

KEMIAN LAITOS  
JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO

**Alkyyliketeenidimeerien retentio selluloosakuituun ja  
dialkyyliketonien migraatio simulantteihin**

Pro gradu tutkielma  
1.11.2023  
Tervo Joni



JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO



## Tiivistelmä

Pyrittäessä korvaamaan muovisia pakkausmateriaaleja, nousee kartonki hyväksi vaihtoehdoksi. Tässä tutkielmassa käsitellään elintarvikekontaktiin käytettävien kartonkien valmistusta sekä valmistuksessa käytettävien massaliimojen, erityisesti alkyyliketeneidimeerien (AKD), ominaisuuksia kartongin hydrofobisuuden parantamiseen. Massaliimojen käyttöön sekä niiden pitoisuuksiin elintarvikekontaktimateriaaleissa liittyy runsaasti lakeja sekä säädöksiä, joita käsitellään osana tutkielmaa. Myös eri analyysimenetelmiä sekä menetelmien validointia käsitellään omassa alaluvussaan.

Työssä määritettiin kolmen kartongin valmistuksessa käytettävän AKD-massaliiman eroja niiden retentioissa sekä näiden vaikutusta kartongin hydrofobisuuteen. Kyseiset kolme AKD-laatua olivat polymeeri- ja tärkkistabiloidut kationiset C18 pohjaiset AKD:t (PKC18 ja TKC18) sekä tärkkistabiloitu ja promovoitu kationinen C18 pohjainen AKD (TPKC18). Suurin kokonais-AKD -pitoisuus, 1,22 mg/g kartonkia, analysoitiin tuoreesta PKC18:sta. Pienin kokonais-AKD -pitoisuus, 0,76 mg/g kartonkia, analysoitiin kypsytetystä TKC18:sta. Kypsytyksissä näytteissä retentoituneen AKD:n osuuden kasvu kyettiin havaitsemaan verrattaessa näytteitä tuoreisiin näytteisiin. Sitoutuneen AKD:n osuus kypsytettäessä kasvoi eniten, 8,8 → 21,1 %, TKC18:ssa. Pienin sitoutuneen AKD:n osuuden kasvu, 15,9 → 20,8 %, määritettiin TPKC18:sta. Näytteiden hydrofobisuutta arvioitiin myös mittaamalla Cobb<sub>180</sub>-arvot. Pienin Cobb<sub>180</sub>-arvo, 46 g/m<sup>2</sup>, mitattiin kypsytetystä PKC18:sta ja suurin, 73 g/m<sup>2</sup>, kypsytetystä TPKC18:sta.

Retention lisäksi elintarvikekontaktia ja siinä tapahtuvaa dialkyyliketoneiden (DAK) migraatiota elintarvikkeisiin simuloitiin iso-oktaanilla, oliiviöljyllä ja modifioidulla polyfenyleenioksidilla, eli Tenax®:lla. Raja-arvona migraoituvan DAK:n määrälle pidetään BfR:n määrittämää 5 mg/kg elintarviketta. Pienimmät DAK:n Tenax®- ja oliiviöljymigraation tulokset määritettiin TKPC18:sta, Tenax®-migraation tulos oli 0,03 mg/kg elintarviketta ja oliiviöljymigraation 1,00 mg/kg elintarviketta. Lähimpänä BfR:n raja-arvon rikkoutumista oli TKPC18:n iso-oktaanimigraatio, joka saavutti arvon 4,50 mg/kg elintarviketta.

## Esipuhe

Tämä tutkielma tehtiin yhteistyössä Metsä Groupin, Kemiran sekä Jyväskylän yliopiston kanssa kesällä 2024. Työn kokeellinen osuus suoritettiin Metsä Groupin osaamiskeskuksessa Äänekoskella maaliskuun ja lokakuun välisenä aikana. Tutkielman viimeistelyä jatkettiin marraskuuhun asti. Työn ohjaajina toimivat Katri Seuntiens ja Jarmo Louhelainen. Työn tarkastivat Jarmo Louhelainen sekä Nina Sneitz.

Tutkielma rajattiin elintarvikekontaktimateriaaleina käytettävän AKD-massaliimauksen analysointiin ja analyysimenetelmien kehittämiseen. Massaliimojen kemikaalitoimittajana toimi Kemira ja kartonkinäytteet valmistettiin Metsä Groupin kartonkitehtaalla. Tutkielman kirjallisuus ja muu lähdeaineisto on hankittu Jyväskylän yliopiston kirjaston tietokantalisensseillä sekä eri organisaatioiden vapaasti saatavilla olevasta tiedosta.

Kiitän ohjaajiani kyvystä kannustaa minua koko tutkielman ajan, erityisesti siihen kuuluvissa haasteellisissa vaiheissa. Ohjaajinani toimi todella osaavia henkilöitä, joilta löytyy myös kykyä ohjata opettavaisesti ja kärsivällisesti niin kokeellisen, kuin teoreettisen ja kirjallisen osan työstämisessä.

29.10.2023

Joni Tervo

## Käytetyt lyhenteet

AKD = Alkyyliketeenidimeeri

ASA = Alkenyyliimeripihkahappoanhydridi

BAT = Parhaita käytettävissä olevia tekniikoita

BfR = Saksan liittovaltion riskien arvioinnin instituutti

Cepi = Euroopan paperiteollisuuden keskusliitto

CX = Merkintätapa, millä kuvataan karboksyylihapon hiiliketjun pituutta

DAK = Dialkyyliketoni, AKD:n ketonimuoto

ELSD = Haihtuvien näytteiden valonsirontadetektor

FBB = Taivekartonki

FDA = Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkevirasto

GC-FID = Kaasukromatografi, johon on yhdistetty liekki-ionisaatiodetektor

GC-MS = Kaasukromatografi, johon on lisätty massadetektor

HPLC = Korkean suorituskyvyn nestekromatografia

HPLC-UV= Korkean suorituskyvyn nestekromatografia, mihin on yhdistetty ultraviolettidetektor

LDH = Kerrostettu kaksoishydroksidi

LOD = Havainnointiraja

LOQ = Määrittämiss raja

NIAS = Tahattomasti lisätyt yhdisteet

NIRS = Lähi-infrapunaspektroskopia

NMR = Ydinmagneettinen resonanssi

SBB = Valkaistu kartonki

SUB = Valkaisematon kartonki

WLC = Valkopintainen kierrätyspaperi

## Sisällysluettelo

Tiivistelmä	iii
Esipuhe	iv
Käytetyt lyhenteet	v
Sisällysluettelo	vi
1 Johdanto	1
2 Kartongin valmistus	3
2.1 Massaliimauksen tavoitteet	7
2.2 Eri massaliimatyytit	11
2.2.1 Hartsit massaliimana	12
2.2.2 Alkenyyliimeripihkahappoanhydridi (ASA) massaliimana	14
2.2.3 AKD massaliimana	15
2.2.4 Yhteenveto massaliimoista	20
3 Kartonki elintarvikekontaktimateriaalina	22
4 AKD-pitoisuuden määrittäminen sekä elintarvikekontaktin simuloiminen	24
4.1 Kokonais-AKD:n määrittäminen kartongista	24
4.1.1 Kromatografiset menetelmät	25
4.1.2 Muut menetelmät	27
4.2 Kokonais-AKD:n tulosten laskeminen	28
4.3 AKD-migraation analysointimenetelmät	30
4.4 Mittausmenetelmien validointi	32
Kokeellinen osuus	38
5 Eri AKD-laatuojen koeajot kartonkitekhtaalla	38
6 AKD pitoisuuden määrittäminen	38
7 Migraatioanalyysit	49
8 Tulosten validointi	54
9 Tulosten arviointi	56
10 Yhteenveto	60
Kirjallisuusluettelo	62
Liitteet	65

## 1 Johdanto

Eri teollisuuden alojen pyrkiessä eroon petrolipohjaisista materiaaleista ja tuotteista, on kiinnostus uusiutuviin raaka-aineisiin kasvanut maailmanlaajuisesti. Selluloosamassaa kyetään käyttämään monien tuotteiden raaka-aineena, kuten tekstiiliteollisuudessa, rakennusmateriaalina tai pakkausmateriaalien valmistamisessa.<sup>1</sup> Kartonkia ja paperia on hyödynnetty pakkausmateriaaleina jo pitkän aikaa, ja kysyntä on kasvanut pyrittäessä eroon kertakäyttöisistä muovipakkauksista. Selluloosan uusiutuvuus, kierrätettävyys sekä biohajoavuus tekee selluloosasta valmistetuista tuotteista oivallisen vaihtoehdon kertakäyttöisten muovipakkausten korvaajiksi.

Kartonkia on valmistettu teollisessa mittakaavassa jo 1600-luvun lopulta ja nykyisin sitä voidaan käyttää moniin eri käyttötarkoituksiin. Kartongin kysyntä on kasvanut aina 2020-luvulle saakka ja kysynnän voidaan olettaa jatkavan kasvuaan verkkokaupan kasvamisen ja tästä seuraavan pakkausmateriaalien käytön lisääntymisen vuoksi.<sup>2,3</sup> Elintarvikekontaktimateriaalina kartongin käytössä haasteena on selluloosan hydrofiilisyys. Kartongin valmistuksessa käytettävä kuitumassa itsessään on hydrofiilistä, jolloin sitä ei kyetä käyttämään nestemäisten tai rasvaisten elintarvikkeiden pakkauksessa ilman ruoan lisäsuojausta esimerkiksi muovilla. Kartonkia pystytään kuitenkin muokkaamaan hydrofobisemmaksi kartongin päällystyksellä tai massaliimauksella, jolloin muovia ei ole pakollista käyttää lisäsuojana.

Alkyyliketeenidimeeri, myöhemmin AKD, on teollisesti yksi eniten hyödynnetyistä kartongin hydrofobisuutta lisäävistä massaliimoista.<sup>4</sup> AKD:llä on kemiallisia ominaisuuksia, jotka tekevät siitä käytännöllisemmän vaihtoehdon massaliimaukseen, verrattuna muihin käytettyihin massaliimoihin. Muita käytettyjä massaliimoja ovat hartsit ja alkenyyliimeripihkahappoanhydridi, josta käytetään myöhemmin lyhennettä ASA (alkenyl succinic anhydride). Tutkielman kannalta massaliimauksen pääpaino on AKD:ssa ja sitä käsitellään laajemmin esimerkiksi siihen liittyvän teorian osalta.

Lainsäädännön osalta tärkeimpinä kohteina AKD:n käytön kannalta ovat hydrolysoituneen AKD:n, eli dialkyyliketonien (DAK), migraatoraja elintarvikepakkauksesta elintarvikkeisiin

sekä kartongin kokonais-AKD -pitoisuus. Lisäksi kartonginvalmistuksessa käytetyn AKD-vahan määrä on oltava riittävän matala. Elintarvikekontaktimateriaaleihin ja niistä migratoituviin yhdisteisiin liittyy useita säädöksiä, jotka takaavat materiaalien turvallisuuden kuluttajille. Näistä ohjeistuksista ja säädöksistä oleellimmat AKD:n käytön kannalta ovat saksalaisen BfR:n suositus<sup>5</sup>, Yhdysvaltojen FDA:n säädös<sup>6</sup> sekä Kiinan standardi<sup>7</sup>.

Tässä tutkielmassa pyritään vastaamaan seuraaviin kysymyksiin: Onko eri AKD-laaduilla vaikutusta kartongin hydrofobisuuteen, onko laaduilla eroa ketonien migraatiossa elintarvikekontaktisimulantteihin, sekä ovatko työssä käytetyt elintarvikekontaktisimulantit vertailukelpoisia keskenään. Näihin kysymyksiin liittyvää teoriaa käsitellään tutkielman kirjallisessa osuudessa ja tutkielman kokeellisessa osuudessa pyritään teorian pohjalta tuottamaan vastauksia näihin kysymyksiin. Tämän lisäksi tutkielmassa tehdään menetelmän kehitystä Metsä Boardille kokonais-AKD -pitoisuuden määrittämiseen sekä migraatioanalyysiin.

Tutkielman kirjallinen osuus keskittyy kartongin valmistuksen teoriaan ja erityisesti siihen liittyvään massaliimaukseen sekä eri massaliimatyyppihin. Lisäksi tutkielmassa käsitellään elintarvikekontaktimateriaalien lainsäädäntöä kartongin sekä massaliimojen osalta. Luvussa 3 käsiteltävä lainsäädäntö antoi kokeellista osuutta varten raja-arvot kokonais-AKD -pitoisuudelle sekä elintarvikesimulantteihin migratoituvalle DAK:lle. Teoriaosuudessa käsitellään myös tärkeimmät AKD:n analyysimenetelmät selluloosaan sitoutumattoman ja sitoutuneen AKD:n määrittämiseksi sekä migraatioihin liittyvät analyysimenetelmät ja standardit. Näistä analyysimenetelmistä ja standardeista hyödynnettiin osaa tutkielman kokeellisessa osuudessa. Myös menetelmien ja tulosten validointia ja analysointia käydään läpi luvussa 4.

Tutkielman kokeellisessa osiossa määritettiin AKD:n kokonaispitoisuuksia eri AKD-laaduilla, vertailtiin massaliimattujen kartonkien hydrofobisuutta sekä kypsyttämisen vaikutusta AKD:n eri fraktioihin ja simuloitiin elintarvikekontaktia eri simulantteilla. Simuloinnit sekä analyysit toteutettiin niihin liittyvien standardien mukaisesti niissä tapauksissa, kun standardit ovat käytössä. Simulanttien ja mittausolosuhteiden vaikutusta saatuihin tuloksiin arvioitiin ja analyysimenetelmät validoitiin. Kokeellinen osuus toteutettiin yhteistyössä Metsä Board R&D Laboratorion, Metsä Boardin kartonkitehtaan sekä Kemiran kanssa, joka toimitti analysoitavat



AKD-laadut. Kokeellisessa osassa kokonais-AKD -pitoisuudet ja dialkylyketonien migraatiot elintarvikesimulantteihin määritettiin kaasukromatografialla. Elintarvikkeita simuloitiin iso-oktaanilla, Tenax®:lla ja oliiviöljyllä.

## 2 Kartongin valmistus

Kartongin määritelmä on varsin laaja ja erottelu paperin ja kartongin välillä ei ole aina yksinkertaista. Yleensä paperi ja kartonki erotellaan neliöpainon tai käyttökohteen mukaisesti, mutta tähänkin löytyy poikkeuksia ja eroja eri määritelmien välillä. Euroopan paperiteollisuuden keskusliitto, Cepi, määrittelee yleisesti kartongin paperiksi, jolla on korkea jäykkyys.<sup>8</sup> Kansainvälinen standardisointijärjestö, ISO, taas määrittelee kartongin sen tarkoitettun käyttökohteen mukaisesti standardissaan ISO 4046-4:2016. Kartongin jäykkyyteen sekä neliöpainoon vaikuttaa suuresti kartongin valmistusprosessi.

Kartongit jaotellaan tyypillisesti neljään eri kategoriaan riippuen niiden ominaisuuksista sekä käytetystä materiaalista. Nämä kategoriat ovat valkaistu kartonki (SBB), valkaisematon kartonki (SUB), taivekartonki (FBB) ja valkopintainen uusiokuitukartonki (WLC). Näitä kaikkia voidaan käyttää elintarvikekontaktimateriaaleina, mutta nestemäisiä elintarvikkeita pakataan yleensä vain valkaistuun kartonkiin tai valkaisemattomaan kartonkiin, joissa kosteudensieto on suurempi ja joihin lisätään kartongin päälle myös estokerros.<sup>9</sup> Kartonkia voidaan käyttää kosteiden sekä kuivien elintarvikkeiden lisäksi myös rasvaisten ruokien pakkausmateriaalina olettaen, että ne täyttävät tällaisille materiaaleille asetetut säädökset ja ohjeistukset.

