



Osaamista  
ja oivallusta  
tulevaisuuden  
tekemiseen

Noora Palkamo

# Mineraaliöljyfraktioiden määrittäminen pahvisista ja kartonkisista elintarvikepakkauksista

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Laboratorioanalyttikko (AMK)

Laboratorioanalytiikka

Opinnäytetyö

21.8.2020

Tekijä Otsikko  Sivumäärä Aika	Noora Palkamo Mineraaliöljyfraktioiden määrittäminen pahvisista ja kartonkisista elintarvikepakkauksista  49 sivua + 4 liitettä 21.8.2020
Tutkinto	laboratorioanalyttikko (AMK)
Tutkinto-ohjelma	laboratorioanalytiikka
Ohjaajat	lehtori Mia Ruismäki tullikemisti Anni-Kaisa Kurri
<p>Opinnäytetyö tehtiin Tullilaboratorion kulutustavarajaostossa, ja tarkoituksena oli kehittää menetelmä mineraaliöljyhiilivetyjen määrittämiseen kartonkisista ja pahvisista elintarvikekontaktimateriaaleista. Menetelmää kehitettiin Euroopan komission yhteisen tutkimuskeskuksen ohjeistuksen pohjalta. Tavoitteena oli kehittää näytteiden esikäsittelyvaiheita sekä GC-FID-laitteen menetelmää luotettavien tulosten saavuttamiseksi, jotta kulutustavarajaosto pystyy hyödyntämään menetelmää tulevaisuudessa toteutettaviin mineraaliöljyhiilivetyjen määrittämiin sekä osallistuessaan myöhemmin aiheeseen liittyvään vertailututkimukseen.</p> <p>Mineraaliöljyhiilivedyt elintarvikekontaktimateriaaleissa voidaan jakaa tyydyttyneisiin mineraaliöljyhiilivetyihin (MOSH) sekä aromaattisiin mineraaliöljyhiilivetyihin (MOAH), joista jälkimmäisessä ryhmässä on todettu olevan karsinogeenisiä yhdisteitä. Mineraaliöljyhiilivetyjen siirtyminen pahvisesta ja kartonkisesta elintarvikekontaktimateriaalista elintarvikkeeseen tapahtuu migraatiolla, ja elintarvikekontaktimateriaalissa oleva painomuste on mineraaliöljyhiilivetyjen pääasiallinen lähde.</p> <p>Mineraaliöljyhiilivedyt esiintyvät monimutkaisina seoksina, eikä niistä ole mahdollista mitata yksittäisiä yhdisteitä. Näin ollen näytteestä erotellaan MOSH- ja MOAH-yhdisteet omiksi fraktioikseen, jotka analysoidaan GC-FID-laitteistolla, ja lopputulokseksi saadaan MOSH- ja MOAH-yhdisteiden kokonaispitoisuudet. Opinnäytetyössä fraktiot eroteltiin kiinteäfaasiuutolla. GC-FID-menetelmä saatiin toimivaksi testaamalla eri injektiotyyppejä sekä optimoimalla kolonniuunin lämpötilaohjelma ja kolonnin paine. Näytteiden esikäsittelyvaiheiden läpivientiin saatiin rutiinia ja varmuutta.</p> <p>Menetelmän toimivuutta testattiin mittaamalla vertailupahvinäyte, jonka MOSH- ja MOAH-pitoisuudet ovat tunnettuja. Vertailupahvinäytteestä valmistettiin kolme rinnakkaista näytettä, ja tulokset jäivät huomattavasti viitearvojen alapuolelle. Alhaisemmat pitoisuudet johtuvat todennäköisesti siitä, etteivät mineraaliöljyhiilivedyt uuttuneet kokonaisuudessaan liuotinuuton aikana tai ne eluoituivat kiinteäfaasiuutossa väärään aikaan stationäärifaasista. Parempien tulosten saavuttamiseksi liuotin- ja kiinteäfaasiuuttovaiheita tulisi tehostaa.</p>	
Avainsanat	elintarvikekontaktimateriaali, GC-FID, kiinteäfaasiuutto, mineraaliöljyhiilivedyt

Author Title	Noora Palkamo Development of a Method for Determination of Mineral Oil Fractions from Cardboard Food Packaging Materials
Number of Pages Date	49 pages + 4 appendices 21 August 2020
Degree	Bachelor of Laboratory Services
Degree Programme	Laboratory Sciences
Instructors	Mia Ruismäki, Principal Lecturer Anni-Kaisa Kurri, Customs Chemist
<p>This thesis study was carried out in the Consumer Goods Division of the Customs Laboratory. The purpose was to develop a method for the determination of mineral oil hydrocarbons from cardboard food contact materials. The developed method is based on a guideline developed by the Joint Research Centre. The aim was to develop the sample preparation steps, as well as the method for the GC-FID. The Consumer Goods Department will utilize the method for future determinations of mineral oil hydrocarbons and by participating in a related comparative study later.</p> <p>Mineral oil hydrocarbons in food contact materials can be divided into Mineral Oil Saturated Hydrocarbons (MOSH) and Mineral Oil Aromatic Hydrocarbons (MOAH). MOAH has been found to be carcinogenic. The main source of the mineral oil hydrocarbons from cardboard and paperboard food contact material to food is printing ink.</p> <p>Mineral oil hydrocarbons are complex mixtures and it is not possible to measure individual compounds from them. MOSH and MOAH compounds are separated from the sample into their own fractions, which are analyzed by GC-FID to obtain the total concentrations of MOSH and MOAH compounds. In the thesis study, the fractions were separated by solid phase extraction. The GC-FID method was optimized by testing different injection types, column furnace temperature programs and column pressure levels. Routine and certainty for the sample preparation was obtained during the thesis study.</p> <p>The performance of the method was tested by measuring a reference cardboard sample with known MOSH and MOAH concentrations. Three replicate samples were prepared from the control cardboard sample and the results were well below the reference values. The lower concentrations are most likely due to the fact that the mineral oil hydrocarbons were not completely extracted during the solvent extraction or they eluted at the wrong time from the stationary phase in the solid phase extraction. To achieve better results, the solvent and solid phase extraction steps should be optimized.</p>	
Keywords	Food contact material, GC-FID, Mineral Oil Hydrocarbons, Solid Phase Extraction

## Sisällys

### Lyhenteet

1	Johdanto	1
2	Elintarvikekontaktimateriaalit	2
3	Mineraaliöljyhiilivedyt elintarvikekontaktimateriaaleissa	4
3.1	MOSH ja MOAH	4
3.2	Kontaminaatiot MOSH- ja MOAH-yhdisteiden analytiikassa	7
3.3	Mineraaliöljyhiilivetyjen migraatio elintarvikekontaktimateriaalista	9
4	Analyysimenetelmät	12
4.1	Manuaalinen menetelmä	13
4.1.1	Kiinteäfaasiuutto	13
4.1.2	Kaasukromatografia ja liekki-ionisaatiodektektori	14
4.1.3	Yhdistelmäinjektori	15
4.2	Muut soveltuvat analyysimenetelmät	19
4.3	Tulosten tulkinta	21
5	Työn toteutus	26
5.1	Laitteet, tarvikkeet ja kemikaalit	26
5.2	GC-menetelmän optimointi	27
5.2.1	Kolonniuunin lämpötila ja kolonnin virtausnopeus	29
5.2.2	Injektiotyypin valinta	29
5.3	Näytteiden esikäsittely	32
6	Tulokset	36
6.1	Sisäisten standardien piikkien vertailu	38
6.2	Vertailunäytteen MOSH- ja MOAH-pitoisuudet	40
7	Yhteenveto	44
	Lähteet	47

## Liitteet

Liite 1. Työvaiheet näytteiden esikäsittelyä varten

Liite 2. MOSH-näytteiden kromatogrammit

Liite 3. MOAH-näytteiden kromatogrammit

Liite 4. MOSH- ja MOAH-näytteiden hiilifraktioiden ja sisäisten standardien piikkien pinta-  
alat

## Lyhenteet

1 MN	<i>1-Methylnaphthalene</i> . 1-metyyli-naftaleeni
2 MN	<i>2-Methylnaphthalene</i> . 2-metyyli-naftaleeni
5B	<i>Pentylbenzene</i> . Pentyylibentseeni
BfR	<i>Bundesinstitut für Risikobewertung</i> . Saksan riskiarviointikeskus
Cho	<i>Cholestane</i> . Kolestaani
CSR	<i>Concurrent Solvent Re-Condensation</i> . Liuottimen samanaikainen kondensaatio
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i> . Euroopan elintarviketurvallisuusvirasto
EU	<i>European Union</i> . Euroopan unioni
GC-FID	<i>Gas Chromatography - Flame Ionization Detector</i> . Kaasukromatografia - liekki-ionisaatiodetektori.
HPLC	<i>High-Performance Liquid Chromatography</i> . Korkean erotuskyvyn nestekromatografia
ISTD	<i>Internal Standard</i> . Sisäinen standardi
JRC	<i>Joint Research Centre</i> . Euroopan komission yhteinen tutkimuskeskus
LC	<i>Liquid Chromatography</i> . Nestekromatografia
MMI	<i>Multimode Inlet</i> . Yhdistelmäinjektori
MOAH	<i>Mineral Oil Aromatic Hydrocarbon</i> . Aromaattinen mineraaliöljyhiilivety
MOH	<i>Mineral Oil Hydrocarbon</i> . Mineraaliöljyhiilivety

MORE	<i>Mineral Oil Refined Product.</i> Mineraaliöljyistä jalostettu tuote
MOSH	<i>Mineral Oil Saturated Hydrocarbon.</i> Tyydyttynyt mineraaliöljyhiilivety
PAO	<i>Poly Alpha Olephin.</i> Polyalfaolefiini
Per	<i>Perylene.</i> Peryleeni
POSH	<i>Polyolefin Oligomeric Saturated Hydrocarbon.</i> Polyolefiinien oligomeerinen tyydyttynyt hiilivety
PTE	<i>Polyethylene terephthalate.</i> Polyeteenitereftalaatti
TBB	<i>1,3,5-Tri-tert-butylbenzene.</i> 1,3,5-tri-tert-butyylibentseeni

## 1 Johdanto

Opinnäytetyö toteutettiin Tullilaboratorion kulutustavarajaostossa Espoon Otaniemessä. Kulutustavarajaostossa testataan Suomeen tuotavien kulutustavaroiden turvallisuutta ja varmistetaan täyttävätkö ne niille asetetut vaatimukset. Valvonta perustuu kuluttajaturvallisuuslakiin, kemikaalilakiin ja lakiin kosmeettisista valmisteista. Leluja ja lastenhoito- tarvikkeita tutkitaan eurooppalaisten turvallisuusstandardien mukaisesti. [1.]

Opinnäytetyön tarkoituksena oli kehittää kulutustavarajaostolle menetelmä mineraaliöljyhiilivetyjen (Mineral Oil Hydrocarbon, MOH) määrittämiseen pahvisista ja kartonkisista elintarvikekontaktimateriaaleista Euroopan komission yhteisen tutkimuskeskuksen (engl. Joint Research Centre, JRC) ohjeistukseen pohjautuen. Kehitettyä menetelmää on tarkoitus hyödyntää, kun kulutustavarajaosto osallistuu tulevaisuudessa aiheeseen liittyvään vertailututkimukseen ja analysoi mineraaliöljyhiilivetyjä sille osoitetuista elintarvikekontaktimateriaaleista.

Elintarvikekontaktimateriaaleilla tarkoitetaan kaikkia tarvikkeita tai materiaaleja, jotka ovat tai tulevat olemaan välittömässä tai välillisessä kontaktissa elintarvikkeen kanssa [2]. Mineraaliöljyhiilivedyt ovat pääosin peräisin painomusteesta, jota voi olla pakkauksen kuvioinnissa tai kierrätysmateriaaleista peräisin olevasta painomusteesta [3, s. 45]. Mineraaliöljyhiilivedyt voivat siirtyä elintarvikekontaktimateriaalista elintarvikkeeseen välittömän kontaktin kautta tai läpäisemällä elintarvikekontaktimateriaalin tai välissä olevan suojamateriaalin [4, s. 7].

Mineraaliöljyhiilivedyt voidaan luokitella tyydyttyneisiin mineraaliöljyhiilivetyihin (engl. Mineral Oil Saturated Hydrocarbons, MOSH) ja aromaattisiin mineraaliöljyhiilivetyihin (engl. Mineral Oil Aromatic Hydrocarbons, MOAH), joista jälkimmäinen ryhmä sisältää karsinogeenisiä yhdisteitä [5, s. 3]. Mineraaliöljyhiilivetyjen määrittämisessä MOSH- ja MOAH-yhdisteet erotellaan omiksi fraktioikseen, minkä jälkeen fraktiot analysoidaan kaasukromatografia-liekki-ionisaatio-laitteistolla (Gas Chromatography-Flame Ionization Detector, GC-FID). Opinnäytetyössä fraktiot erotellaan kiinteäfaasiuutolla. Opinnäytetyön ensimmäinen vaihe on GC-FID-menetelmän optimointi standardiliuoksilla, jonka jälkeen näytteen esikäsittelyvaiheita testataan, kunnes mittauksista saadaan



odotettuja tuloksia. Menetelmän toimivuutta testataan lopuksi JRC:n toimittamalla vertailupahvinäytteellä, jonka MOSH- ja MOAH-pitoisuudet ovat tunnettuja.

## 2 Elintarvikekontaktimateriaalit

Kontaktimateriaaleiksi kutsutaan kaikkia tarvikkeita ja materiaaleja, jotka ovat, ovat olleet tai joiden on tarkoitus olla kosketuksissa elintarvikkeeseen. Kontaktimateriaaleja ovat esimerkiksi pakkausmateriaalit, astiat, ruokailuvälineet, ruoanvalmistusvälineet ja työpinnat. Elintarvikekontaktimateriaalit voivat olla välittömiä tai välillisiä. Välitön elintarvikekontaktimateriaali on suoraan kosketuksissa elintarvikkeeseen, kun taas välillisellä elintarvikekontaktimateriaalilla ei ole suoraa kontaktia elintarvikkeeseen. Välillinen elintarvikekontaktimateriaali voi olla esimerkiksi kartonkipakkaus, jonka sisällä on elintarvikkeita yksittäispakattuina muoviiin. [2.]

Euroopan unioni (EU) on antanut asetuksia jäsenvaltioilleen liittyen kulutukseen tarkoitettujen elintarvikkeiden kontaktimateriaalien laadunvalvontaan. EU-asetuksessa 1935/2004 on määritelty 17 elintarvikekontaktimateriaalia tai tarvikeryhmää, jotka EU hyväksyy kontaktimateriaaleiksi alueelleen kaupattavaksi tuotavalle elintarvikkeelle. Elintarvikekontaktimateriaalin tulee olla riittävän inertti, ettei siitä siirry liikaa elintarvikkeeseen sellaisia aineita, jotka voivat vaarantaa ihmisen terveyden, aiheuttaa sopimattomia muutoksia elintarvikkeen koostumuksessa tai heikentää sen aistinvaraisia ominaisuuksia. [2, 4.] EU:n määrittelemiin kontaktimateriaaleihin kuuluu mm. paperi ja kartonki, muovit, lasi, tekstiilit, painomusteet sekä aktiiviset ja älykkäät materiaalit ja tarvikkeet. Kuvassa 1 on direktiivin 80/590/ETY määrittelemä tunnus, jota tulee käyttää elintarvikkeen kanssa kosketukseen joutuviissa tarvikkeissa ja materiaaleissa. [6, s. 15.]



Kuva 1. 80/590/ETY-direktiivin määrittelemä tunnus, jota tulee käyttää elintarvikkeen kanssa kosketukseen joutuviissa tarvikkeissa ja materiaaleissa [6, s. 16].

EU-asetuksessa 2023/2006 on määritelty, että elintarvikekontaktimateriaalien valmistuksessa tulisi noudattaa yhdenmukaisia ohjeita liittyen hyviin tuotantotapoihin ja valmistustoiminnassa pitäisi olla käytössä tehokas laadunhallintajärjestelmä. Valmistukseen tulee laatia laatustandardit, jotta tuotettu elintarvikekontaktimateriaali ei tarkoituksenmukaisessa käytössään vaaranna ihmisten terveyttä, aiheuta sopimattomia muutoksia elintarvikkeen koostumuksessa tai heikennä sen aistinvaraisia ominaisuuksia. [7, s. 75–76.] Toimijoita, joiden tulee osoittaa elintarvikekontaktimateriaalien riittävä laatu, ovat esimerkiksi elintarvikekontaktimateriaalien välimateriaalien valmistajat, jalostajat, lopullisen elintarvikekontaktimateriaalin valmistajat, maahantuojat ja tukkukauppiat. Näiden toimijoiden on tehtävä toiminnasta rekisteröinti-ilmoitus Elintarvikelain 23/2006 12 a§:n mukaisesti elintarvikevalvontaviranomaiselle. [8, s. 4.]

Elintarvikekontaktimateriaalien turvallisuutta arvioitaessa sen kemiallinen turvallisuus on merkittävässä osassa. Osoittaakseen tuotteensa kemiallisen turvallisuuden, elintarvikekontaktimateriaalitoimijan tulee näyttää esimerkiksi tutkimustuloksiin pohjautuen asiakirjoja elintarvikekontaktimateriaalin valmistukseen käytettävien aineiden turvallisuudesta. Elintarvikekontaktimateriaalitoimijan tulee myös suorittaa riskiarvioiteja siitä, syntykö valmistusprosesseista terveydelle haitallisia yhdisteitä tai jääkö lopputuotteeseen hallitsemattomia määriä prosessikemikaaleja. Lopullisen elintarvikekontaktimateriaalin turvallisuus tulee varmistaa sellaisissa olosuhteissa (esim. lämpötila, aika tai elintarvikesimulantti), joissa materiaalin on tarkoitettu olla kosketuksissa elintarvikkeeseen. Ke-

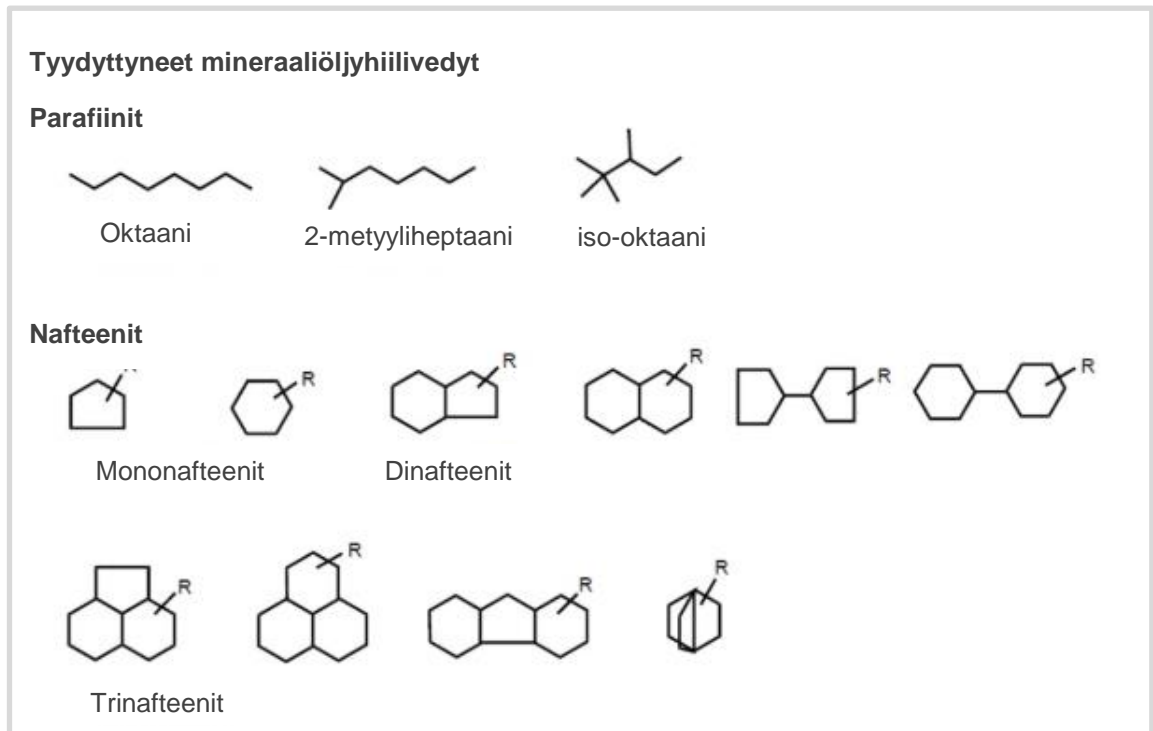
miallisia riskejä ovat esimerkiksi hormonihäiriöitä aiheuttavat pehmennäaineet muoveissa sekä karsinogeeniset mineraaliöljyjäämät kartonkipakkauksissa. Muita huomioitavia seikkoja elintarvikekontaktimateriaalien turvallisuudessa ovat biologiset riskit, oikeanlaiset merkinnät elintarvikekontaktimateriaalissa sekä niiden jäljitettävyys yksi askel eteen- ja taaksepäin. [8, s. 5–9.]

### 3 Mineraaliöljyhiilivedyt elintarvikekontaktimateriaaleissa

Mineraaliöljyhiilivedyt ovat hiilivetyjä, jotka sisältävät 10–50 hiiliatomia, ja niitä esiintyy pääosin raakaöljyssä, mutta niitä on mahdollista valmistaa synteettisesti hiilestä, maakaasusta ja biomassasta [3, s. 15]. Mineraaliöljyhiilivedyt jaotellaan tyydyttyneisiin mineraaliöljyhiilivetyihin ja aromaattisiin mineraaliöljyhiilivetyihin.

