPO:n voimakkaasta mineraaliöljyhiilivetyjen adsorptiokyvystä. (Zurfluh, Biedermann ja Grob 2013, 917) Simuloiduissa olosuhteissa suoritettavat testit varmistavat kuitenkin vertailukelpoisten tulosten saamisen epäsuotuisimmista ennakoitavissa olevissa olosuhteissa. (Komission Asetus EU 10/2011, 4) Pitkäaikaisemman varastoinnin vaikutusten testaamiseksi laboratorio-oloissa on käytettävä EU:n komission asetusten mukaisia epäsuotuisimpia ennakoitavissa olevia kosketusolosuhteita vastaavia testiolosuhteita. (SFS-EN 1186-1, 30; Komission Asetus 10/2011/EU, 85–86)

Näytteitä on analysoitava riittävä määrä, jotta niistä saaduilla tuloksilla voidaan riittävällä tarkkuudella laskea validointiin liittyvät suureet. VTT:n opas (Tapio Ehder 2005, 35) suosittelee kuudesta kymmeneen näytettä. Kutakin näytettä varten leikattavat kierrätyskartonki ja päällystetyn pakkauskartongin kappaleet on leikattava tarkasti samankokoisiksi ja tasaisesti eri puolilta testimateriaaleja, niin että ne edustavat hyvin koko materiaaleja ja näytteet olisivat keskenään ja eri testien välillä vertailukelpoisia. (Lehtonen ja Sihvonnen 2004, 57; Harris 2007, 7).

Saksan elintarviketurvallisuusviranomaisen (Bundesinstitut für Risikobewertungin, BfR) analyysiohjeessa, jota noudatetaan näytteenkäsittely ja analyysivaiheessa ei ole tarkkaan kuvattu näytteenottamista. Migraatio-olosuhteisiin lämpökaapissa ja mineraaliöljyjen uuttamiseen MPPO:sta sovelletaan SFS-EN ISO 14338 ja SFS-EN ISO 1186-1 standardeja, sekä EU komission asetusta 10/2011. L. 12/83. Nämä standardit ja asetukset määrittelevät, että näytteen keräämisessä on käytettävä epäsuotuisimpia ja ankarimpia olosuhteita, joihin testinäytteet voivat joutua.

## 2.4 Näytteenkäsittely

Kiinteäfaasiuuttomenetelmien etuna on, että pienellä määrällä kromatografista stationaarifaasia ja eluenteja käyttämällä voidaan erottaa näytteen sisältämiä analyyttejä toisistaan ja puhdistaa näytteitä. Näin voidaan yksinkertaistaa näytematriisia kvantitatiivista kromatografista analyysiä varten. (Harris 2007, 658). Kiinteäfaasiuutto suoritetaan kiinteäfaasiuuttopatruunassa, joka on tyypillisesti muovinen tai lasinen stationaarifaasilla pakattu pieni kromatografinen pylväs. Erottuminen kiinteäfaasiuuttokolonnissa tapahtuu erotettavien yhdisteiden stationaarifaasin ja eluentin kanssa muodostamien heikkojen kemiallisten sidosten voimakkuuden perusteella. Näiden sidosten voimakkuuteen voidaan vaikuttaa eluentin ja stationaarifaasin valinnalla sekä stationaarifaasin konditionoinnilla. (Christian 2004, 546)

Hopeaionikromatografia perustuu tyydyttymättömien hiilivetyjen taipumukseen muodostaa kompleksi hopeaionin kanssa. Tyydyttymättömän hiilivedyn kaksoissidos luovuttaa elektronin hopeaionille. Kompleksi muodostuu myös aromaattisten hiilivetyjen kanssa, mutta tämä sidos on heikompi. Kompleksin muodostuminen ei riko hiilivedyn kaksoisidosta kokonaan. Kompleksien muodostuminen on tasapainoreaktio ja muodostuvien

kompleksien määrään vaikuttavat hiilivedyn steeriset ominaisuudet ja hiilivedyn kaksois-sidosten määrä. (Morris 1966, 717–718)

Hopeanikromatografiaa voidaan käyttää erottamaan paitsi tyydyttyneitä hiilivetyjä tyydyttymättömistä, myös erottamaan eri tyydyttyneitä hiilivetyjä toisistaan ohutlevyillä tai kolonneissa. Stationaarifaasi voidaan valmistaa käyttämällä preparointiin veteen liuotettua hopeanitraattia oikeassa massasuhteessa stationaarifaasia vasten. Silikageeliä käyttäessä hopeanitraatti liukenee silikaan sitoutuneeseen veteen ja ylimääräinen hopeanitraatti kristallisoituu silikageelin pintahuokoisiin, eikä osallistu kompleksien muodostumiseen (Noikolova-Damyanova, 2009). Erotukseen voi riittää pienikin elohopeamäärä tarkoituksesta riippuen, 2 % elohopean massaprosentin ylittäminen ei juuri parantanut tuloksia. (Morris 1966, 720).

## 2.5 GC-FID määrittäminen

Kaasukromatografia on kromatografian muoto, jossa kaikki näytteet höyrystetään kaasuksi ja analysoidaan kaasufaasissa. Kantajakaasua käyttäen analyytit kulkeutuvat kiinteään tai nestemäiseen stationaarifaasin lävitse detektorille (Harris 2007, 528). Analyyttien erottuminen tapahtuu kromatografisessa kolonnissa. Eluenttia vastaavalla tavalla toimivan kantajakaasun kompositioon vaikuttamisen sijaan tyypillisesti kromatogrammien resoluutioon vaikutetaan muuttamalla määrittäolosuhteita. (Christian 2004, 574–576)

Kaasukromatografilla näytteet annostetaan ruiskulla kumisen septumin lävitse injektoriin, joka on lämmitetty näytteiden höyrystämiseksi. Kantajakaasu kuljettaa näytteen injektorissa sijaitsevaan kolonnin alkupäähän ja sieltä kolonniuunissa sijaitsevan kolonnin lävitse. (Harris 2007, 529) Kolonneja on useita erilaisia ja kolonnin valinta vaikuttaa paljon erotuksen onnistumiseen. Eniten käytetään kapillaarikolonneja, joissa stationaarifaasi on sidottu ohuen kapillaariputken sisäpinnalle kerrokseksi jättäen kolonnin keskelle tyhjää tilaa. (Harris 2007, 529–531) Kolonnit voivat myös olla tyypillisiä pakattuja kolonneja, jotka kestävät suurempia näytemääriä. Kolonnin pakkausmateriaalin polarisuus vaikuttaa sen sopivuuteen määritettävillä analyteillä, poolittomien erottamiseen toisistaan sopii parhaiten pooliton kolonni. Lisäksi kolonnin pituus ja paksuus vaikuttavat kromatogrammin resoluutioon, eli piikkien erottumiseen toisistaan kuvaajassa. (Christian 2004, 581–583)

Näytteiden analyysin pitoisuuden ollessa alhainen, voidaan käyttää suurta injektioilavuutta suoraan kolonniin injektoimalla, jotta detektorille saapuu mittausrajan ylittävä määrä näytettä. Suuria injektioilavuuksia käytettäessä tarvitaan esikolonnia, parantamaan määritettävien piikkien muotoja. Esikolonne aiheuttaa kolonnissa muodostuvien liuotinta ja analyytin sisältävien mikropisaroiden haihtumista ennen näytteen siirtymistä pääkolonniin. (Harris 2007, 538)

Kaasukromatografiaa voidaan käyttää sekä kvantitatiiviseen että kvalitatiiviseen analytiikkaan liittämällä kaasukromatografiin tarkoitukseen sopiva detektori. Kvantitatiiviseen analytiikkaan käytetään tyypillisesti liekki-ionisaatio detektoria (engl. flame ionization detector, FID). Liekki-ionisaatiotektori perustuu orgaanisten yhdisteiden palamisreaktiossa syntyvien kationeiden havaitsemiseen detektorin elektrodiparilla jännitteen muutoksena. Liekki-ionisaatiotektori sopii hyvin lähes kaikille orgaanisille yhdisteille ja sen lineaarinen mittausalue on suuri. (Christian 2004, 584–587; Harris 2007, 542–543). Tuloksena saadaan kromatogrammi, eli kuvaaja jossa detektorin vaste nähdään ajan funktiona. Analyysin pitoisuus voidaan laskea kuvaajan piikkien pinta-aloista.