Kartonkilaadusta riippuen myös sen valmistusmenetelmät vaihtelevat. Euroopan unioni on julkaissut vuonna 2015 laajan selvityksen parhaista käytettävistä tekniikoista kartongin valmistukseen.<sup>10</sup> Tässä selvityksessä käydään yksityiskohtaisesti läpi muun muassa tehokkaimmat prosessitekniikat eri raaka-ainemateriaalin mukaan, siihen liittyvien prosessien viilennystekniikat ja vedenkäytön sekä jätteiden käsittelyn suunnittelu. Tässä tutkielmassa käydään läpi kartongin valmistuksen päävaiheet läpi sillä tarkkuudella, kuin se on kartonginvalmistuksen prosessin ja siihen liittyvän massaliimauksen kannalta oleellista.

Kartonginvalmistukseen on tarjolla erilaisia prosesseja riippuen saatavilla olevasta lähtömateriaalista. Kartonginvalmistuksessa käytettävän massan valmistamiseen käytetään yleisimmin puupohjaisia materiaaleja kuten havu- tai lehtipuita, puulastuja tai sahanpurua. Puuaineksen lisäksi myös muita selluloosan lähteitä, kuten heinä- ja ruokomateriaaleja, voidaan hyödyntää kartonginvalmistuksessa. Puusta saatava selluloosamassa on yleisimmin käytetty raaka-aine pohjoismaissa, mistä johtuen tässä tutkielmassa keskitytään kartonginvalmistuksessa käytettävän massan näkökulmasta vain tähän raaka-ainelähteeseen. Useimmiten kartonginvalmistuksessa hyödynnetään myös muualla kuin paikan päällä tuotettua sellua, eli valmissellua. Myös kierrätettyä materiaalia voidaan hyödyntää neitseellisen raaka-aineen ohella, mutta tällöin on otettava huomioon mahdollisen mekaanisen puhdistamisen sekä siistaamisen, eli painomusteiden poiston, tarve ennen raaka-aineen hyödyntämistä.

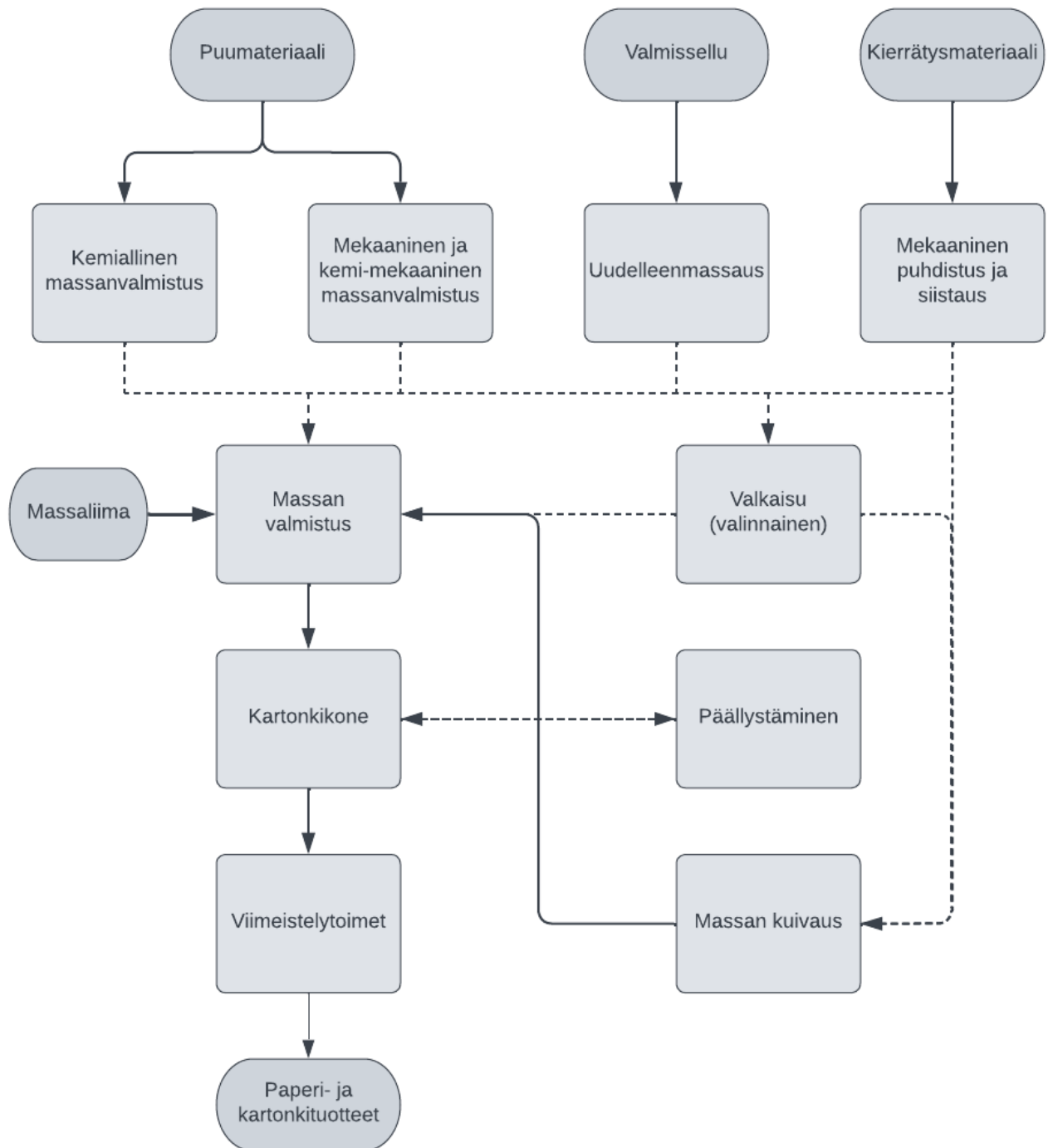
Kartonkikoneella ajoa varten puuaineksesta mekaanisesti eroteltu selluloosapitoinen hierre tai kemiallisesti eroteltu kemihierre, CTMP, täytyy ensin kuiduttaa. Kuidutettu puuaines sekä vesi sekoitetaan pulpperissa, eli pulpperoidaan, massaksi ennen sen ajoa koneella. Tämä vaihe prosessissa varmistaa tuotteen vahvuuden, sillä jauhetut kuidut sitoutuvat paremmin toisiinsa. Puupohjaiset materiaalit kuidutetaan massaksi lähinnä kemiallisella, semi-kemiallisella tai mekaanisella prosessilla, mutta myös muilla menetelmillä.<sup>11</sup> Kemiallisessa kuidutuksessa selluloosa valmistetaan hajottamalla ja liuottamalla puun kuituja sitova ligniini niin sanotulla valkolipeällä, joka koostuu vedestä, natriumhydroksidista sekä natriumsulfidista.<sup>12</sup> Kemiallisessa ligniinin erotuksessa puuaineksesta erottuu myös puussa olevia hiilihydraatteja, jolloin lopullisen kartonginvalmistukseen käytettävän massan saantoprosentti on huomattavasti matalampi kuin mekaanisessa kuidutuksessa.

Mekaanisessa kuidutuksessa ligniini pehmenetään mekaanisen rasituksen aiheuttamalla energialla, joka muuntuu kuidussa lämpöenergiaksi. Riittävän mekaanisen rasituksen jälkeen kuitukimput avautuvat vapauttaen yksittäiset kuitufragmentit massaan. Kemi-mekaaninen prosessi yhdistää edellä mainitut prosessit, jolloin kummankin prosessin vahvuudet kompensoivat toisen prosessin heikkouksia. Mekaanisessa ja kemi-mekaanisessa kuidutuksessa muodostunut selluloosa sisältää lähes koko puuaineksen, mikä ilmenee korkeissa massan saantoprosenteissa. Mekaanisessa kuidutuksessa saantoprosentit ovat yleisesti yli 90 %, kun kemiallisessa kuidutuksessa saantoprosentti on 40-55 %.<sup>13</sup> Ero saantoprosenteissa selittyy

aiemmin mainitussa liuenneen ligniinin ja hiilihydraattien määrässä. Integroidussa tehtaassa selluloosan valmistus tapahtuu paikan päällä ja kuidutettu selluloosa pulpperoidaan liettämällä se veteen ja muodostettu massa ohjataan massankäsittelyyn. Myös integroimattomalla tehtaalla sinne tuotu selluloosa täytyy pulpperoida liettämällä selluloosa veteen ennen massankäsittelyä.

Massankäsittely toteutetaan ennen kartonkikoneella ajoa. Massankäsittelyssä massa muunnetaan rainaksi sekoittamalla eri massalaatuja sekä jauhattamalla ja laimennetaan vedellä sopivan juoksevaksi. Jauhatuksella pyritään kasvattamaan kuitujen sitoutumispinta-alaa ja täten parantamaan kuitujen sitoutuvuutta toisiinsa. Jauhatusta vahvistaa verkkomatriisin rakennetta kartonkikoneella ja parantaa kartongin lujuutta. Mekaanisessa kuidutuksessa kuitujen pinnalle jäänyt ligniini lisää niiden jäykkyyttä, joka aiheuttaa jauhatuksessa enemmän kuitujen katkeilua verrattaessa kemiallisesti kuidutettuihin selluloosakuituihin. Kemiallisesti eroteltujen kuitujen jauhatusta on tehokkaampaa, sillä kemiallisesti erotettu selluloosa sisältää vähemmän ligniiniä. Rainaan lisätään myös prosessikemikaaleja kuten massaliimoja, täyteaineita sekä mahdollisia väriaineita. Massaliima lisätään massaan juuri ennen viiralle ajoa, jolloin massaliima jakautuu tasaisesti massaan ja reaktioaika massaliiman sekä rainassa olevan veden kanssa pysyy mahdollisimman lyhyenä. Valmis raina siirretään kartonkikoneen perälaatikkoon, mistä se annostellaan kartonkikoneen viiralle.

Toimintaperiaatteeltaan kartonkikone on käytännössä suuri kuivauskone, jossa veden haihtuessa rainasta siinä olevat selluloosakuidut sitoutuvat toisiinsa vetysidoksin muodostaen kartonkia. Kartongin tai paperin laadusta riippumatta koneet koostuvat hyvin pitkälti samoista pääkomponenteista: perälaatikosta, joka säätelee kuitujen syöttöä nopeasti liikkuvalla viiralla (nopeus voi olla jopa 25 m/s); viiraosasta, joka kuivattaa massan noin 12-20 % kiintoainepitoisuuteen; puristinosasta, joka nostaa kiintoainepitoisuuden noin 50 %:iin kuivattamalla kartonkia; kuivausosasta, joka kuivattaa massaa lämpöenergialla yli 90 % kiintoainepitoisuuteen. Yli 90 % kiintoainepitoisuus on tärkeä, sillä sillä kuivaainepitoisuudella on suuri merkitys massaliimauksen retentiossa käytettäessä kationisia massaliimoja. Kartonkikoneeseen kuuluu myös rullaosa, joka rullaa muodostuneen kartongin valmiiksi tuotteeksi. Kartonginvalmistuksen prosessikaavio on esitetty kuvassa 1, joka on mukaelma parhaita käytettävissä olevia kartonginvalmistustekniikoita käsittelevän selvityksen<sup>10</sup> prosessikaaviosta.

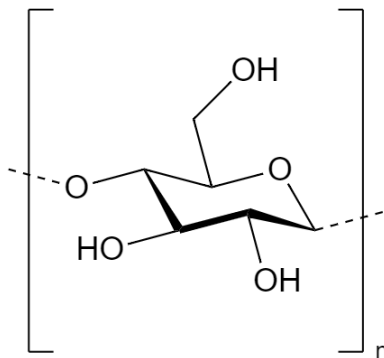


Kuva 1. Kartongin valmistuksen prosessikaavio.<sup>10</sup>

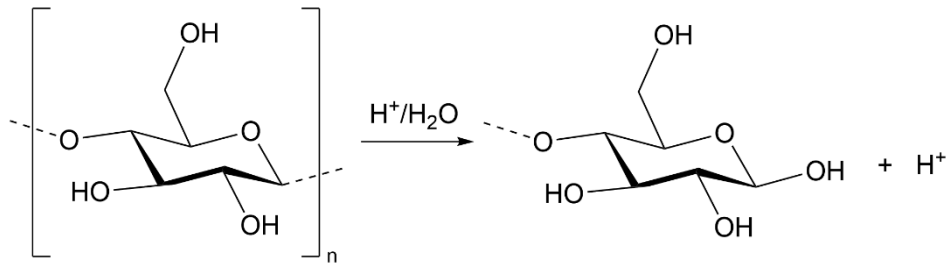
## 2.1 Massaliimauksen tavoitteet

Selluloosa sisältää runsaasti hydroksyyliiryhmiä, kuten kuvassa 2 on esitetty. Hydroksyyliiryhmien kyky muodostaa vetysidoksia mahdollistaa kartongin valmistuksen, sillä pulperoidut selluloosakuidut sitoutuvat toisiinsa hydroksyyliiryhmien välisten vetysidosten avulla. Hydroksyyliiryhmät mahdollistavat vetysidosten ja kovalenttisten sidosten muodostumisen myös muihin yhdisteisiin kartonginvalmistuksessa. Selluloosa on hydroksyyliiryhmiensä takia hydrofiilinen, jolloin se kykenee sitomaan vettä verkkorakenteeseen.<sup>14</sup> Vesi kykenee kartongin muodostavaan selluloosamatriisiin päästessään liuottamaan kartongin sidosaineita sekä mahdollistaa kartongissa tapahtuvan happohydrolyysin, joka haurastuttaa kartonkia ja nopeuttaa täten sen vanhenemista yhdessä hapettumisen kanssa.<sup>15,16</sup> Veden aiheuttama happohydrolyysi on esitetty kuvassa 3.

Veden vaikutusta pyritään estämään muokkaamalla selluloosakuitujen kemialla hydrofobisemmiksi, jolloin kartongista valmistettuja pakkauksia voidaan hyödyntää pakkausmateriaalina myös kosteutta sisältäville tuotteille. Tällaisia tuotteita ovat esimerkiksi elintarvikkeet, jotka sisältävät kosteutta eriävissä määrin. Veden aiheuttamaa haurastumista tai happohydrolyysiä pyritään estämään päällystämällä ja/tai massaliimaamalla kartonki. Päällystettäessä kartonkia, sen pinnalle levitetään hydrofobinen kerros, joka estää veden penetraation selluloosamatriisiin. Massaliimauksella kartongin keskikerroksen selluloosakuidut päällystetään yhdisteellä, joka tekee yksittäisistä kuiduista hydrofobisia ja estää näin veden imeytymisen selluloosaan.<sup>17</sup> Tällaisia yhdisteitä kutsutaan massaliimoiksi.