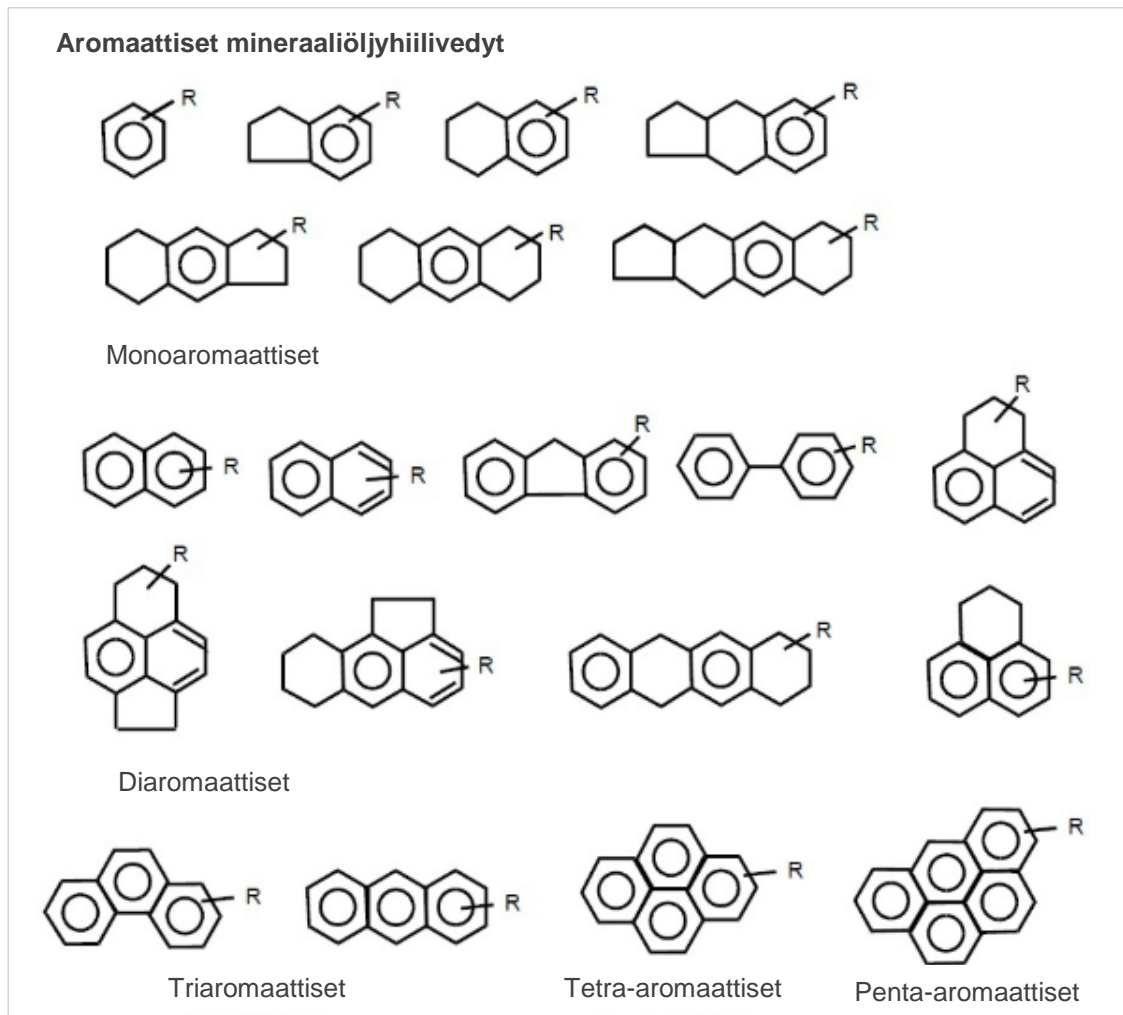
#### 3.1 MOSH ja MOAH

MOSH-yhdisteet luokitellaan parafiineiksi kutsuttuihin suoraketjuisiin hiilivetyihin sekä naftaaneiksi kutsuttuihin sykliisiin alkaaneihin. Parafiinit voidaan luokitella edelleen lineaarisiin ja haaroittuneisiin alkaaneihin. Lineaariset alkaanit, joiden hiiliketjussa on 20 hiiliatomia tai enemmän, ovat olomuodoltaan vahamaisia, kun taas haaroittuneet alkaanit ovat pääosin olomuodoltaan nestemäisiä. [9; 10, s. 8.] Nafteenit ovat sykloalkaaneja, pääosin syklopentaaneja ja sykloheksaaneja, jotka ovat alkyloituneita ja niissä voi olla useita rengasrakenteita [3, s. 15]. MOSH-yhdisteitä löytyy raakaöljystä esimerkiksi Pohjanmeren ja Arabian niemimaan alueilta tai niitä muodostuu, kun aromaattisia yhdisteitä jalostetaan hydraamalla [10, s. 1]. Kuvassa 2 on esitetty muutamia MOSH-yhdisteiden rakenteita.



Kuva 2. Esimerkkejä MOSH-yhdisteistä, joita löytyy raakaöljystä. R-kirjain kuvaa haarautumaton tai haarautunutta alkyyliryhmää, jossa on 1–19 hiiliatomia (muokattu). [3, s. 16.]

MOAH-yhdisteet ovat alkyloituneita aromaattisia hiilivetyjä, joissa on ainakin yksi aromaattinen rengas [9, s. 10]. Kuvassa 3 on esitetty muutamia MOAH-yhdisteiden rakenteita.



Kuva 3. Esimerkkejä MOAH-yhdisteistä, joita löytyy raakaöljystä. R-kirjain kuvaa haarautumantonta tai haarautunutta alkyyliryhmää, jossa on 1–19 hiiliatomeja. [3, s. 16.]

Mineraaliöljyhiilivedyt esiintyvät monimutkaisina seoksina, joista ei ole mahdollista erottaa yksittäisiä yhdisteitä. Sen sijaan MOSH- ja MOAH-yhdisteet on mahdollista saada erilleen omiksi fraktioikseen ja fraktioiden kokonaispitoisuudet on mahdollista määrittää. Luonnostaan raakaöljyssä esiintyvässä mineraaliöljyhiilivedyissä on enemmän MOSH-yhdisteitä ja MOAH-yhdisteiden osuus on normaalisti 15–35 %. Mineraaliöljyhiilivetyihin ei lasketa ruoassa luonnollisesti esiintyviä hiilivetyjä, kuten parittoman määrän hiiliatomeita (21–35 hiiliatomeja) sisältäviä alkaaneja sekä terpeenistä alkuperää olevia olefiineja, kuten esimerkiksi karotenoideja [3, s. 3; 9, s. 10].

Pahvisissa ja kartonkisissa elintarvikekontaktimateriaaleissa olevat mineraaliöljyhiilivedyt ovat tavallisesti peräisin painomusteesta, jonka näkyvin lähde on elintarvikekontaktimateriaalin väritykseen ja kuviointiin käytetty painomuste. Kierrätetyssä pahvissa ja kartongissa painomuste voi olla peräisin myös kierrätykseen käytetystä materiaalista, kuten esimerkiksi sanomalehdistä. Väritykseen ja kuviointiin käytettävä painomuste on normaalisti elintarvikelaatuista, joten siitä on poistettu terveydelle haitalliset MOAH-yhdisteet. Kierrätyspahvista ja -kartongista peräisin oleva sanomalehtien painomuste ei puolestaan ole elintarvikelaatuista, eikä siitä ole poistettu MOAH-yhdisteitä. Uudesta neitseellisestä kuidusta valmistetussa elintarvikekontaktimateriaalissa painomusteen määrä ei ole niin suuri kuin kierrätetystä materiaalista valmistetuissa. Painomusteen lisäksi mineraaliöljyhiilivedyjä voi olla liimoissa, liuottimissa, sideaineissa ja lisäaineiden kantajissa sekä vedenkestävyyttä parantavissa vahoissa. Näitä kaikkia voi päätyä elintarvikekontaktimateriaaliin, mikäli se valmistetaan kierrätysmateriaaleista tai niitä on lisätty suoraan elintarvikekontaktimateriaalin ominaisuuksien parantamiseksi. [3, s. 45.]

Kontaktimateriaaleissa käytetään usein offsetpainovärejä painomusteena. Tekniikassa musteen annetaan kuivua lisäämisen jälkeen, jolloin musteessa olevat liuottimet jäävät elintarvikekontaktimateriaaliin, eikä niitä poisteta esimerkiksi lämpökäsittelyllä. MOSH-yhdisteet toimivat offsetpainoväreissä painovärien ohenteena ja MOAH-yhdisteet parantavat sideaineiden ja pigmenttien liukoisuutta. Mineraaliöljyvedyjä on offsetpainoväreissä tavallisesti 20–30 %, joista MOAH-yhdisteitä on 0–50 %. Painoväreissä olevien mineraaliöljyhiilivedyjen hiiliatomien lukumäärä keskittyy 17–19 hiiliatomin ympärille. Ne ovat erittäin haihtuvia, ja sen takia haihtuvat helposti elintarvikekontaktimateriaalista joko ulospäin ilmaan tai sisäänpäin elintarvikkeeseen. [3, s. 44–45.]

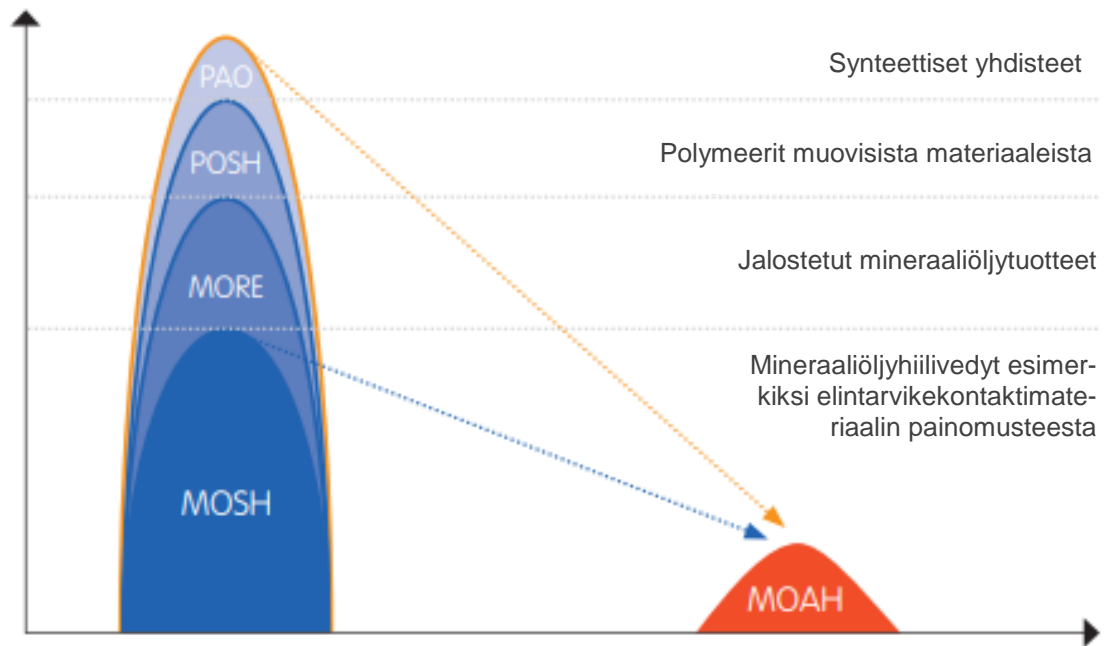
### 3.2 Kontaminaatiot MOSH- ja MOAH-yhdisteiden analytiikassa

Mineraaliöljyhiilivedyjen lisäksi elintarvikekontaktimateriaalien kautta elintarvikkeeseen voi siirtyä yhdisteitä, jotka mittauksissa kasvattavat MOSH-yhdisteiden kokonaispitoisuutta. Tällaisia yhdisteitä ovat polyolefiinien oligomeeriset tyydyttyneet hiilivedyt (engl. Polyolefin Oligomeric Saturated Hydrocarbons, POSH), polyalfaolefiinit (eng. Poly Alpha Olefins, PAO) sekä mineraaliöljyistä jalostetut tuotteet (engl. Mineral Oil Refined Products, MORE). Nämä yhdisteet vääristävät MOSH- ja MOAH-yhdisteiden pitoisuuksien

suhdetta, joten ne voidaan luokitella kontaminaatioiksi elintarvikekontaktimateriaalin mineraaliöljyhiilivetyjen mittauksissa. [11, s. 4.]

POSH-yhdisteet ovat oligomeerejä, jotka koostuvat polyolefiinien, kuten polyeteenin ja polypropeenin, tyydyttyneistä hiilivedyistä. Ne ovat rakenteeltaan hyvin samanlaisia MOSH-yhdisteiden kanssa. Niitä käytetään esimerkiksi muovikasseissa- ja pakkauksissa, joista niiden on osoitettu siirtyvän elintarvikekontaktimateriaalista elintarvikkeeseen. PAO-yhdisteet ovat isoparafiineja, joilla on lyhyet haaroittuneet hiiliketjut. Niiden pitkät haarat ovat synteettistä alkuperää. PAO-yhdisteitä on esimerkiksi synteettisissä voiteluaineissa ja kuumaliimoissa. [10, s. 1.] Yhdisteitä voi päätyä elintarvikkeeseen tai elintarvikekontaktimateriaaliin tuotantoketjun eri vaiheissa esimerkiksi koneiden ja laitteiden osista. MORE-yhdisteillä tarkoitetaan lisäaineita tai jalostuksen apuaineita, jotka ovat käytössä elintarvikekontaktimateriaalien valmistuksen eri vaiheissa ja tätä kautta voivat myös siirtyä lopulliseen elintarvikekontaktimateriaaliin. Tällaiset tuotteet sisältävät hyväksytysti mineraaliöljyhiilivetyjä, koska tuotteesta on poistettu terveydelle haitalliset mineraaliöljyhiilivedyt. [9, s. 10; 11, s. 4, 20–22.]

POSH- ja PAO-yhdisteitä on vaikea tai jopa mahdoton erottaa MOSH-yhdisteistä ja MORE-yhdisteet puolestaan saattavat sisältää MOSH-yhdisteitä, mutta ei MOAH-yhdisteitä. Nämä kaikki voivat nostaa MOSH-yhdisteiden kokonaismäärää elintarvikekontaktimateriaalissa ja näin ollen muuttaa MOSH- ja MOAH-yhdisteiden pitoisuuksien välistä suhdetta. Painomusteiden ja monien liimojen sisältämistä mineraaliöljyhiilivedyistä suurin osa on MOSH-yhdisteitä ja MOAH-yhdisteiden osuus on 15–35 %. Kuvassa 4 on esitetty, miten näistä yhdisteistä peräisin olevat kontaminaatiot vaikuttavat MOSH- ja MOAH-yhdisteiden suhteeseen. [11, s. 4.]



Kuva 4. PAO-, POSH- ja MORE-yhdisteiden aiheuttamien kontaminaatioiden vaikutus MOSH- ja MOAH-yhdisteiden kokonaispitoisuuteen (muokattu) [11, s. 11].

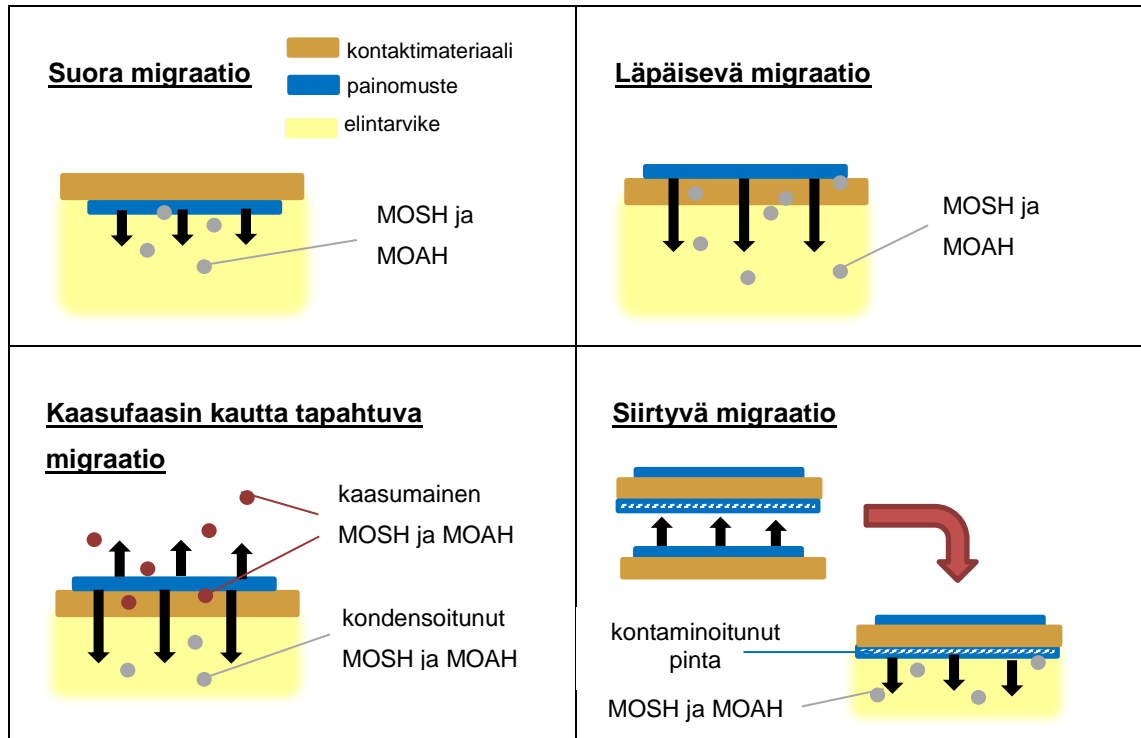
Mikäli elintarvikekontaktimateriaalista mitattu suhdeluku muuttuu niin, että MOSH-yhdisteiden pitoisuus on suhteessa huomattavasti tavallista suurempi, voidaan epäillä elintarvikekontaktimateriaalin kontaminaatiota. Elintarvikekontaktimateriaalin valmistusprosessin aikana se voi kontaminoitua POSH-, PAO- tai MORE-yhdisteillä. MOSH- ja MOAH-yhdisteiden pitoisuuksien suhdetta kannattaa tarkkailla, koska epätavallisen suuri MOSH-pitoisuus antaa virheellisen kuvan elintarvikekontaktimateriaalin sisältämien MOSH-yhdisteiden todellisesta määrästä. [11, s. 4.]

### 3.3 Mineraaliöljyhiilivetyjen migraatio elintarvikekontaktimateriaalista

Kun elintarvikekontaktimateriaali on välittömässä kosketuksessa elintarvikkeen kanssa, mineraaliöljyhiilivetyjen migraatio tapahtuu diffuusiona elintarvikekontaktimateriaalista elintarvikkeeseen. Diffuusiolla molekyylit pyrkivät tasaamaan pitoisuseroja ja ne liikkuvat ajan mittaan vahvemmassa liuksesta laimeampaan tasoittain näin pitoisuseroa. [12, s. 3.]



Mineraaliöljyhiilivetyjen migraatio elintarvikekontaktimateriaalin painomusteesta elintarvikkeeseen voi tapahtua neljällä eri tavalla. Kuvassa 5 on esitetty, kuinka migraatio tapahtuu suorassa, läpäisevässä, siirtyvässä sekä kaasufaasin kautta tapahtuvassa migraatiossa.



Kuva 5. Neljä eri tapaa miten mineraaliöljyhiilivetyjen migraatio voi tapahtua elintarvikekontaktimateriaalin painomusteesta elintarvikkeeseen (muokattu) [13, s. 7].

Suorassa migraatiossa elintarvike on välittömässä kontaktissa elintarvikekontaktimateriaalin sellaisen pinnan kanssa, jossa on painomustetta. Suora migraatio vaatii aina sen, että elintarvike on nestemäistä tai kosteaa. Mikäli elintarvikekontaktimateriaalin ja elintarvikkeen välissä on suojamateriaalia tai elintarvike on kuiva, suoraa migraatiota ei voi tapahtua. [13, s. 7.]

Läpäisevässä migraatiossa painomuste läpäisee elintarvikekontaktimateriaalin ja siirtyy sen toiselle puolelle. Pahvi ja kartonki ovat huokoista materiaalia, minkä takia mineraaliöljyhiilivedyt läpäisevät sen. Kun migraatio on tapahtunut elintarvikekontaktimateriaalin vastakkaiselle puolelle, mineraaliöljyhiilivedyt voivat siirtyä suoran migraation avulla nestemäiseen tai kosteaan elintarvikkeeseen. [13, s. 7.]

Kaasufaasin kautta tapahtuvassa migraatiossa mineraaliöljyhiilivetyjen on mahdollista siirtyä kuivaan elintarvikkeeseen tai suojamateriaalin läpi elintarvikkeeseen. Painomusteissa olevat mineraaliöljyhiilivedyt höyrystyvät pois elintarvikekontaktimateriaalin pinnasta ja kondensoituvat elintarvikkeeseen. Mikäli elintarvikekontaktimateriaali on huoneenlämmössä, ainoastaan enintään 25 hiiliatomia sisältävät mineraaliöljyhiilivedyt ovat tarpeeksi helposti haihtuvia, että ne voivat siirtyä elintarvikkeeseen kaasufaasin kautta. Jos lämpötila elintarvikekontaktimateriaalin ympärillä kasvaa, on mahdollista, että myös termisesti stabiilimmat mineraaliöljyhiilivedyt siirtyvät kaasufaasin kautta elintarvikkeeseen. [13, s. 7.]

Siirtyvä migraatio tapahtuu, kun elintarvikekontaktimateriaalia pinotaan päällekkäin tai rullalle, jolloin painosmustetta voi siirtyä päällimmäisenä olevan elintarvikekontaktimateriaalin pinnalle, johon ei ole ollut tarkoitus lisätä painosmustetta. Mikäli tällaista tahattomasti kontaminoitunutta elintarvikekontaktimateriaalia käytetään elintarvikkeen pakkausmateriaalina, kontaminoituneella pinnalla olevat mineraaliöljyhiilivedyt voivat siirtyä elintarvikkeeseen suoraan tai kaasufaasin kautta tapahtuvalla migraatiolla. [13, s. 7.]