Muita yleisiä detektoreita ovat esimerkiksi lämmönjohtokykydetektori, massaspektrometri ja elektroninsieppausdetektori. Lämmönjohtavuusdetektorit havaitsevat yleisesti kaikki analyytit ja se on ollut yleisimmin käytetty kaasukromatografian detektori kvantitatiiviseen analytiikkaan, mutta sen herkkyys ei yletä muiden yleisten detektoreiden tasolle. Massaspektrometri on erittäin herkkä detektori, jolla voidaan suorittaa sekä kvalitatiivisia, että kvantitatiivisia analyysejä. Massaspektrometrillä voidaan selektiivisesti määrittää myös huonosti toisistaan erottuvia analyyttejä ioniselektiivistä monitorointia käyttäen. Elektroninsieppausdetektori sopii parhaiten halogeenejä sisältäville orgaanisille yhdisteille. (Christian 2004, 584–587; Harris 2007, 541–546)

Liekki-ionisaatiotektori on mineraaliöljyhiilivetyjen määrittämiseen sopivin detektori, sillä se on helppo kalibroida. Jokaista mineraaliöljyhiilivetyjen seosta ei ole saatavana kaupallisena standardina, mutta FID -määritykseen ei niitä tarvita. FID ei kuitenkaan ole selektiivinen ja sen herkkyys on huonompi kuin esimerkiksi massaspektrometrillä. Liekki-ionisaatiotektori saattaa myös antaa leveäpohjaisia piikkejä, joiden komponentit ovat tunnistamattomia mineraaliöljyhiilivetyjä, mikä vaikeuttaa tulosten tulkintaa. (European Food Safety Authority 2013, 32)

### 3 TYÖN SUORITUS

#### 3.1 Esivalmistelut

Analyysissä käytettävä lasitavara puhdistettiin kontaminaatioiden välttämiseksi. Bundesinstitut für Risikobewertungin työohjeen mukaisesti puhdistamisen voi suorittaa paisutamalla uunissa tai kemiallisesti pesemällä. Tämän työn suorittamiseen käytettiin kemiaaleilla pesua työn nopeuttamiseksi. Pesu suoritettiin seuraavasti; lasitavara huuhdeltiin ensin 9:1 asetonin ja veden seoksella, sitten asetonilla ja viimeiseksi heksaanilla. Migraatiokennot, kolvit, uuttoon käytetyt erlenmeyerpullot ja standardien säilyttämiseen käytetyt mittapullot pestiin kolmesti. Muut näytteiden kanssa kosketuksiin tulleet tarvikkeet, kuten pasteur-pipetit pestiin kerran.

Kiinteäfaasiuuton stationaarifaasina käytetty 0,3 % silikan ja hopeanitraatin seosta varten silika aktivoitiin muhveliuunissa 24 tunnin ajan 400 °C:ssä. Silikageeliä aktivoitiin riittävästi 1 % ja 0,3 % hopeanitraatin seoksia varten. Aktivoituun silikageeliin sekoitettiin 1:100 suhteessa veden massaan liuotettua hopeanitraatin suolaa. Seos kuivattiin yön yli 70 °C:ssä lämpökaapissa. Kuiva 1 % hopeanitraattia sisältävä seos sekoitetaan lopun aktivoitun silikageelin kanssa 1:3 tasosekoittajalla yön yli.

MPPO voitiin puhdistaa Soxhlet-uuttamalla sitä asetonissa 6 tunnin ajan SFS-standardin mukaisella menettelyllä (SFS-EN 14338, 5). Ensimmäisessä analyysissä käytetty MPPO oli edellisen käyttökerran jäljiltä puhdistettu jo valmiiksi. Toiseen analyysiin käytettiin samaa MPPO erää ja se puhdistettiin ohjeen mukaisesti.

Sisäisen standardin liuokset A – F valmistettiin työohjeen mukaisiksi pitoisuuksiksi tolueniiniin, mutta pääasiassa käyttäen 25 ml mittapulloja, sillä 20 ml mittapulloja ei ollut riittävästi käytettäväksi. Varsinaiset heptadekaanin ja dietylibentseenin standardiliuos-sarjat valmistettiin 10 ml mittapulloon pipetoimalla. Standardin kantaliuoksesta valmistettiin viiden laimennoksen sarja, joiden pipetoidut tilavuudet olivat 1–5 ml standardiliuosta 10 ml mittapulloissa.

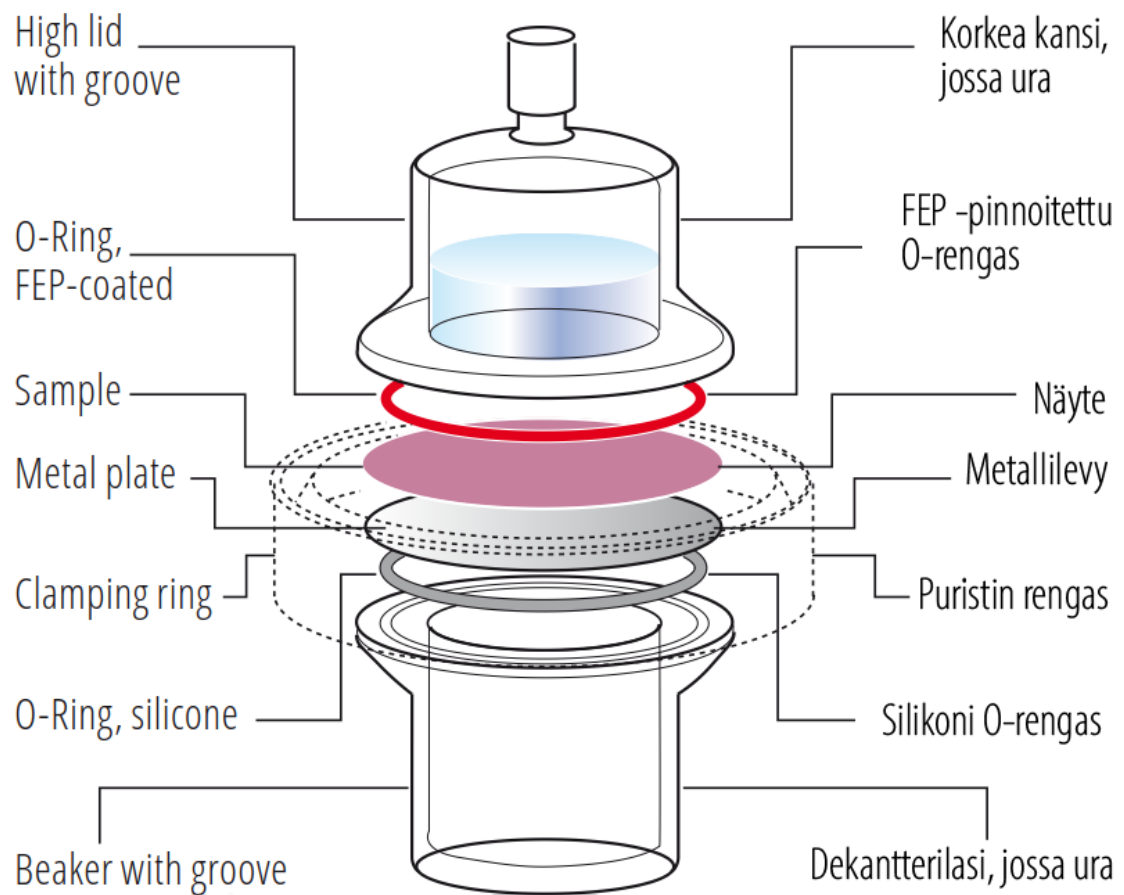
MOSH fraktion standardina käytetään heptadekaania ja MOAH fraktion standardina dietylibentseeniä. Standardiliuoksista valmistetaan kalibroitua varten sarjat joiden pitoisuudet ovat 0,1–0,5 mg/ml. MOAH:n kalibroitistandardiin lisätään 500 µl sisäisen standardin liuosta B ja MOSH:n kalibroitistandardiin lisätään 500µl ml sisäisen standardin liuosta D.