Kuva 2. Selluloosan rakenne

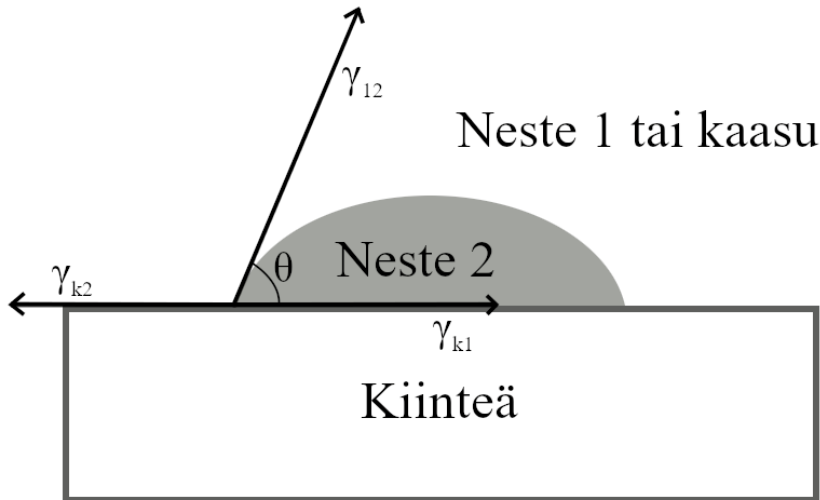


Kuva 3. Veden aiheuttama selluloosan happohydrolyysi

Massaliimauksen toimivuutta voidaan arvioida määrittämällä nestepisaran sekä kartongin välistä kulmaa, joka havainnollistaa kartongin kykyä hylkiä vettä. Tämä kontaktikulma voidaan laskea Young-Duprén yhtälöllä. Yhtälö perustuu Youngin vuonna 1805 julkaisemaan esseeseen, jossa hän esitti sanallisesti kontaktikulman yhtälön sekä Duprén vuonna 1869 tekemiin kontaktikulman yhtälön korjauksiin. Kontaktikulma määritetään nestepisaran ja kuidun välisestä kulmasta systeemiin vaikuttavien mekaanisten voimien ollessa tasapainossa.<sup>18</sup> Tasapainotilassa nestepisaraan kohdistuvat kolmen faasin rajapinnan pintajännitteet ovat tasapainossa. Nämä kolme faasin rajapintaa ovat kiinteä-neste1, kiinteä-neste2 ja neste1-neste2 ja näiden rajapintojen pintajännitteitä kuvataan merkinnöillä  $\gamma_{k1}$ ,  $\gamma_{k2}$  ja  $\gamma_{12}$ . Kontaktikulma ja faasien rajapintojen pintajännitteet on havainnollistettu kuvassa 4. Kontaktikulman ollessa matala, alle  $90^\circ$ , on kiinteä faasi hydrofiilinen. Tämä tarkoittaa, että neste kykenee sitoutumaan kiinteään faasiin, eli tässä tapauksessa kartonkiin. Korkea kontaktikulma, yli  $90^\circ$ , tarkoittaa sitä, että kiinteä faasi on hydrofobinen, jolloin neste ei kykene sitoutumaan siihen yhtä tehokkaasti. Kontaktikulma kyetään määrittämään alla esitetystä Young-Duprén kaavasta

$$W_{k1} = \gamma_{12}(1 + \cos\theta), \quad (1)$$

missä  $W_{k1}$  on kiinnitystyö kiinteän aineen ja nesteen 1 välillä,  $\gamma_{12}$  on nesteiden välinen pintajännitys ja  $\theta$  on kontaktikulma kiinteän aineen ja nesteen 2 välillä.



Kuva 4. Kontaktikulma sekä kolmen faasin rajapinnat.

Kokeellisesti massaliimauksen toimivuutta voidaan testata eri menetelmillä, joilla testataan kartongin kykyä sietää vettä. Näistä menetelmistä käytetyin on Cobb-testi, jossa punnitun kartonkinäytteen pinnalle asetetaan nestettä ja tietyn ajan kuluttua imeytyneen veden määrä mitataan punnitsemalla kartonki. Cobb-arvo määritetään kaavalla

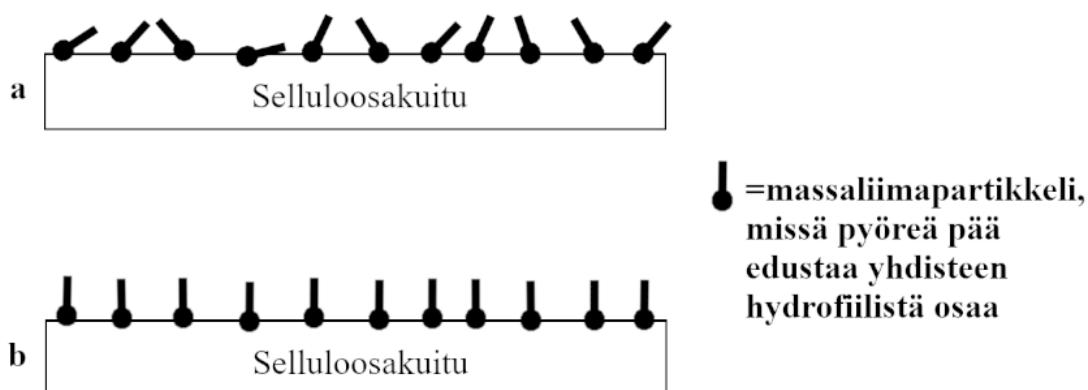
$$X = 100 \frac{1}{\text{m}^2} \cdot (b - c), \quad (2)$$

jossa  $b$  on koepalan paino kokeen jälkeen grammoina ja  $c$  on koepalan paino ennen koetta grammoina.

Yhdisteen täytyy toteuttaa tiettyjä ehtoja, jotta sitä on kannattavaa käyttää massaliimana. Ensimmäisenä ja tärkeimpänä ehtona massaliimalle on, että se kykenee sitoutumaan kartongissa olevaan selluloosakuituun joko itsestään, tai välillisesti. Välillisesti sitoutuva massaliima tarvitsee jonkin lisäaineen, joka kykenee sitoutumaan sekä massaliimaan, että selluloosaan. Massaliiman täytyy olla myös amfipaattinen, eli sen rakenteessa täytyy olla sekä hydrofobinen, että hydrofiilinen osa. Yhdisteen hydrofiilinen osa kykenee reagoimaan selluloosan hydroksyyliyhdyntien kanssa ankkuroiden massaliiman selluloosakuituun. Ankkuroitumisen lisäksi massaliiman on kyettävä orientoitumaan siten, että sen hydrofobinen osa osoittaa selluloosakuidusta ulospäin, muodostaen hydrofobisen pinnan kuidun pinnalle.

Tyypillisesti reaktion ohjautuessa matalan pintaenergian tilaan, orientoituu yhdisteen hydrofobinen osa, usein pitkä hiilivetyketju, osoittamaan kuidusta ulospäin. Massaliiman retentoituminen ja orientoituminen on esitetty kuvassa 5. Massaliiman luoma hydrofobinen kerros kuitujen pinnoilla estää kartongin vettymistä veden vaikutuksesta. Lisättäessä nestettä massaliimattuun kartonkiin, joutuu neste kontaktiin massaliiman hydrofobisen osan kanssa, eikä neste tällöin kykene sitoutumaan selluloosakuituihin vetysidoksilla. Lopuksi yhdisteen tulisi olla kemiallisesti stabiili, eli sen tulisi säilyä pidempiä aikoja dispersiossa, jotta sen käsittely, kuljetus ja prosessointi olisi helppoa ja taloudellisesti kannattavaa. Yleensä kartonginvalmistajat eivät tuota itse käyttämäänsä massaliimaa, vaan ne tilataan erikseen toimittajilta, jolloin massaliiman kemiallinen stabiilisuus on kriittinen tekijä massaliiman käytössä. Riittämätön kemiallinen stabiilisuus voi muuttaa massaliiman käyttökelvottomaksi pitkien kuljetuksien tai säilytyksen aikana.

Massaliimattua kartonkia kyetään paremman hydrofobisuutensa vuoksi käyttämään useissa käyttökohteissa, kuten elintarvikekontaktimateriaalina. Elintarvikekontaktimateriaalina käytettävän kartongin massaliimaukseen on olemassa erilaisia kaupallisia tuotteita, joiden käyttö määräytyy pitkälti tuotteen myyntikohdemaan lainsäädännön mukaan. Tämän lisäksi liimauksen valintaan vaikuttava suurin tekijä on kartonkikoneella käsiteltävän massan pH. Kartonkikoneen olosuhteilla on suora vaikutus massaliimojen retentioon ja täten myös niiden toimivuuteen.



Kuva 5. Massaliiman retentoituminen selluloosaan (a) ja massaliiman orientoituminen retentoitumisen jälkeen (b)



## 2.2 Eri massaliimatyyppit

Massaliimojen erilaisista kemiallisista koostumuksista ja ominaisuuksista riippuen massaliimattu kartonki kykenee sietämään erilaisia olosuhteita, kuten hapanta tai emäksistä ympäristöä, lämpimiä ja kylmiä lämpötiloja tai korkeaa kosteuspitoisuutta. Massaliiman valintaan täytyy siis sisältyä myös ajatus siitä, mihin käyttötarkoitukseen kartonkia ollaan valmistamassa. Erilaiset säädökset ja lait ohjaavat myös kartongin valmistusta ja siihen sisältyvää massaliimausta sekä massaliimojen käytön määrää, mitkä täytyy ottaa huomioon jo kartonginvalmistuksessa. Kartonginvalmistukseen liittyvien parametrien lisäksi kannattaa huomioida myös kartongille asetetut käyttövaatimukset asiakkaiden toimesta. Tällaisia vaatimuksia voivat olla esimerkiksi taitettavuus ja väriaineiden imeytyvyys kartonkiin. Myös tuotetta myydessä on tärkeä tiedostaa, minkälaiseen käyttötarkoitukseen myytävä kartonki soveltuu.

Eri massaliimojen käyttö elintarvikekontaktimateriaaleissa sekä niiden rajallinen kyky sietää olosuhteita johtaa myös siihen, että massaliimojen hajoamistuotteiden ja näiden muodostamien uusien yhdisteiden haitallisuus ihmisille ja ympäristölle ovat tärkeitä tutkimuskohteita. Tästä syystä hajoamistuotteiden migraatioon paneudutaan myös tässä tutkielmassa AKD:n osalta.

Tuotteissa voi esiintyä myös sinne alkuperäisesti lisäämättömiä yhdisteitä, kuten edellä mainittuja yhdisteiden hajoamistuotteita ja näiden muodostamia uusia yhdisteitä. Tällaisia yhdisteitä kutsutaan tahattomasti lisätyiksi yhdisteiksi (NIAS, non-intentionally added substances). NIAS-yhdisteiden lähteitä voivat hajoamistuotteiden lisäksi olla esimerkiksi epäpuhtaudet, sivureaktioiden tuotteet tai kierrätetystä materiaalista prosessiin siirtyneet yhdisteet.

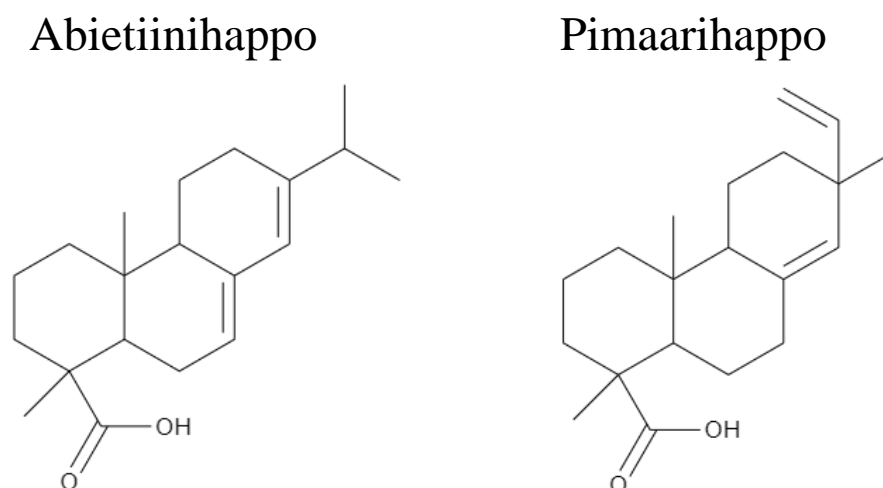
Kartongin massaliimauksessa yleisesti käytettyjä yhdisteitä ovat AKD, ASA sekä hartsit tai näiden sekoitukset.<sup>19-21</sup> Seuraavissa alaluvuissa käsitellään tärkeimmät massaliimatyyppit erikseen ja vertaillaan niiden vahvuuksia sekä heikkouksia massaliimana erityisesti elintarvikekontaktimateriaaliksi tarkoitettussa kartongissa.

## 2.2.1 Hartsit massaliimana

Massaliimatyypeistä ensimmäinen, hartsit, on ollut teollisessa käytössä jo 1800-luvulta asti. Luonnosta saatavat hartsit ovat seos erilaisia kemiallisia komponentteja, kuten hartsihappoja, neutraalia materiaalia, kuten estereitä ja ketoneja sekä pieniä määriä rasvahappoja. Hartsihapot koostuvat joukosta hyvin samankaltaisia trisyklisiä diterpeenimonokarboksyylihappoja, joista abietiinihappoa esiintyy näistä eniten. Näitä happoja tuotetaan teollisesti tislamalla puumassan hartsihappoja.

Trisyklisenä hapon abietiinihapon rakenteesta löytyy kolme hydrofobista rengasrakennetta, jotka toimivat massaliimauksessa yhdisteen hydrofobisena osana. Hartsihapoissa on runsaasti myös trisyklisiä pimaariihappoja. Näiden happojen rakenteet on esitetty kuvassa 6, joiden lisäksi hapoista löytyy erilaisia variaatioita.

Massaliimaukseen tarvittava hydrofiilinen osa yhdisteen rakenteesta on siinä esiintyvä karboksyyliryhmä, joka kykenee muodostamaan sidoksia multivalenttien ionien, kuten kationisissa massaliimauksessa runsaasti käytetyn alumiinin kanssa. Kyky muodostaa sidoksia ionien kanssa on tärkeä, sillä hartsit eivät kykene sitoutumaan itsestään selluloosaan anionisuutensa vuoksi. Tästä syystä hartsien massaliimaukseen vaaditaan erillisiä kationisia yhdisteitä, joiden avulla anionisesti varautunut hartsit kykenee sitoutumaan anionisesti varautuneeseen selluloosaan. Massaliimauksessa tähän tarkoitukseen käytetään alumiinisulfaattia. Alumiinisulfaatin kanssa muodostettu varsinainen massaliima, eli alumiiniresinaatti,<sup>22</sup> kykenee adsorboitumaan selluloosakuituun muodostaen hydrofobisen pinnan kuiduille.

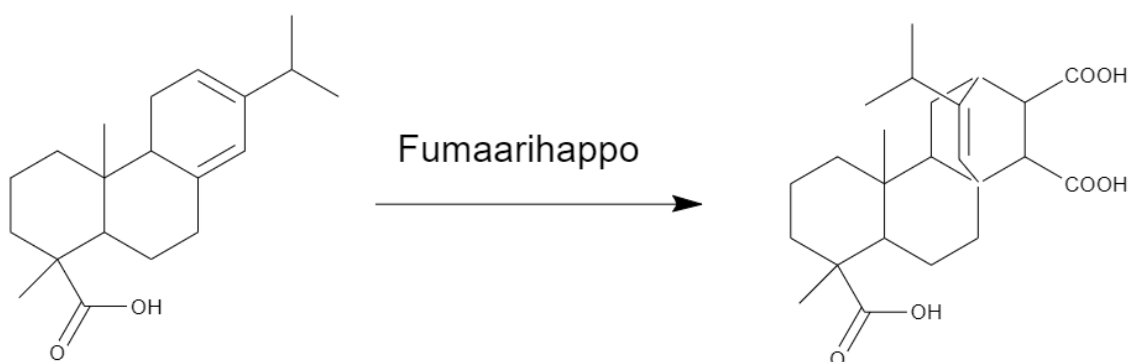


Kuva 6. Abietiinihappo ja pimaarihappo.