Migraation voimakkuuteen vaikuttavat monet eri tekijät, ja sitä voivat voimistaa esimerkiksi mineraaliöljyhiilivetyjen korkea pitoisuus elintarvikekontaktimateriaalissa, korkea lämpötila, elintarvikekontaktimateriaalin suuri pinta-ala tai pitkä kontaktiaika. Migraatiota puolestaan vähentää esimerkiksi kontaktin välillinen luonne, elintarvikekontaktimateriaalin kyky estää diffuusiota, mineraaliöljyhiilivedyn suuri molekyylipaino tai suojamateriaali elintarvikekontaktimateriaalin ja elintarvikkeen välillä. Suojamateriaaliksi on tarkoitus valita sellainen materiaali, josta itsestään ei irtoa haitallisia aineita elintarvikkeeseen ja joka estää mineraaliöljyhiilivetyjen ja muiden haitallisten aineiden migraation elintarvikekontaktimateriaalista elintarvikkeeseen. Tavallisesti käytettyjä suojamateriaaleja ovat esimerkiksi alumiinista tai polyeteenitereftalaatista (PTE) valmistetut sisäpussit tai metalloidut tai päällystetyt polymeerikalvot tai monikerroskalvot. [3, s.45; 12, s. 7.]

Mineraaliöljyhiilivedyistä MOSH-yhdisteiden ei ole todettu aiheuttavaa vaaraa ihmisen terveydelle, mutta 16–35 hiiliatomia sisältävät MOSH-yhdisteet kerääntyvät ihmisen elimistöön aiheuttaen mikrogranuloomia. Alle 16 hiiliatomin ja yli 35 hiiliatomin absorptio ihmisen elimistöön on hyvin vähäistä. MOAH-yhdisteet absorboituvat elimistöön, mutta

ne leviävät elimistöön laajemmalle aineenvaihdunnan kautta. MOAH-yhdisteiden yhteyttä syöpään ei ole voitu rajata pois, joten MOAH-yhdisteitä pidetään karsinogeenisinä. Euroopan elintarviketurvallisuusviraston (engl. European Food Safety Authority, EFSA) arvion mukaan ihminen altistuu päivittäin MOSH-yhdisteille 0,03–0,3 mg ja MOAH-yhdisteille 0,006–0,06 mg painokiloa kohden. Virallisia raja-arvoja ei ole vielä toistaiseksi annettu koskien sitä, kuinka paljon mineraaliöljyhiilivetyjä saa migraation kautta siirtyä elintarvikekontaktimateriaalista elintarvikkeeseen. Saksan riskiarviointikeskuksen (Bundesinstitut für Risikobewertung, BfR) antaman arvion perusteella 10–16 hiiliatomia sisältäviä MOSH-yhdisteitä saisi siirtyä maksimissaan 12 mg kilogrammaa elintarviketta kohden ja 17–20 hiiliatomia sisältäviä MOSH-yhdisteitä 4 mg kilogrammaa elintarviketta kohden. Yli 20 hiiliatomia sisältäville MOSH-yhdisteille annettava suositusarvo on vielä arvioitavana, koska nämä mikrogranuloomia aiheuttavat yhdisteet ovat haitallisimpia MOSH-yhdisteitä, MOAH-yhdisteiden todennäköisen karsinogeenisen luonteen vuoksi BfR:n arviossa MOAH-yhdisteiden siirtymistä ei tulisi sallia lainkaan kontaktimateriaaleista elintarvikkeisiin. [5, s. 2–3.]

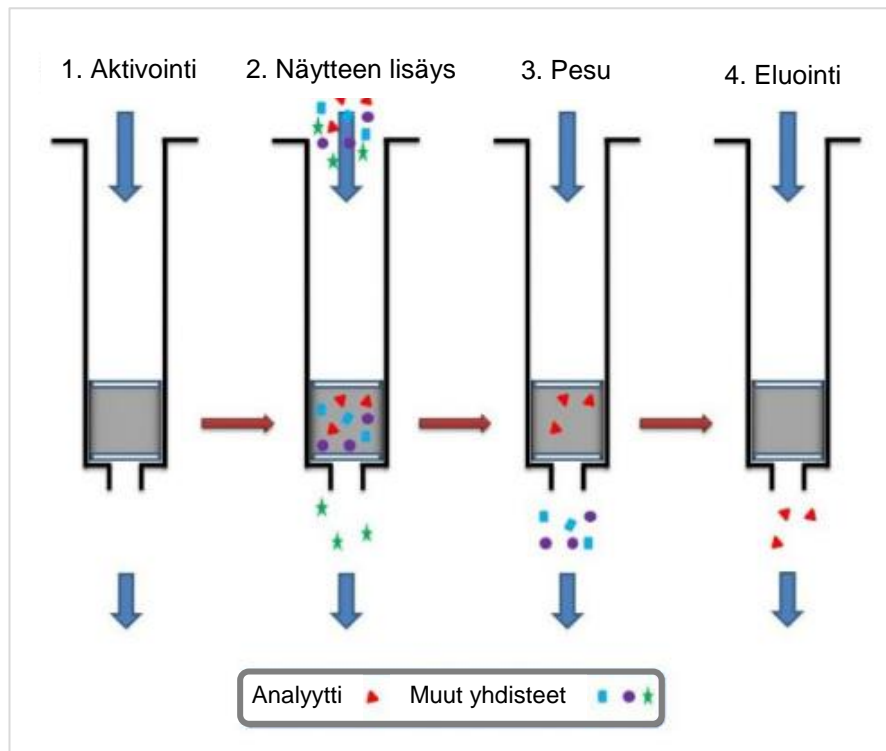
#### 4 Analyysimenetelmät

Opinnäytetyön tarkoituksena oli kehittää menetelmää mineraaliöljyhiilivetyjen analysointiin pahvisista ja kartonkisista kontaktimateriaaleista. Analyysimenetelmän pohjana oli tarkoitus käyttää JRC:n ohjeistuksen mukaista manuaalista menetelmää, koska näytemäärät ovat toistaiseksi vähäisiä ja manuaalinen menetelmä vaatii vähiten laitehankintoja. Manuaalinen menetelmä sisältää kiinteäfaasiuutolla suoritettavan MOSH- ja MOAH-fraktioiden erottelun ja niiden analysoinnin GC-FID-laitteistolla. MOSH- ja MOAH-yhdisteiden mittaamiseen on kehitetty ohjeistuksia myös automatisoidummille menetelmille, mutta ne ovat sopivampia siinä vaiheessa, kun määrittämiä tehdään useammin ja rutiininomaisesti.

## 4.1 Manuaalinen menetelmä

### 4.1.1 Kiinteäfaasiuutto

Kiinteäfaasiuutossa kiinteä stationäärifaasi erottaa tutkittavat yhdisteet nestemäisestä näytematriisista [14, 785]. Kuvassa 6 on esitetty kiinteäfaasiuuton neljä vaihetta.



Kuva 6. Kiinteäfaasiuuton neljä eri vaihetta ovat stationäärifaasin aktivointi, näytteen lisäys, pesu ja eroteltavan näyteyhdisteen eluointi sopivalla eluointiliuoksella (muokattu) [15].

Kiinteäfaasiuuton ensimmäisessä vaiheessa stationäärifaasi aktivoidaan päästämällä sen läpi liuotinta, minkä jälkeen siirrytään toiseen vaiheeseen ja näyte lisätään kolonniin. Näytteessä olevat eroteltavat yhdisteet jäävät stationäärifaasiin ja suurin osa muista yhdisteistä näytematriisissa tulevat ulos kolonnista. Näytematriisissa saattaa olla muitakin yhdisteitä, jotka jäävät stationäärifaasiin eroteltavan yhdisteen tavoin, mutta heikommilla sidoksilla. Kolmannessa vaiheessa stationäärifaasin läpi lasketaan liuotinta, jonka avulla stationäärifaasista irtoaa heikosti sitoutuneet yhdisteet. Neljännessä vaiheessa eroteltavat näyteyhdisteet eluoidaan stationäärifaasista sopivan eluointiliuoksen avulla. [16, s. 6.]

Kiinteäfaasiuuton voi toteuttaa kolmella eri tavalla riippuen eroteltavan näytedyhdisteen luonteesta. Käänteisfaasiuutolla erotetaan normaalisti hydrofobisia tai poolittomia orgaanisia yhdisteitä polaarista näytematriisista, kuten vesiliuoksista. Eroteltavassa yhdisteessä sekä stationäärifaasissa ovat hiilivetyketjut vetävät toisiaan puoleensa Van der Waalsin voimalla. Normaalifaasiuutossa pyritään erottamaan polaarista yhdisteitä poolittomasta näytematriisista, kuten poolittomista orgaanisista liuottimista. Stationäärifaasi on poolinen. Eroteltavien yhdisteiden ja stationäärifaasin välille muodostuu mm. vety-, dipoli-dipoli- sekä piisidoksia. Ioninvaihtoon perustuvassa kiinteäfaasiuutossa varautuneet näytedyhdisteet erotellaan vesiliuoksista tai liuottimista, joilla on heikko ionivahvuus. Stationäärifaasi on varautunut ja jos näytedyhdisteen varaus on vastakkainen ja sopiva stationäärifaasin varauksen kanssa, näiden välille syntyy sähköstaattinen vetovoima. Mieneraaliöljyhiilivetyjen erottelu MOSH- ja MOAH-fraktioiksi tehdään normaalifaasiuutolla, koska yhdisteet eivät ole vesiliukoisia. Eluointiliuoksena käytetään poolitonta heksaania sekä heksaanin, toluenin ja dikloorimetaanin seosta. [16, s. 3–4, 9.]

#### 4.1.2 Kaasukromatografia ja liekki-ionisaatiodektori

Kaasukromatografia on analyysitekniikka, joka soveltuu etenkin höyrystyvien orgaanisten yhdisteiden tunnistamiseen, erotteluun ja kvantitatiiviseen määrittämiseen. Kaasukromatografi yhdistettynä hiilivety-yhdisteitä herkästi havaitsevaan liekki-ionisaatiodektoriin on hyvä yhdistelmä hiilivetyjen pitoisuuksien mittaamiseen kaasuvirrasta. [14, s. 650.]

Kaasukromatografisessa analyysissä tutkittavat yhdisteet saadaan eroteltua kaasumuodossa olevan liikkuvan faasin eli kantajakaasun ja paikallaan pysyvän nestemäisen tai kiinteän stationäärifaasin avulla. Tutkittavat yhdisteet höyrystyvät injektorissa ja kulkeutuvat liikkuvan faasin mukana kolonniin, jossa yhdisteiden erottelu tapahtuu. Kun tutkittavat yhdisteet ovat virranneet kantajakaasun kanssa kolonniin, yhdisteet alkavat höyrystyä niiden höyrystymispisteen mukaisessa järjestyksessä ja tulevat sitä mukaa ulos kolonnista. [14, s. 634.]

Näyte siirtyy laitteeseen injektorin kautta. Tavallisesti injektorin lämpötila nostetaan niin korkeaksi, että näyte höyrystyy saman tien ja kulkeutuu liikkuvan faasin mukana kolon-

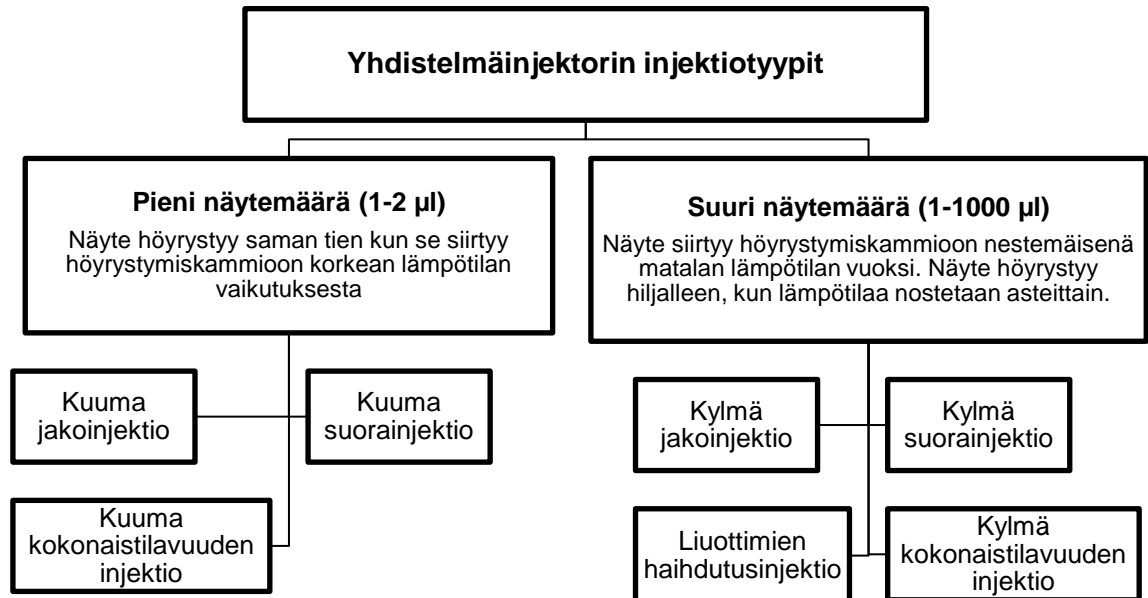
niin. Injektointitekniikoista keskeisimpiä ovat jakoinjektio (eng. split injection), suorainjektio (eng. splitless injection) ja kolonniin injektio (eng. on-column injection). Jako- ja suorainjektiot sopivat pienille ainemäärille. Erona niissä on se, että jakoinjektiossa vain pieni osa höyrystyneestä näytteestä menee kolonniin, suurin osa poistuu jakoventtiilin kautta jo injektion aikana. Suorainjektiossa jakoventtiili on kiinni injektion ajan ja noin minuuttin jälkeen, jonka aikana suurin osa näytteestä virtaa kolonniin. Kolonniin injektoinnissa näyte injektoidaan kokonaisuudessaan kylmän injektorin kautta kolonniin. Tämä tekniikka sopii hyvin yhdisteille, jotka eivät kestä korkeita lämpötiloja. Injektorin matalan lämpötilan vuoksi näyte ei höyrysty injektorissa vaan se menee suoraan kolonniin. Tekniikka kuitenkin likaa kolonnia, koska näytteessä olevat epäpuhtaudet eivät poistu jakoventtiilin kautta ulos höyrystyessään injektorissa. [14, s. 646–648.]

Kun tutkittavat yhdisteet tulevat ulos kolonnista, liekki-ionisaatiodetektorin vetyliekki polttaa hiilivety-yhdisteet sähköisesti varautuneiksi hiukkasiksi ja muuttaa ne sähköisiksi signaaleiksi. FID tuottaa signaalin kaikista yhdisteistä, joissa on hiiltä ja vetyä. Signaalin voimakkuus on verrannollinen yhdisteen määrään. [14, s. 650.]

#### 4.1.3 Yhdistelmäinjektori

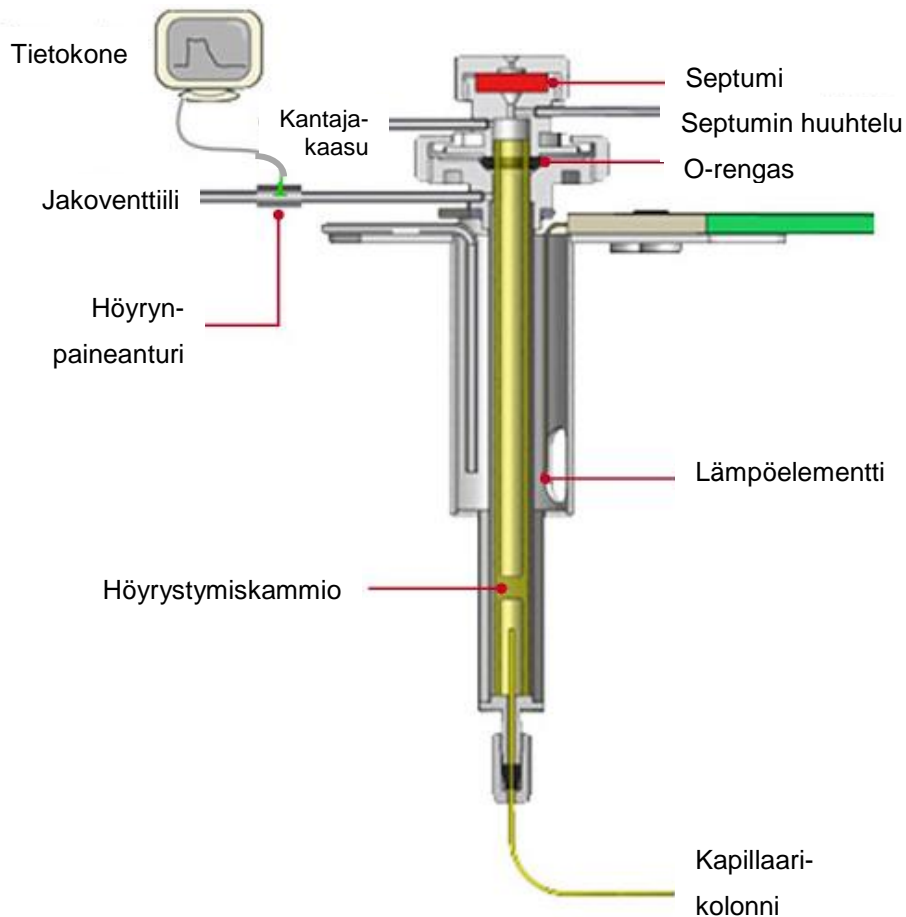
Yhdistelmäinjektori (engl. Multimode Inlet, MMI) mahdollistaa perinteiset pienille näytemäärille tarkoitetut jako- ja suorainjektiot sekä injektioityyppejä suurempien näytemäärien analysointiin. Perinteiset jako- ja suorainjektiot tehdään kuumaan höyrystymiskammioon, jossa näyte höyrystyy saman tien. Näytemäärän tulee olla pieni (1–2 µl), jotta koko näyte mahtuu höyrystyneenä höyrystymiskammioon. Lämpötilaa ei ole mahdollista muuttaa näytteen ollessa höyrystymiskammiossa, joten tästä syystä lämpötilan on oltava korkea jo siinä vaiheessa, kun näyte siirretään höyrystymiskammioon. Yhdistelmäinjektoriin voi luoda lämpötilaohjelman, joka mahdollistaa suurempien näytemäärien injektioimisen. [17, s. 4.] Kuvassa 7 on esitetty yhdistelmäinjektorin mahdollistamat injektioityypit lajiteltuna sen perusteella, onko injektoitava näytemäärä suuri (2–100 µl) vai pieni (1–2 µl). Opinnäytetyössä kehitetyssä menetelmässä näytettä injektoidaan suuri määrä (50 µl), koska mineraaliöljyhiilivetyjen pitoisuudet ovat pieniä. Menetelmää testattiin yhdistelmäinjektorin kylmällä kokonaistilavuuden injektioilla (engl. direct injection), liuottimen

haihdutusinjektiolla (engl. solvent vent injection) sekä kylmällä suorainjektiolla (engl. splitless injection). Tässä luvussa käydään myöhemmin läpi tarkemmin näitä injektioityyppejä.



Kuva 7. Yhdistelmäinjektorin mahdollistavat injektioityypit lajiteltuna sen perusteella onko injektioitava näytemäärä suuri vai pieni [18, s. 191].

Suurien näytemäärien analysointi perustuu yhdistelmäinjektorissa olevaan viilentäjään, jonka avulla näyte voidaan injektoida kylmään höyrystymiskammioon. Näyte pysyy nestemäisenä, kunnes höyrystymiskammion lämpötilaa aletaan nostamaan asteittain. Nestemäisen näytteen yhdisteet alkavat höyrystyä hiljalleen kiehumispisteiden mukaisessa järjestyksessä samalla kun kantajakaasu kuljettaa höyrystyneet yhdisteet kolonniin. Jos suuri määrä näytettä höyrystyisi kerrallaan, kantajakaasu ei ehtisi kuljettaa näytehöyryä riittävän nopeasti kolonniin. Höyrystynyttä näytettä olisi liikaa höyrystymiskammion tilavuuteen nähden, minkä seurauksena voi tapahtua näyteyhdisteiden piikkien leviämistä, liuotinpiikin häntimistä ja detektorin vaurioita. [17, s. 4.] Kuvassa 8 on esitettyä yhdistelmäinjektorin ja sen osat.



Kuva 8. Yhdistelmäinjektorin rakenne ja sen osat (muokattu) [19].

Kylmän suorainjektion periaate on sama kuin perinteisessä suorainjektiossa, eli näyte injektoidaan höyrystyskammioon, josta se siirtyy kolonniin jakoventtiilin ollessa kiinni. Lähes koko näyte siirtyy kolonniin. Toisin kuin perinteisessä suorainjektiossa, kylmässä suorainjektiossa näyte siirtyy höyrystyskammioon nestemäisessä muodossa, koska injektorin lämpötila asetetaan alle liuottimen kiehumispisteen. Injektorin jakoventtiili pidetään kiinni samalla, kun injektorin lämpötilaa nostetaan hiljalleen ja yhdisteet alkavat höyrystyä ja ne siirtyvät kantajakaasun mukana kolonniin. Kun jakoventtiili aukeaa, näyte on lähes kokonaan siirtynyt kolonniin ja kantajakaasu poistaa viimeiset höyrystyneet yhdisteet pois höyrystyskammioista jakoventtiilin kautta. Sen lisäksi, että kylmä suorainjektio mahdollistaa jäännösnäytteiden analysoinnin suurista näytemääristä, se sopii myös yhdisteille, jotka eivät kestä korkeita lämpötiloja. Näytteen haihdutus höyrystyskammioista kolonniin tapahtuu suhteellisen hitaasti, mikä suojelee helposti haihtuvia yhdisteitä hajoamasta. [17, s. 6; 18, s. 202.]



Kylmässä kokonaistilavuuden injektiossa näytteen on tarkoitus siirtyä kolonniin kokonaisuudessaan. Tällaista injektiota varten on omat höyrystymiskammiot, jotka muodostavat kolonnin injektoripään ja höyrystymiskammion väliin tiiviin liitoksen. Näyte siirretään kokonaisuudessaan höyrystymiskammioon, jonka lämpötila asetetaan hieman liuottimen kiehumispisteen alapuolelle. Näyte valuu nestemäisenä suoraan kolonniin. Lopuksi injektorin lämpötilaa nostetaan voimakkaasti, jotta höyrystymiskammion seinämille jääneet liuotin- ja näytedyhdisteet höyrystyvät ja siirtyvät kantajakaasun mukana kolonniin. Injektiossa ei käytetä jakoventtiiliä poistamaan osaa näytehöyrystä eikä höyrystymiskammiota puhdisteta injektoinnin jälkeen, joten näyte saadaan kokonaisuudessaan kolonniin. Kylmä kokonaistilavuuden injektio mahdollistaa jäännösnäytteiden analysoinnin suurista näytemääristä, ja se myös suojelee tutkittavia yhdisteitä hajoamasta tai adsorboitumasta injektorin osiin kokonaistilavuuden injektioita varten suunniteltujen höyrystymiskammion ansiosta. [18, s. 213; 20.]