Työssä käytettiin BfR:n ohjeen mukaista GC-FID:n lämpötilaohjelmaa, joka on merkitty taulukkoon 2, sivulla 21. GC-FID menetelmän lämpötilaohjelmaa testattiin 3:10 laimennetuilla ISTD -liuoksilla. Lisäksi kukin standardiliuoksen komponentti ajettiin erikseen, jotta eri merkkiaineiden ja sisäisenä standardeina toimivien bisykloheksyylin, 1-metyyli- ja 2-metyyli-naftaleenien retentioajat käytetyissä laite-ajon parametreissa saatiin selville.



### 3.2 Näytteenotto

Näytteenottoon kokeiltiin kahta menetelmää. Näyte kerättiin lasisessa Migracell kenossa kierrätyskartongin ollessa, joko suorassa kosketuksessa muovipäällysteisen pakkauskartongin kanssa, tai lasikennon pohjalla niin että kierrätyskartongin ja pakkausmateriaalin väliin jää ilmaa. Suorassa kosketuksessa oleva kierrätyskartonki tiivistettiin pakkausmateriaalia vasten metallilevyllä. Lopulta päädyttiin käyttämään asetelua, jossa kierrätyskartonki ja pakkausmateriaali olivat suorassa kosketuksessa keskenään.



KUVIO 1. Migracell® -lasikello (FABES Forschungs-GmbH, n.d., muokattu, tekijänoikeudenhaltijan luvalla)

Näyte kerättiin MPPO elintarvikesimulanttiin altistamalla sitä migraatiolle 40 °C lämpötilassa 10 päivän ajan lämpökaapissa. Nämä olosuhteet ovat asetusten/standardien mukaiset epäsuotuisimmat testiolosuhteet tuotteille (SFS-EN 1186-1, 30; Komission Asetus 10/2011/EU, 85–86)

MPPO ja kierrätyskartonki eristettiin toisistaan TTY:n pilottilinjalla tuotetulla pakkaus-kartongilla, joka on päällystetty  $16 \text{ g/m}^2$  muovikerroksella PE-LD –muovia. Pakkaus-materiaali asetettiin kennoon muovipuoli MPPO:ta vasten ja kartonkipuoli kierrätyskar-tonkia vasten. Tämänlainen asettelu vastaa tosiasiallisia varastoinnin olosuhteita parhai-ten.

Mittauksia varten valmistettiin kymmenen rinnakkaista näytettä kerralla. Kierrätyskar-tongista leikattiin  $0,0065 \text{ dm}^2$  kappaleet joiden massa on noin 2,3 g, jokaiseen kennoon käyttäen pyöröleikkuria. Kennon pohjalle asetettaessa kierrätyskartongin palat leikattiin pienemmiksi saksilla, jotta ne asettuisivat paremmin. Suoraa kontaktia käyttävässä lopul-lisessa menetelmässä kierrätyskartonki kappaleet puristetaan kokonaisina lasikennon me-tallista välilevyä vasten tiiviisti kumirenkaita käyttäen.

Kierrätyskartonki ja pakkausmateriaali asetettiin kennoon ja kenno suljetaan metallisella puristimella. Kennon päällä oleva korkki avataan ja jokaiseen kennoon kaadettiin suppi-lon avulla 2 g MPPO:ta.

### 3.3 Näytteenkäsittely

Näytteenkäsittelyssä mineraaliöljyhiilivedyt uutettiin elintarvikesimulantista ja eroteltiin tyydyttyneisiin ja tyydyttämättömiin hiilivetyihin kiinteäfaasiuutolla. Lopuksi näytteet konsentroidtiin pyöröhaihduttimella.

#### 3.3.1 Uutto

MPPO kaadettiin migraatiokennojen korkit avaamalla erlenmeyerpulloihin uuttoa varten. Näytteet uutettiin 300 ml erlenmeyerpulloissa kahdella noin 20 ml erällä heksaania. Uuttoliuos suodatettiin suodatinpaperia käyttäen suppilon lävitse 50 ml mittapulloon. Kahden uuttokerran jälkeen suodatinpaperia huudeltiin heksaanilla, kunnes mittapullon oli täytynyt lähes merkkiin asti. Sisäinen standardi lisättiin mittapulloihin tässä vaiheessa, jotta sisäisen standardin komponentit fraktioituisivat halutulla tavalla seuraavissa vaiheissa. Näytteisiin lisättiin ensin 20 µl sisäistä standardiliuosta ja sitten mittapullo täytettiin merkkiin heksaanilla.

#### 3.3.2 Fraktiointi kiinteäfaasiuutolla

Kiinteäfaasiuuttokolonneina käytettiin lasiruiskuja, joiden tilavuus on 20 ml. Ne pakattiin kolmella grammalla aiemmin valmistettua 0,3 % hopeanitraatilla päällystettyä aktivoitua silikageeliä. Kolonnin vuotamisen estämiseksi pohjalle asetettiin pieni kappale lasivillaa.

Fraktointia varten valmistettiin kaksi eluenttia; eluentit A ja B. Eluentti A on pelkkää heksaania ja eluentti B on 20 ml diklorometaania, 5 ml tolueenia ja 75 ml heksaania. Eluoinnin suoritusjärjestys ja määrät kuvataan taulukossa 1.

MOSH näyte kerättiin 10 ml päärynäkolviin ja MOAH näyte kerättiin 25 ml päärynäkolviin. Kolvit suljetaan lasitulpilla ja siirrettiin yöksi pakastimeen.

TAULUKKO 1. Fraktioinnin suorittamiseen käytetty eluointijärjestys. Ennen näytteen lisäämistä kolonniin kolonni konditoidaan 10 ml:llä heksaania taulukon mukaisesti.

Eluenttiliuos ja määrä	Kerättävä fraktio
A: 10 ml	Jäte
Näyte: 1 ml	Jäte
A: 2 ml	Jäte
A: 4 ml	MOSH näyte
B: 2 ml	MOSH näyte
B: 12 ml	MOAH näyte

### 3.3.3 Konsentroidi pyöröhaihduttimella

Kunkin näytteen molemmat fraktiot konsentroidiin pyöröhaihduttimella 250–300 µl tilavuuteen GC-FID määrittystä varten. Tyydyttyneitä mineraaliöljyjä sisältävään fraktioon lisättiin 270 µl tolueenia. Konsentroidinnissa näytteestä haihdutettiin pois heksaania ja fraktionissa käytettyjä eluenteja, jolloin rikastettu näyte jäi kolvin pohjalle.

Konsentroidiin käytettiin vesihaudetta, pyöröhaihdutinta ja vakuumpumppua. Vesihaudteen lämpötilaksi asetettiin 55 °C. Kolvin kiinnittämiseksi pyöröhaihduttimeen oli käytettävä useita sovitinkappaleita, jotta lasihiosten koot täsmäisivät, sillä tarjolla ei ollut yhtä suoraan kolviin ja pyöröhaihduttimeen sopivaa kappaletta. Adaptereissa tapahtunut refluksointia pyrittiin vähentämään eristämällä sovitinkappaleet kahdella kerroksella alumiinifoliota, joka käärittiin sovittimien ympärille. Näytettä pidettiin ensin 3 minuuttia n. 500 mbar vakuumissa ja sitten n. 4 minuuttia tai kunnes tilavuus on sopiva n. 350 mbar vakuumissa. Kun haluttu näytteen tilavuus oli saavutettu, näyte pipetoitiin pasteur-pipetillä ruskeaan näytepulloon, joka suljettiin teflontiiivisteisellä korkilla ja siirrettiin yöksi pakastimeen.

### 3.4 GC –määritys

Määrityksessä käytetyt ajoparametrit on merkitty taulukkoon 2.