Hartsit ovat kemialliselta rakenteeltaan varsin hydrofobisia. Tämä on hyvä asia massaliimauksen kannalta, mutta toisaalta myös haaste, koska suuren hydrofobisuuden vuoksi hartsien retentoituminen ja orientoituminen selluloosakuidussa on vajavaista. Hartsien toimivuutta massaliimauksessa voidaan kuitenkin parantaa muokkaamalla niiden kemialla hydrofiilisemmäksi. Tätä kemiallista muokkaamista kutsutaan hartsien vahvistamiseksi ja se voidaan toteuttaa happamissa olosuhteissa esimerkiksi fumaarihapolla reaktiossa, joka on esitettyä kuvassa 7. Reaktiossa muodostuneessa vahvennetussa hartsimassassa on yhden reaktiivisen karboksyyliiryhmän sijaan kolme reaktiivista karboksyyliiryhmää, mikä mahdollistaa paremman massaliiman retentoitumisen.

Nykyisin hartseja on tarjolla massaliimaukseen hartsisaippuana sekä anionisena tai kationisena dispersiona. Tyypillisesti dispersiot sisältävät suurimmaksi osaksi edellä käsitellyjä hartsihappoja sekä pienen määrän stabilointiaineita, kuten styreeni-akryylihappokopolymeerejä.<sup>23</sup> Käytettäessä hartseja massaliimauksessa, täytyy massaliimattavan selluloosamassan olla kationisesti varautunut, sillä massaliimaus hartseilla toimii heikosti anionisessa ympäristössä.<sup>22</sup>

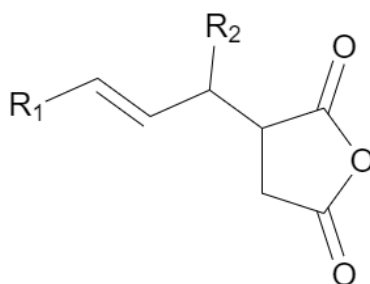
Hartseilla massaliimatut kartongit kestävät hyvin vettä ja kuumia neutraaleja nesteitä, mutta happamat ja emäksiset nesteet saattavat aiheuttaa kartongin massaliimauksen hajoamisen. Massaliimattaessa hartseilla voidaan päästä jopa sadan prosentin retentioon konerullalla. Tämä tarkoittaa käytännössä sitä, että kaikki selluloosamassaan lisätty hartsimassa on sitoutunut selluloosakuituun ilman kilpailevien reaktioiden tuotteita.



Kuva 7. Esimerkki hartsien kemiallisesta vahvistamisesta.

## 2.2.2 Alkenyyliimeripihkahappoanhydridi (ASA) massaliimana

ASA on toinen yleisesti neutraalissa tai emäksisessä kartonginvalmisprosessissa käytetty massaliima, jota saadaan erityisesti jatkojalostamalla öljyteollisuuden sivutuotteena saatuja olefiineja. ASA:a on kyetty tuottamaan laboratoriomittakaavassa myös auringonkukkaöljystä.<sup>24</sup> Petrolipohjaisena massaliimana ASA:n saatavuus ja hinta saattavat vaihdella öljyn saatavuudesta ja hinnasta riippuen, minkä lisäksi kartonkitekiteollisuuden pyrkiessä eroon petrolipohjaisista lähtöaineista, on ASA:n käyttöä pyritty välttämään. ASA on rakenteeltaan happoanhydridi ja sen rakenne on esitetty kuvassa 8. Rasvahappojen pituuksia sekä ASA:ssa, että myöhemmin esiteltävässä AKD:ssa merkitään yleisesti CX merkintätavalla, missä X kuvastaa yhdisteen sivuketjun pituutta. Esimerkiksi C18 kuvastaa oleiinihappoa, joka on kemialliselta kaavaltaan  $C_{18}H_{34}O_2$ . Tämä merkintätapa helpottaa massaliimojen kuvaamista niiden koostuessa useasta eri rasvahaposta.

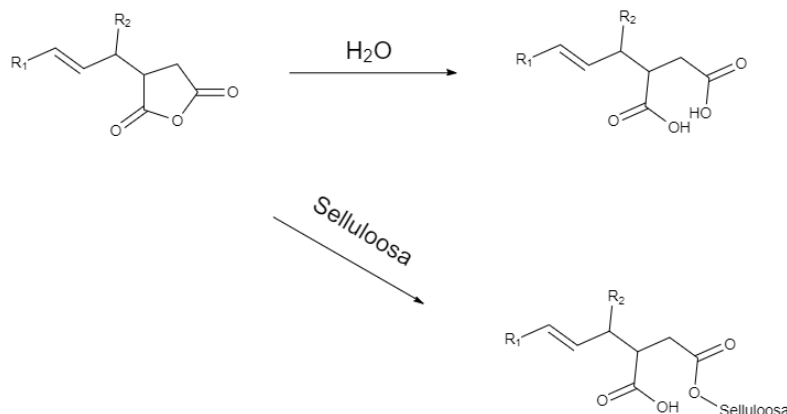


Kuva 8. ASA:n rakenne.

Massaliimojen retentioon vaikuttaa sekä massaliiman, että selluloosakuidun varaus. ASA:n ollessa neutraali massaliima, täytyy siihen lisätä kationista stabilointiainetta massaliimaa emulsioitaessa. Emulsioitu, kationinen ASA kykenee sitoutumaan anionisesti varautuneeseen selluloosaan, jossa hemiselluloosan sekä ligniinin jäänteiden ylläpitävät massan anionista varausta.

ASA:n rakenteessa olevasta anhydridiryhmästä johtuen ASA kykenee reagoimaan tehokkaasti ja nopeasti selluloosan hydroksyyliyhymän kanssa. ASA:lla on kuitenkin myös kilpaileva reaktio veden kanssa, joka on niin ikään nopea.<sup>25</sup> Tästä syystä anionisia massaliimoja käytettäessä ei voida tarkkailla pelkästään reaktionopeutta selluloosan hydroksyyliyhymän kanssa, vaan myös kilpaileva reaktio veden kanssa täytyy ottaa huomioon. Siirryttäessä

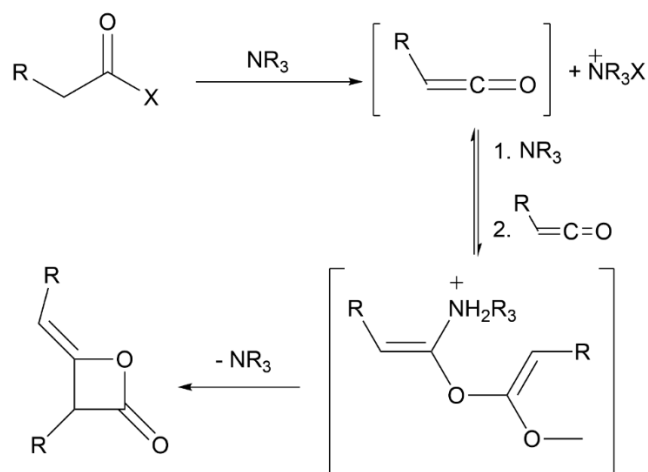
emäksisempiin olosuhteisiin, alkaa ASA hydrolysoitumaan nopeammin veden vaikutuksesta, sekä saostuu pois erilaisina suoloina, jotka aiheuttavat usein ongelmia kartonkikoneen ajossa. Kilpailevat reaktiot on esitetty alla olevassa kuvassa 9.



Kuva 9. ASA:lla massaliimattaessa esiintyvät kilpailevat reaktiot veden ja selluloosan kanssa.<sup>26</sup>

### 2.2.3 AKD massaliimana

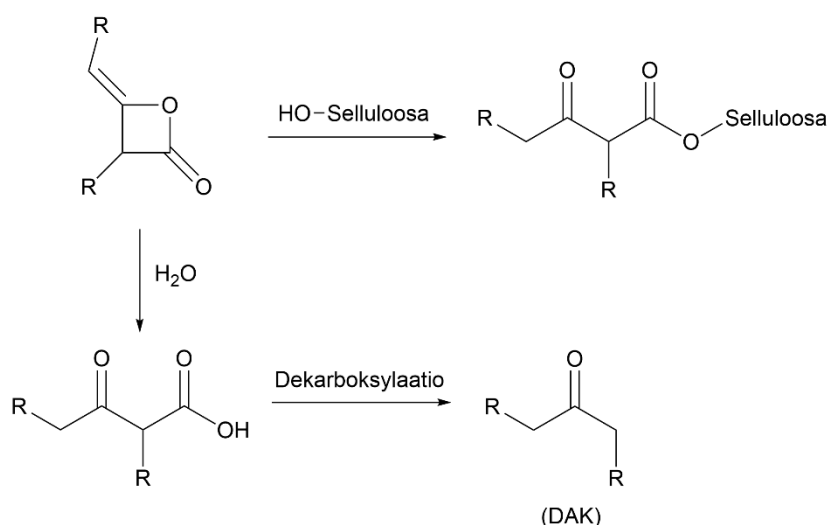
Ensimmäisenä AKD:n synteesireitin paperiteollisuuden käyttötärpeisiin patentoitiin jo vuonna 1945 DuPont de Nemours Incorporatedin toimesta.<sup>27</sup> Kahta vuotta myöhemmin, patentin tutkija John Sauer julkaisi tutkimuksensa *Ketene Dimers from Acid Halides*, jossa esitettiin ensimmäinen synteesireitti AKD:lle.<sup>28</sup> AKD on rakenteeltaan tyydyttymätön laktoni, eli syklinen esteri, ja sitä valmistetaan pitkäketjuisten tyydyttyneiden rasvahappojen halideista. Reaktiossa käytettävät kasvirasvahapot ovat tyypillisesti C14 ja C22 välillä. Happohalidien oletetaan reagoivan AKD:ksi kaksivaiheisen synteesireitin mukaisesti, missä synteesin ensimmäisessä vaiheessa happohalidia käsitellään tertiäärisellä amiinilla muodostaen pitkäketjuisia keteenejä. Reaktiossa muodostuneet keteenit reagoivat keskenään synteesin toisessa vaiheessa muodostaen alkyyliketeneidimeerin. AKD-synteesin reaktiovaiheet on esitetty alla kuvassa 10.



Kuva 10. AKD-synteesin vaiheet.<sup>29</sup> Rakenteessa oleva halogeeni on merkitty kirjaimella X.

Reaktiossa käytettyjen rasvahappojen hiiliketjujen pituuksilla on luonnollisesti merkitystä myös lopullisen tuotteen hiiliketjujen pituuteen. Luonnossa esiintyvät rasvahapot ovat lähtökohtaisesti seos useaa eri rasvahappoa, joiden erottelu toisistaan on hyvin vaikeaa, eikä erottelulla ole AKD:n valmistamisen kannalta suurta merkitystä. Näiden rasvahappojen seosten käyttö AKD:n synteesissä johtaa myös reaktiotuotteiden seoksiin. Kaupallisia AKD-laatuja löytyy useita, mutta niissä hyödynnetään eniten palmitiinihappoa (C16) ja steariinihappoa (C18). Näiden hiiliketjujen käyttö selittyy niiden luontaisella esiintyvyydellä. Luonnossa esiintyy eniten rasvahappoja, joiden hiiliketjun pituus on 12 ja 22 hiilen välillä. Näistä rasvahapoista palmitiinihappo on yleisin. Myös steariinihappo on yleinen, mutta sitä esiintyy lähinnä eläinperäisissä rasvahapoissa.<sup>30</sup>

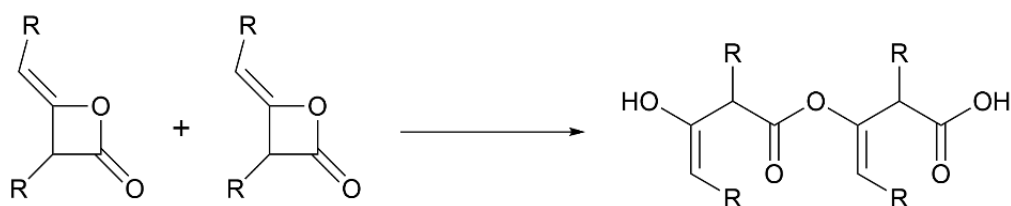
AKD on hyvä massaliima-aine kartonkiin, sillä AKD:n sitoutuessa selluloosakuituun muodostuu kuitujen pinnalle hydrofobinen kerros yhdisteen pitkistä hiilivetyketjuista. Tämä estää veden reagoimisen hydrofiilisen selluloosan kanssa. Reagoidessa selluloosan kanssa AKD muodostaa hydrofobisen yksimolekyylikerroksen selluloosakuidun pinnalle. Retentio tapahtuu kaksivaiheisesti, missä AKD levittyy ensimmäisenä yksimolekyylikerrokseksi kuidun pinnalle, minkä jälkeen veden haihtuessa AKD reagoi kuidun hydroksyyliiryhmän kanssa muodostaen  $\beta$ -ketoesterin. Tämä reaktio on tyypiltään esteröitymisreaktio, eli konjugaatioreaktio. AKD:ssa oleva syklinen esteri kykenee reagoimaan selluloosan lisäksi myös veden kanssa. Veden kanssa reagoidessaan AKD:n laktaanirengas aukeaa ja reaktio muodostaa labiilin  $\beta$ -keto-hapon, joka dekarboksyloituaan muodostaa dialkyyliketoinin (DAK). DAK ei kykene muodostamaan kovalenttisia sidoksia selluloosaan. AKD:n esteröitymisreaktio sekä reaktio veden kanssa on esitetty alla olevassa kuvassa 11.



Kuva 11. Kilpaileva reaktio selluloosan ja veden välillä.

AKD massaliimauksessa hyödynnetään siis AKD:ssä olevaa hydrofobisuutta ja tämän kykyä muodostaa esteri selluloosan hydroksyyli ryhmän kanssa. AKD:n amfipaattisuus myös vaikeuttaa massaliimausta AKD:lla, sillä massan pulpperoinnissa lisätty AKD reagoi massan valmistuksessa lisätyn veden kanssa. AKD-massaliima jatkaa hydrolysoitumista, kunnes kartongin vesipitoisuus laskee riittävän matalaksi kartonkikoneella.

Selluloosan ja veden lisäksi AKD kykenee reagoimaan myös itsensä kanssa muodostaen oligomeerejä. Veden kanssa muodostuneiden ketonien tapaisesti AKD-oligomeerit eivät parana kartongin hydrofobisuutta. Näitä oligomeerejä löytyy pieniä määriä kaupallisista tuotteista.<sup>31</sup> Oligomeerien muodostuminen AKD:stä on esitetty kuvassa 12.



Kuva 12. Oligomeerien muodostuminen.