Liuottimen haihdutusinjektiossa näytteessä olevaa liuotinta haihdutetaan näytteen ollessa injektorissa. Kun näyte siirtyy höyrystymiskammioon, jakoventtiili on auki. Lämpötila asetetaan sellaiselle tasolle, että liuotin höyrystyy, mutta näytedyhdisteet pysyvät nestemäisenä. Samalla kun näyte syötetään höyrystymiskammioon, liuotin höyrystyy ja kantajakaasu kuljettaa hiljalleen höyrystyvän liuottimen ulos jakoventtiilistä. Tutkittavien yhdisteiden kiehumispisteen pitää olla korkeampi kuin liuottimen, jotta yhdisteet jäävät höyrystymiskammion seinämille nesteinä samalla kun liuotin höyrystyy. Kun näyte on syötetty höyrystymiskammioon kokonaisuudessaan ja osa liuottimesta on poistunut, jakoventtiili suljetaan ja lämpötilaa nostetaan voimakkaasti. Tutkittavat yhdisteet ja loput liuottimesta höyrystyvät ja höyry siirretään höyrystymiskammion seinämiltä kolonniin. Kun näyte on siirtynyt kolonniin, injektorin jakoventtiili aukeaa ja ylimääräiset yhdisteet menevät kaasuvirtauksen mukana jakoventtiilistä ulos. Liuottimen haihdutusinjektio sopii erityisesti jäämien analysointiin suurista näytemääristä, mutta helposti haihtuvat yhdisteet saattavat höyrystyä jakoventtiilistä ulos samalla kun liuotinta haihdutetaan ennen näytteen siirtämistä kolonniin. [17, s. 7.]

## 4.2 Muut soveltuvat analyysimenetelmät

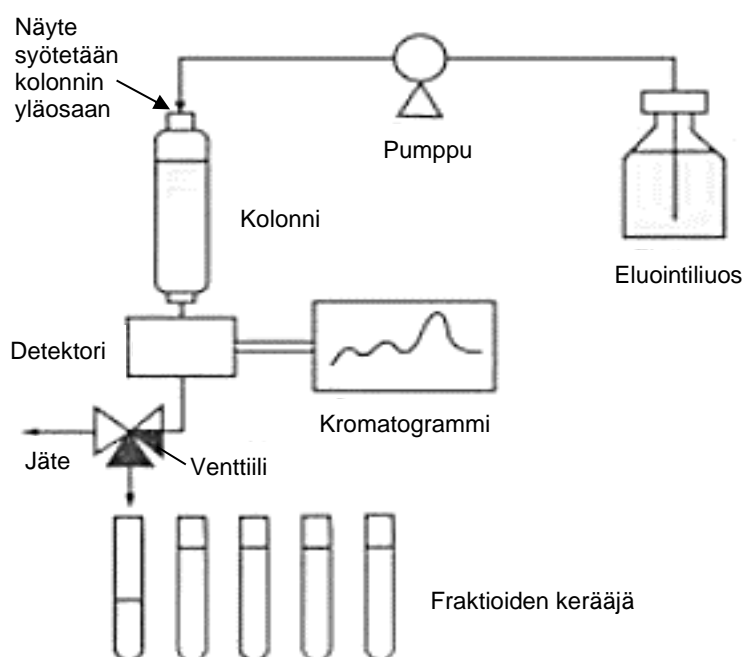
Kiinteäfaasiuuttona suoritettavan manuaalisen MOSH- ja MOAH-fraktioiden erotuksen lisäksi mineraaliöljyhiilivedyt voidaan analysoida elintarvikekontaktimateriaalista suorittamalla erottelu nestekromatografisesti ja injektoimalla erotetut fraktiot GC-FID-laitteelle. Analyysin voi suorittaa nestekromatografiaa hyödyntäen LC-GC offline -menetelmällä tai HPLC-GC online -menetelmällä.

Nestekromatografiassa tutkittavat yhdisteet saadaan eroteltua nestemäisen liikkuvan faasin ja paikallaan pysyvän kiinteän stationäärifaasin tai siihen sidotun nesteen avulla. Faasit koostuvat aineista, jotka eivät sekoitu keskenään. Normaalifaasissa kolonnin stationäärifaasi on voimakkaasti poolinen ja liikkuvana faasina käytetään poolittomia ja vedettömiä liuottimia. Kun liikkuva faasi virtaa yhdessä tutkittavien yhdisteiden kanssa stationäärifaasin ohi, poolisemmat tutkittavat yhdisteet tarttuvat pooliseen stationäärifaasiin pidemmäksi aikaa kuin poolittomammat yhdisteet. Näin ollen poolittomammat yhdisteet tulevat kolonnista ulos aikaisemmin ja ovat näin ollen erottuneet poolisemmista yhdisteistä. Käänteisfaasissa faasien poolisuudet ovat käänteiset normaalifaasiin verrattuna, eli liikkuva faasi on poolisempi kuin stationäärifaasi. LC:n ja HPLC:n ero on se, että LC-kolonnissa liikkuvan faasin ja näytedyhdisteiden eteneminen tapahtuu painovoiman avulla, kun taas HPLC-kolonnissa eteneminen tapahtuu paineen avulla. [14, s. 674–675.]

HPLC-GC online -menetelmässä HPLC on suoraan yhdistettynä kaasukromatografiin. Näytteet vaativat vain vähän esikäsitelyä, joka pienentää virheiden ja kontaminaatioiden riskiä. Mineraaliöljyhiilivedyille tehdään liuotinuutto, jonka jälkeen se injektoidaan suoraan HPLC-GC-FID-laitteelle. Menetelmän etuja ovat sen hyvä erotuskyky, toistettavuus, automaattisuus ja pieni kontaminaatoriski. Menetelmän haasteena on HPLC-kolonnin pieni kapasiteetti. Näytemäärät eivät voi olla suuria, mikä rajoittaa menetelmän herkkyyttä. Sen lisäksi laitteisto on kallis ja sen oikeanlainen käsittely vaatii osaamista. [21, s. 15.]

LC-GC offline -menetelmässä MOSH- ja MOAH-yhdisteet erotellaan toisistaan LC-kolonnilla ja erotellut fraktiot siirretään GC-FID-laitteelle fraktioiden analysointia varten. Koska LC:tä ja GC:tä ei tässä menetelmässä ole yhdistettynä, kolonnista ulos tulevat

yhdisteet kerätään omiin näyteastioihin automaattisella fraktioiden kerääjällä. Kuvassa 9 on esitetty, miten LC-GC offline -menetelmällä MOSH- ja MOAH-fraktioiden erotus tapahtuu. Näyte syötetään LC-kolonnin yläosaan, jossa se liikkuu eteenpäin ja alkaa erottumaan eluointiliuoksen mukana. Kun yhdisteet tulevat ulos kolonnista, detektori tunnistaa valittujen parametrien, kuten fraktion tilavuuden tai kromatogrammiin piirtyneen piikin ominaisuuksien perusteella halutut fraktiot ja erottelee detektorin läpi tulevasta näytevirrasta omiin näyteastioihin. Kerätyt fraktiot siirretään GC-FID-laitteelle analysointia varten. [21, s. 15; 22.]



Kuva 9. Fraktioiden erottelun näytteistä LC-kolonnin ja näytteenkerääjän avulla (muokattu) [23].

LC-GC offline -menetelmällä tehtävään erotteluun voidaan käyttää LC-kolonneja, joiden sisäinen halkaisija on suurempi (4,6 mm) kuin HPLC-GC Online -menetelmän kolonneissa (2 mm). LC-kolonneihin voidaan laittaa suurempi määrä näytettä, joten LC-GC offline -menetelmä on herkempi. Menetelmä ei ole yhtä automatisoitu kuin HPLC-GC online -menetelmä, joten siihen liittyy suurempi kontaminaation riski. [21, s. 15.]

### 4.3 Tulosten tulkinta

Kontaktimateriaaleissa esiintyvät MOSH- ja MOAH-yhdisteet esiintyvät monimutkaisina seoksina, joista on mahdotonta erotella yksittäisiä yhdisteitä. Tämän takia mittauksista saaduissa kromatogrammeissa kiinnostuksen kohteena olevat mineraaliöljyhiilivedyt esiintyvät laajempina yhtenäisiä alueina, ns. vuorina terävien piikkien sijaan. Kromatogrammeista integroidaan retentioajoilla rajattuja alueita, joita kutsutaan hiilifraktioiksi. Jotta hiilifraktiot voidaan rajata, taustan vaikutus tulee vähentää kromatogrammista. Taustan vähennys onnistuu nollanäytteen avulla, jolloin pohjaviiva saadaan vastaaman todellista nollatasoa. Sen lisäksi näytteeseen lisätään useampi sisäinen standardi pitoisuuksien laskemista ja laadun varmistusta varten. Lopulta MOSH- ja MOAH-yhdisteiden summapitoisuudet näytteissä lasketaan tunnetun laskukaavan mukaan integroitujen hiilifraktioiden ja sisäisten standardien piikkien pinta-alojen perusteella.

MOSH-yhdisteille sisäisinä standardeina käytetään bisykloheksyyliä, undekaania, tridekaania ja kolestaania. Bisykloheksyyli toimii varsinaisena sisäisenä standardina, jonka piikin pinta-alan perusteella lasketaan yksittäisen hiilifraktion tai koko MOSH-fraktion kokonaispitoisuus. Kolestaania hyödynnetään, kun MOSH- ja MOAH-fraktiot erotellaan HPLC-GC online -menetelmällä, joten sillä ei ole merkitystä, kun erotus tehdään kiinteäfaasiuutolla. Taulukossa 1 on esitetty MOSH-yhdisteiden kaikki sisäiset standardit sekä niiden käyttötarkoitukset. [9, s. 15.]

Taulukko 1. MOSH-fraktion mittaamisessa käytettävät sisäiset standardit ja niiden käyttötarkoitukset [9, s. 15].

<b>MOSH-fraktiossa käytettävät sisäiset standardit</b>	
<b>Yhdiste</b>	<b>Käyttötarkoitus</b>
Bisykloheksyyli (Cycy)	Piikin pinta-alan perusteella lasketaan MOSH-yhdisteiden pitoisuus näytteessä.
Undekaani (C <sub>11</sub> )	Undekaani on helpommin haihtuva yhdiste kuin bisykloheksyyli. Molempia lisätään näytteeseen saman verran, joten selkeästi pienempi undekaanin piikin pinta-ala voi olla merkki, että myös bisykloheksyyliä on haihtunut analyysin aikana tai osa siitä on eluoitunut yhdessä jonkin toisen piikin kanssa.
Tridekaani (C <sub>13</sub> )	Piikki eluoituu heti bisykloheksyylin piikin jälkeen, jolloin bisykloheksyyli on helppo tunnistaa kromatogrammista.
Kolestaani (Cho)	Piikki toimii merkkinä MOSH-fraktion loppumisesta, kun MOSH- ja MOAH-fraktiot erotellaan korkean erotuskyvyn nestekromatografialla (HPLC).

MOAH-yhdisteiden sisäiset standardit ovat 1- ja 2-metyylinaftaleenit, pentyylibentseeni, 1,3,5-tri-tert-butylibentseeni ja peryleeni. 1- tai 2-metyylinaftaleenit toimivat varsinaisina sisäisinä standardeina. Näiden kahden yhdisteen piikeistä valitaan se, jolla on pienempi pinta-ala. Tämän pinta-alan perusteella lasketaan yksittäisen hiilifraktion tai koko MOAH-fraktion kokonaispitoisuus. Taulukossa 2 on esitetty MOAH-yhdisteiden kaikki sisäiset standardit sekä niiden käyttötarkoitukset. [9, s. 15.]

Taulukko 2. MOAH-fraktion mittaamisessa käytettävät sisäiset standardit sekä niiden käyttö-tarkoitukset [9, s. 15].

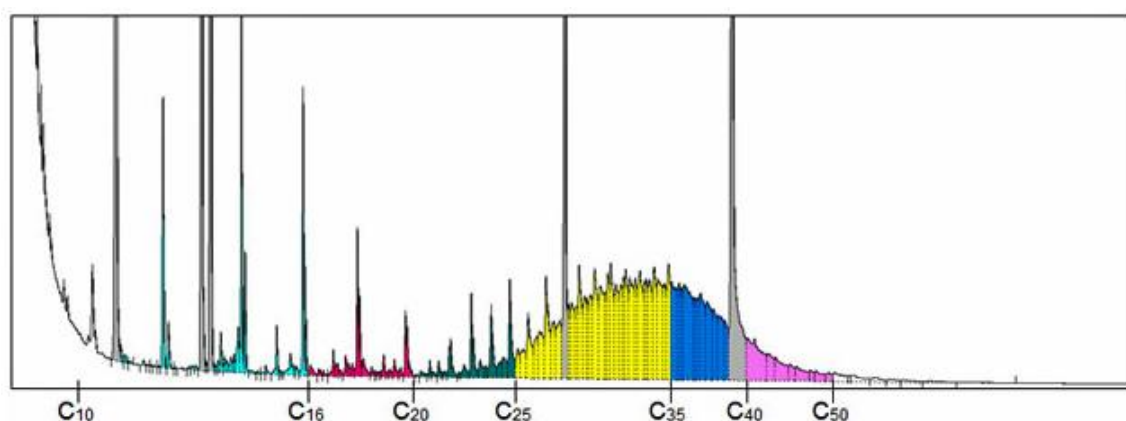
<b>MOAH-fraktiossa käytettävät sisäiset standardit</b>	
<b>Yhdiste</b>	<b>Käyttötarkoitus</b>
1-metyyli-naftaleeni (1 MN) ja 2-metyyli-naftaleeni (2 MN)	Piikit eluoituvat lähes samaan aikaan, ja piikkien pinta-alojen tulisi olla samansuuruiset. Jos pinta-alat poikkeavat toisistaan, suurempaan piikkiin on voinut eluoitua muita yhdisteitä näytteestä. Näistä kahdesta piikistä valitaan se, jolla on pienempi pinta-ala. Piikin pinta-alaa käytetään MOAH-pitoisuuden laskemiseen.
Pentyylibentseeni (5B)	Piikin pinta-alan perusteella voidaan tarkkailla helposti haihtuvien yhdisteiden mahdollista häviämistä analyysin aikana.
1,3,5-tri-tert-butyylibentseeni (TBB)	Piikki toimii merkinä MOAH-fraktion alkamisesta kromatogrammissa.
Peryleeni (Per)	Piikki toimii merkinä MOAH-fraktion loppumisesta kromatogrammissa.

Kun MOSH- ja MOAH-fraktiot on saatu erotettua toisistaan valitulla erotusmenetelmällä, fraktiot mitataan omina näytteinään GC-FID-laitteella. Näytteessä olevat mineraaliöljyhii-livedyt eluoituvat kolonnista niin, että pienimmän määrän hiiliatomeita sisältävät yhdisteet eluoituvat ensin ja suurimman määrän hiiliatomeita sisältävät yhdisteet viimeisenä. Näytteen kromatogrammista voidaan rajata retentioaikojen perusteella MOSH- tai MOAH-fraktion alafraktioita, joita kutsutaan hiilifraktioiksi. Hiilifraktiot pitävät sisällään näytteessä olevat yhdisteet, joissa on tietty määrä hiiliatomeita. Taulukossa 3 on esitetty MOSH- ja MOAH-yhdisteiden analytiikassa käytettävät hiilifraktiot. Ennen hiilifraktioiden integroimista näytteen kromatogrammista tulee varmistaa, minkä retentioajan hiilifraktioiden alku- ja loppupisteet saavat. Retentioajat voidaan varmistaa mittaamalla ns. retentioaikastandardi, joka sisältää vain sellaisia yhdisteitä, joiden hiiliatomien lukumäärät tunnetaan, ja ne vastaavat hiilifraktioiden alku- ja loppupisteitä. [9, s. 15.]

Taulukko 3. MOSH- ja MOAH-fraktioiden hiilifraktiot, joiden perusteella kromatogrammin signaalit integroidaan alafraktioiksi yhdisteen hiiliatomien lukumäärän perusteella MOSH- ja MOAH-yhdisteiden analytiikassa [9, s. 15].

MOSH- ja MOAH-fraktioiden alafraktiot (hiilifraktiot)	
MOSH	MOAH
$C_{10} \leq C_{16}$	$C_{10} \leq C_{16}$
$C_{16} \leq C_{20}$	$C_{16} \leq C_{25}$
$C_{20} \leq C_{25}$	$C_{25} \leq C_{35}$
$C_{25} \leq C_{35}$	$C_{35} \leq C_{50}$
$C_{35} \leq C_{40}$	
$C_{40} \leq C_{50}$	

Kuvassa 10 on esitetty MOSH-fraktion kromatogrammi, johon on merkitty hiilifraktiot eri väreillä. Harmaat piikit kuvaavat sisäisten standardien piikkejä. Hiilifraktioiden integroinnin jälkeen niiden pinta-alasta tulee vähentää sisäisten standardien piikkien pinta-alat sekä nollanäytteen hiilifraktioiden pinta-alat taustan poistamiseksi. Kartonkisista ja pahvisista kontaktimateriaaleista mitatuista MOAH-yhdisteiden kromatogrammeista tulee vähentää näkyvien vuorimaisten fraktioiden päällä olevien terävien piikkien pinta-alat. Nämä piikit ovat tavallisesti MOAH-yhdisteisiin kuulumattomia hiilivety-yhdisteitä. [9, s. 37.]



Kuva 10. LC-GC-FID-menetelmällä mitattu MOSH-fraktio elintarvikkeesta. Eri hiilifraktiot on merkitty kuvaan eri väreillä ja sisäisten standardien piikit ovat kuvassa harmaalla. [24.]

Näiden lisäksi MOSH-fraktio saattaa sisältää POSH- ja PAO-yhdisteitä, jotka mahdollisuuksien mukaan erotetaan MOSH-fraktiosta. POSH- ja PAO-yhdisteillä on tunnistettavat kromatogrammit, jonka vuoksi ne voi olla mahdollista erottaa MOSH-fraktiosta. Manuaalisella menetelmällä erotusta ei kuitenkaan ole mahdollista tehdä. [6, s. 10.]

Kun fraktiot on integroitu ja niiden pinta-alat on laskettu vähennyksineen, MOSH- ja MOAH-fraktioille tai yksittäisille hiilifraktioille voidaan laskea massafraktiot ( $w_{MOSH/MOAH}$ ) kaavan 1 mukaan. Massafraktioiden tulos ilmoitetaan muodossa mg/kg näytettä kohden ja se kuvaa kuinka monta milligrammaa MOSH- tai MOAH-yhdisteitä on kilogrammaa kohden tutkittavaa näytettä. [3, s.11, 13.]

$$w_{MOSH/MOAH} = \frac{A_{MOSH/MOAH} * m_{ISTD} * 1000}{A_{ISTD} * m}, \text{ jossa} \quad (1)$$

$A_{MOSH/MOAH}$  = MOSH- tai MOAH-fraktion kokonaispinta-ala tai yksittäisen hiilifraktion pinta-ala

$A_{ISTD}$  = sisäisen standardin piikin pinta-ala (bisykloheksyyli jos kyseessä on MOSH-fraktio ja 2-metyyli-naftaleeni, jos kyseessä on MOAH-fraktio)

$m_{ISTD}$  = sisäisen standardin määrä näytteessä (mg)

$m$  = näytteen massa (g).



## 5 Työn toteutus

### 5.1 Laitteet, tarvikkeet ja kemikaalit

Työssä käytettiin seuraavia laitteita ja tarvikkeita:

- kaasukromatografi liekki-ionisaatiodektoilla (Agilent 8890 Gas Chromatograph System)
- automaattinen näytteensyöttäjä (Agilent 7693A Autosampler)
- analyttinen kolonni (Agilent DB-1HT, 15 m x 0,32 mm, filmin paksuus 1 µm)
- esikolonni (Agilent, Deactivated Fused Silica High Temperature, 7 m x 0,53 mm)
- yhdistelmäinjektor (Agilent MMI)
- höyrystymiskammio yhdistelmäinjektorille (Agilent, 2 mm Dimpled, Deactivated, no. 5190-2296)
- höyrystymiskammio suorainjektioille (Agilent, Ultra Inert Liner, Splitless Sngl Taper, Wool, 2 mm, no.5190-2293)
- typpihaihdutin lämmitysmoduulilla (Thermo Scientific, Pierce Reacti-Vap I #18825 Evaporation Unit / Reacti-Therm I #18822 Heating Module)
- muhveliuuni (Nabertherm, L15/11/S27)
- vaaka (Precisa, XT 620M).

Työssä käytettiin seuraavia kemikaaleja:

- MOSH/MOSH retentioaikastandardi (Restek, MOSH/MOSH Retention Time Standard, 100 µg/ml)

- MOSH/MOAH sisäisten standardien seos (Restek, MOSH/MOAH Standard, 150-600 µg/ml)
- heksaani (VWR, n-Hexane for pesticide residue analysis)
- tolueeni (Merck, Toluene for analysis)
- etanoli (Etax AA 96,5 %)
- dikloorimetaani (VWR Chemicals, Dichloromethane for HPLC)
- asetoni (VWR Chemicals, Acetone for pesticide residue analysis)
- silikageeli (Sigma-Aldrich, Silica Gel)
- hopeanitraatti (VWR Chemicals, Silver Nitrate).