TAULUKKO 2. Kaasukromatografilaitteella käytetyt määritysparametrit

Näyteannostelu:	25 µl	suoraan kolonniin
Kaasu:	vety	
Virtausnopeus:	2,8 ml/min	
Paine:	35 kPa – 60 kPa	
Lämpötilaohjelma:		
1	70 °C	pidä 9 min
2	22 °C/min	kunnes 240 °C
3	30 °C/min	kunnes 380 °C
4	380 °C	pidä 12 min
Esikolonne:	Agilent HP-1 5 metriä 0,53 mm 0,15 µm pintakerros	
Erotuskolonne:	Agilent DBH-1HT 100% dimetyylipolysiloksaani 15 metriä 320 µm halkaisija 0,1 µm pintakerros	
Detektori:	liekki-ionisaatiodetektori 365 °C vety 40 ml/min ilma 450 ml/min suojakaasu 45 ml/min helium, jatkuva virtaus	

## 4 TULOKSET

### 4.1 Standardit

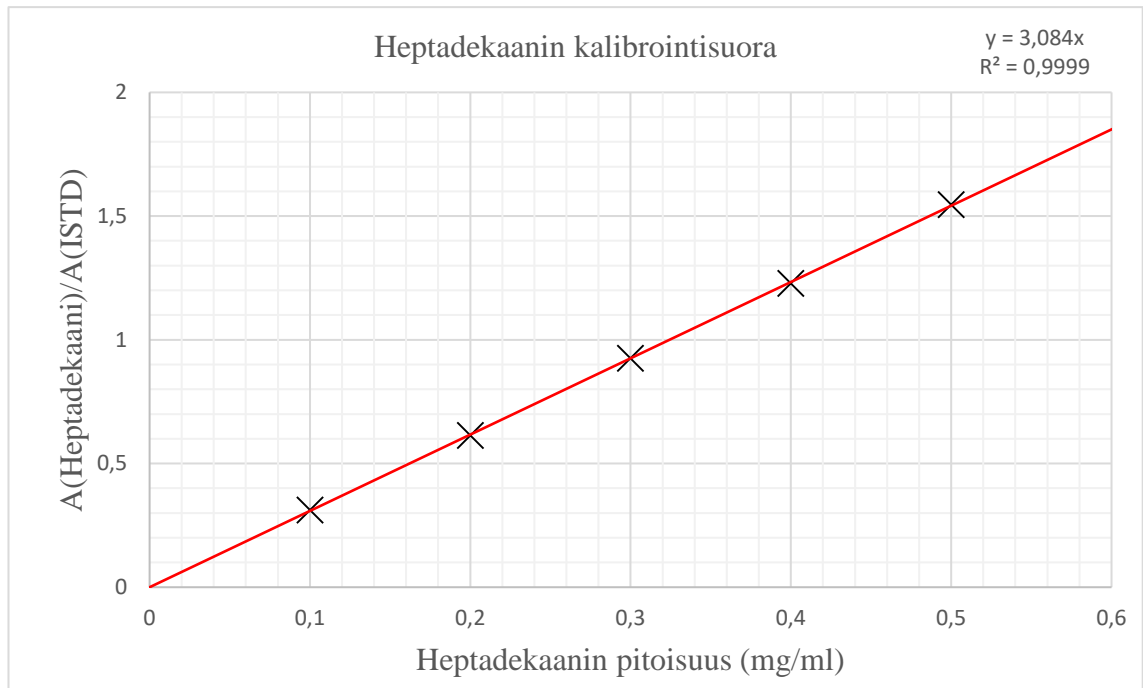
Monimutkaisen näytematriisin vuoksi sisäisen standardin komponenttien retentioajat varsinaisissa analyysinäytteissä vaihtelivat. Taulukon 3 tiedot helpottavat sisäisen standardin komponenttien piikkien havaitsemista näytteissä ja kalibrointistandardeissa. Sisäisen standardin komponenttien tunnistamiseksi analyysinäytteissä ne ajettiin erikseen tolueeniin liuotettuna. Erikseen ajettujen ISTD –liuoksen komponenttien retentioajat ovat merkittynä taulukkoon 3.

TAULUKKO 3. Sisäisen standardin komponenttien retentioajat erikseen ajettuna tolueenin liuotettuja perusliuoksia käyttäen.

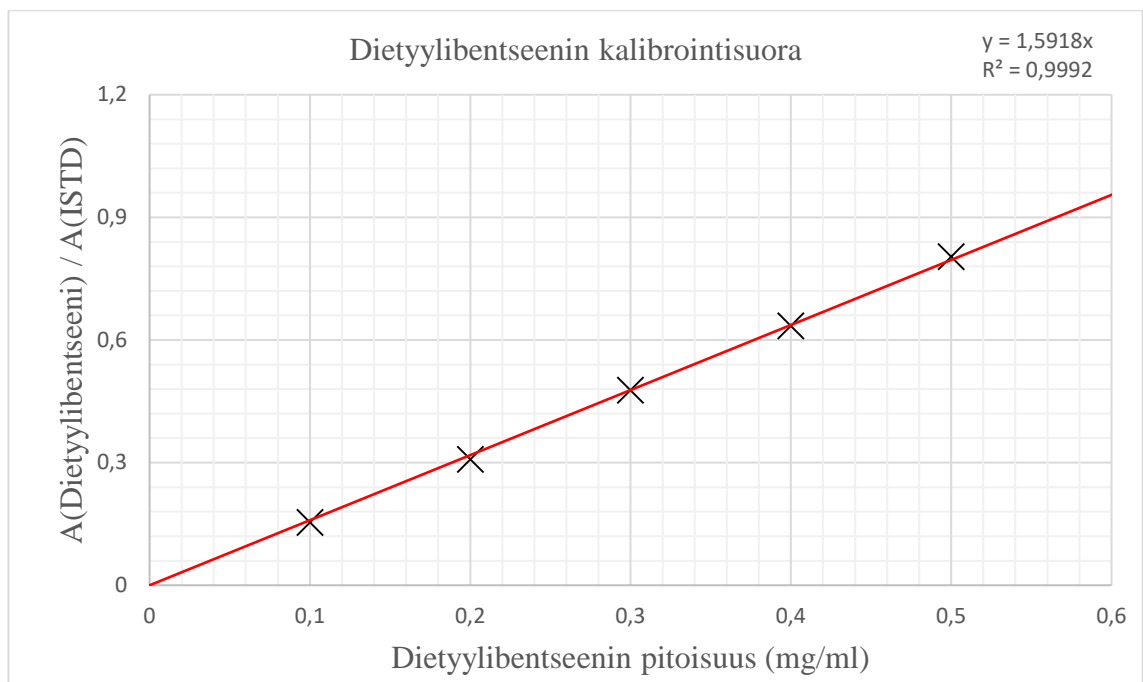
	Komponentti	$R_t$ (min)
MOSH:	undekaani	4,19
	tridekaani	10,60
	kolestaani	19,54
	bisykloheksyyli	9,63
MOAH:	pentyylibentseeni	4,45
	1-metyyli naftaleeni	9,65
	2-metyyli naftaleeni	8,92
	1,3,5-tri-tert-butyylibentseeni	12,19
	peryleeni	19,84

Tulokset luetaan vain osasta näytteiden tuottamia piikkejä. Mahdollisten kontaminaatioiden ja sisäisen standardin aiheuttamat piikit jätetään integroimatta, kun määritettävät piikit valitaan manuaalisesti. Määritettävä alue tunnistetaan sisäisen standardiliuoksen avulla. MOSH fraktion piikit löytyvät n-tridekaanin ja kolestaanin väliltä. MOAH fraktion määritettävää aluetta merkitsee puolestaan 1,3,5-tri-tert-butyylibentseeni ja peryleeni.

Tyydyttyneiden ja aromaattisten mineraaliöljyhiilivetyjen fraktioille valmistettiin omat standardisuorat sisäistä standardia käyttäen (kuviot 2 ja 3).



KUVIO 2. Heptadekaanin kalibrointisuora



KUVIO 3. Dietylibentseenin kalibrointisuora

## 4.2 Analyysinäytteet

Kaavaa 1 käyttämällä voidaan laskea analyysinäytteen sisältämän mineraaliöljyn massa.

$$m_{\text{MOH}} = \frac{A_{\text{MOH}} \cdot V_{\text{näyte}}}{A_{\text{ISTD}} \cdot k \cdot j_{\text{STD}}} \quad (1)$$

jossa,

$A_{\text{MOH}}$  = mineraaliöljyfraktion kokonaispinta-ala

$A_{\text{ISTD}}$  = sisäisen standardin piikkien kokonaispinta-ala

$j_{\text{STD}}$  = kalibrointisuoran kulmakerroin

$k = \frac{\text{kalibrointinäytteen sisäisen standardin tilavuus}}{\text{analyysinäytteen sisäisen standardin tilavuus}}$

$V_{\text{näyte}}$  = näytteen tilavuus

Määritettävien mineraaliöljyhiilivetyjen piikkien kokonaispinta-alaa verrataan näytteen ISTD yhdisteiden piikkien kokonaispinta-alaan. Sisäisen standardin pitoisuus kerrotaan standardinäytteiden ja analyysinäytteiden välisen tilavuuden kertoimella, standardinäytteissä oli 500 µl ISTD liuosta ja analyysinäytteissä 25 µl. Laskuesimerkkinä käytetään näytteen 17031602 tuloksia kaavaan 1 sijoittaen:

$$\frac{114936306 \cdot 25 \text{ ml}}{41051204 \cdot 1,5918 \frac{\text{ml}}{\text{mg}} \cdot 20} = 2,198633538 \text{ mg}$$