Kuvassa 11 esitettyä synteesireittiä käytetään edelleen teollisesti AKD:n valmistamiseen, mutta kaupalliset tuotteet muokataan dispersioiksi. Dispersioihin lisätään yleensä myös stabilointia parantavia kationisia lisäaineita, jotta tuote säilyy reagoimattomana mahdollisimman pitkään ennen massaliimausta. Veden kanssa reagoanut AKD ei kykene enää reagoimaan selluloosan kanssa, vaan kertyy selluloosan pinnalle, eikä veden kanssa reagoineella AKD:lla ole suurta

vaikutusta selluloosan hydrofobisuuteen.<sup>32</sup> AKD-dispersion stabiilisuutta parantavia yhdisteitä ovat esimerkiksi tärkki ja erilaiset polymeerit. Dispersoitaessa AKD:ta lietetään korkeassa lämpötilassa veteen. Reaktio tehdään noin pH 3:ssa, jotta kilpailevaa hydrolyysireaktiota veden kanssa ei tapahtuisi.<sup>33</sup> Stabilointiaineita käytettäessä AKD-dispersioita kutsutaan esimerkiksi tärkkistabiloiduiksi tai polymeeristabiloiduiksi riippuen siitä, mitä stabilointiainetta tuotteessa on käytetty. Kationisten stabilointiaineiden tehtävänä on neutraloida kartonkimassassa olevaa ylimääräistä anionista häiriöaineita, jolloin kationinen AKD ohjautuu elektrostaattisten vetovoimien vaikutuksesta anionisen selluloosan pintaan.<sup>22</sup> Stabilointiaineiden kuten tärkin käytöllä on myös haittapuolia. Lisättäessä suuria määriä kationisia, korkean viskositeetin omaavia stabilointiaineita, kasvaa myös AKD emulsioiden viskositeetti. Tällaisen emulsion käyttöön vaaditaan suurempaa energiamäärää saavuttamaan hyvä massaliimaus kartonkikoneella.

Perinteisten stabilointiaineiden haasteiden vuoksi AKD:n stabilointia varten on tutkittu myös muita stabilointimenetelmiä. Esimerkiksi Pickering emulsion käyttöä on tutkittu tähän tarkoitukseen. Pickering emulsiossa öljypartikkelin, tässä tapauksessa AKD-partikkelin, pinnalle kiinnitetään kerros kiinteää materiaalia öljyn ja veden rajapintaan. Pickering emulsiossa ei tarvitse käyttää pinta-aktiivisia yhdisteitä, mikä on suuri etu AKD-emulsion stabiloinnin näkökulmasta. Tämän lisäksi kiinteät yhdisteet, joita käytetään Pickering emulsion valmistamiseen, ovat usein ympäristöystävällisiä.<sup>34</sup>

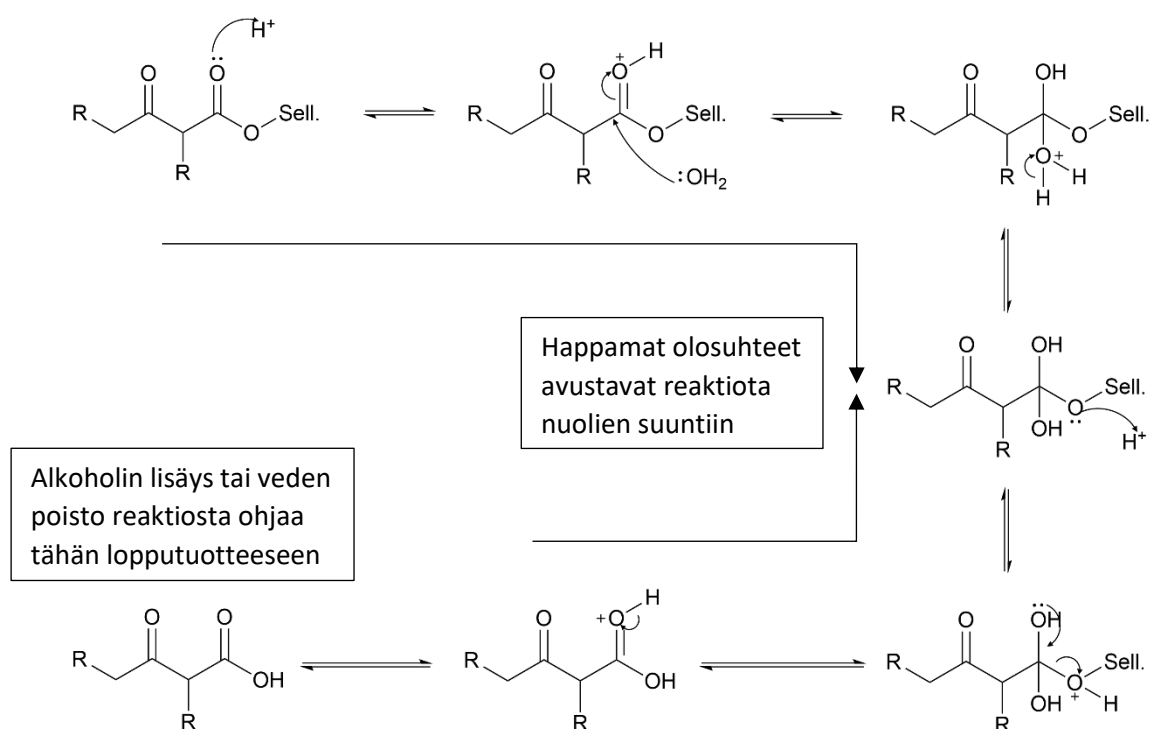
Myös kerrostettuja kaksoishydroksideja (LDH) ollaan tutkittu AKD-massaliiman stabiloimiseen. Tällaiset materiaalit koostuvat kahdesta kationisesta kerroksesta, joita sitoo yhteen anioninen kerros. Näitä materiaaleja käytettäessä on kuitenkin otettava huomioon LDH-yhdisteiden voimakas hydrofiilisyys, joka voi aiheuttaa emulsioiden kermautumista. Tästä syystä LDH-partikkeleita täytyy muokata siten, että niiden hydrofiilisyyttä saadaan laskettua. Partikkeleita voidaan muokata esimerkiksi lisäämällä siihen pitkäketjuisia, pinta-aktiivisia, amfipaattisia yhdisteitä. Tällä menetelmällä muokattu LDH ei kuitenkaan sovellu AKD-emulsion stabiloimiseen, sillä pinta-aktiiviset yhdisteet huonontavat AKD:n retentiota. LDH-partikkeleita voidaan muokata myös lyhyillä amfipaattisilla yhdisteillä. Tällaiset yhdisteet eivät estä AKD:n retentiota selluloosaan, jolloin yhdisteet voisivat soveltua LDH:n muokkaamiseen tähän käyttötarkoitukseen.<sup>35</sup>

Kaupallisiin tuotteisiin voidaan lisätä stabilointiaineiden lisäksi myös retentiota avustavia yhdisteitä, eli promoottoreita. Näiden yhdisteiden tarkoitus on katalysoida nukleofiilistä



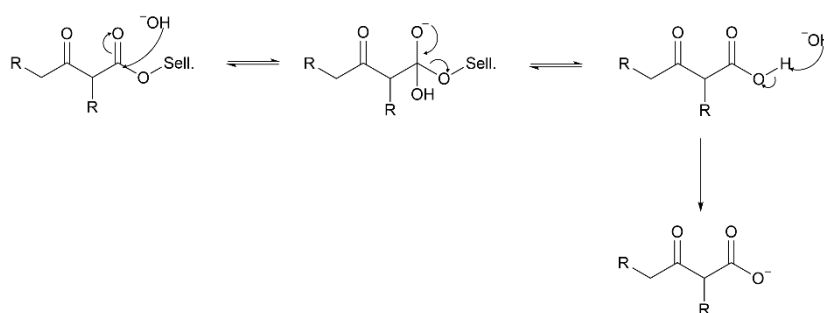
reaktiota AKD:n ja selluloosan välillä muokaten reaktiota selluloosan kanssa edullisemmaksi verrattaessa kilpailevaan reaktioon veden kanssa. Tyypillisimpiä promoottoreita ovat  $\text{HCO}_3^-$ <sup>36</sup> ja erilaiset emäksiset polymeerit, joilla on amiiniryhmä<sup>33</sup>. Stabilointiaineiden sekä promoottorien vaikutuksesta nykyisten massaliimauksen prosessien retentoituneen AKD:n raja kartongissa on noin 40 % prosessissa lisätyn AKD:n määrästä.<sup>37</sup>

AKD:n synteesireittiä ja retentiomekanismia tärkeämpi synteesi sitoutuneen AKD:n analysoinnin näkökulmasta on sen hajoamisreaktio selluloosaan sitoutuneesta  $\beta$ -keto-esteristä sen ketonimuotoon. Tämä reaktio voi tapahtua myös selluloosan pinnalla olevan sitoutumattoman AKD:n kanssa. Ketonien muodostaminen voidaan suorittaa joko happo- tai emäskatalysoidulla hydrolyysillä. Happokatalysoidussa hydrolyysissä esteriä lämmitetään hapon kanssa. Tässä reaktiossa esteri reagoi veden ja hapon kanssa muodostaen karboksyylihappoja sekä alkoholeja. Tämä reaktio on esitetty kuvassa 13. Happokatalysoitu hydrolyysi ei suoraan sovellu analysointiin tarvittavien ketonien muodostamiseen, sillä reaktio on palautuva. Tästä johtuen osa muodostuneista karboksyylihapoista reagoi alkoholien kanssa muodostaen uusia estereitä. Kyseinen reaktio on siis tasapainoreaktio, jonka tasapainoa voidaan säätää joko lisäämällä reaktioon alkoholia tai poistamalla sitä esimerkiksi tislaamalla.



Kuva 13. Happokatalysoitu esterien hydrolyysireaktio.

Happokatalysoidusta hydrolyysistä poiketen, emäskatalysoidussa hydrolyysireaktiossa ei tapahdu substituutioreaktiota. Tämä johtuu siitä, että katalysoitaessa hydrolyysireaktiota emäksellä, lisätty emäs deprotonoi esteristä muodostuneen karboksyylihapon estäen substituutioreaktion alkoholien kanssa. Jäähdytettyyn liuokseen voidaan lisätä happoa, kuten suolahappoa, jolloin deprotonoitu karboksyylihapo protonoituu hapon vaikutuksesta. Protonoinnissa muodostunut epästabiili  $\beta$ -ketohapto dekarboksyloituu muodostaen ketoneja, kuten aiemmin esitetyssä AKD:n ja veden reaktiossa. Emäskatalysoitu hydrolyysireaktio on esitetty kuvassa 14. Analysoinnin vaatiessa esterien ketonimuotoja, on emäskatalysoitu hydrolyysireaktio parempi vaihtoehto ketonien muodostamiseen.



Kuva 14. Emäskatalysoitu esterien hydrolyysireaktio.

## 2.2.4 Yhteenveto massaliimoista

Esitetyistä massaliimoista vain hartseilla kyetään pääsemään sadan prosentin retentioon, sillä hartseilla ei esiinny kilpailevia reaktioita massaliimauksessa. Huomattavasti suuremmasta retentiosta huolimatta kartonginvalmistuksessa on siirrytty neutraaleihin sekä emäksisiin prosesseihin, joissa tuotantohinnat ovat matalammat. Tämä johtuu mahdollisuudesta hyödyntää halvempaa ja korkeatasoisempaa kalsiumkarbonaattia kartongin täyteaineena, eikä kationisissa massaliimoissa tarvitse käyttää suuria määriä alumiinipohjaisia lisäaineita.

Kationisessa massaliimauksessa on etuja myös kartongin kestävyiden kannalta. Anioninen kartonki vanhentuu nopeammin ja kartongissa olevien selluloosakuitujen väliset sidokset hajoavat helpommin esimerkiksi ilman kosteuden vaikutuksesta.

Anhydridiryhmänsä vuoksi ASA on reaktiivisempi verrattuna AKD:n ketoniryhmään. Tämä kuitenkin aiheuttaa haasteita, sillä ASA on reaktiivisempi myös kilpailevan hydrolyysireaktion

osalta. Vahvasta reaktiivisuudestaan johtuen ASA retentoituu nopeammin kuin AKD ja sitä voidaan käyttää myös alemmassa pH:ssa.

ASA retentoituu nopeasti kartonkia kuivattaessa. Kilpailevien reaktioitten takia retentoituneen ASA:n prosentuaalinen määrä ei ole yhtä suuri, kuin hartseilla. Noin 60 % lisätystä ASA:sta saadaan retentoitumaan kartonkiin kilpailevasta hydrolyysireaktiosta johtuen. AKD:llä vastaava prosentti on noin 70 %, mikäli otetaan huomioon myös dialkylyliketonit sekä muodostuneet oligomeerit.<sup>38</sup> Koska AKD:llä suoritettavassa massaliimauksessa ei tarvitse käyttää suuria määriä alumiinipohjaisia lisäaineita, on AKD parempi massaliima kartongin ikääntymisen ja kestävyuden kannalta.<sup>39</sup> Lisäksi AKD:tä ajettaessa ei kartonkikoneisiin pääse muodostumaan sakkoja yhtä helposti, kuin ASA:lla ajettaessa. Lisäksi AKD-massaliimatun kartongin kyky kestää veden, happamien ja emäksisten nesteiden vaikutuksia antaa etulyöntiaseman AKD-massaliimaukselle. Taulukkoon yksi on kerätty yhteen tärkeimmät erot massaliimoissa.

Taulukko 1. Tärkeimmät erot massaliimoissa

	Hartsit	ASA	AKD
Mistä valmistetaan	Puut	Petroliteollisuuden sivuvirrat	Rasvahapot
Vaadittu pH-alue massaliimaukselle	Hapan	Emäksinen/neutraali	Emäksinen/neutraali
Vaaditut retentioavustajat	Alumiinipohjaiset retentioavustajat	-	-
Kilpailevat reaktiot	-	Hydrolyysi veden kanssa, suolojen muodostuminen metallien kanssa	Hydrolyysi veden kanssa
Retentoituminen	100 % konerullalla	<60 %	<70 %, vaatii kypsytyksen
Kartongin ikääntyminen	Nopeampaa, kuin kationisia massaliimoja sisältävissä kartongeissa	Hitaampaa, kuin hartseilla massaliimatuilla kartongeilla	Hitaampaa, kuin hartseilla massaliimatuilla kartongeilla

### 3 Kartonki elintarvikekontaktimateriaalina

AKD-massaliimattua kartonkia kyetään käyttämään elintarvikekontaktimateriaalina olettaen, että kartonki täyttää erilaiset lainsäädännön pykälät, kuten EU-direktiivin pakkausmateriaaleille.<sup>40</sup> Tämän lisäksi on olemassa monia kansallisia säädöksiä, kuten saksalaisen BfR:n suositus XXXVI:n<sup>5</sup>. Vaikka BfR:n suositus on kansallinen suositus, sovelletaan sitä yleisesti Euroopassa.

Suomessa ohjeistuksen elintarvikekontaktimateriaalina käytettävälle paperille ja kartongille on antanut Ruokavirasto.<sup>41</sup> Ohjeistuksessaan Ruokavirasto viittaa EU-asetukseen 1935/2004<sup>42</sup> liittyen yleisesti elintarvikemateriaaleja koskeviin vaatimuksiin. EU-asetuksessa ei kuitenkaan viitata massaliimaukseen ja näihin Ruokavirasto ohjeistaa hakemaan turvallisuusreferenssejä muista virallisesta lähteestä, kuten BfR:ltä.