## 5.2 GC-menetelmän optimointi

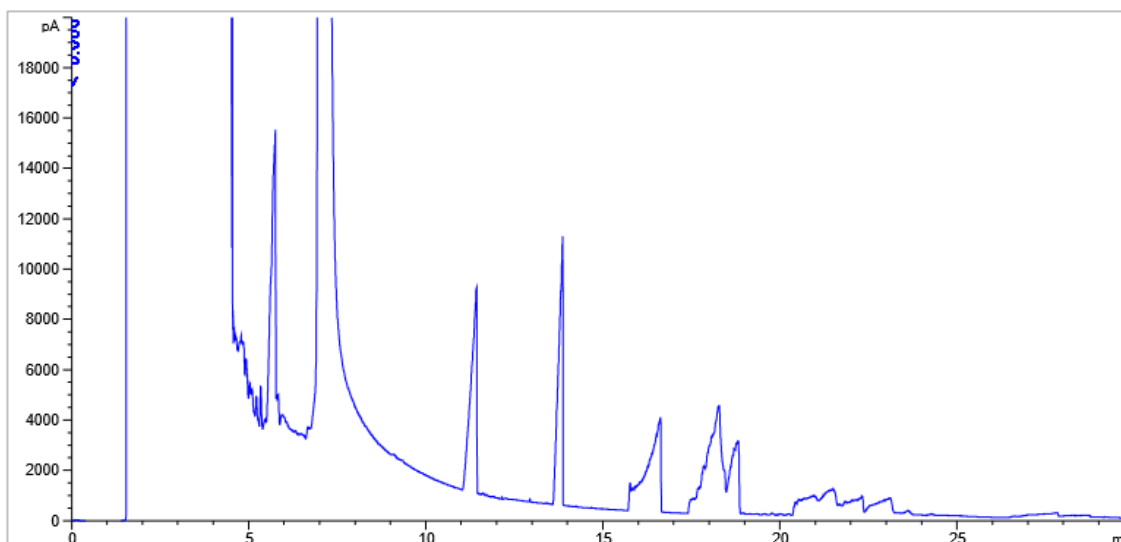
Menetelmän kehitys aloitettiin optimoimalla GC-menetelmää retentioaikastandardilla pitoisuudessa 10 µg/ml. Kun GC-menetelmällä onnistuttiin erottamaan retentioaikastandardin kymmenen eri MOSH- ja MOAH-yhdistettä toisistaan sekä liuotinpiikistä, aloitettiin esikäsitteilyvaiheen testaus ja pahvisten elintarvikekontaktimateriaalinäytteiden mittaaminen.

Ensimmäinen metodi GC-FID:lle luotiin JRC:n ohjeistuksen mukaan [21, s. 17]. Injektio-tyypiksi valittiin kokonaistilavuuden injektio kylmään injektoriin. Menetelmällä ajettiin pelkkää liuotinta, tässä tapauksessa heksaania. Saadun kromatogrammin perusteella todettiin, että pohjaviiva on matalalla, eikä kromatogrammissa näkynyt ylimääräisiä piikkejä. JRC:n ohjeistukseen perustuvalla GC-menetelmällä ei onnistuttu erottamaan retentioaikastandardin sisältämiä yhdisteitä, vaan ne eluoiuivat kahtena suurena piikkinä. Huonojen tulosten takia päätettiin kokeilla yhdisteiden erottamista BfR:n luoman menetelmän pohjalta [10, s. 8]. GC-FID:lle luotiin ja nimettiin menetelmä MOSHMOAH1.M BfR:n menetelmään pohjautuen ja menetelmän parametrit on esitetty taulukossa 4. Injektio-tyypiksi valittiin kokonaistilavuuden injektio.

Taulukko 4. MOSHMOAH1.M-menetelmän parametrit, jotka pohjautuvat BfR:n kehittämään menetelmään injektio-tyyppiä lukuun ottamatta.

<b>MOSHMOAH1.M-menetelmän parametrit GC-FID-laitteelle</b>	
<b>Injektio-tyyppi</b>	Kokonaistilavuuden injektio kylmään injektoriin
<b>Injektio-tilavuus</b>	40 µl
<b>Injektorin lämpötila-ohjelma</b>	55 °C (pidetään 6 min) 15 °C/min, kunnes 150 °C 5 °C/min, kunnes 350 °C (pidetään 10 min)
<b>Kolonnin paine</b>	150 kPa (pidetään 3 min) vähennetään 100 kPa/min, kunnes 80 kPa nostetaan 1 kPa/min, kunnes 90 kPa
<b>Kantokaasu</b>	helium
<b>Kolonnin lämpötila-ohjelma</b>	50 °C (pidetään 4,5 min) nostetaan 22 °C/min, kunnes 240 °C nostetaan 30 °C/min, kunnes 350 °C (pidetään 12 min)
<b>Detektorin lämpötila</b>	365 °C
<b>Detektorin kaasujen virtausnopeudet</b>	ilma 450 ml/min vety 40 ml/min typpi 45 ml/min

Kuvassa 11 on kromatogrammi retentioaikastandardin ajosta taulukon 4 mukaisilla parametreillä. Vaikka yhdisteet eivät erotu kromatogrammissa toisistaan kunnolla ja piikit häntivät, siitä on kuitenkin havaittavissa useampi selkeä piikki.



Kuva 11. Retentioaikastandardin mittauksesta saatu kromatogrammi BfR:n menetelmään pohjautuvalla MOSHMOAH1.M-menetelmällä.

MOSHMOAH1-menetelmän parametreja lähdettiin muuttamaan paremman erotuskyvyn saavuttamiseksi kokeilemalla eri asetuksia injektorille, kolonniuunin lämpötilalle sekä kolonnin virtausnopeudelle.

### 5.2.1 Kolonniuunin lämpötila ja kolonnin virtausnopeus

Retentioaikastandardista mitatussa kromatogrammista tulisi erottua kymmenen piikkiä, joten BfR:n menetelmään pohjautuvaa MOAHMOAH1.M-menetelmää muokattiin muuttamalla kolonniuunin lämpötilaohjelmaa ja painetta kolonnissa. Piikkejä yritettiin ensin saada erottumaan muuttamalla kolonniuunin lämpötilaa lopulta taulukon 5 mukaiseksi. Lämpötilaohjelman muutoksella piikit saatiin paremmin erilleen, mutta myöhemmin eluotuvien yhdisteiden piikit olivat leveitä. Kun kolonnin painetta muutettiin taulukon 5 mukaiseksi, myös kromatogrammin loppupään piikit kapenivat. Paineen muutos kolonnissa aiheutti muutoksen yhdisteiden virtausnopeudessa kolonnin sisällä. Suurempi paine sai aikaiseksi suuremman virtausnopeuden, joka toi yhdisteet nopeammin ulos kolonnista ja terävöitti piikkejä.

Taulukko 5. Muutokset MOSHMOAH1.M-menetelmään kolonniuunin lämpötilan ja kolonnin paineen osalta.

<b>Kolonniuunin lämpötilaohjelman ja kolonnin paineen muutokset MOSHMOAH1.M-menetelmään</b>	
<b>Kolonnin paine</b>	65 kPa (pidetään 4 min) nostetaan 3 kPa/min, kunnes 95 kPa (pidetään loppuun asti)
<b>Kolonniuunin lämpötilaohjelma</b>	50 °C (pidetään 5 min) nostetaan 20 °C/min, kunnes 280 °C nostetaan 30 °C/min, kunnes 350 °C (pidetään 10 min)

Kuvassa 12 sivulla 29 on esitetty kromatogrammi, jonka mittauksessa on käytetty taulukon 5 mukaista kolonnin painetta sekä kolonniuunin lämpötilaohjelmaa.

### 5.2.2 Injektiotyypin valinta

Injektiotyypiksi valittiin ensimmäisenä kylmä kokonaistilavuuden injektio, koska sillä on mahdollista viedä näyte kokonaisuudessaan kolonniin. MOSH- ja MOAH-yhdisteiden

määrityksessä se on tärkeää, koska näytemäärä on suuri ja analysoitavia yhdisteitä on hyvin vähän. JRC:n ohjeistuksen mukaan kylmä kolonniin injektio on suositeltava, koska sillä näyte saadaan kolonniin kokonaisuudessaan. [21, s. 29.] Käytössä ei ollut injektoria, joka olisi mahdollistanut kolonniin suoraan injektion. Samankaltaisena injektiona pidetään kylmää kokonaistilavuuden injektiota, jossa näyte siirretään nestemäisenä höyrystymiskammion kautta kolonniin ja höyrystymiskammion seinämille jääneet yhdisteet kuumennetaan ja siirretään höyrystyneenä kolonniin [18, s. 213]. Kylmällä kokonaistilavuuden injektioilla ei tullut odotettua lopputulosta, koska alkupään piikit eivät erottuneet toisistaan ja suuri liuotinpiikki levisi ensimmäisenä eluoituvien yhdisteiden kanssa samaan aikaan. Jälkeenpäin huomattiin, että kokonaistilavuuden injektioissa kannattaa käyttää niitä varten suunniteltuja höyrystymiskammioita. Käytössä oli yhdistelmäinjektorilla tehtäviin suorainjektioihin ja liuottimen haihdutusinjektioihin sopiva höyrystymiskammio, josta puuttui ominaisuus muodostaa tiivis liitos höyrystymiskammion ja kolonnin injektoripään välille. Mahdollisesti vääränlaisen höyrystymiskammion vuoksi kylmä kokonaistilavuuden injektio ei toiminut.

Kylmällä kokonaistilavuuden injektioilla saatujen kromatogrammien tarkastelun jälkeen haluttiin löytää ratkaisu sille, miten liuotinpiikkiä saisi kavennettua. MOSH- ja MOAH-pitoisuuksien määrittämisessä injektointi näytemäärä on suuri. Näin ollen kolonniin menee hyvin suuri määrä liuotinta ja suuri liuotinpiikki on todennäköinen. Seuraavaksi päätettiin kokeilla yhdistelmäinjektorin mahdollistamaa liuottimen haihdutusinjektiota, joka höyrystää liuotinta jakuventtiilin kautta ulos samalla kun näytettä injektoidaan höyrystymiskammioon. Kun suurin osan liuottimesta on haihtunut jakuventtiiliin, näyteyhdisteet höyrystetään ja siirretään kolonniin. Liuottimen haihdutusinjektioilla liuotinpiikki saatiin kapeammaksi ja retentioaikastandardin sisältämien yhdisteiden piikit erottuivat hyvin toisistaan. Retentioaikastandardin helpoiten haihtuva yhdiste (sisältää 10 hiiliatomia) näkyi vain muutamien mittausten kromatogrammeissa. Liuottimen haihdutusinjektion haasteena on se, että helposti haihtuvat näyteyhdisteet saattavat haihtua samalla kun liuotinta haihdutetaan jakuventtiilin kautta ulos injektorista.

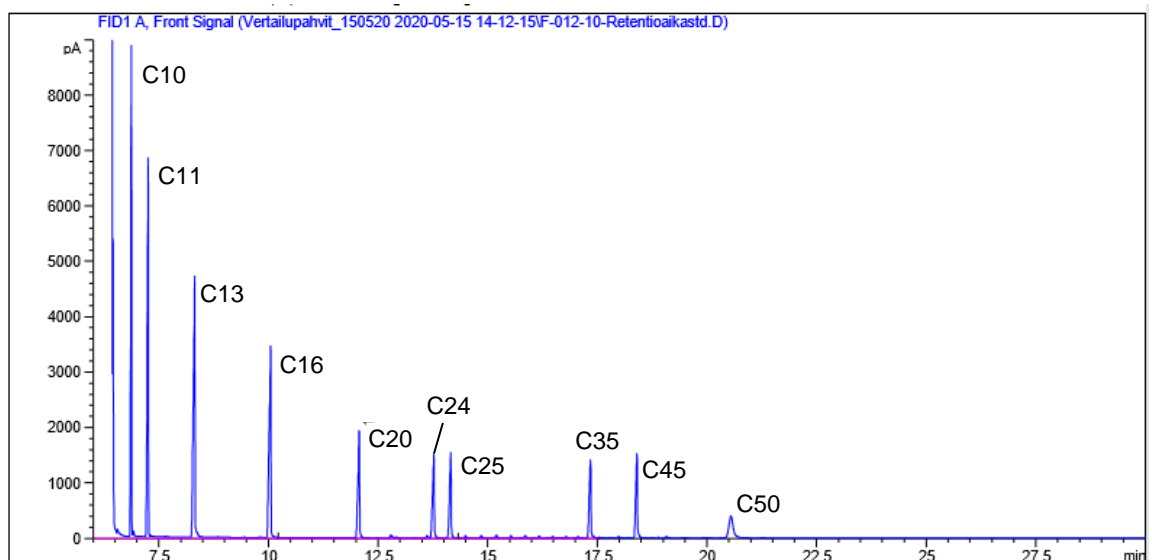
MOSH- ja MOAH-yhdisteiden pitoisuuksien määrittämisessä ei voida hyväksyä sitä, että helposti haihtuvat näyteyhdisteet häviävät näytteestä ennen näytteen analysointia, koska tämä vääristää lopputulosta. Ongelman välttämiseksi kokeiltiin kylmää suorainjektiota, koska siihen sopiva höyrystymiskammio oli saatavilla. JRC:n ohjeistuksen mukaan

kylmä suorainjektio on suositeltava MOSH- ja MOAH-pitoisuuksien määrittämisessä kylmän kolonniin injektioinnin ohella, mikäli injektorin asetukset asetetaan tukemaan näytehöyryn nopeampaa virtausta injektorista kolonniin (engl. Concurrent Solvent Re-condensation, CSR). [21, s. 29.] Menetelmällä on mahdollista höyrystää näytettä injektorissa samaan tahtiin, kun höyry siirtyy ja kondensoituu nestemäiseksi esikolonnin seinämille. Taulukossa 6 on esitetty muutokset, jotka tehtiin injektorin parametreille MOSHMOAH1.M-menetelmään verrattuna.

Taulukko 6. Muutokset MOSHMOAH1.M-menetelmään injektiotyyppin, injektioilavuuden ja injektorin lämpötilaohjelman osata.

<b>Injektorin asetusten muutokset MOSHMOAH1.M-menetelmään</b>	
<b>Injektiotyyppi</b>	Kylmä suorainjektio
<b>Injektioilavuus</b>	50 µl
<b>Injektorin lämpötilaohjelma</b>	50 °C (pidetään 3 min) 600 °C/min, kunnes 325 °C (pidetään 5 min)

Kuvassa 12 on kromatogrammi retentioaikastandardista, joka mitattiin GC-FID:llä tauluko 6 mukaisilla injektorin parametreilla sekä sivulla 27 olevan taulukon 5 mukaisilla kolonniuunin lämpötilalla sekä kolonnin paineella.



Kuva 12. Retentioaikastandardin kromatogrammi, joka saatiin mittaamalla retentioaikastandardi MOSHMOAH1.M-menetelmään tehtyjen muutosten jälkeen.

Mittausten perusteella retentioaikastandardin piikit erottuvat hyvin toisistaan, eivätkä mineraaliöljyhiilivedytjen pienijakeisimmat yhdisteet haihdu näytteestä ennen analysointia. Kun menetelmällä mitataan oikeita pahvisesta tai kartonkisesta kontaktimateriaaleista uutettuja näytteitä, menetelmällä pystytään analysoimaan fraktiot luotettavasti. Kuvan 12 perusteella voidaan todeta, että kromatogrammin loppupäässä eluoituvat piikit ovat alkupään piikkejä selkeästi pienempiä ja ne ovat hieman levinneitä. Menetelmän todettiin toimivan halutulla tavalla, joten voitiin siirtyä oikeiden näytteiden analysoimiseen.

### 5.3 Näytteiden esikäsittely

Näytteiden esikäsittely ehdittiin toistaa viisi kertaa. Kolmena mittauskertana esikäsiteltiin vain liuottimesta valmistettuja nollanäytteitä. Näytteissä ei ollut pahvia lainkaan, ainoastaan sisäiset standardit. Laboratoriosta löytynyttä kierrätyspahvia, neutraalisesta kuidusta valmistettua kartonkia ja vertailupahvia analysoitiin kutakin yhtenä mittauskertana.

Analyysin onnistumisen kannalta esikäsittelyn tärkeimpiä vaiheita ovat pahvi- tai kartonkinäytteen homogenisointi, MOSH- ja MOAH-yhdisteiden liotinuutto, kiinteäfaasiuuton stationääri-faasina käytettävän silikageelin ja hopeanitraatin seoksen valmistus ja sen asettaminen kolonniin, MOSH- ja MOAH-fraktioiden erotus kiinteäfaasiuutolla sekä kontaminaatioiden välttäminen. Seuraavassa käydään läpi, miten nämä vaiheet toteutettiin, ja liitteessä 1 on kuvattu yksityiskohtaisesti, miten näytteiden esikäsittely etenee kokonaisuudessaan. Esikäsittelyvaiheeseen saatiin rutiinia ja toistettavuutta, mutta sitä ei ehditty ajan puitteissa optimoimaan.

Näytteenä oleva pahvinen tai kartonkinen elintarvikekontaktimateriaali homogenisoitiin analyysiä varten leikkaamalla siitä pieniä paloja (3 mm x 3 mm). Opinnäytetyön aikana ei käsitelty elintarvikekontaktimateriaalia, jonka pinnassa olisi ollut painomustetta. Näin ollen ei ollut tarvetta valikoida analyysiin sopivimpia kohtia näytteestä. Mikäli näytteissä olisi ollut painomustetta, tulisi se homogenisoida kokonaisuudessaan tai valita siitä kohdat, jotka parhaiten edustavat tutkittavaa kokonaisuutta. [21, s. 9.]

Mineraaliöljyhiilivedyt uutettiin näytteenä olevista pahveista heksaanin ja etanolin avulla ja heksaanifaasi, johon mineraaliöljyhiilivedyt uutettiin, pestiin vedellä. Työn ensimmäisenä päivänä leikattujen näytepalojen sekaan lisättiin 40 µl sisäisten standardien seosta,

20 ml heksaania ja 5 ml etanolia. Näytteen annettiin olla huoneenlämmössä yön yli. JRC:n mukaan näiden olosuhteiden on todettu olevan parhaat, kun halutaan uuttaa pahvista tai kartongista mineraaliöljyhiilivetyjä, joissa on alle 25 hiiliatomia. Etanoli turvottaa pahvin rakenteita, jolloin myös pienemmän moolimassan mineraaliöljyhiilivedyt saadaan uutettua pahvista heksaaniin. [21, s. 9.] Kun näytteitä oli uutettu yön yli, 10 ml heksaanifaasia siirrettiin erilleen, se pestiin 20 ml:lla vettä ja konsentroidiin typpivirtauksen alla, kunnes sen tilavuus oli noin 1 ml.

Stationäärifaasi koostuu silikageelistä ja hopeanitraatista. Silikageeli ei yksinään sido mineraaliöljyhiilivetyjä tarpeeksi, jotta MOSH- ja MOAH-fraktiot olisi mahdollista erottaa toisistaan kunnolla. Lisäämällä silikageeliin hopeanitraattia, stationäärifaasi pidättää mineraaliöljyhiilivedyt paremmin. Stationäärifaasin on todettu toimivan parhaiten MOSH- ja MOAH-fraktioiden erottelussa, kun hopeanitraatin pitoisuus on 0,3 % ja stationäärifaasia on kiinteäfaasiuuttokolonissa 3 g [21, s. 20–21]. Kiinteäfaasiuutossa käytettävä stationäärifaasi valmistettiin juuri ennen sen käyttöä. Silikageeli ja hopeanitraatti punnittiin ja sekoitettiin foliolla peitettyssä erlenmeyerissä. Hopeanitraatti hajooa herkästi valon vaikutuksesta, kun se on sekoitettuna silikageeliin, joten stationäärifaasi piti peittää valolta.

Valmistettu stationäärifaasi siirrettiin kolonniin, ilma sen sisältä poistettiin taputtelemalla kolonnia stationäärifaasin kohdalta ja kolonnit peitettiin foliolla. Kuvassa 13 on esitetty pakatut kiinteäfaasiuuttokolonit, joita käytettiin opinnäytetyön aikana.

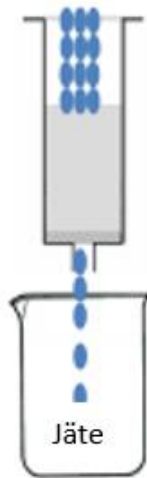




Kuva 13. Kiinteäfaasiuuttokolonnit MOSH- ja MOAH-fraktioiden erotteluun. Kolonnit on peitetty foliolla kohdasta, jossa stationäärifaasi sijaitsee, koska sen sisältämä hopeanitraatti hajoaa valon vaikutuksesta.

Kiinteäfaasiuutto suoritettiin kuvassa 14 olevien vaiheiden mukaan. Heksaania käytettiin stationäärifaasin aktivointiin, pesuun sekä MOSH-fraktion eluoinnin ensimmäiseen osaan. Eluointiliuosta (heksaani:dikloorimetaani:tolueeni 75:20:5) käytettiin eluoimaan jälkimmäinen osa MOSH-fraktiosta sekä MOAH-fraktio.

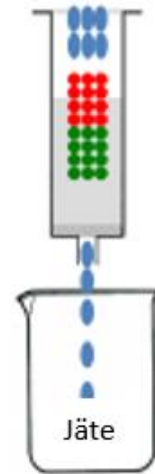
Vaihe 1. **Aktivointi**  
Heksaani 10 ml



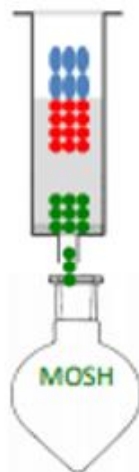
Vaihe 2. **Näytteen lisäys**  
Näyte 1 ml



Vaihe 3. **Pesu**  
Heksaani 2 ml

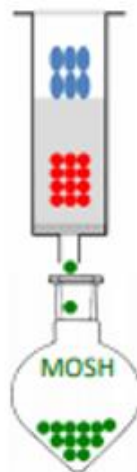


Vaihe 4. **MOSH-fraktio**  
Heksaani 5 ml



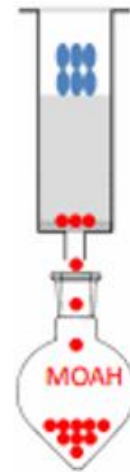
MOSH-fraktion keräys

Vaihe 5. **MOSH-fraktio**  
Eluointiliuos 1 ml



MOSH-fraktion keräys

Vaihe 5. **MOAH-fraktio**  
Eluointiliuos 10 ml



MOAH-fraktion keräys

Kuva 14. Kiinteäfaasiuuton vaiheet MOSH- ja MOAH-fraktioiden erottelussa. Päärnäkolvien sijaan fraktiot kerättiin lasisiin koeputkiin (muokattu). [10, s. 7.]