Näyte on liuotettu kahdesta grammasta MPPO:ta, joten MPPO:n mineraaliöljypitoisuus oli:

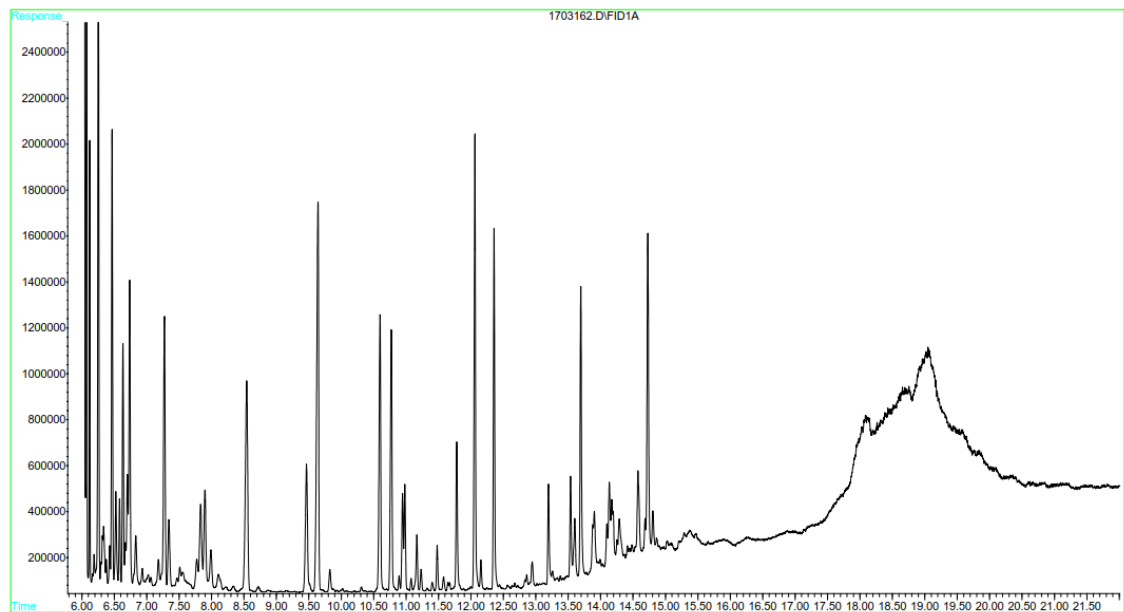
$$\frac{2,198633538 \text{ mg}}{2 \text{ g}} \approx 1,10 \frac{\text{mg}}{\text{g}}$$

Muiden MOAH näytteiden mineraaliöljypitoisuudet on merkitty taulukkoon 4 ja samalla tavalla laskettujen MOSH näytteiden mineraaliöljypitoisuudet on merkitty taulukkoon 5. Kuviot 4 ja 5 esittävät esimerkki kromatogrammeja kummastakin näytesarjasta.



TAULUKKO 4. Näytteiden sisältämien MOAH yhdisteiden massat laskettuna käyttäen kaavaa 1. Näyte 17031601 on nolla näyte, muut näytteet rinnakkaisia testinäytteitä.

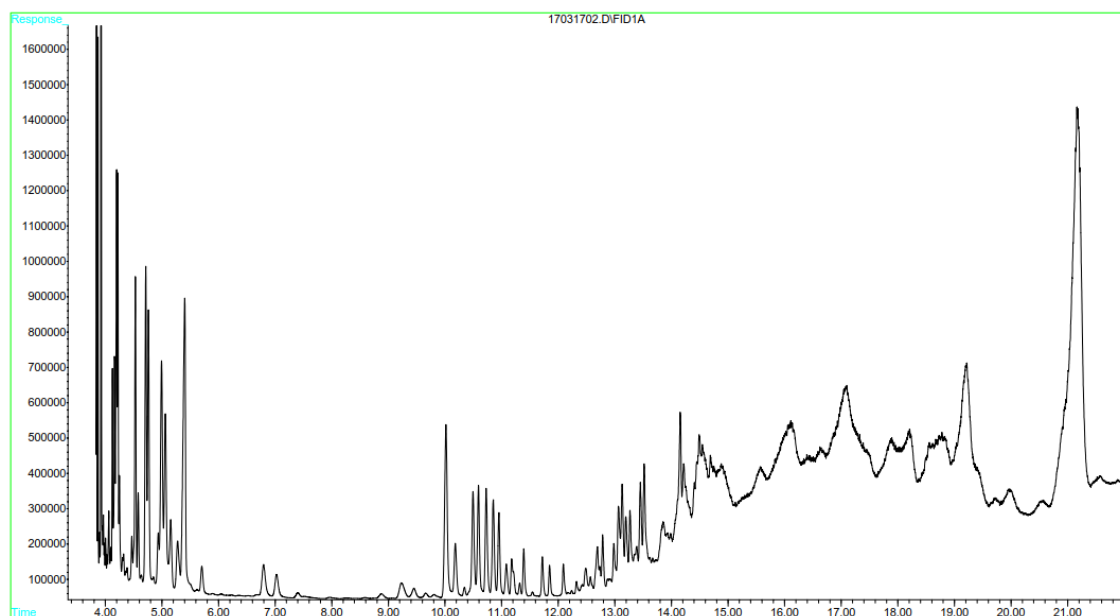
Näytteen tunnus	$m_{(\text{MOAH})}$ (mg/g)
17031601	0.86
17031602	1.10
17031603	1.06
17031604	1.46
17031605	1.51
17031607	1.60
17031610	1.33



KUVIO 4. MOAH näytteen 1703602 kromatografinen kuvaaja esimerkkinä.

TAULUKKO 5. Näytteen sisältämien MOSH yhdisteiden massat 10 - 14 minuutin retentioaikojen väliltä. Näyte 17031701 on nollanäyte ja muut näytteet ovat rinnakkaisia testinäytteitä.

Näytteen tunnus	$m_{(\text{MOSH})}$ (mg/g)	$m_{(\text{MOSH})}$ (mg/g)
	$R_t$ : 10-14 min	$R_t$ : 14-21 min
17031701	0.42	1.11
17031702	1.37	5.83
17031704	1.05	1.63
17031705	0.39	1.53
17031707	0.69	1.20
17031708	1.06	5.65
17032004	2.08	6.36
17032006	2.01	6.77
17032007	2.19	6.42



KUVIO 5. MOSH näytteen 17031702 kromatografinen kuvaaja esimerkkinä.

### 4.3 Nollanäytteet

Kontaminaatioepäilyn vuoksi analysoitiin myös sarja nollanäytteitä, joiden perusteella voitaisiin myös yrittää selvittää mahdollisen kontaminaation lähdettä. Nämä nollanäytteet saivat saman näytteenkäsittelyn kuin aikaisemmat analyysinäytteet, mutta niitä ei kerätty 10 päivää kestäväällä näytteenottomenetelmällä, vaan ne tehtiin puhtaita reagensseja käyttäen simuloiden analyysiä MPPO:n uutto -vaiheesta eteenpäin. Tarkoituksena on selvittää näytteiden kontaminaation mahdollisuutta. Näiden testien tulokset on laskettu käyttäen kaavaa 1 ja merkitty taulukoihin 6 ja 7.

TAULUKKO 6. Nollanäytteiden MOSH pitoisuudet.

Näytteen tunnus	$m_{\text{(MOSH)}} \text{ (mg/g)}$
17042004	2.58
17042005	0.39
17042006	1.61

TAULUKKO 7. Nollanäytteiden MOAH pitoisuudet.