AKD:n hydrolyysireaktiossa muodostuvan DAK:n vaikutusta ihmiskehoon ei vielä tunneta tarkasti ja tästä syystä BfR on antanut AKD:stä hydrolyysillä muodostuvalle ja elintarvikkeisiin migraoituvalla DAK:lle migraation raja-arvon. Suosituksessaan XXXVI BfR määrittää elintarvikkeisiin migraoituvan DAK:n raja-arvoksi 5 milligrammaa kiloa elintarviketta kohden.<sup>5</sup> Tästä raja-arvosta käytetään tästä eteenpäin merkintää 5 mg/kg elintarviketta. BfR:n suositusta XXXVI käytetään yleisesti Euroopassa turvallisuusreferenssinä massaliimauksesta migraoituvien yhdisteiden raja-arvoille. Tästä säädöksestä löytyvät raja-arvot myös eri hartsien ja ASA:n käytölle sekä migraatorajat elintarvikkeisiin.

Euroopan lisäksi myös muilla mantereilla on omia säädöksiä koskien massaliimausta. Amerikassa massaliimauksen lainsäädäntöä ohjaa Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkevirasto, FDA. Toisin kuin BfR:n suositus, FDA:n säädös ei aseta migraatiolle raja-arvoa, vaan määrää raja-arvon kartongissa olevalle kokonais-AKD:n kokonaispitoisuudelle. FDA:n säädös 21CFR176.120 asettaa AKD:n massaprosentin raja-arvoksi 0,4 % paperissa tai kartongissa. ASA:lle massaprosentin raja-arvo on 1 % kuivaa paperia tai kartonkia kohden (säädös 21CFR176.170). Hartseja koskevat määräykset löytyvät säädöksistä 21CFR176.170 ja 21CFR178.3870. 21CFR176.170 antaa luvan käyttää hartseja sekä hartsien johdannaisia, mikäli ne täyttävät säädöksen 21CFR178.3870 määritelmät.

Kiinassa massaliimaukseen soveltuvista ja sallituista yhdisteistä määrää Kiinan kansallinen terveys- ja perhesuunnittelukomissio. Komission vuonna 2017 toimeenpantu standardi GB 9685-2016 antaa raja-arvot AKD:n, hartsien ja ASA:n käytölle. AKD:tä voi standardin mukaan olla maksimissaan 0,4 %:n osuus kartongin kuivamassasta, kun taas hartseja voidaan käyttää tarpeen vaatimalla määrällä. ASA:aa voidaan käyttää elintarvikekontaktimateriaalien valmistamisessa maksimissaan 1 % kartongin kuivamassasta. Kiinassa ASA:lle on määritetty myös migraatorajat. Migraatioanalyysissä määritetään ASA-pitoisuus maleiinihapon määränä, joka saa olla korkeintaan 30 mg/kg elintarviketta.

Jotta AKD-massaliimattu kartonki täyttäisi näiden säädösten vaatimat raja-arvot, täytyy valmistetusta kartongista kyetä määrittämään kokonais-AKD -pitoisuus, sekä elintarvikkeisiin migraoituvan dialkyyliketoinin määrä. Lisäksi on tiedettävä, paljonko kartonginvalmistuksessa on käytetty AKD-vahaa riippumatta siitä, paljonko sitä ilmenee lopullisessa tuotteessa, jotta tuote täyttää FDA:n vaatimukset.

Vähäisen todellisilla elintarvikkeilla tehtyjen migraatiotutkimusten määrän vuoksi luodut standardit hyödyntävät migraatioihin nestemäisiä rasvoja tai orgaanisia yhdisteitä. Tämä helpottaa migraatioiden analysointia, sillä todellisilla elintarvikkeilla on haasteellista toteuttaa analyysijä. Tämä johtuu elintarvikkeiden koostumuksen luonnollisesta vaihtelusta, jolloin edustavan näytteen saaminen ja näytteiden käsittely on haastavaa. Migraatioiden standardimenetelmät on kuitenkin luotu muovisten elintarvikekontaktimateriaalien analysointiin. Standardeissa käytetyt liuottimet uuttavat kartonkia, mikä antaa migraoituneen DAK:n määrälle paljon korkeampia arvoja, kuin todellisilla elintarvikkeilla tehdyissä migraatiotesteissä. Standardeilla tehdyt migraatioanalyysit antavat suurimman mahdollisen tuloksen (worst-case scenario) migraatiolle. Mikäli tällaisella analyysillä alitetaan BfR:n migraatoraja, voidaan rajan noudattaminen osoittaa tällaisella menetelmällä.

Migraoitumista on kyetty testaamaan todellisista elintarvikkeista eristetyillä rasvoilla sekä rasvaisilla elintarvikkeilla, kuten juustoilla. Vuonna 2020 julkaistussa tutkimuksessa Lestido-Cardama *et al.* testasivat DAK:n kykyä migraoitua kartongista juustojen, kroissantin ja salamin rasvoihin.<sup>43</sup> Tutkimuksessa ryhmä testasi migraatiota pintakontaktista elintarvikkeiden kanssa,

minkä jälkeen elintarvikkeista eroteltiin öljyjä pitkässä erotusprosessissa. Tutkimuksessa selvisi, että iso-oktaanilla ja oliiviöljyllä simuloitujen migraatiot tuottavat paljon suurempia DAK-arvoja, kuin todellisilla elintarvikkeilla tehdyissä migraatiokokeissa.

#### **4 AKD-pitoisuuden määrittäminen sekä elintarvikekontaktin simuloiminen**

Valmiissa kartongissa oleva AKD jakautuu enimmäkseen kahteen eri muotoon, selluloosakuituun sitoutuneeseen AKD:seen, sekä selluloosaan sitoutumattomaan dialkyyliketoniin. Kartongissa on myös pieniä määriä hydrolysoitumatonta ja selluloosaan sitoutumatonta AKD:ta sekä AKD:n oligomeerejä. Sekä DAK:n että AKD:n määrä analysoidaan AKD:n kokonaispitoisuuden määrittämistä varten. AKD-pitoisuuden määrittäminen toteutetaan analysoimalla AKD:ta vastaavia dialkyyliketoneita, mutta tulokset esitetään kokonais-AKD -pitoisuutena. Kartongissa olevaa kokonais-AKD -pitoisuutta voidaan pitää myös teoreettisena maksimina elintarvikekontaktimateriaaliin migraoitavalle DAK:n määrälle.

Elintarvikekontaktin simuloimiseen voidaan käyttää eri simulanteja, joista käytetyimmät ovat iso-oktaani sekä oliiviöljy. Näillä simulanteilla suoritettavalle migraatiolle on olemassa oma kansainvälinen standardi, SFS-EN-1186. Migraoituneen DAK:n analyttiseen määrittämiseen käytetään samaa periaatetta, kuin kokonais-AKD -pitoisuuden määrittämisessä.

##### **4.1 Kokonais-AKD:n määrittäminen kartongista**

Kokonais-AKD:n pitoisuuksia määritettäessä täytyy selluloosaan sitoutunut AKD sekä selluloosaan sitoutumaton DAK määrittää erikseen. Valmistettaessa näytteitä kokonais-AKD -pitoisuuden määrittämistä varten, täytyy AKD hydrolysoida ketonimuotoonsa alaluvussa 2.2.3 esitettyjä reaktioita hyödyntäen. Tästä kappaleesta eteenpäin kokonaispitoisuuden määrittämisen yhteydessä puhutaan pelkästä AKD:n pitoisuuden määrittämisestä selkeyden vuoksi.

AKD-pitoisuuksia määritetään yleisesti kromatografisesti johtuen menetelmän kyvystä erotella eripituisia hiilivetyketjuja. Kromatografian lisäksi AKD:n määrittämiseen voidaan käyttää myös muita menetelmiä. AKD:ta voidaan tutkia esimerkiksi ydinmagneettisella resonanssilla (NMR), lähi-infrapunaspektroskopiolla (NIRS) ja Fourier-muunnos infrapunaspektroskopiolla (FTIR). Orgaanisten yhdisteiden kvantitatiiviseen määrittämiseen käytetään yleensä kaasukromatografiaa, johon on yhdistetty liekki-ionisaatiodektektori, myöhemmin laitteistosta puhuttaessa käytetään lyhennettä GC-FID. Orgaanisten yhdisteiden karakterisointiin käytetään yleensä kaasukromatografia-massaspektrometriaa ja tästä käytetään myöhemmin lyhennettä GC-MS.

#### **4.1.1 Kromatografiset menetelmät**

Kromatografia perustuu yhdisteiden erilaiseen kykyyn muodostaa sidoksia ollessaan kontaktissa stationäärifaasin kanssa, joka voi olla joko kiinteä tai nestemäinen yhdiste. Analysoitavat yhdisteet tuodaan kontaktiin kiinteän faasin kanssa liikkuvalla faasilla. Liikkuva faasi voi olla joko neste tai kaasu. Riippuen yhdisteiden muodostamien sidosten vahvuudesta, kyvystä sitoutua stationäärifaasiin ja molekyylipainoista, viipyvät yhdisteet pidempään stationäärifaasissa. Läpikulun nopeuteen vaikuttaa myös kolonnin pituus ja halkaisija sekä kolonnin sisäpinnan kemia. Teoreettiset pinnat kuvastavat kolonnin tehokkuutta, eli sitä kuinka lyhyellä aikavälillä kolonni päästää siellä olevan yhdisteen kokonaisuudessaan läpi. Korkea teoreettisten pintojen lukumäärä vastaa korkeaa kolonnin tehokkuutta. Kromatografiassa havainnoidaan yhdisteet eri menetelmillä niiden saapuessa stationäärifaasista ja kolonnin korkea tehokkuus voidaan havaita signaalissa terävinä piikkeinä.

Kaasukromatografiolla, myöhemmin GC, on mahdollista mitata haihtuvia yhdisteitä ja erottaa niitä perustuen komponenttien retentioaikoihin. GC:llä mitattaessa nestemäinen näyte injektoidaan laitteistoon tyypillisesti automaattisella näytteensyöttäjällä, jolloin mittauksien toistettavuus paranee verrattaessa manuaaliseen näytteensyöttöön. Laitteistossa stationäärifaasina toimii kolonni, johon ionisoidut yhdisteet ohjataan inertillä kantokaasulla, kuten typellä tai heliumilla. Kolonnityyppejä on monia ja niitä on valmistettu monien eri yhdisteiden analysointiin. Kolonni pidetään korkeassa lämpötilassa, jotta huonommin haihtuvat yhdisteet pysyisivät kaasuina, eivätkä tuki kolonnia. Kolonnin toinen pää on yhdistetty detektoriin, joka tuottaa signaalia kolonnilta tulevien yhdisteiden mukaan. Tämän jälkeen

signaali muunnetaan laitteiston ohjelmistolla analogisesta datasta digitaaliseksi dataksi tulosten analysointia varten.

GC:lle voidaan yhdistää erilaisia detektoreja analogisen signaalin keräämiseksi ja muuttamiseksi digitaaliseksi dataksi. Tällaisia detektoreita ovat liekki-ionisaatiodetektor (FID) ja massaspektrometri (MS). Nämä detektorit muuntavat kolonnista tulevan analogisen signaalin eri menetelmillä dataksi, joka kyetään havaitsemaan tietokoneella kromatogrammina. FID mittaa yhdistettä ionisoitaessa vapautuvien ionien määrää kantokaasussa. Näiden ionien määrä on suora verrannollinen alkuperäisen näytteen orgaanisten yhdisteiden konsentraatioon, joten menetelmällä kyetään määrittämään tarkasti näytteessä oleva yhdisteen massa. MS puolestaan mittaa yhdisteen massa-varaussuhdetta sähkö- tai magneettikentässä, mikä tuottaa digitaalisen signaalin, eli massaspektrin. Menetelmällä on mahdollista määrittää eri isotooppeja sekä seoksien komponentteja, jolloin tämä soveltuu hyvin orgaanisten näytteiden karakterisointiin.

Peruseriaate nestekromatografiassa on sama, kun kaasukromatografiassa. Suurin ero näiden menetelmien välillä on liikkuva faasi, joka kaasukromatografiassa on kaasu ja nestekromatografiassa neste. Liikkuvan faasinsa vuoksi nestekromatografiaa kyetään muokkaamaan paremmin tietyn yhdisteen määritystä varten. Nestekromatografiassa kyetään toteuttamaan monia eri kromatografisia menetelmiä, mistä käytetyimmät ovat normaali- ja käänteisfaasikromatografia. Suoritettaessa analyysiä normaalifaasikromatografialla liikkuva faasi on ei-polaarinen ja stationäärifaasi polaarinen, jolloin liuenneen yhdisteen polaariset komponentit tarttuvat paremmin stationäärifaasiin ja eluoituvat hitaammin. Käänteisfaasikromatografiassa liikkuva faasi on polaarinen ja stationäärifaasi ei-polaarinen, jolloin vähemmän polaariset komponentit eluoituvat hitaammin. Näiden menetelmien lisäksi on olemassa myös monia muita nestekromatografisia menetelmiä, kuten kokoekskluusiokromatografia, partitiokromatografia ja kiraalinen pylväskromatografia.

Nykyisin puhuttaessa nestekromatografiasta, tarkoitetaan yleensä korkean suorituskyvyn nestekromatografiaa (HPLC). Erona perinteiseen nestekromatografiaan on analyysissä käytettävä paine, jolla näyte pumpataan kolonnin läpi. Korkean suorituskyvyn nestekromatografiassa paineet ovat huomattavasti korkeammat, jopa 60 MPa, kun perinteisessä



laitteistossa näyte siirtyy kolonnissa painovoiman ansiosta. Paineen kasvaessa menetelmällä tehtäviin määrittäisiin kulunut aika laskee huomattavasti.

HPLC:lle voidaan yhdistää GC:n tapaan eri detektoreita, jotka muuntavat eri analogisia signaaleja digitaalisiksi. AKD:n määrittämiseen soveltuvia detektoreita ovat esimerkiksi MS, ultraviolettidetektorit (UV) ja haihtuvien näytteen valonsirontadetektorit (ELSD).

#### 4.1.2 Muut menetelmät

AKD:n kokonaispitoisuutta voidaan määrittää myös ydinmagneettisella resonanssilla (NMR). Yhdiste altistetaan radiotaajuiselle sähkömagneettiselle kentälle, jossa yhdisteen atomien ytimet absorboivat kentän energiaa. NMR kerää signaaleja detektorilla ja muokkaa nämä signaalit digitaalisiksi dataksi, kuten kromatografisissa menetelmissä.

Määrittäessä konsentraatioita NMR:llä tarvitaan tunnetulla pitoisuudella suoritettu mittaus, josta määritetään laskennallisesti konsentraation muuntokerroin (CCF). Tämän jälkeen tuntemattoman näytteen spektrin datasta voidaan määrittää konsentraatio integroimalla spektrin piikkien pinta-ala ja jakamalla tämä tulos spektriä vastaavien atomiytimien lukumäärällä. Lopuksi tulos kerrotaan aiemmin lasketulla CFF:llä.

Myös Fourier-muunnos infrapunaspektroskopia (FTIR) soveltuu AKD-pitoisuuksien määrittämiseen. Pitoisuudet määritetään mitatusta IR-spektristä Beer-Lambertin lailla.