Fraktioiden erottelun jälkeen näytteet haihdutettiin typpivirtauksen alla, kunnes tilavuus oli noin 1 ml. Tämän jälkeen näytteet olivat valmiita analysoitavaksi GC-FID-laitteistolla.

Mineraaliöljyhiilivetyjen analytiikassa näytteet saattavat kontaminoitua helposti esimerkiksi käsirasvasta analyysin suorittavan henkilön käsistä, rasvasta hioksellisten lasitavaroitten liitososista tai ruiskuista [10, s. 3]. Näistä aiheutuvia kontaminaatioita pyrittiin välttämään käyttämällä ainoastaan lasitavaraa, joka pestiin asetonilla ja heksaanilla ennen esikäsittelyn aloittamista.

## 6 Tulokset

Menetelmänkehitysvaiheiden perusteella luotiin ja nimettiin menetelmä MOSHMOAH2.M, jolla analysoitiin JRC:n vertailupahvinäyte. Taulukossa 7 on esitetty menetelmän parametrit. Mittauksissa injektorina käytetään yhdistelmäinjektoria ja höyrystymiskammiota, joka sisältää lasivillaa ja on tarkoitettu suorainjektioille.

Taulukko 7. Vertailupahvin MOSH- ja MOAH-yhdisteiden pitoisuuksien mittaamiseen käytetyn MOSHMOAH2.M-menetelmän parametrit GC-FID-laitteelle.

<b>Menetelmän MOSHMOAH2.M parametrit GC-FID-laitteelle</b>	
<b>Injektiotyyppi</b>	Suorainjektio
<b>Injektiotilavuus</b>	50 µl
<b>Injektorin lämpötilaohjelma</b>	50 °C (pidetään 3 min) 600 °C/min, kunnes 325 °C (pidetään 5 min)
<b>Kolonnin paine</b>	60 kPa (pidetään 4 min) nostetaan 3 kPa/min, kunnes 95 kPa (pidetään loppuun asti)
<b>Kantokaasu</b>	helium
<b>Kolonnin lämpötilaohjelma</b>	50 °C (pidetään 5 min) nostetaan 20 °C/min, kunnes 280 °C nostetaan 30 °C/min, kunnes 350 °C (pidetään 12 min)
<b>Detektorin lämpötila</b>	365 °C
<b>Detektorin kaasujen virtausnopeudet</b>	ilma 450 ml/min vety 40 ml/min typpi 45 ml/min

Kehitetyn menetelmän toimivuuden arvioinnin apuna käytettiin JRC:n vertailupahvinäytettä, jonka MOSH- ja MOAH-fraktioiden pitoisuudet tunnettiin. Vertailupahvin avulla voitiin testata erityisesti esikäsittelyvaiheen toimivuutta, sillä liuoskontroleilla tehdyt analyysit

sit eivät ole suoraan verrannollisia analyysiin näytteellä, jossa on pahvi- tai kartonkimatriisi mukana esikäsitellyssä. Vertailupahville on ilmoitettu viitearvot ainoastaan hiilifraktioille C<sub>16</sub>-C<sub>25</sub> ja C<sub>26</sub> - C<sub>35</sub>. Näin ollen saaduista MOSH- ja MOAH-yhdisteiden kromatogrammeista integroidaan ainoastaan nämä kaksi hiilifraktiota. Integrointien alku- ja loppupisteet selvitetiin mittaamalla retentioaikastandardi MOAHMOAH2.M-menetelmällä. Taulukkoon 8 on kerätty retentioaikastandardin yhdisteille saadut retentioajat.

Taulukko 8. MOSHMOAH2.M-menetelmällä mitatun retentioaikastandardin yhdisteiden retentioajat.

<b>Retentioaikastandardin yhdisteiden (6-24 µg/ml) retentioajat MOSHMOAH.2-menetelmällä</b>	
<b>Yhdiste</b>	<b>Retentioaika (min)</b>
C <sub>10</sub>	6,86
C <sub>11</sub>	7,25
C <sub>13</sub>	8,31
C <sub>16</sub>	10,04
C <sub>20</sub>	12,06
C <sub>24</sub>	13,76
C <sub>25</sub>	14,15
C <sub>35</sub>	17,33
C <sub>45</sub>	18,40
C <sub>50</sub>	20,54

Taulukon 8 retentioaikojen perusteella vertailupahvista saatujen kromatogrammien hiilifraktioiden integrointiin käytettiin seuraavia retentioaikoja:

- C<sub>16</sub>-yhdisteen retentioaika 10,04 minuuttia määrittää ensimmäisen hiilifraktion (C<sub>16</sub>-C<sub>25</sub>) aloituskohdan kromatogrammissa
- C<sub>25</sub>-yhdisteen retentioaika 14,15 minuuttia määrittää kohdan kromatogrammissa, jossa hiilifraktio C<sub>16</sub>-C<sub>25</sub> vaihtuu hiilifraktioksi C<sub>26</sub> - C<sub>35</sub>
- C<sub>35</sub> yhdisteen retentioaika 17,33 minuuttia määrittää jälkimmäisen hiilifraktion (C<sub>26</sub> - C<sub>35</sub>) päättymiskohdan kromatogrammissa.

Vertailupahvista valmistettujen näytteiden lisäksi valmistettiin nollanäyte, jotka esikäsiteltiin samalla tavalla kuin vertailupahvinäytteet. Näytteiden kromatogrammeista poistettiin taustan vaikutus integroimalla nollanäytteestä samat hiilifraktiot kuin varsinaisista näytteistä ja nollanäytteen hiilifraktioiden pinta-alat vähennettiin vertailupahvinäytteiden hiilifraktioiden pinta-aloista.

## 6.1 Sisäisten standardien piikkien vertailu

Sisäisistä standardeista bisykloheksyylin piikin pinta-alalla on merkitystä näytteen MOSH-pitoisuuteen, koska sen pinta-ala kerrotaan vertailupahvinäytteen massalla ja niiden tulo toimii jakajana laskukaavassa, jolla lasketaan näytteen MOSH-pitoisuus. 1-metyyli-naftaleenin ja 2-metyyli-naftaleenin piikkien pinta-aloista valitaan pienempi, jota käytetään bisykloheksyylin tavoin MOAH-pitoisuuden määrittämiseen. Taulukossa 1 sivulla 20 on esitetty MOSH-fraktion mittauksessa käytettävät sisäiset standardit ja niiden merkitykset. Taulukkoon 9 on kerätty näytteiden MOSH-fraktioiden sisäisten standardien piikkien pinta-alat.

Taulukko 9. Vertailupahvinäytteiden MOSH-fraktioiden sisäisten standardien piikkien pinta-alat.

<b>Näytteiden MOSH-fraktioiden sisäisten standardien piikkien pinta-alat (pA*s)</b>				
<b>Sisäinen standardi</b>	<b>Näyte 1</b>	<b>Näyte 2</b>	<b>Näyte 3</b>	<b>Nollanäyte</b>
Bisykloheksyyli (Cycy)	7404	7438	8286	8052
Undekaani (C <sub>11</sub> )	7245	7268	8106	7798
Tridekaani (C <sub>13</sub> )	3654	3714	4159	3967
Kolestaani (Cho)	7909	6816	8474	5632

Undekaani on helpommin haihtuva yhdiste kuin bisykloheksaani, ja molempia lisätään näytteeseen saman verran. Mikäli undekaanin piikin pinta-ala on bisykloheksyylin piikkiä pienempi, on mahdollista, että bisykloheksyyliä on haihtunut analyysin aikana tai osa siitä on eluoitunut yhdessä jonkun toisen piikin kanssa. Bisykloheksyylin ja undekaanin piikkien pinta-aloissa ei ole merkittävää eroa minkään näytteen tuloksissa, joten liiallista bisykloheksyylin haihtumista tai päällekkäistä eluointia ei ole tapahtunut. Tridekaania lisätään näytteisiin puolet vähemmän kuin bisykloheksyyliä, joten sen piikin pinta-alan tu-

lisi olla noin puolet bisykloheksyylin piikin pinta-alasta. Tämä toteutuu kaikkien näytteiden kohdalla. Kolestaenin piikkien pinta-aloissa on suurin vaihtelu näytteiden välillä. Kolestaania käytetään sisäisenä standardina HPLC-GC online -menetelmässä, eikä sillä ole merkitystä manuaalisessa menetelmässä.

Taulukossa 2 sivulla 21 on esitetty MOAH-fraktion mittauksessa käytettävät sisäiset standardit ja niiden merkitykset. Taulukkoon 10 on kerätty näytteiden MOAH-fraktioiden sisäisten standardien piikkien pinta-alat.

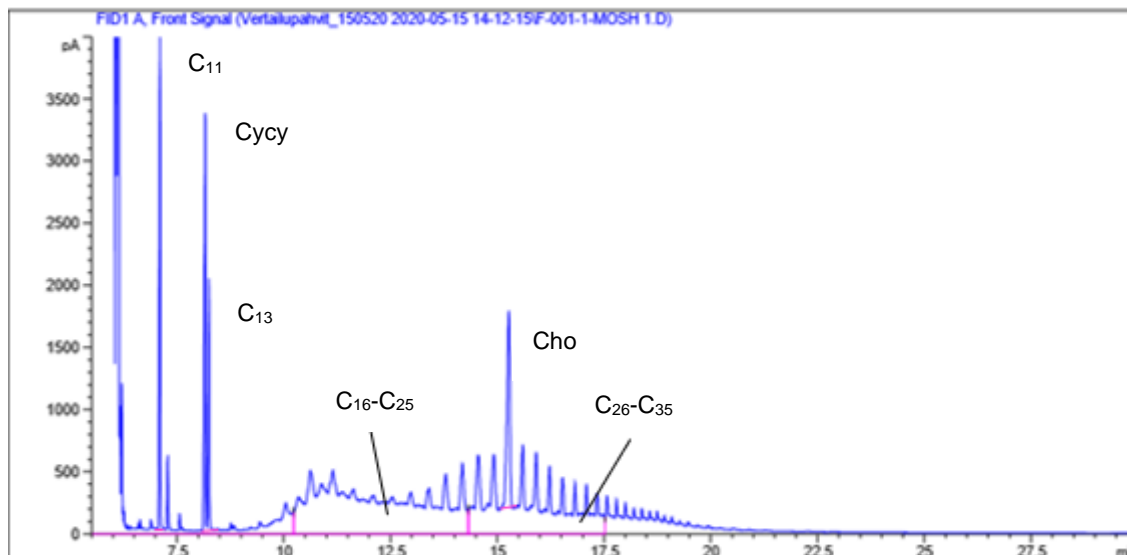
Taulukko 10. Vertailupahvinäytteiden MOAH-fraktioiden sisäisten standardien piikkien pinta-alat.

<b>Näytteiden MOAH-fraktioiden sisäisten standardien piikkien pinta-alat (pA*s)</b>				
<b>Sisäinen standardi</b>	<b>Näyte 1</b>	<b>Näyte 2</b>	<b>Näyte 3</b>	<b>Nollanäyte</b>
1-metyyliinaftaleeni (1 MN)	3993	3285	3378	3950
2-metyyliinaftaleeni (2 MN)	4143	3445	3481	4034
Pentyylibentseeni (5B)	3530	2885	3238	3613
1,3,5-tri-tert-butyylibentseeni (TBB)	3808	3199	3185	3915
Peryleeni (Per)	6946	6432	5345	6242

1-metyyliinaftaleenin ja 2-metyyliinaftaleenin piikkien pinta-aloista pienempää käytetään näytteen MOAH-pitoisuuden laskemiseen. Piikkien tulisi olla samankokoisia, mutta jos näin ei ole, suurempaan piikkiin on voinut eluoitua näytteen muita yhdisteitä. Pentyylibentseeni haihtuu helpommin kuin 1- tai 2-metyyliinaftaleeni, joten mikäli pentyylibentseenin piikin pinta-ala on huomattavasti pienempi, 1- tai 2-metyyliinaftaleenia on voinut haihtua analyysin aikana. Taulukossa 10 olevien tulosten perusteella kolmen rinnakkaisen näytteen arvot poikkeavat hieman toisistaan. Näytteiden pentyylibentseenin piikkien pinta-alat eivät juurikaan poikkea 1-metyyliinaftaleenin ja 2-metyyliinaftaleenin piikkien pinta-aloista. 1,3,5-tri-tert-butyylibentseeniä ja peryleeniä käytetään sisäisinä standardeina HPLC-GC Online -menetelmässä, eikä niillä ole merkitystä manuaalisessa menetelmässä.

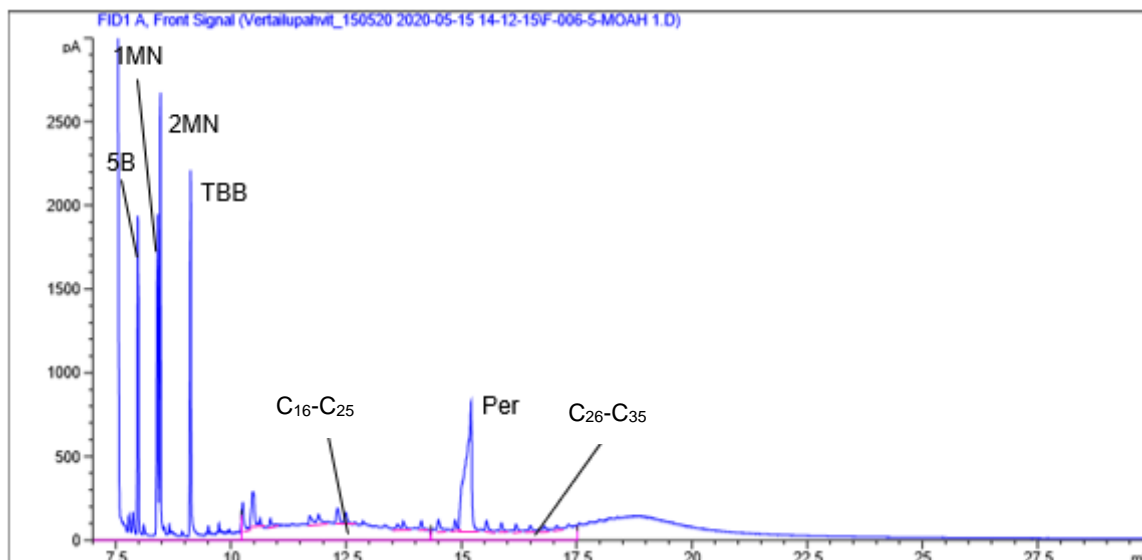
## 6.2 Vertailunäytteen MOSH- ja MOAH-pitoisuudet

Vertailupahvista valmistettiin kolme rinnakkaista näytettä. Kuvassa 15 on ensimmäisen näytteen MOSH-fraktion (MOSH1-näyte) kromatogrammi. Kaikkien kolmen näytteen sekä nollanäytteen MOSH-fraktioiden kromatogrammit ovat liitteessä 2.



Kuva 15. MOSH1-näytteen, eli ensimmäisen näytteen MOSH-fraktion kromatogrammi, johon on merkitty sisäisten standardien piikit C<sub>11</sub>, C<sub>13</sub> ja Cho sekä hiilifraktiot C<sub>16</sub>-C<sub>25</sub> ja C<sub>26</sub>-C<sub>35</sub>.

Kuvan 15 kromatogrammin perusteella MOSHMOAH2.M-menetelmällä mitattujen sisäisten standardien piikit ovat teräviä ja erottuvia. MOSH-fraktioiden päällä olevat terävät piikit ovat tavallisesti hieman kapeampia ja terävämpiä kuin mitä kuvan 15 kromatogrammissa. Tällä ei kuitenkaan todennäköisesti ole suurta vaikutusta hiilifraktioiden pinta-alaan, koska piikit ovat kuitenkin selkeitä ja erottuvat toisistaan. Kuvassa 16 on ensimmäisen näytteen MOAH-fraktio (MOAH1-näyte). Kaikkien kolmen näytteen sekä nollanäytteen MOAH-fraktioiden kromatogrammit ovat liitteessä 3.



Kuva 16. MOAH1-näytteen, eli ensimmäisen näytteen MOAH-fraktion kromatogrammi, johon on merkitty sisäisten standardien piikit 5B, 1MN, 2MN, TBB ja Per sekä hiilifraktiot C<sub>16</sub>-C<sub>25</sub> ja C<sub>26</sub>-C<sub>35</sub>.

Kuvan 16 perusteella voidaan todeta, että MOSHMOAH2.M-menetelmällä myös MOAH-fraktion sisäisten standardien piikit ovat teräviä ja erottuvat toisistaan lukuun ottamatta peryleenin piikkiä. Vaikka peryleenin piikki on leveämpi ja se näyttää keulivalta (engl. fronting peak), sillä ei ole merkitystä mittaustuloksiin. Nollanäytteen peryleenin piikki näyttää samanlaiselta, joten piikkiin ei ole eluoitunut vertailupahvin sisältämiä MOAH-yhdisteitä. Toisin kuin MOSH-fraktion integroinnissa, MOAH-fraktioiden päällä olevien terävien piikkien pinta-alat vähennetään hiilifraktioiden kokonaispinta-alasta. MOAH-yhdisteet eivät muodosta teräviä piikkejä.

Kaikista kolmesta mitatusta näytteestä kaikkien kromatogrammit vaikuttivat ulkoisesti melko samanlaisilta, eikä niissä näy kontaminaatioita. Sisäisten standardien piikkien pinta-alat poikkesivat hieman toisistaan näytteiden välillä. Liitteessä 4 on taulukko, johon on kerätty kaikkien näytteiden MOSH- ja MOAH-yhdisteiden kromatogrammien hiilifraktioiden ja sisäisten standardien pinta-alat. Liitteen tietojen perusteella taulukkoon 11 on laskettu sivulla 23 olevan kaavan 1 mukaan vertailupahvinäytteiden MOSH- ja MOAH-pitoisuudet. Seuraavassa on laskuesimerkki ensimmäisen näytteen MOSH-yhdisteiden (MOSH1-näyte) hiilifraktion C<sub>16</sub>-C<sub>25</sub> MOSH-pitoisuudesta. Muiden näytteiden MOSH- ja MOAH-pitoisuudet on laskettu taulukkoon 11 samalla tavalla.



MOSH1-näytteen hiilifraktion C<sub>16</sub>-C<sub>25</sub> pinta-ala on 70 981 pA\*s ja, taustan poistamiseksi, siitä vähennetään nollanäytteen MOSH-fraktion antama pinta-ala samalle hiilifraktiolle, joka on 3340 pA\*s. Näin ollen MOSH1-näytteen hiilifraktion C<sub>16</sub>-C<sub>25</sub> pinta-alaksi saadaan taustan vähennyksen jälkeen 67 641 pA\*s.

$$w_{MOSH(näyte1)} = \frac{67\,641 * 0,012\,mg * 1000}{7404 * 1,003\,g} = 109\,mg/kg$$

Taulukkoon 11 on laskettu kaikkien näytteiden MOSH- ja MOAH-pitoisuudet.

Taulukko 11. Vertailupahvinäytteiden MOSH- ja MOAH-pitoisuudet.

Mittausten perusteella lasketut MOSH- ja MOAH pitoisuudet (mg/kg)				
Hiilifraktio	Näyte 1 (mg/kg)	Näyte 2 (mg/kg)	Näyte 3 (mg/kg)	Vertailupahvin viitearvo (mg/kg)
MOSH C <sub>16</sub> -C <sub>25</sub>	109	98	113	296
MOSH C <sub>25</sub> -C <sub>35</sub>	74	57	69	223
<b>MOSH yhteensä</b>	<b>183</b>	<b>155</b>	<b>182</b>	<b>519</b>
MOAH C <sub>16</sub> -C <sub>25</sub>	51	60	50	78
MOAH C <sub>25</sub> -C <sub>35</sub>	28	32	24	47
<b>MOAH yhteensä</b>	<b>79</b>	<b>92</b>	<b>74</b>	<b>125</b>
<b>MOSH ja MOAH yhteensä</b>	<b>262</b>	<b>247</b>	<b>256</b>	<b>644</b>

Taulukossa 11 olevien pitoisuuksien perusteella voidaan todeta, että saadut tulokset ovat huomattavasti pienempiä kuin vertailupahvin viitearvot. Näytteiden 1 ja 3 pitoisuudet ovat samaa luokkaa, mutta näytteen 2 MOSH-yhdisteiden pitoisuus on selkeästi pienempi kuin muissa näytteissä. Kun kiinteäfaasiuttoa suoritettiin näytteille, näytteen 2 stationäärifaasina toimivaan silika-hopeanitraattiseokseen jäi liikaa ilmaa, kun se oli lisätty kolonniin. Kun näytettä eluoiitiin stationäärifaasin läpi, stationäärifaasissa näkyi selkeästi halkeamia. Nämä ovat todennäköisesti häirinneet MOSH- ja MOAH-yhdisteiden eluoitumista stationäärifaasista. MOSH-yhdisteiden hiilifraktio C<sub>26</sub>-C<sub>35</sub> erottuu stationäärifaasista näytepulloon juuri ennen MOAH-yhdisteiden hiilifraktiota C<sub>16</sub>-C<sub>25</sub>. Näytteen 2 kyseinen MOSH-yhdisteiden hiilifraktio on selkeästi pienempi kuin muiden näytteiden, kun taas kyseinen MOAH-yhdisteiden hiilifraktio on suurempi kuin muissa näytteissä. On hyvin todennäköistä, että näytteen 2 MOSH-yhdisteiden hiilifraktiosta C<sub>26</sub>-C<sub>35</sub> osa on

eluoitunut vasta MOAH-yhdisteiden hiilifraktioon C<sub>16</sub>-C<sub>25</sub>. Koska näytteen 2 kiinteäfaasiuutossa tiedettiin olleen ongelmia, kyseisen näytteen MOSH- ja MOAH-yhdisteiden saadut pitoisuudet eroavat muiden näytteiden vastaavista pitoisuuksista odotetusti. Kolmen rinnakkaisen näytteen tulosten perusteella voidaan kuitenkin todeta, että rinnakkaiset määritykset olivat toistettavia.