Näytteen tunnus	$m_{\text{(MOAH)}} \text{ (mg/g)}$
17042001	-
17042002	6.13
17042003	0.27

#### **4.4 Näytteet joiden konsentroidi epäonnistui**

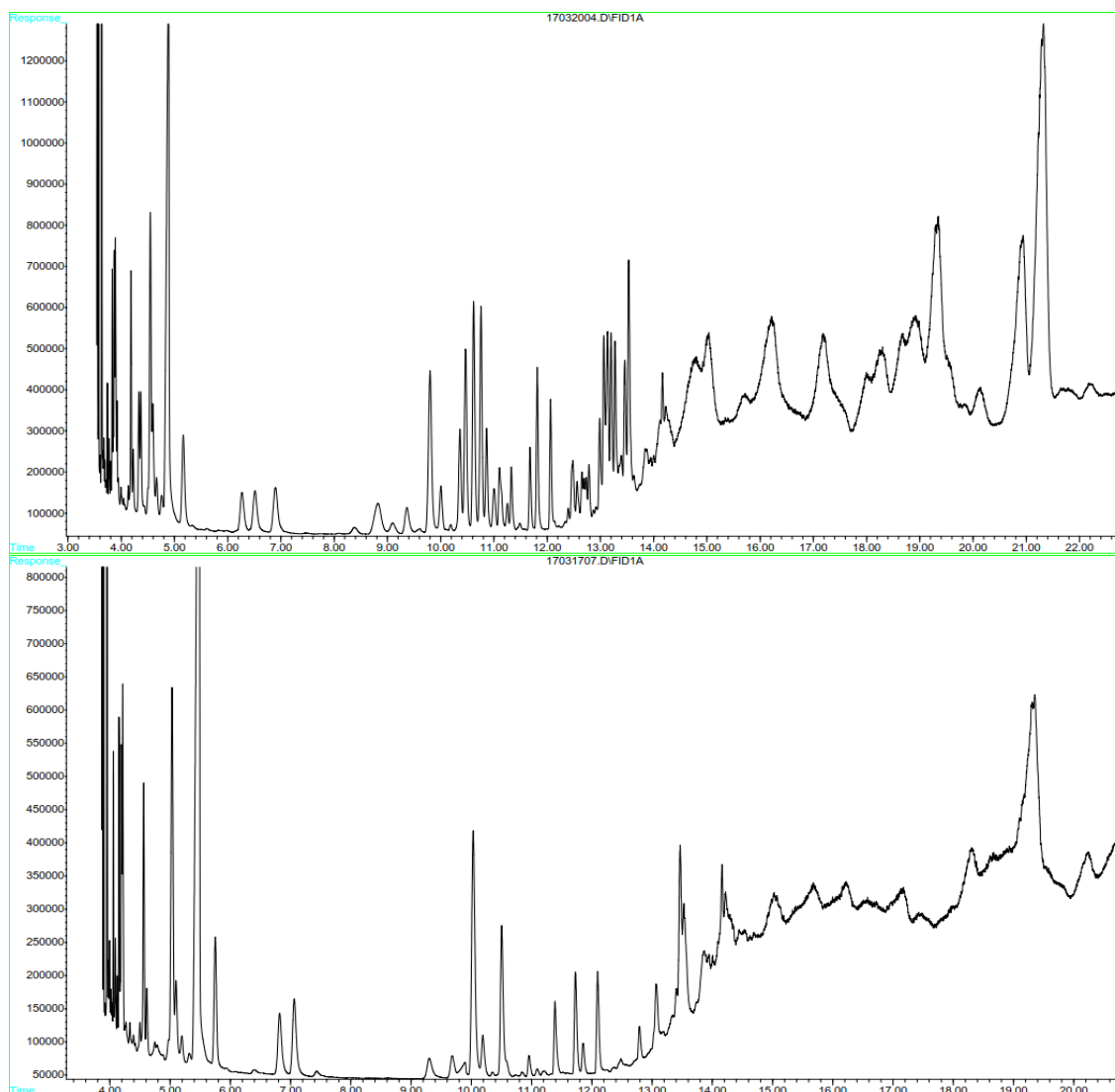
Osa näytteistä haihtui liian pieneen tilavuuteen konsentroidivaiheessa, eikä niitä voitu analysoida kaasukromatografilla. Osa näytteistä antoi lähes piikittömän kromatogrammin ensimmäisellä kaasukromatografimäärityksellä, mutta toisella yrityksellä niistä saatiin kromatogrammit, joiden analyyttipiikit olivat integroitavissa. Epäonnistuneita näytteitä oli yhteensä 7 näytettä eli noin 35 % kaikista 20:stä näytteestä.

## 5 POHDINTA

Opinnäytetyön tavoite oli testata analyysimenetelmää, jolla voitaisiin vertailla esimerkiksi eri paksuisilla muovikerroksilla päällystettyjen elintarvikepakkausmateriaalien kykyä estää niiden lävitse tapahtuvaa mineraaliöljyhiilivetyjen migraatiota. Näytteissä havaittujen kontaminaatioiden aiheuttamien ongelmien johdosta työssä ei saatu opinnäytetyön tarkoituksenmukaisiin tilastollisiin analyyseihin tarvittavia tuloksia. Tässä pohdinnassa keskitytään tämän vuoksi selvittämään kontaminaation mahdollisia lähteitä, joiden ymmärtäminen on tärkeää, mikäli vastaavaa analyysimenetelmää halutaan tutkia vielä jatkossa.

Tyydyttyneiden mineraaliöljyhiilivetyjen tulokset todettiin selkeämmäksi jakaa kahteen osaan kunkin näytteen kromatogrammien retentioaikojen mukaan, niin että noin 10–14 minuutin välillä ja 14–21 minuutin välillä havaitut kromatogrammin piikit erotetaan toisistaan. Jälkimmäinen, 14–21 minuutin alue, oli hankalampi integroida kromatografian tietokoneohjelman manuaalista integrointia käyttäen pohjaviiivan epätasaisuuden ja piikkien epäsäännöllisen muodon, sekä huonon resoluution vuoksi. Kuviossa 6 nähdään alemman näytteen 17031707, jonka MOSH pitoisuus oli 1,89 mg/g ja ylemmän näytteen 17032006, jonka MOSH pitoisuus oli 8,78 mg/g väliset erot kromatogrammien piikkien muodoissa.

Samaan fraktioon kuuluvien näytteiden väliset erot kummallakin retentioaikavälillä ovat suuria, mutta etenkin  $R_t = 14\text{--}21$  minuuttia alueella erot ovat huomattavia pienempien näytteiden pitoisuuden sijoittuessa 1–2 mg/g välille ja suurempien näytteiden pitoisuuksien sijoittuessa 5–7 mg/g välille. Kuviossa 6 näyte 17031707 sijoittuu tälle alemmalle välille ja näyte 17032006 korkeammalle välille.



KUVIO 6. Näytteen 17032006 (yllä) ja 17031707 (alla) kromatogrammit.

Aromaattisia mineraaliöljyjä sisältävien näyttefraktoiden välinen pitoisuuden vaihtelu keskenään verrattuna on pienempää kuin tyydyttyneillä mineraaliöljyillä. Silti pitoisuuden vaihtelu on liian suurta myös aromaattisten mineraaliöljyhiilivetyjen näyttefraktiossa. Lisäksi osa kromatogrammeista, etenkin tyydyttyneiden mineraaliöljyhiilivetyjen  $R_t = 14\text{--}21$  minuuttia välillä ovat muodoltaan huonoja piikkien huonon resoluution ja liian leveiden piikkien pohjien vuoksi. Kaikkien näiden ongelmien päätettiin mahdollisesti johtuneen näytteen kontaminoitumisesta, jonka testaamiseksi päätettiin mitata sarja reagenssinollanäytteitä.

Mikäli valmistetuissa nollanäytteissä havaittaisiin merkittäviä pitoisuuksia mineraaliöljyhiilivetyjä, voidaan mahdolliset kontaminaation lähteet rajata reagenssiin, käytettyyn

lasitavaraan tai näissä työvaiheissa tapahtuneeseen ulkopuoliseen kontaminaatioon. Mikäli kontaminaatiota ei havaita näin valmistelluissa nollanäytteissä, on mahdollisia kontaminaation lähteitä elintarvikesimulantti tai jokin muu näytteenoton virhe.

Tulosten (taulukot 4 ja 5) vaihtelu myös nollanäytteiden välillä on suurta ja eikä näytteiden mineraaliöljypitoisuus juuri eroa testinäytteistä, myös kromatogrammien piikkien muodot ovat aikaisemmin havaitulla tavalla huonoja. Tämän perusteella voidaan epäillä näytteiden kontaminoituneen reagenssien, työssä käytetyn lasitavaran tai työn suorituksen aikana tapahtuneen virheen aiheuttamana ulkopuolisesta lähteestä.