Tämän lisäksi pitoisuuksien määrittämiseen on kehitetty menetelmä myös lähi-infrapunaspektroskopiolla (NIRS).<sup>44</sup> Valmiilla mittausmenetelmällä näytteen analysointi onnistuu todella nopeasti, vain muutama sekunti näytettä kohden. Tämä on iso etu verrattaessa esimerkiksi kaasukromatografiseen mittaukseen kuluvaan aikaan.

## 4.2 Kokonais-AKD:n tulosten laskeminen

Kokonais-AKD pitoisuuden määrittämistä varten täytyy kartongista määrittää siinä olevat dialkyyliketoniit sekä AKD:n ja selluloosan muodostama  $\beta$ -keto-esterit erikseen. DAK on mahdollista määrittää näytteestä uuttamalla näytettä orgaanisilla liuottimilla, kuten heksaanilla tai iso-oktaanilla, sillä ketonit ovat liukoisia orgaanisiin liuottimiin. Selluloosaan sitoutunut  $\beta$ -keto-esteri taas ei liukene orgaanisiin liuoksiin yhtä helposti massaliiman ja selluloosan välisen vahvan sidoksen vuoksi.

Kartongissa oleva selluloosakuituun sitoutunut AKD voidaan irrottaa kuidusta lämmittämällä näytettä emäksisessä liuoksessa. Emäksisessä liuoksessa keitetessä kuituun kiinnittynyt AKD hydrolysoituu. Hydrolysoinnissa muodostunut DAK kyetään uuttamaan näytteistä orgaanisella liuottimella, kuten iso-oktaanilla.

AKD:n eri muotojen määrittämiseen hyödynnetään sisäistä standardia, jonka GC:ltä saadun graafin piikin pinta-alaan vertaamalla on mahdollista määrittää AKD:ssa käytettävien komponenttien massat. AKD:n määrä näytteessä määritetään alla olevalla kaavalla. Tällä kaavalla kyetään laskemaan sekä alkuperäisessä näytteessä olleen DAK:n, että sitoutuneen AKD:n määrä erikseen näytteistä

$$\text{määrä}_{AKD} = \frac{A_n \cdot m_s}{A_s \cdot m_N} \cdot k, \quad (3)$$

jossa  $A_n$  on näytteestä GC:llä saadun grammin ketonipiikkien pinta-alojen summa,  $m_s$  on näytteeseen lisätyn sisäisen standardin massa,  $A_s$  on saadun grammin sisäisen standardin intensiteettiä piikin pinta-ala,  $m_N$  on uutetun kartonkinäytteen massa kuivaksi laskettuna. Tulos ilmoitetaan yleisesti muodossa mg/g kartonkia. Kaavassa esitetty  $k$  on AKD:n ketoneja vastaavalla standardilla määritetty tulosta korjaava vastekerroin. Vastekerroin määritetään kaavalla

$$k = \frac{A_s \cdot m_n}{A_n \cdot m_s}, \quad (4)$$

jossa  $m_n$  on näytteeseen punnittu standardin massa.

Tulosten pienen sisäisen vaihtelun vuoksi on hyvä määrittää rinnakkaisia mittauksia tehdessä tulosten keskiarvot jakamalla tulosten summa mittausten lukumäärällä. Keskiarvoille määritetään myös korjatut keskivirheet,  $\sigma_{\bar{x}}$ , jotka saadaan laskettua kaavalla

$$\sigma_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{N}}, \quad (5)$$

jossa  $S$  on korjattu keskihajonta ja  $N$  on rinnakkaisten mittausten lukumäärä. Korjattu keskihajonta lasketaan kaavalla

$$S = \sqrt{\frac{1}{N-1} \cdot \sum_1^N (x - \bar{x})^2}, \quad (6)$$

jossa  $x$  on yksittäisen mittauksen tulos ja  $\bar{x}$  tulosten keskiarvo. Korjattua keskihajontaa käytetään niissä tilanteissa, joissa keskihajonnan avulla on tarkoitus laskea keskiarvon keskivirhettä, tai kaikkien mitattujen näytteiden (populaation) varianssia yleisen varianssin sijaan. Tässä työssä variansseja ei erikseen määritetä, jolloin korjattu keskihajonta on parempi vaihtoehto virheen määrittämiseen.

Kokonais-AKD:n määrittämisellä kyetään varmentamaan aikaisemmin esitelty Yhdysvaltojen FDA:n määräys AKD:n käytöstä massaliimauksessa. Jotta kartonkituotteet täyttävät myös vaatimukset Euroopassa, lähinnä saksalaisen BfR:n migraatorajan 5 mg/kg elintarviketta, täytyy myös AKD:n migraoitumista elintarvikkeisiin analysoida.

### 4.3 AKD-migraation analysointimenetelmät

AKD:n migraatioon kartongista ei ole määritetty omia standardeja, mutta tähän voidaan käyttää soveltuvilta osin Suomessa ja Euroopassa voimassa olevia standardeja SFS-EN 1186 ja SFS-EN 14338, jotka ohjeistavat migraation tutkimista muovisille elintarvikekontaktimateriaaleille (SFS-EN 1186) ja yleisesti kartongin migraation analysointiin (SFS-EN 14338). Myös standardista EN 15519:2007 löytyy AKD:n analysointiin sopivia menetelmiä.

AKD-migraation simuloinnissa käytettävien simulanttien valintaan vaikuttaa oletettu kartongin kanssa kontaktissa olevan tuotteen koostumus. SFS-EN 1186-1 standardissa käsitellään migraatio-olosuhteiden ja simulanttien valintaa tarkasti riippuen oletetuista tuotteiden koostumuksista. Rasvaisten elintarvikkeiden simuloimiseen standardi suosittelee käyttämään oliiviöljyä tai vaihtoehtoista simulanttia. Vaihtoehtoisen simulantin soveltumiseen vaikuttaa sen kyky sitoa DAK:ta itseensä. Vaihtoehtoisen simulantin on kyettävä sitomaan yhtä paljon tai enemmän DAK:ta itseensä, kuin oliiviöljyn. Koska tämä standardi on luotu kokonaismigraation määrittämiseen muoveista, ei tämä sovellu yhtä hyvin huokoisten materiaalien, kuten päällystämättömän kartongin, kokonaismigraation määrittämiseen. Tästä huolimatta SFS-EN 1186-1:stä käytetään yleisesti myös kartongin kokonaismigraation määrittämiseen.

Lestido-Cardama *et al.* vuonna 2020 julkaisemassa tutkimuksessa *Dialkylketones in Paperboard Food Contact Materials—Method of Analysis in Fatty Foods and Comparative Migration into Liquid Simulants Versus Foodstuffs* vertasi ryhmän tekemiä iso-oktaanilla ja oliiviöljyllä simuloituja migraatioanalyysyjä todellisilla elintarvikkeilla toteutettuihin migraatioanalyysihin. Tutkimuksessa havaittiin simuloinnin antavan huomattavasti korkeampia tuloksia öljyillä ja varsinkin iso-oktaanilla, kuin todellisilla rasvaisilla ruoilla tehdyissä migraatiokokeissa. Tutkimuksessa ryhmä suoritti migraatioanalyysyjä dikloorimetaanilla, iso-oktaanilla, oliiviöljyllä, auringonkukkaöljyllä sekä erilaisilla juustoilla, salamimakkaralla ja kroissantteilla. Tuloksissa todellisilla rasvaisilla ruoilla saatiin selkeästi matalampia migraatiotuloksia, iso-oktaaniin saatiin ketoneja migratoitumaan 95 mg/kg ja oliiviöljyyn 57 mg/kg, kun taas juustoihin saatiin noin 0,1 mg/kg ja kroissanttiin vaivaiset 0,018 mg/kg.

Selkeästi standardissa määritellyt migraatiosimulantit antavat siis tulokset moninkertaisena todellisuudessa tapahtuvaan migraatioon. Korkeat migraatiotulokset on otettu huomioon myös standardissa SFS-EN 1186-1, jonka liitteissä on esitettyä erilaisia vähennyskertoimia tietyille elintarviketyypeille. Nämä auttavat muuntamaan korkeita pitoisuuksia loogisemmalle tasolle, mutta jäävät silti suuriksi verrattuna todellisissa elintarvikkeissa tapahtuvaan migraatioon. Öljymäisten yhdisteiden migraatiolle ei kuitenkaan ole vähennyskertoimia.

AKD:n migraatiota voidaan analysoida myös standardin SFS-EN 14338 mukaisesti. Tässä standardissa käytetään simulanttina nestemäisten liuottimien sijaan kiinteää modifioitua polyfenyleenioksidia, eli Tenax®:ia. Tämä vastaa paremmin elintarvikkekontaktia kartongin kanssa, sillä Tenax® ei imeydy kartonkiin ja oletettavasti migraatiotulokset ovat tämän standardin mukaisesti tehtynä matalammat verrattaessa SFS-EN-1186-1 mukaisesti tehtyihin migraatioihin.

Simulanttien lisäksi migraatiossa täytyy ottaa huomioon oletettu kontaktiaika elintarvikkeen kanssa sekä lämpötila, missä tuotetta käytetään. Analyysissä käytettävän lämpötilan sekä kontaktiajan valintaan löytyy ohjeistus standardista SFS-EN-1186-1. Yleinen elintarvikkeiden kanssa oleva kontaktiaika oletetaan olevan yli 24 tuntia ja säilytyslämpötilan olevan alle 40 °C. Näitä käyttöolosuhteita vastaavat migraatio-olosuhteet on esitetty taulukossa 2.

Taulukko 2. Migraatio-olosuhteet oliiviöljylle, iso-oktaanille sekä Tenax®:lle

Näyte	Lämpötila (°C)	Migraatioaika (h)
Iso-oktaani	20	48
Oliiviöljy	20	240
Tenax®	60	240

Kartongista migratoituu DAK:ta migraatioanalyysissä elintarvikesimulantteihin. Tämä migratoitunut DAK uutetaan simulantista pois orgaanisella liuottimella analysointia varten, kuten kokonais-AKD:n määrittämisessä. Migratoituneet ja uutetut yhdisteet kyetään määrittämään esimerkiksi GC:llä ja saaduilla tuloksilla on mahdollista määrittää migratoituneen AKD:n määrä kontaktipinta-alaa kohden kaavalla

$$\text{määrä}_{\text{mig.AKD}} = \frac{m_s}{A_k} \cdot \frac{A_n}{A_s}, \quad (7)$$

jossa  $A_k$  on migraatiossa simulantin kanssa kosketuksissa olleen kartongin pinta-ala neliödesimetreinä,  $m_s$  sisäisen standardin massa milligrammoina,  $A_s$  sisäisen standardin retentiopiikin pinta-ala ja  $A_n$  migratoituneen DAK:n retentiopiikkien pinta-alojen summa. Migratoituneen AKD:n määrä saadaan muunnettua AKD:n määräksi kiloa elintarviketta kohden kertomalla tulos  $6 \text{ dm}^2/\text{kg}$ :lla. Tämä kerroin perustuu EU-kuutiomalliin, missä oletetaan elintarvikepakkauksen soveltuvan yhdelle kilolle elintarviketta ja tämän pakkauskuution tilavuuden olevan yksi litra, pinta-alaa pakkauksella on siis  $6 \text{ dm}^2$ . Jakamalla elintarvikkeen oletettu massa oletetun pakkauksen pinta-alalla, saadaan yllä mainittu kerroin migraatiolaskuja varten.

#### 4.4 Mittausmenetelmien validointi

Käytetyt mittausmenetelmät täytyvät olla validoituja, mikäli menetelmällä pyritään identifioimaan yhdisteitä, kvantifioimaan epäpuhtauksia tai yhdisteen komponentteja tai määrittämään raja-arvoja.<sup>48</sup> Menetelmän käyttötarkoituksen mukaan validoinnissa täytyy arvioida erilaisia validointimenetelmiä. Tärkeimpänä validoinnin kannalta on toteamis- ja havainnointirajat. Tässä työssä validointia käsitellään kaasukromatografian näkökulmasta.

Tyypillisesti havainnointi- ja määritysraja kaasukromatografiassa määritetään kalibrointisuoran kautta. Kalibrointisuora tehdään ajamalla näytteitä, jotka sisältävät tunnettuja konsentraatioita samoja komponentteja mitä analysoidavassa näytteessä oletetaan olevan. Konsentraatioiden ja GC:n antamien tulosten perusteella kalibrointisuora määritetään esimerkiksi taulukkolaskentaohjelmalla tai kalibrointisuoran mittausmenetelmällä. Kalibrointisuoran parametreilla kyetään määrittämään havainnointiraja,  $LOD$ , kaavalla<sup>45</sup>

$$LOD = 3,3 \cdot \frac{\sigma_b}{a}, \quad (8)$$

missä  $\sigma_b$  kalibrointisuoran leikkauspisteen keskihajonta ja  $a$  on kalibrointisuoran kulmakerroin. Myös määrittäysraja,  $LOQ$ , kyetään määrittämään kalibrointisuoran parametreilla kaavalla

$$LOQ = 10 \cdot \frac{\sigma_b}{a}. \quad (9)$$

Tämä laskentatapa voi kuitenkin antaa liian suuret arvot havainnointi- ja määrittäysrajoille, ottaen huomioon, että kalibrointisuoran näytteiden pitoisuuksien laskeminen vaikeutuu huomattavasti hyvin pieniä pitoisuuksia määritettäessä. Tästä syystä  $LOD$  ja  $LOQ$  kannattaa määrittää menetelmällä, joka perustuu signaali-kohinasuhteeseen. Signaali-kohinasuhde voidaan määrittää European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCaren mukaan jokaiselle mittaussarjalle laskennallisesti GC-FID:ltä saatujen tyhjen näytteiden mittauspisteiden avulla.<sup>46</sup> Graafit antavat intensiteetit ajan funktiona, yksittäistä mittauspistettä tietyllä ajanhetkellä  $t$  kuvataan merkinnällä  $a_t$ .

GC:n tulokset koostuvat yksittäisistä mittauspisteistä, jotka sisältävät tiedon kuluneesta ajasta sekä intensiteetistä, minkä näyte antaa kyseisellä ajanhetkellä. Signaali-kohinasuhdetta varten täytyy määrittää ensin yksittäisten mittauspisteiden lukumäärä tietyllä aikavälillä, pohjaviivan määrittämistä varten. European Pharmacopoeian 11. painos määrittelee aikavälin pituudeksi 20 kertaa analysoitavan intensiteettiäkin puolivälin leveyden. Yksittäisten mittauspisteiden lukumäärä tietyllä aikavälillä lasketaan kaavalla

$$f(x) = \sum_{t=i}^m x_t, \quad (10)$$

missä  $x_t = 1$  jos  $x_t = a_t$  ja  $x_t = 0$  jos  $x_t \neq a_t$ . Pohjaviivan korkeutta varten täytyy laskea myös mittauspisteiden intensiteettien summa. Mittauspisteiden intensiteettien summa  $n(a)$  tietyllä aikavälillä lasketaan kaavalla

$$n(a) = \sum_{t=i}^m a_t, \quad (11)$$

missä  $a_t$  on mittauspisteen intensiteetti. Tyhjän näytteen mittauspisteiden intensiteettien keskiarvo,  $\bar{x}$ , kuvastaa mittauksen laskennallista pohjaviivaa. Pohjaviivan voidaan olettaa pysyvän vakiona koko mittauksen ajan, joten se voidaan laskea käyttämällä aiemmin esitettyä aikaväliä.

$$\bar{x} = \frac{n(a)}{f(x)} \quad (12)$$

Tätä laskennallista pohjaviivaa hyödynnetään määrittämään ero laskennallisen pohjaviivan ja laitteiston mittaamien intensiteettien välillä ajanhetkien  $t$  ja ajanhetkien  $m$  välillä, missä todellisten näytteiden analysoitavien yhdisteiden intensiteettiä sijaitsevat. Tätä eroa kuvataan merkinnällä  $u$ . Signaali-kohinasuhde  $S/N$  määritetään kaavalla

$$S/N = \sqrt{\frac{\sum_{t=i}^m u_t^2}{f(x)}}. \quad (13)$$

Signaali-kohinasuhdetta hyödyntämällä voidaan laskea määrittämis- ja havainnointirajat alla esitetyillä kaavoilla 14 ja 15.

$$LOD = 3 \cdot S/N \quad (14)$$

$$LOQ = 10 \cdot S/N \quad (15)$$

Mittausmenetelmien validoinnissa täytyy määrittää havainnointi- ja määrittämisrajojen lisäksi myös muita suureita, joilla kyetään varmentamaan menetelmien toimivuus niiden käyttötarkoituksiin. Tällaisia suureita ovat mittauksen tarkkuus, laitteiston toistotarkkuus,



toistettavuus, mittausalueen lineaarisuus ja lineaarisuuden alue. Näiden suureiden lisäksi validointiin voidaan lisätä laskennallisia menetelmiä, kuten T- ja f-testejä.