Vaikka vertailupahvin viitearvojen on ilmoitettu olevan vain suuntaa antavia, mittauksista saadut MOSH- ja MOAH-pitoisuudet vertailupahville ovat niin paljon pienempiä, ettei niitä voida pitää totuudenmukaisina. Sisäisten standardien pinta-alojen tarkastelussa ei ollut viitettä siitä, että bisykloheksyylin tai 1-metyyliinaftaleenin piikkien pinta-alat vääristäisivät laskukaavan tulosta. Tämän takia voidaan epäillä, ettei vertailupahvinäytteessä olevat mineraaliöljyhiilivedyt uuttuneet kokonaisuudessaan liuottimeen tai ne eivät eluotuneet odotetulla tavalla kiinteäfaasiuuton stationäärifaasista.

Vertailupahvinäytettä leikattiin noin 3 mm x 3 mm:n kokoisiksi paloiksi, joita uutettiin heksaanissa ja etanolissa yön yli huoneenlämmössä. Näytettä sekoitettiin käsin ja vorteksoimalla liuottimien lisäyksen sekä uuttoaajan jälkeen. On mahdollista, etteivät uuttoaika, näytteen sekoituskerrat ja näytepalojen koko ole riittäviä mineraaliöljyhiilivetyjen uuttumiseen vertailupahvinäytteestä. Näytteen leikkaaminen vieläkin pienemmiksi paloiksi lisäisi pinta-alaa, josta mineraaliöljyhiilivedyt pääsisivät uuttumaan liuottimeen, ja näin olleen mahdollisesti tehostaisi mineraaliöljyhiilivetyjen uuttumista. Sen lisäksi pidempi uuttoaika ja useampi sekoituskerta voisivat antaa parempia tuloksia.

Kiinteäfaasiuutto on esikäsitteilyn tärkeimpiä vaiheita. Stationäärifaasi valmistetaan itse sekoittamalla pieni määrä hopeanitraattia aktivoituun silikageeliin. Yhdisteet pitää saada hyvin sekoitettua, jotta hopeanitraattia on tasaisesti seoksessa. Hopeanitraatti parantaa huomattavasti MOSH- ja MOAH-yhdisteiden sitoutuvuutta stationäärifaasiin. Mikäli seos on epätasainen, osa MOSH- ja MOAH-yhdisteistä ei sitoudu tarvittavalla voimalla stationäärifaasiin ja eluoituu ulos aikaisemmin kuin on tarkoitettu.

Mittauksissa käytetty hopeanitraatti on melko rakeista ja sitä yritettiin hieman hienontaa lusikalla ennen kuin se punnittiin aktivoidun silikageelin joukkoon. Koska hopeanitraattia lisätään hyvin vähän, sen hienontaminen mahdollisesti parantaisi sekoituvuutta akti-

voidun silikageelin joukkoon. Sen lisäksi hopeanitraatin ja aktivoitun silikageelin sekoitusta voisi yrittää optimoida sekoittamalla tarvittava määrä esimerkiksi kahdessa eri osassa. Mittauksissa tehtiin neljä näytettä kerrallaan ja aktivoitua silikageeliä punnittiin 18 g ja hopeanitraattia 0,6 g. Sekoituksen voisi kokeilla toteuttaa punnitsemalla 13,5 g aktivoitua silikageeliä ja 0,3 g hopeanitraattia yhteen erlenmeyeriin, jossa ne sekoitetaan huolellisesti. Toinen samanlainen seos sekoitetaan omassa erlenmeyerissä, minkä jälkeen seokset yhdistetään. Tekemällä sekoituksen pienemmissä erissä seoksesta on mahdollista saada tasaisempi. Kiinteäfaasiuuttoon voisi kokeilla ohuempaa kiinteäfaasiuuttokolonnia, koska ohuemman kolonnin on todettu joissakin tutkimuksissa parantavat MOSH- ja MOAH-yhdisteiden erottuvuutta [25, s. 986].

## 7 Yhteenveto

Opinnäytetyön aikana menetelmää mineraaliöljyhiilivetyjen määrittämiseen pahvisista ja kartonkisista kontaktimateriaaleista saatiin kehitettyä siihen vaiheeseen, että vertailupahvinäytettä analysoitiin yhden kerran valmistamalla kolme rinnakkaista näytettä.

Ensimmäisenä optimoitiin GC-FID-laitteen menetelmä MOSH- ja MOAH-fraktioiden analysointiin mittaamalla retentioaikastandardia pitoisuudessa 10 µg/ml. BfR:n kehittämään menetelmään pohjautuvilla GC-FID-laitteen parametreilla kromatogrammissa näkyi osa retentioaikastandardin yhdisteiden piikeistä. Ajon keskivaiheilla ja lopussa eluotuvat retentioaikastandardin yhdisteet saatiin erottumaan paremmin toisistaan hidastamalla kolonniuunin lämpötilan nousua ajon aikana ja nostamalla kolonnin painetta ajon loppupuolella.

Ensimmäisissä mittauksissa käytetty kylmä kokonaistilavuuden injektio aiheutti liuotinpinnan leviämistä peittäen retentioaikastandardin ensimmäisenä eluotuvien yhdisteiden piikit. Käytössä ei ollut kokonaistilavuuden injektioille sopivaa höyrystymiskammiota, joten retentioaikastandardin kromatogrammit eivät olleet odotusten mukaisia. Levinneen liuotinpinnan korjaamiseksi kokeiltiin liuotimen haihdutusinjektioita, jolla osa liuotimesta haihdutetaan pois höyrystymiskammioista jakoventtiilin kautta ennen kuin näyte siirtyy kolonniin. Liuotinpikki kaventui, mutta retentioaikastandardin ensimmäisenä eluoituva kymmenen hiiliatomia sisältävä yhdiste haihtui samalla kun liuotinta haihdutettiin pois

höyrystymiskammoista. Koska näytteistä pitää pystyä havaitsemaan myös mahdolliset kymmenen hiiliatomia sisältävät mineraaliöljyhiilivedyt, niiden ei saa antaa haihtua ennen näytteen siirtämistä kolonniin. Kolmantena injektiotyyppinä kokeiltiin kylmää suorainjektiota lasivillaa sisältävällä höyrystymiskammioilla. Injektorin ja kolonniunin lämpötilaohjelmat asetettiin niin, että voitiin hyödyntää CSR-tekniikkaa. Liuotinpiikki saatiin kapenemaan, retentioaikastandardin ensimmäiset piikit eivät haihtuneet ja erottuivat hyvin toisistaan. Tuloksiin oltiin tyytyväisiä, joten vertailupahvinäytteen MOSH- ja MOAH-yhdisteiden pitoisuudet mitattiin tällä injektiotyyppillä.

Mitatut pitoisuudet jäivät selvästi alle vertailupahvinäytteen viitearvojen. MOSH-yhdisteiden pitoisuuksiksi saatiin 183, 155 ja 182 mg/kg, kun viitearvo on 519 mg/kg. MOAH-yhdisteiden pitoisuuksiksi saatiin 79, 92 ja 74 mg/kg kun viitearvo on 125 mg/kg. Pitoisuudet näytteessä lasketaan laskukaavan avulla, jonka jakajassa käytetään sisäisistä standardeista bisykloheksyylin (MOSH-fraktio) ja 1-metyyli-naftaleenin (MOAH-fraktio) piikkien pinta-aloja. Jos näitä sisäisiä standardeja on haihtunut pois analyysin aikana tai niiden piikkeihin eluoituu näytteen yhdisteitä, piikkien pinta-alat eivät ole totuudenmukaisia ja laskukaavalla laskettu pitoisuus vääristyy. Vertailupahvinäytteiden analyysissä käytetyt sisäisten standardien piikit tarkistettiin muiden sisäisten standardiyhdisteiden, ns. varmennusstandardien piikkien pinta-aloilla. Bisykloheksyylin ja 1-metyyli-naftaleenin piikkien pinta-alat todettiin olevan kunnossa varmennusstandardien perusteella.

Selkeästi pienemmät MOSH- ja MOAH-pitoisuudet voivat selittyä sillä, etteivät mineraaliöljyhiilivedyt uuttuneet kunnolla vertailupahvista heksaaniin tai kiinteäfaasiuuton stationäärifaasi ei pidättänyt mineraaliöljyhiilivetyjä odotetulla tavalla. Liuotinuuttoa voisi tehostaa näytteen leikkaamisella vieläkin pienemmiksi paloiksi. Se lisäisi pinta-alaa, josta mineraaliöljyhiilivedyt pääsevät uuttumaan liuottimeen. Sen lisäksi pidempi uuttoaika ja useampi sekoituskerta voisivat antaa parempia tuloksia. Kiinteäfaasiuutossa stationäärifaasina käytettävässä silikageelin ja hopeanitraatin seoksessa on erityisen tärkeää, että hopeanitraatti sekoittuu tasaisesti seokseen, koska se parantaa mineraaliöljyhiilivetyjen pidättyvyyttä stationäärifaasissa. Opinnäytetyön aikana käytetty hopeanitraatti oli melko rakeista, joten tasaisemman seoksen saavuttamiseksi hopeanitraattia voisi jauhaa ennen kuin se sekoitetaan silikageeliin. Sen lisäksi hopeanitraatti voisi levittyä tasaisemmin seokseen, jos sekoitusvaiheen suorittaisi useammassa osassa ja lopuksi yhdistäisi ne

yhdeksi suuremmaksi seokseksi. Myös kapeampi kiinteäfaasiuuttokolonni mahdollisesti parantaisi mineraaliöljyhiilivetyjen pidättäytymistä stationäärifaasissa.

Seuraava vaihe menetelmän kehittämässä olisi kokeilla edellä mainittuja muutoksia näytteiden esikäsittelyvaiheeseen ja niistä saatujen tulosten perusteella valita parhaat käytännöt jatkoon. Ennen vertailukokeeseen osallistumista menetelmällä tulisi saada mitattua MOSH- ja MOAH-fraktiot vertailupahvinäytteestä luotettavasti ja toistettavasti.

Menetelmää ei saatu kehitettyä opinnäytetyön aikana siihen pisteeseen, että menetelmä olisi valmis käytettäväksi vertailukokeessa. Vaikean näytematriisin, monivaiheisen näytteen esikäsittelyn sekä standardimenetelmän puuttumisen vuoksi toimivan menetelmän saavuttaminen ei ole yksinkertaista. Tähän nähden opinnäytetyö onnistui hyvin, koska GC-FID-menetelmä saatiin toimimaan tarkoituksenmukaisesti, näytteen esikäsittelyyn saatiin toistuvuutta, kontaminaatioilta vältyttiin sekä jatkotoimenpiteet esikäsittelyvaiheen kehittämiseen ovat selkeät. Opinnäytetyöstä saatujen tulosten pohjalta on hyvä lähteä kehittämään menetelmää eteenpäin.

## Lähteet

- 1 Tullilaboratorio testaa kulutustavaroiden turvallisuutta. Verkkoaineisto. Suomen Tulli. <<https://tulli.fi/web/tullilaboratorio/kulutustavarat>>. Luettu 7.6.2020.
- 2 Kontaktimateriaalit. Verkkoaineisto. Ruokavirasto. <<https://www.ruokavirasto.fi/yritykset/elintarvikeala/valmistus/pakkaukset-ja-muut-elintarvikekontaktimateriaalit/kontaktimateriaalit/>>. Päivitetty 25.10.2018. Luettu 4.4.2020.
- 3 EFSA (European Food Safety Authority) Panel on Contaminants in the Food Chain. 2013. Scientific Opinion on Mineral Oil Hydrocarbons in Food. Verkkoaineisto. <<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2012.2704>>. Luettu 27.4.2020.
- 4 Environmental Protection Encouragement Agency (EPEA). 2018. EPEA – Factsheet on MOAH/MOAH. Verkkoaineisto. <<https://www.healthyprinting.eu/workspace/uploads/imagefolder/factsheet-mosh-moah.pdf>>. Luettu 27.5.2020.
- 5 EPEA-Factsheet on MOSH/MOAH. 2018. Environmental Protection Encouragement Agency. Verkkoaineisto. <<https://www.healthyprinting.eu/workspace/uploads/imagefolder/factsheet-mosh-moah.pdf>>. Luettu 7.6.2020.
- 6 Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus elintarvikkeen kanssa kosketukseen joutuvista materiaaleista ja tarvikkeista ja direktiivien 80/509/ETY ja 89/109/ETY kumoamisesta. 2004. 1935/27.10.2004.
- 7 Komission asetus elintarvikkeen kanssa kosketuksiin joutuvien materiaalien ja tarvikkeiden hyvistä tuotantotavoista. 2006. 2023/22.12.2006.
- 8 Virtanen, Merja. Mitä ovat kontaktimateriaalit? Verkkoaineisto. Ruokavirasto. <[https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/yritykset/elintarvikeala/valmistus/pakkaukset-ja-muut-elintarvikekontaktimateriaalit/opi-lisaa-kontaktimateriaaleista/mita\\_ovat\\_kontaktimateriaalit\\_.pdf](https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/yritykset/elintarvikeala/valmistus/pakkaukset-ja-muut-elintarvikekontaktimateriaalit/opi-lisaa-kontaktimateriaaleista/mita_ovat_kontaktimateriaalit_.pdf)>. Luettu 4.4.2020.
- 9 Bratinova S & Hoekstra E. 2019. Guidance on sampling, analysis and data reporting for the monitoring of mineral oil hydrocarbons in food and food contact materials.
- 10 BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung). 2012. Determination of hydrocarbons from mineral oil (MOSH & MOAH) or plastics (POSH & PAO) in packaging materials and dry foodstuffs by solid phase extraction and GC-FID.

- 11 FoodDrinkEurope. 2018. Tool Box for Preventing the Transfer of Undesired Mineral Oil Hydrocarbons into Food. Verkkoaineisto. <[https://www.fooddrink-europe.eu/uploads/publications\\_documents/Preventing\\_transfer\\_of\\_undesired\\_Mineral\\_Oil\\_Hydrocarbons\\_into\\_food\\_FoodDrinkEurope\\_BLL\\_Toolbox.pdf](https://www.fooddrink-europe.eu/uploads/publications_documents/Preventing_transfer_of_undesired_Mineral_Oil_Hydrocarbons_into_food_FoodDrinkEurope_BLL_Toolbox.pdf)>. Luettu 2.5.2020.
- 12 K.Barnes, R. Sinclair & D. Watson. 2007. Chemical Migration and Food Contact Materials. Woodhead Publishin Limited. <<https://books.google.fi/books?id=v-ZRAwAAQBAJ&pg=PA378&dq=chemical+migration+fcm&hl=fi&sa=X&ved=0ahUKEwiYwrS1m5XpAhVixaYKHZTSAuwQ6AEIK-TAA#v=onepage&q=chemical%20migration%20fcm&f=false>>.
- 13 European Printing In Associaties (EuPIA). Good Manufacturing Practice (GMP) Printing Inks for Food Contact Materials. 2016. 4. julkaisu. [https://www.eupia.org/leadadmin/FilesAndTradExtx\\_edm/2016-03-31-EuPIA\\_GMP\\_4th\\_version\\_final.pdf](https://www.eupia.org/leadadmin/FilesAndTradExtx_edm/2016-03-31-EuPIA_GMP_4th_version_final.pdf)
- 14 Harris, D. C. 2010. Quantitative Chemical Analysis. 8. painos. New York: W.H. Freeman and Company
- 15 Screening Devices DV. SPE Development Protocols. Verkkoaineisto. <<https://screeningdevices.com/spe-development-protocols/>>. Luettu 27.5.2020
- 16 Guide to Solid Phase Extraction. 1998. Sigma-Aldrich Co. Verkkoaineisto. <<https://www.sigmaaldrich.com/Graphics/Supelco/objects/4600/4538.pdf>>. Luettu 7.6.2020.
- 17 Agilent Technologies Inc. 2009. Agilent Multimode Inlet, Large Volume Injection Tutorial. Verkkoaineisto. <<https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/Public/G3510-90020.pdf>>. Luettu 28.5.2020.
- 18 Agilent Technologies Inc. 4.painos 2009. Agilent 7890A Gas Chromatograph Advanced User Manual. Verkkoaineisto. <<https://www.chem-agilent.com/pdf/G3430-90015.pdf>>. Luettu 28.5.2020.
- 19 SepSolve Analytical. Multi-mode Inlet. Verkkoaineisto. <<http://www.sep-solve.com/multi-mode-inlet/luettu>> Luettu 27.5.2020.
- 20 Agilent Technologies Inc. 2019. Selecting the Right Liner for Efficient Sample Transfer. Verkkoaineisto. <<https://www.agilent.com/cs/library/posters/public/poster-selection-guide-GC-inlet-liner-5994-1222en-agilent.pdf>>. Luettu 28.5.2020
- 21 Bratinova S, Hoekstra E, Jakubowska N etc. 2019. Training manual for EURL-FCM network on the monitoring of mineral oil hydrocarbons in food and food packaking materials. Limited/EU restricted.

- 22 Shimadzu Scientific Instruments. HPLC Fraction Collectors. Verkkoaineisto. <<https://www.ssi.shimadzu.com/products/liquid-chromatography/fraction-collectors.html>>. Luettu 23.5.2020.
- 23 BISCHOFF Chromatography. Super Fraction Collector. Verkkoaineisto. <<https://www.bischoff-chrom.com/fraction-collector.html>>. Luettu 27.5.2020.
- 24 Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart. 2019. Mineraaliöljyanalyysi elintarvikkeissa ja hyödykkeissä - kahden vuoden tutkimusprojekti CVUA Stuttgartissa. Verkkoaineisto. <[https://www.ua-bw.de/pub/beitrag\\_printversion.asp?subid=1&Thema\\_ID=3&ID=3064&Pdf=No&lang=DE](https://www.ua-bw.de/pub/beitrag_printversion.asp?subid=1&Thema_ID=3&ID=3064&Pdf=No&lang=DE)>. Luettu 9.5.2020.
- 25 Huang H, Li B, Liu L, Ouyang J & Wu Y. Offline Solid-phase Extraction Large-volume Injection-Gas chromatography for the Analysis of Mineral Oil-saturated Hydrocarbons in Commercial Vegetable Oils. 2017;66(9):981–990



## Työvaiheet näytteiden esikäsittelyä varten

### PÄIVÄ 1

#### 1. Lasitavaran pesu ja tarvikkeiden keräys

Aloita pesemällä tarvittava lasitavara asetonilla ja heksaanilla:

- koeputkia (näytteiden lkm x 4 → ota huomioon myös nolla- ja kontrollinäytteet)
- koeputkien korkkeja (näytteiden lkm x 4)
- 100 ml:n erlenmeyer (1 kpl)
- 100 ml:n dekantterilasi heksaanille ja etanolille (2 kpl)
- 20 ml:n täyspipetti heksaanille (1 kpl)
- 10 ml:n täyspipetti eluointiliuokselle ja heksaanifaasille (2 kpl)
- 1 ml:n täyspipetti (yhtä monta kpl kuin on näytteitä)
- 5 ml:n täyspipetti etanolille (1 kpl)
- 10 ml:n mittapipetti heksaanille (1 kpl)
- 20 ml:n mittalasi laboratoriovedelle (1 kpl)
- kiinteäfaasiuuttokolonnejä (yhtä monta kpl kuin on näytteitä)

#### Ensimmäisenä päivänä tarvitet lisäksi seuraavat tarvikkeet ja reagenssit:

- kvartsiupokkaita
- dekantterilasi jätteelle
- hansikkaat ja pihdit muhveliuuniin
- lasiruisku
- sakset
  
- heksaania (20 ml per näyte)
- etanolia (5 ml per näyte)
- laboratoriovettä (20 ml per näyte)
- sisäistä standardia (Restek, MOSH/MOAH Standard 150-600µg/ml) (40 µl per näyte)

## 2. Kiinteäfaasiuutossa käytettävän silikageelin aktivointi

- kuumenna kvartsiupokasta muhveliuunissa 550 °C:ssa tunnin ajan ja kaada jäämät pois kvartsiupokkaista
  - punnitse kvartsiupokkaaseen silikageeliä (*Silica Gel 60*) 3 g jokaista näytettä kohden
- HUOM! Punnitse silikageeliä kolonneihin tarvittavan määrän lisäksi myös ylimääräistä (esim. 5 g)

Esimerkki: MOSH ja MOAH mitataan neljästä eri näytteestä ja erotukseen käytetään neljää kiinteäfaasiuuttokolonnia. Silikageeliä punnitaan 4 x 3 g + 5 g = 17 g

- jätä punnittu silikageeli muhveliuuniin 550 °C:seen ( $\pm 10$  °C) yön yli tai vähintään 12 tunnin ajaksi

## 3. Näytteen valmistus vertailupahvista

- leikkaa kontrollipahvi n. 3 mm x 3 mm kokoisiksi palasiksi
- punnitse pilkottua pahvia  $1 \pm 0,01$  g 20 ml:n koeputkeen
- lisää 40  $\mu$ l sisäistä standardia heksaanilla pestyllä lasiruiskulla (*Restek, MOSH/MOAH Standard 150-600 $\mu$ g/ml*)
- lisää 20 ml heksaania täyspipetillä
- lisää 5 ml etanolia täyspipetillä
- vorteksoi/sekoita, kunnes seos on hyvin sekoittunut
- jätä yön yli huoneenlämpöön

## PÄIVÄ 2

### 1. Kerää tarvittavat välineet ja reagenssit

- loput edellisenä päivänä pestyistä lasiastioista
- dekantterilaseja jätteelle
- hansikkaat ja pihdit muhveliuuniin
- eksikaattori ja kärry
- punnitusalususta hopeanitraatille ja aktivoitulle silikalle
- lusikka hopeanitraatille ja aktivoitulle silikageelille
- vorteksi
- koeputkiteline
- pumpetti
  
- heksaania (17 ml per näyte)
- eluointiliuosta (heksaani:diklorometaani:tolueeni 75:20:5) (11 ml per näyte)

### 1. Näytteen esikäsittely jatkoa (kts. PÄIVÄ 1 ja kohta 2)

- lisää näytteisiin 20 ml laboratoriovettä mittalasilalla (älä sekoita ennen veden lisäämistä!)
- veden lisäyksen jälkeen vorteksoi/sekoita, kunnes seos on hyvin sekoittunut
- ota näytteeseen muodostuneesta heksaanifaasista täyspipetillä 10 ml ja siirrä se 10 ml:n koeputkeen ja sulje se lasikorkilla

### 2. Näytteen konsentrointi

- avaa koeputkien korkit ja konsentroi näytteitä niin, että jäljelle jää noin 1 ml ja sulje koeputket korkilla

### 3. Erottamiseen käytettävän 0,3 % hopeanitraatti/silikageelin valmistus

- ota yön yli muhveliuunissa ollut silikageeli suoraan eksikaattoriin

- punnitse lusikalla suoraan foliolla peitettyyn 100 ml:n Erlenmeyeriin uunissa yön yli aktivoitua silikageeliä 2,9 g ( $\pm 0,01$  g) yhtä näytettä kohden. Määrään lisätään varalle yhden ylimääräisen näytteen verran aktivoitua silikageeliä.