Samoja reagensseja ja osittain samoja lasitarvikkeita oltiin käytetty myös standardinäytteiden valmistamiseen, eikä näissä huomattu tuloksiin vaikuttavia määriä kontaminaatiota. Koska kontaminaatio näyttää säännönmukaisesti ilmenevän lähes jokaisessa näytteessä, voidaan kontaminaation epäillä olevan peräisin etenkin analyysinäytteiden näytteenkäsittelyyn käytetystä lasitavarasta.

Mikäli työssä käytetyt lasiset työvälineet ovat kontaminaation lähde, on niiden puhdistamiseen käytetty pesu ollut riittämätön. Kontaminaation mahdollisia lähteitä selvittäessä kävi myös ilmi, että aikaisemmin työtä suorittaessa lasitavaraa on pesun sijaan puhdistettu paistamalla niitä uunissa. Sekä kemikaaleilla huuhtelu, että uunissa paistaminen on kumpikin esitelty alkuperäisessä työohjeessa menetelminä saada puhtaita laboratoriolasivälineitä kontaminaatioiden välttämiseksi. (Bundesinstitut für Risikobewertung, 4)

Epäillyn kontaminaation lähteestä ei päästy lopulta täyteen varmuuteen, sillä ajan puutteen vuoksi ei ehditty suorittamaan samoja analyysejä uunissa paistettuja laboratoriolasitarvikkeita käyttäen. Tiedetään kuitenkin, että vastaavaa menetelmää on onnistuneesti käytetty paperinjalostus ja pakkaustekniikan laboratoriossa ilman kontaminaation aiheuttamia ongelmia. Tämän vuoksi olisi suositeltavaa jatkossa käyttää uunia lasitarvikkeiden puhdistamiseen, tai varmistua kemiallisia liuottimia käyttävän pesumenetelmän kyvystä puhdistaa lasitarvikkeita kumpaakin menetelmää vertaavien testien avulla.

## LÄHTEET

Aurela, B. 2001. Migration of Substances from Paper and Board Food Packaging Materials. Väitöskirja. Oy Keskuslaboratorio.

Barnes, K., Richard Sinclair, C. ja Watson D.H. (toim.) 2007. Chemical Migration and Food Contact Materials. Cambridge: Woodhead Publishing Limited ja CRC Press LLC.

Biedermann, M., Ignierhoff, J.E., Barbanera, M., Garbini D., ja Grob, K. 2011. Migration of Mineral Oil into Noodles from Recycled Fibres in the Paperboard Box and the corrugated Board Transport Box as well as from Printing Inks: A Case Study. Packaging Technology and Science 24, 281 – 290.

Biedermann, M., Ingenhoff, J. E., Dima, G., Zurfluh, M., Biedermann-Brem., S., Richter, L., Simat, T., Harling A. ja Grob, K. 2012. Migration of mineral oil from printed paperboard into dry foods: survey of the German market. Part II: advancement of migration during storage. European Food Research and Technology 236 (3), 459 – 472.

Bundesinstitut für Risikobewertung. Determination of hydrocarbons from mineral oil (MOSH & MOAH) or plastics (POSH & PAO) in packaging materials and dry foodstuffs by solid extraction and GC-FID. Analyysimenetelmä. Luettu: 07.12.2018.

<http://www.bfr.bund.de/cm/349/determination-of-hydrocarbons-from-mineral-oil-or-plastics.pdf>

Christian, G. D., 2004. Analytical Chemistry, 6. painos. United States of America: John Wiley & Sons.

European Food Safety Authority. 2013. Scientific Opinion on Mineral Oil Hydrocarbons in Food. Artikkel. Luettu: 07.12.2018.

<https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2704>

European Food Safety Authority. 2010. Call for Data on Mineral Oil Hydrocarbons in Food. Verkkolähde. Luettu: 07.12.2018.

<https://www.efsa.europa.eu/en/dataclosed/call/datex100806>

Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus 1935/2004/EY, elintarvikkeen kanssa kosketukseen joutuvista materiaaleista ja tarvikkeista ja direktiivien 80/509/ETY ja 89/109/ETY kumoamisesta. Euroopan Unionin virallinen lehti 27.10.2004

<https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:338:0004:0017:fi:PDF>

Graudreault, R., Brochu, C., Sandrock, R., Deglmann, P., Seyffer, H. ja Tétreault, A., 2013. Overview of Practical and Theoretical Aspects of Mineral Oil Contaminants in Mill Process and Paperboard. Konferenssi –julkaisu. 15<sup>th</sup> Fundamental Research Symposium. Cambridge.

Harris, D. C., 2007. Quantitative Chemical Analysis 7<sup>th</sup> Edition. New York: W. H. Freeman and Company.



Komission asetus 10/2011/EU, elintarvikkeiden kanssa kosketukseen joutuvista muovisista materiaaleista ja tarvikkeista (ETA:n kannalta merkityksellinen teksti). Euroopan Unionin virallinen lehti 15.1.2011

<https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:012:0001:0089:FI:PDF>

Lehtonen, Pekka O., Sihvonen, Marja-Liisa., 2004. Laboratorioalan analyttinen kemia. Helsinki: Opetushallitus.

Migracell® -lasikenno, n.d. Esite. FABES Forschungs-GmbH. Katsottu: 22.11.2018 Saatavilla: [https://www.fabes-online.de/media/Migracell\\_FABES\\_2018.pdf](https://www.fabes-online.de/media/Migracell_FABES_2018.pdf)

Morris, L. J. 1966. Separations of lipids by silver ion chromatography. Journal of Lipid Research 7, 717 – 737. Luettu: 12.11.2018. Saatavilla:

<http://www.jlr.org/content/7/6/717.long>

Noikolova-Damyanova, B., 1992. Advances in Lipid Methology – One. Oily Press Luettu: 12.11.2018 Sivut 181 – 237 Luettu: 07.12.2018. Saatavilla:

<http://lipidlibrary.aocs.org/Analysis/content.cfm?ItemNumber=40341>

Robertson, G. L. 2013. Food Packaging: Principles and Practice. E-kirja. New York: CRC Press - Taylor and Francis Group, LLC

Suomen Standardisoimisliitto SFS ry. 2004. SFS-EN 14338:en : Paper and board intended to come into contact with foodstuffs. Conditions for determination of migration from paper and board using modified polyphenylene oxide (MPPO) as simulant. Standardi asiakirja.

Suomen Standardisoimisliitto SFS ry. 2003. SFS-EN 1186-1: Elintarvikkeiden kanssa kosketuksessa olevat materiaalit ja tarvikkeet. Muovit. Osa 1: Ohje olosuhteiden ja testi menetelmien valitsemiseksi kokonaismigraatiomäärityksiin.

Tapio Ehder (toim.) 2005. Kemian metrologian opas. Helsinki: VTT Metrologian Neuvottelukunta. Luettu 12.11.2018

<http://www.vtt.fi/inf/pdf/MIKES/2005-J6.pdf>

Zurfluh, M., Biedermann, M. ja Grob, K. 2013. Simulation of the migration of mineral oil from recycled paperboard into dry foods by Tenax. Food Additives & Contaminants: Part A 30 (5), 909 – 918.

## LIITTEET

Liite 1. Työohje

### TYÖOHJE

### MINERAALIÖLJYN MIGRAATIOTESTAUS GC-FID:LLÄ

#### Tarvikkeet

- Migracell -kennot
- Soxhlet –uuttolaitteisto
- Pyöröhaihdutin
- Vakuumpumppu
- Uuttopatruunat soxhlet uuttoon
- Lämpöhaude pyöröhaihduttimelle
- Tasosekoittaja
- Lämpömittari lämpöhauteelle
- 500 ml lasipullo silika geelin päällystämiseen ja säilyttämiseen
- Alumiinifoliota valolta suojaamiseen
- Ruskeita GC näytepulloja teflon korkeilla
- GC näytepullotarjotin, korkinsulkija ja korkinavaaja
- Kiinteäfaasiuuttokolonit esim. 15 ml lasiset ruiskut
- Suodatinpaperia ja suppilo
- Lasiset Pasteur pipetit
- Lasiset ruiskut 10 µl ja 0,5 ml ISTD annosteluun
- Haihdutuskolvit 10 ja 25 ml
- Täyspipettejä standardien ja laimennosten valmistukseen
- Mittapulloja 10, 20 ja 25 ml standardiliuosten valmistamiseen ja säilyttämiseen
- Mittapulloja standardiliuosten laimennossarjaan
- Lasivillaa kiinteäfaasiuuttokolonien tiivistämiseen

Lasitarvikkeet on puhdistettava paistamalla niitä uunissa ja sitten säilytettävä esimerkiksi alumiinifolioon käärittynä kontaminaation välttämiseksi.

## Aineet ja reagenssit

- MPPO, 2 grammaa /näyte
- Asetoni
- Ionivaihdettu vesi
- Diklorometaani
- Heksaani
- Silikageeli 60 Å (aktivoidaan keraamisessa astiassa 24 h ja 400 °C)
- Hopeanitraatti
- Tolueni

### Sisäinen standardi:

- Heptadekaani
- Dietylibentseeni

### MOSH, POSH, POA

- n-undekaani
- n-tridekaani
- disykloheksaani
- 5 $\alpha$ -kolestaani

### MOAH

- 1-metyylinaftaleeni
- 2-metyylinaftaleeni
- 1,3,5-tri-tert-butylibentseeni
- peryleeni
- pentylibentseeni

### **MPPO:n puhdistaminen Soxhlet –uutolla**

- Uuta noin 6 tuntia asetonilla Soxhlet –uuttolaitteistossa
- Vaihda asetoni vähintään kaksi kertaa uuton aikana
- Kuivataan noin 6 tuntia 160 °C:ssa uunissa petrimaljalla.

### **Näytteenotto**

- Aseta näytekappale kammioon ja sulje kenno. Kaada 2 grammaa MPPO :ta kennoon ja sekoita vaakatasossa levittääksesi MPPO tasaisesti
- Valmista duplikaattinäytteet ja nollanäyte, jossa ei ole pakkauskartonkia
- Testiolosuhteet: 10 päivää 40 °C :ssä. (SFS-EN 1186-1, 30; Komission Asetus 10/2011/EU, 85–86) Siirrä MPPO Erlenmayer –pulloon suppiloa käyttäen, huuhtelee suppilo 20 ml:llä heksaania liuotinta keittopulloon
- Sekoita Erlenmayer –pulloa minuutin ajan
- Dekantoi heksaani Erlenmayer –pullosta suodatinpaperillisen suppilon läpi 50 ml Erlenmayer –pulloon
- Toista toisella erällä 20 ml orgaanista heksaania
- Täytä 50 ml mittapullo merkkiin huuhtelemalla suodatinpaperille vuotanutta MPPO:ta heksaanilla
- Lisää mittapulloon 50 µl ISTD -liuosta

**ISTD- ja standardiliuosten valmistus**

- Kantaliuos A:  
Punnitse 120 mg n-undekaania ja 60 mg n-tridekaania 20 ml mittapulloon.  
Täytä merkkiin tolueenilla
- Kantaliuos B:  
Punnitse 120 mg 5 $\alpha$ -kolestaania 10 ml mittapulloon ja täytä merkkiin tolueenilla.
- Kantaliuos C:  
Punnitse 120 mg bisykloheksyyliä 20 ml mittapulloon, täytä merkkiin tolueenilla.
- Kantaliuos D:  
Järjestys, jossa aineet lisätään, on tärkeä muuten standardiaineet voivat saostua mittapullossa  
Punnitse 120 mg 1-metyylinaftaleenia, pentyylibentseenia ja 2-metyylinaftaleenia 20 ml mittapulloon, täytä merkkiin tolueenilla.
- Kantaliuos E:  
Punnitse 120 mg 1,3,5-tri-tert-butyylibentseeniä 20 ml mittapulloon, täytä merkkiin tolueenilla
- Kantaliuos F:  
Punnitse 24 mg peryleeniä 20 ml mittapulloon, täytä merkkiin tolueenilla

**Sisäisen standardin valmistus:**

- Pipetoi 5 ml liuosta F 10 ml mittapulloon. Lisää 0,5 ml kaikkia muita liuoksia (A – E). Täytä tolueenilla merkkiin.
- Liuos säilyy 6 kk kuivassa ja valolta suojattuna säilytettynä

## Kiinteäfaasiuutto

- Erotetaan MOSH ja MOAH fraktiot kiinteäfaasiuutolla
- Uuttoliuokset:
  - Eluentti A: Heksaani
  - Eluentti B: 20 ml diklorometaani, 5 ml tolueeni ja 75 ml heksaani, valmistetaan samana päivänä
  
- Kolonnin pakkausmateriaalin valmistus:
  - Paista 300 g silikageeli 60 meshiä 400 °C :ssa 24 tuntia
  - Liuota 0,5 g AgNO<sub>3</sub> 50 ml veteen
  - Sekoita 50 g silikageeliä keittopullossa hopeanitraatin liuokseen
  - Haihdutus: 1 tunti 70 °C, sitten 1 tunti 80 °C, ja lopuksi 12 tuntia 90 °C
  - Sekoita siihen 33g 1% hopeanitraatti – silica geeli seosta 500 ml lasiastiassa, joka on suojattu valolta
  - Sekoita tasosekoittajalla 12 tuntia
  
- Uuttokolonnin pohja peitetään lasivillalla ja uuttokolonnia puhdistetaan pais-  
tamalla uunissa 400 °C:ssä 24 tunnin ajan
- Kolonni pakataan 3 g:lla 0,3% hopeanitraatti-silikageeliseosta. Taputa kolon-  
nia kevyesti pakkauksen tiivistämiseksi
- Eluoinnin suorittaminen kiinteäfaasikolonnissa:
  1. Aseta jäteastia kolonnin alle
  2. 10 ml Eluenttia A kolonniin
  3. 1 ml näyteliuosta
  4. Eluoi käyttäen 2 ml Eluenttia A
  5. Vaihda alle 10 ml haihdutuskolvi, johon kerätään MOSH fraktio
  6. Eluoi käyttäen 4 ml Eluenttia A
  7. Eluoi käyttäen 2 ml Eluenttia B
  8. Vaihda alle 25 ml haihdutuskolvi, johon kerätään MOAH fraktio
  9. Eluoi käyttäen 12 ml Eluenttia B

### **Fraktioiden konsentroidi vakuuissa pyöröhaihduttimella**

- Nesteen palautumisen estämiseksi on kiinnitettävä jäteastia haihdutusastian yläpuolelle
- Haihdutuskolvin liitosta voi eristää kaksinkertaiseksi liitäntöjen ympärille kierretyllä alumiinifoliokerroksella lämmön pysymiseksi etenkin, jos joudutaan käyttämään useita sovituskappaleita
- MOAH fraktioon lisätään 270 µm tolueenia, joka on aiemmin puhdistettu kiinteäfaasiuuttokolonna käyttäen
- MOSH ja MOAH konsentroidaan 250 – 300 µm tilavuuteen
- Lämpöhauteen lämpötila 55 °C
- Haihdutetaan ensin 3 minuutin ajan 520 – 530 mbar paineessa
- Sitten lasketaan paine 350 – 360 mbar ja haihdutetaan 3 – 4 minuuttia, kunnes saavutetaan haluttu tilavuus
- Nesteen palautumisen estämiseksi olisi hyvä kiinnittää jäteastia haihdutusastian yläpuolelle
- Näytteet ja nollat siirretään ruskeisiin 2,5 ml GC –näytepulloihin
- Näytteitä voidaan säilyttää väliaikaisesti pakastimessa ennen GC -analyysiä

**GC –Analyysi**

Näyteannostelu:	25 µl	suoraan kolonniin
Kaasu:	vety	
Virtausnopeus:	2,8 ml/min	
Paine:	35 kPa – 60 kPa	
Lämpötilaohjelma:		
1	70 °C	pidä 9 min
2	22 °C/min	kunnes 240 °C
3	30 °C/min	kunnes 380 °C
4	380 °C	pidä 12 min
Esikolonne:	Agilent HP-1 5 metriä 0,53 mm 0,15 µm pintakerros	
Erotuskolonne:	Agilent DBH-1HT 100% dimetyylipolysiloksaani 15 metriä 320 µm halkaisija 0,1 µm pintakerros	
Detektori:	liekki-ionisaatiodetektori 365 °C vety 40 ml/min ilma 450 ml/min suojakaasu 45 ml/min helium, jatkuva virtaus	