Esimerkki: MOSH ja MOAH mitataan neljästä eri näytteestä ja erotukseen käytetään neljää kiinteäfaasiuuttokolonnia. Aktivoitua silikageeliä punnitaan  $(4+1) \times 2,9 \text{ g } (\pm 0,01 \text{ g}) = 14,5 \text{ g } (\pm 0,05 \text{ g})$

- punnitse lusikalla punnitusalueelle 0,1 g ( $\pm 0,01$  g) hopeanitraattia jokaista näytettä kohden. Määrään lisätään varalle yhden ylimääräisen näytteen verran hopeanitraattia.

Esimerkki: MOSH ja MOAH mitataan neljästä eri näytteestä ja erotukseen käytetään neljää kiinteäfaasiuuttokolonnia. Hopeanitraattia punnitaan  $(4+1) \times 0,1 \text{ g } (\pm 0,01 \text{ g}) = 0,5 \text{ g } (\pm 0,05 \text{ g})$

- lisää punnittu hopeanitraatti aktivoituneen silikageelin sekaan
- sekoita seosta huolellisesti ravistelemalla ja kääntämällä pulloa ylösalaisin minuutin ajan

#### 4. Kiinteäfaasiuuttokolonnien valmistelu

- punnitse lusikalla silikageeli/hopeanitraattiseosta 3 g punnitusalueelle
- lisää punnittu seos yhteen kiinteäfaasiuuttokolonniin
- taputtele kiinteäfaasiuuttokolonnia niin, että kaikki silikageeli/hopeanitraattiseoksesta menee kolonnin pohjalle
- taputtele ja heiluta kolonnia varovasti siitä kohtaa missä silikageeli/hopeanitraattiseos on ilman poistamiseksi seoksesta

#### 5. MOSH ja MOAH fraktioiden erotus

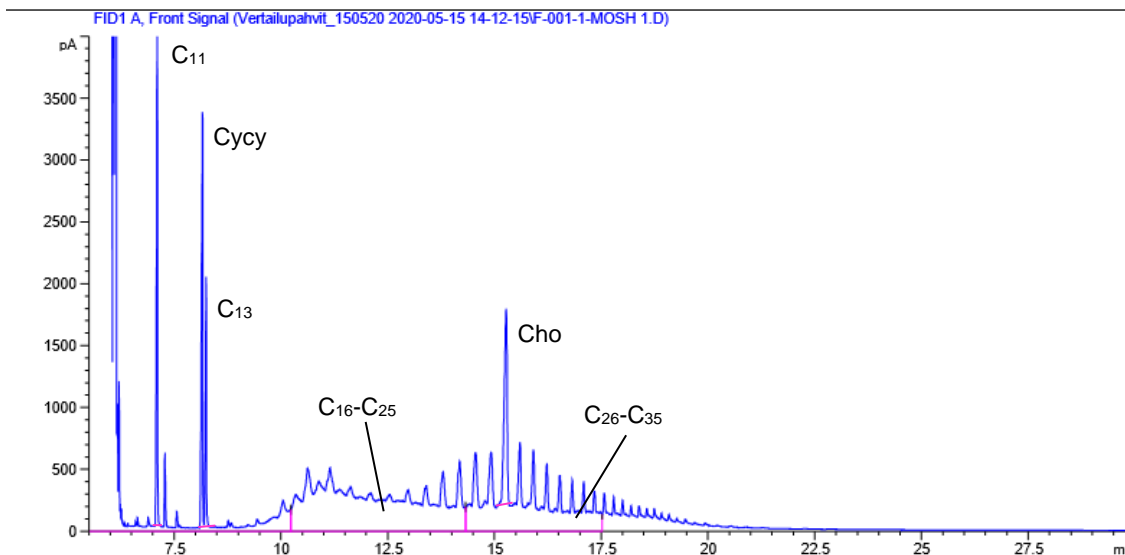
- HUOM! Kun lisää liuotinta, näytettä tai eluointiliuosta pylvääseen, laske se varoen seinämiä pitkin pylvääseen. Älä päästä pylvästä kuivaksi, vaan sulje hana, kun pylvään yläreunan päällä on vielä hieman nestettä.
- huuhtele kolonni 10 ml:lla heksaania → hävitä kolonnin läpi tullut eluentti

- lisää kolonniin 1 ml konsentroitua näytettä → hävitä kolonnin läpi tullut eluentti
- pese kolonni 2 ml:lla heksaania → hävitä kolonnin läpi tullut eluentti
- MOSH fraktion erotus
  - o lisää kolonniin 5 ml heksaania ja kerää eluentti 10 ml:n koeputkeen
  - o lisää kolonniin 1 ml eluointiliuosta ja kerää eluentti samaan koeputkeen kuin edellisessä kohdassa
  - o MOSH-fraktio on erotettu, sulje koeputki lasikorkilla
- MOAH fraktion erotus
  - o vaihda uuteen 10 ml:n koeputkeen
  - o lisää kolonniin 10 ml eluointiliuosta ja anna eluentin valua kolonnin läpi ja kerää eluentti uuteen 10 ml:n koeputkeen
  - o MOAH-fraktio on erotettu, sulje koeputki lasikorkilla
- konsentroi molemmat fraktiot tyypikaasulla niin, että tilavuudeksi jää 1 ml (kts. kohta 3)

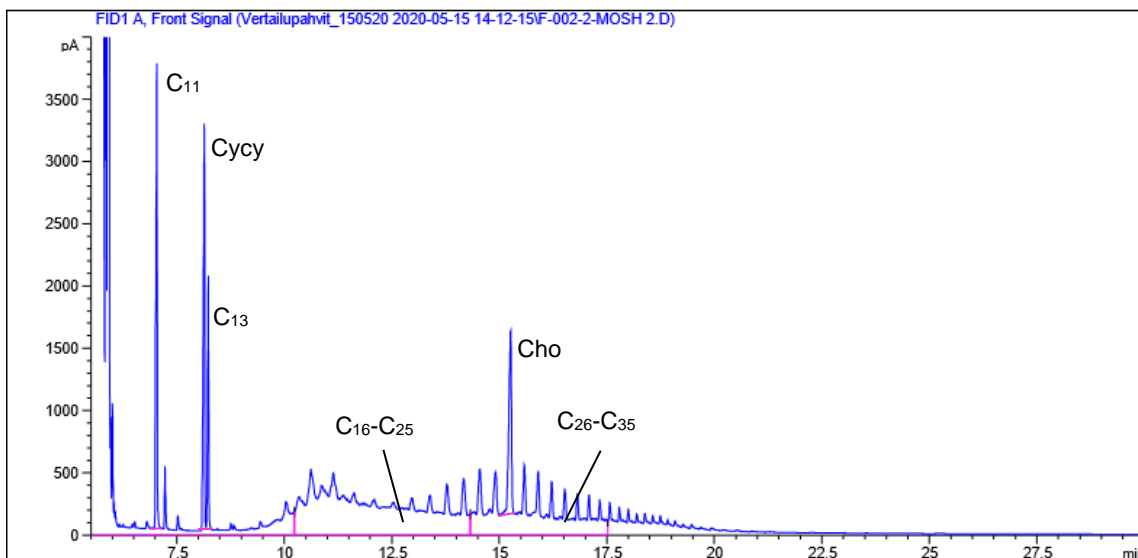
**Siirrä näytteet GC-vialeihin ja aloita mittaaminen.**

## MOSH-näytteiden kromatogrammit

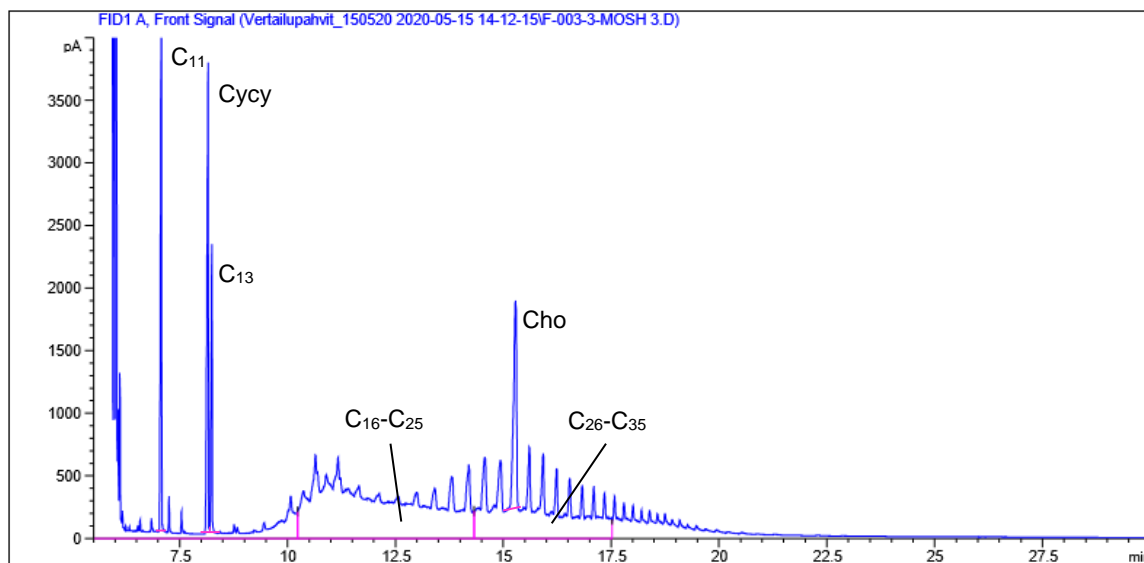
### MOSH 1 -näyte



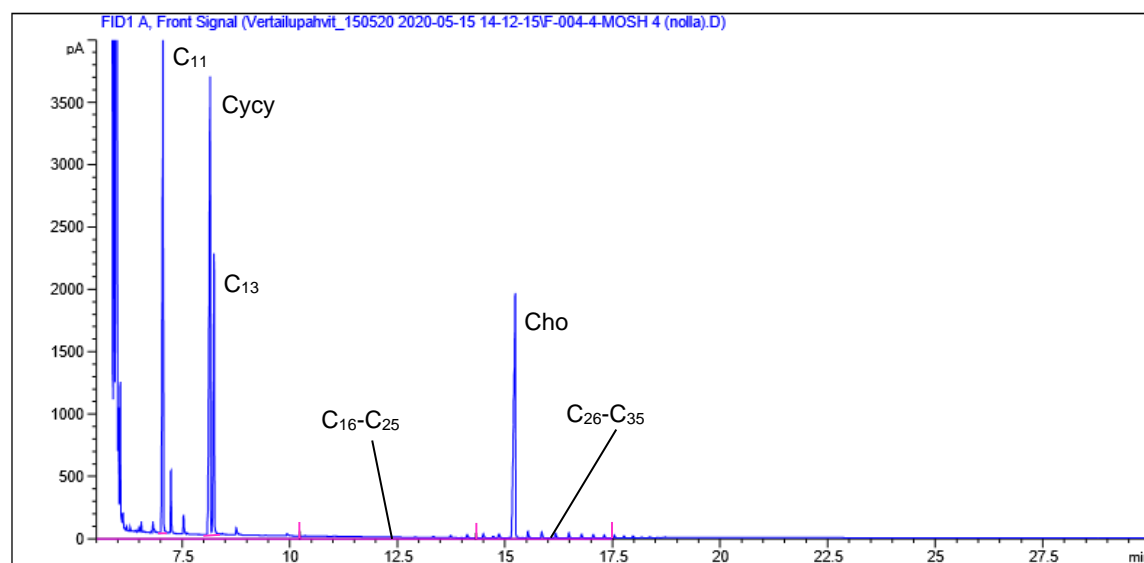
### MOSH 2 -näyte



### MOSH 3 -näyte

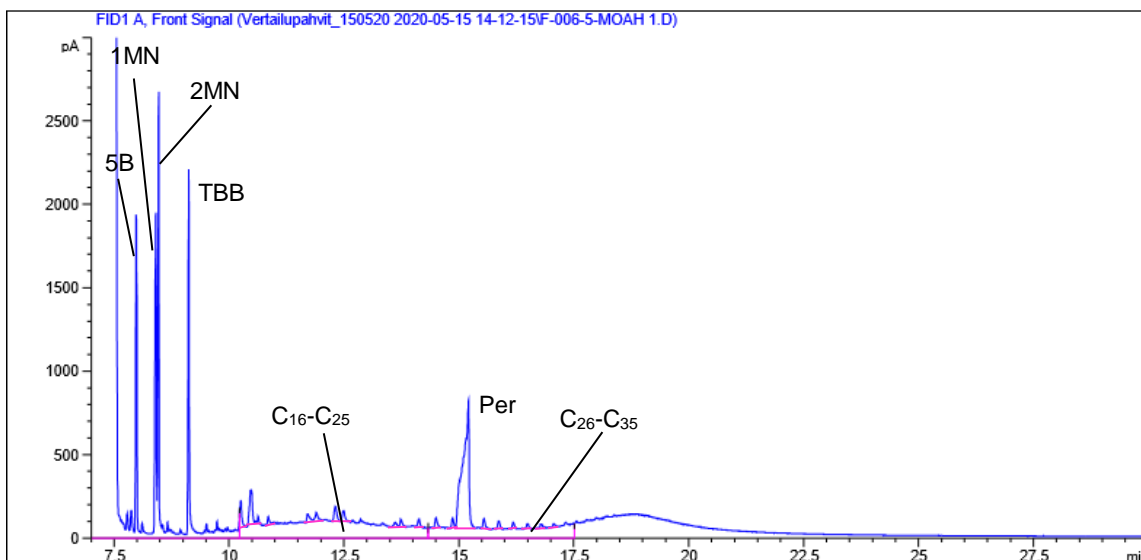


### MOSH nolla -näyte

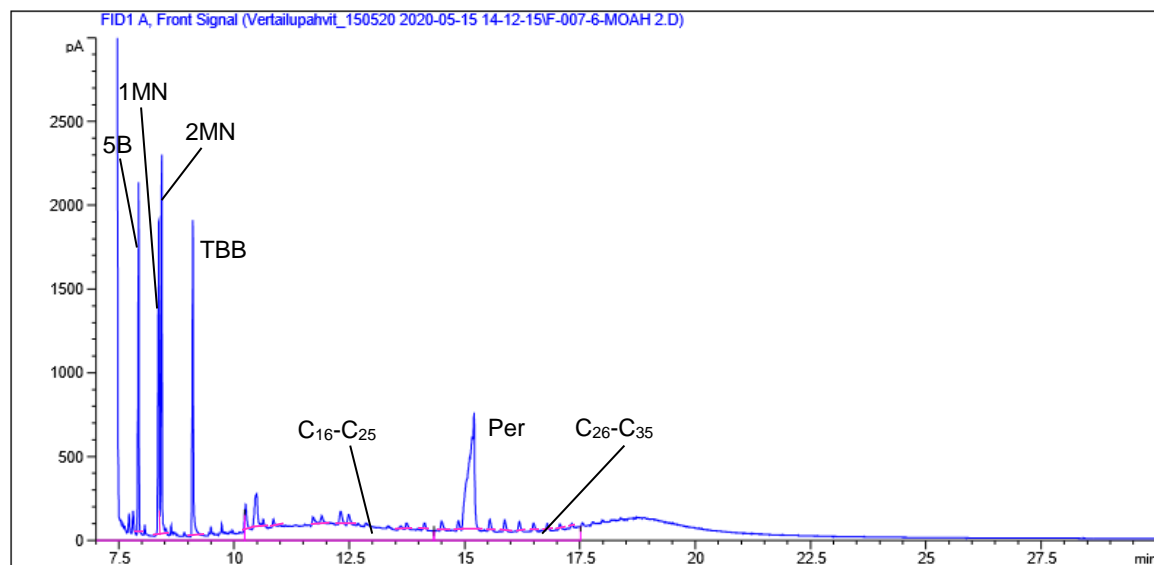


## MOAH-näytteiden kromatogrammit

### MOAH 1 -näyte

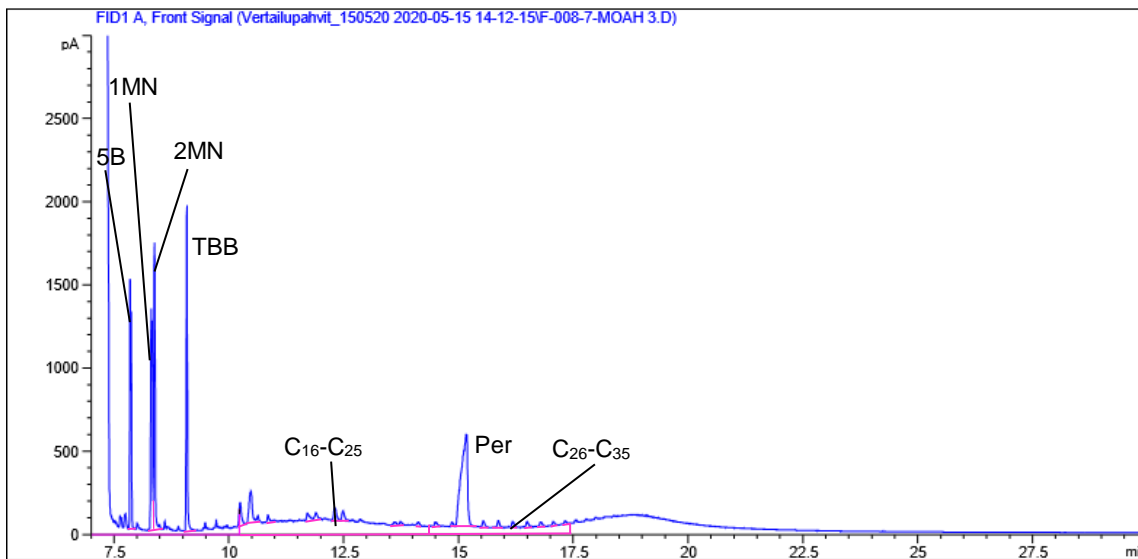


### MOAH 2 -näyte

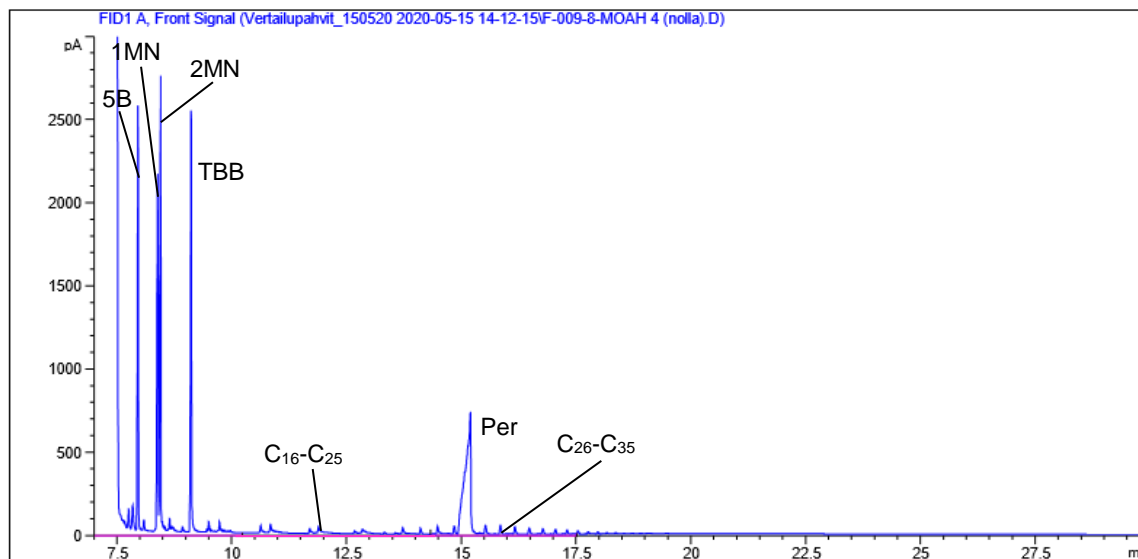




MOAH 3 -näyte



MOAH nolla -näyte



**MOSH- ja MOAH-näytteiden hiilifraktioiden ja sisäisten standardien piikkien pinta-  
alat**

<b>Näytteiden hiilifraktioiden ja sisäisten standardien piikkien pinta-alat pA*s</b>				
<b>Hiilifraktio tai sisäinen standardi</b>	<b>Näyte 1</b>	<b>Näyte 2</b>	<b>Näyte 3</b>	<b>Nollanäyte</b>
MOSH C <sub>16</sub> -C <sub>25</sub>	70981	63994	81593	3340
MOSH C <sub>25</sub> -C <sub>35</sub>	55223	43733	58052	7344
MOAH C <sub>16</sub> -C <sub>25</sub>	24091	22684	20671	3834
MOAH C <sub>25</sub> -C <sub>35</sub>	19800	18994	15516	8615
Bisykloheksyyli (Cycy)	7404	7438	8286	8052
Undekaani (C <sub>11</sub> )	7245	7268	8106	7798
Tridekaani (C <sub>13</sub> )	3654	3714	4159	3967
5α-kolestaani (Cho)	7909	6816	8474	5632
1-metyyliinaftaleeni (1 MN)	3993	3285	3378	3950
2-metyyliinaftaleeni (2 MN)	4143	3445	3481	4034
Pentyylibentseeni (5B)	3530	2885	3238	3613
1,3,5-Tri-tert-butylibentseeni (TBB)	3808	3199	3185	3915
Peryleeni (Per)	6946	6432	5345	6242
Ylimääräiset piikit MOAH C <sub>16</sub> -C <sub>25</sub>	3185	2469	2839	-
Ylimääräiset piikit MOAH C <sub>25</sub> -C <sub>35</sub>	1147	1553	921	-