Validoinnissa spesifisyys tarkoittaa menetelmän kykyä mitata analysoitavaa parametria, kuten yhdisteen pitoisuutta. Spesifisyyttä määritettäessä on kyettävä todentamaan, että analyysin antaman tulokset vastaavat analysoitavaa yhdistettä. Validoinnin tarkkuus tarkoittaa menetelmän kykyä antaa tuloksia, jotka ovat riittävän lähellä todellisia pitoisuuksia. Tätä voidaan testata esimerkiksi analysoitavaa näytettä vastaavilla sisäisillä standardeilla, joiden pitoisuudet tunnetaan. Toistotarkkuus taas tarkoittaa mittauksen kykyä antaa samasta näytteestä tuloksia, jotka ovat riittävän lähellä toisiaan. Toistotarkkuuden raja-arvoksi on määritelty variaatiokerroin, %RSD, jonka on oltava pienempi kuin kaksi prosenttia. Mittauksen lineaarisuudella kuvataan mittauksen kykyä määrittää eri pitoisuuksia tarkasti ja lineaarisuuden alueella sitä aluetta, jossa mittauksen tulokset ovat lineaarisia.

Yleisesti menetelmän käyttötarkoituksen perusteella valitaan joko suurempi määrä validointimenetelmiä, tai vähentää niitä tulosten kannalta tarpeettomina. Mikäli menetelmällä on tarkoitus vain ilmaista, onko näytteessä tiettyä komponenttia, menetelmän validoinniksi riittää testata menetelmän spesifisyyttä. Jos menetelmällä pyritään määrittämään tarkasti pitoisuuksia, täytyy validointimenetelmiä suorittaa useampia. Epäpuhtauksien ja yhdisteen komponenttien havaitsemista varten validoinniksi riittää havainnointirajan ja spesifisyyden määrittäminen, kun taas kvantifiointia varten yllä esitetyistä menetelmistä täytyy suorittaa kaikki havainnointirajaa lukuun ottamatta, vaikka tämäkin voidaan määrittää kvantifiointirajasta.

Mittausten tarkkuutta kyetään arvioimaan niissä mittauksissa, jossa menetelmä voidaan toistaa myös suoraa kartonginvalmistuksessa käytetyillä AKD-vahoilla. Tämä rajaa tarkkuuden määrittämisestä pois migraatiot, sillä tutkielman aikana ei ollut mahdollista valmistaa massaliimattua kartonkia, jonka massaliiman pitoisuus olisi tunnettu. Menetelmien tarkkuuden määrittämisessä tarkastellaan näytteiden GC:ltä saatujen tulosten avulla laskettuja ja ns. todellisia, analyysissä valmistettuja, konsentraatioita. Tämä selittää, miksi tarkkuus kyetään tekemään vain osalle mittauksista. Kaupallisia vahoja käytettäessä voidaan määrittää näytteiden konsentraatiot tuotteiden tietojen perusteella, jolloin konsentraatioiden tarkastelu on

mahdollista. Laskennallinen konsentraatio määritetään kalibrointisuoran avulla. Kalibrointisuorasta muokataan kaava, jossa takaisinsaanto on mahdollista laskea. Tämän kaavan muoto on esitetty alla olevassa kaavassa

$$C_l = \frac{A_k - b}{m}, \quad (16)$$

jossa  $A_k$  on GC:ltä saatu ketonipiikkien pinta-alojen summa,  $b$  on kalibrointisuoran y-akselin leikkauspiste ja  $m$  on suoran kulmakerroin. Vakioarvot  $b$  ja  $m$  saadaan määritettyä kalibrointisuorasta ja  $A_k$  saadaan GC:llä ajettujen tarkkuusnäytteiden tuloksista. Tätä laskettua konsentraatiota verrataan kokeellisesti valmistettuun, ns. todelliseen, konsentraatioon. Todellinen konsentraatio lasketaan alla olevalla kaavalla

$$C_t = \frac{m \cdot vaha\%}{V_a} \cdot k_l, \quad (17)$$

jossa  $m$  on kaupallisen vahaliuoksen punnittu massa,  $vaha\%$  on kaupallisen tuotteen vahaprocentti,  $V_a$  on alkuperäisen liuoksen tilavuus ja  $k_l$  on laimennoskerroin.

Käytettävän GC:n soveltuvuutta AKD-pitoisuuksien määrittämiseen arvioidaan myös laitteiston toistotarkkuudella. Tässä validointimenetelmässä GC:llä ajetaan samasta näytteestä monta peräkkäistä ajoa ja näiden mittauksen tuloksia käytetään variaatiokerroimen laskemiseen. Variaatiokerroin,  $\%RSD$ , lasketaan kaavalla

$$\%RSD = \frac{S}{\bar{x}} \cdot 100 \%, \quad (18)$$

jossa  $S$  on kaavassa 6 esitetty korjattu keskihajonta.

Myös analyysin tekijä saattaa vaikuttaa analyysien tuloksiin, jolloin myös tämän vaikutusta täytyy arvioida menetelmien validoinnissa. Toistettavuutta arvioidaan teettämällä samat

mittaukset menetelmän kehittäjän lisäksi jollain muulla henkilöllä laadittujen ohjeiden mukaisesti.

Jotta eri näytteiden tuloksia voitaisiin vertailla luotettavasti, täytyy eri näyteryhmien varianssien olla samoja. Tätä varten tutkielmassa käytetään laskennallista F-testiä, jolla voidaan vertailla eri näyteryhmien variansseja keskenään. F-testi kahdelle näyteryhmälle määritetään kaksisuuntaisella testillä, missä nollahypoteesina toimii näyteryhmien varianssien yhtäsuuruus. F-testin testisuure,  $F$ , määritetään seuraavalla kaavalla

$$F = \frac{S_2^2}{S_1^2}, \quad (19)$$

jossa  $S_2$  on sen näyteryhmän keskihajonta, joka on suurempi ja  $S_1$  sen näyteryhmän keskihajonta, joka on pienempi. Tätä testisuureta verrataan F-jakauman vertailuarvoon  $F_\alpha$ . Kahden näyteryhmän varianssien vertailua varten  $\alpha$ :n arvoksi valitaan 0,05 ja tämä F-jakauman taulukko on esitetty liitteessä 1. F-tilukkoa luetaan seuraavasti: taulukon ylärivillä on näyteryhmän 1 vapausaste  $df_1$  ja vasemmassa sarakkeessa näyteryhmän 2 vapausaste  $df_2$ . Vapausasteet lasketaan alla olevalla kaavalla

$$df_m = n_m - 1, \quad (20)$$

jossa  $df_m$  on näyteryhmän  $m$  vapausaste ja  $n_m$  näyteryhmän  $m$  rinnakkaisten näytteiden lukumäärä. Taulukosta etsitään solu, joka vastaa kummankin näyteryhmän vapausastetta ja tätä arvoa verrataan kaavalla 19 laskettuun  $F$  arvoon. Menetelmän nollahypoteesi on, että näyteryhmien varianssit ovat samoja. Mikäli testiarvo  $F$  on pienempi kuin vertailuarvo  $F_\alpha$ , ei nollahypoteesia voida sulkea pois, jolloin varianssien voidaan olettaa olevan yhtä suuria ja eri näyteryhmien tuloksia voidaan täten verrata keskenään.

## **Kokeellinen osuus**

### **5 Eri AKD-laatuojen koeajot kartonkitehtaalla**

Tutkielmaan liittyvissä koeajoissa valmistettiin massaliimattua kartonkia kolmella eri AKD-laadulla, jotka poikkesivat toisistaan. Koeajoissa käytettiin polymeeristabiloitua kationista C18 pohjaista AKD:tä, tärkkistabiloitua kationista C18 pohjaista AKD:tä sekä tärkkistabiloitua ja promovoitua kationista C18 pohjaista AKD:tä. Näistä AKD-laaduista käytetään tästä eteenpäin lyhenteitä PKC18, TKC18 ja TPKC18. AKD-laatuojen kokonaispitoisuuksia ja retentoitumista sekä kartonkien hydrofobisuutta arvioidaan näistä näytteistä.

Koeajoissa valmistettujen kartonkinäytteiden AKD-massaliiman osuus kartongin kokonaisuudesta oli alle kaksi prosenttia, jolloin Kiinan GB9685-2016 standardi sekä Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkeviraston määräys 21CFR178.3870 toteutuvat. Jokaisesta AKD-laadusta saatiin kaksi eri erää näytteitä. Toinen näyte-erä otettiin välittömästi koeajon yhteydessä konerullalta ja toisen erän annettiin kypsyä rullalla muutama viikko. Kypsytyksellä haettiin samoja kartongin ikä, kuin asiakkaille myytävissä kartongeissa, jolloin AKD-pitoisuuksien tulokset vastaisivat mahdollisimman hyvin kuluttajille päätyvissä tuotteissa olevia AKD-pitoisuuksia. Tuoreista näytteistä määritettiin pelkästään kokonais-AKD, kypsytyksistä näytteistä analysoitiin tämän lisäksi migraatiota erilaisiin simulanteihin. Tutkielmassa erotetaan tuoret AKD-näytteet kypsytyksistä näytteistä lisäämällä lyhenteiden perään joko kirjain T (tuore) tai K (kypsä). Esimerkiksi kypsytyksistä polymeeristabiloidusta kationisesta C18 pohjaisesta AKD-näytteestä käytetään lyhennettä PKC18K.

### **6 AKD pitoisuuden määrittäminen**

Kokeellisessa osuudessa analyysilaboratoriossa käytetyt reagenssit sekä mittalaitteet ja välineet on esitetty alla olevissa taulukoissa 3 ja 4. Näiden välineiden lisäksi käytössä oli myös normaaliin analyysilaboratorioon kuuluvat lasiastiat.

Taulukko 3. Käytetyt reagenssit, niiden valmistajat sekä CAS-numerot

Reagenssi	Valmistaja	CAS-no
Modifioitu polyfenyleenioksidi (Tenax®)	Supelco	24938-68-9
Dikloorimetaani	Supelco	75-09-2
Dotriakontaani (C32)	Fluka	544-85-4
Etanoli (ETAX A)	Anora Group Oyj	64-17-5
Iso-oktaani	Sigma-Aldrich	540-84-1
Kaliumhydroksidi	MERCK	1310-58-3
n-Heksaani	Supelco	110-54-3
Natriumsulfaatti	Supelco	7757-82-6
Oliiviöljy	Thermo Scientific	8001-25-0
Suolahappo 37 %	Supelco	7647-01-0

Taulukko 4. Käytetyt laitteistot ja välineet, niiden valmistajat ja mallit

Laite	Valmistaja	Malli
Automaattinen näytteensyöttäjä	Agilent Technologies	7693
Cobb testilaitteisto	Lorenzen & Wettre	L&W COBB SIZING TESTER
GC systeemi	Agilent Technologies	7890A
GC systeemi	Agilent Technologies	7890B
Lämpöhaude	Electrothermal	EME31000/CEB
Lämpökaappi	Heraeus	D-6450 Hanau
Lämpökaappi	Binder	IP20
Lämpömittari	Testo	835-T1
Massadetektori	Agilent Technologies	5977B
Pyörivä ravistin	VWR	Advanced digital shaker
Pyöröhaihdutin	Heidolph	Hei-VAP Advantage
Sekoittava vesihaude	GFL	1083
Vaaka	Mettler Toledo	MS204TS
Vaaka	Mettler Toledo	MS603TS

Tutkielman kokeellisessa osuudessa määritettävien AKD-pitoisuuksien näytteet valmistettiin Metsä Boardin kartonkitehtaan koeajoissa kesällä 2023. Ennen koeajoja tutkimuslaboratoriossa harjoiteltiin käytössä olleita analyysimenetelmiä ja pyrittiin havaitsemaan työvaiheet, jotka voisivat tuottaa GC:ltä saatuihin graafeihin ylimääräisiä intensiteetti- ja pitoisuuspiikkejä. Tällaisia näytteen valmistamiseen liittyviä tekijöitä vaikuttivat olevan liian korkeat lämpötilat sekä emäksen vahvuus hydrolysoinnissa. Kokonais-AKD:n ja Tenax®:lla simuloitujen migraatioiden määritykset testattiin analyysilaboratoriossa olleilla näytteillä. Näiden näytteiden perusteella havaittiin, että kolme AKD-piikkiä retentoituivat aikaväleillä 15-16 min, 17-18 min ja 20-21 min. Ensimmäisenä retentoitunut piikki vastaa C16 pohjaista AKD:ta ja kaksi jälkimmäistä C18 pohjaista AKD:ta. Nämä näytteet ajettiin myös GC-MS:llä, jolla varmennettiin intensiteettien vastaavuudet C16 ja C18 pohjaisiin AKD massaliimoihin.

GC:lle määritettiin myös kalibrointisuora C16:C18 standardinäytteen seitsemällä eri pitoisuudella. Näytteet valmistettiin kolmena todellisena rinnakkaisena näytteenä. Mittausta varten tehty emäliuos valmistettiin liuottamalla 8,1 mg C16:C18 standardia 10 ml:aan dikloorimetaania. Kalibrointinäytteet laimennettiin taulukossa 3 esitettyihin pitoisuuksiin mittaamalla emäliuosta tietty määrä automaattipipetillä ampulliin ja laimentamalla näytettä iso-oktaanilla siten, että lopullisen näytteen tilavuus oli 1,5 ml. Kalibrointisuoran mittaukset, sekä myöhemmät mittaukset suoritettiin GC-FID:llä (GC systeemi 7890A). GC:llä suoritettavien mittausten parametrit on esitetty liitteessä 2. GC:n antamien AKD-intensiteetti- ja pitoisuuspiikkien pinta-alojen summa on esitetty myös liitteessä 3.

Analyysin havainnointi- ja määritysrajat määritettiin ensin kalibrointisuoran avulla kaavoilla 8 ja 9. Laskut on esitetty alla. Myöhemmin tutkielmassa havaittiin kalibrointisuoralla määritettyjen havainnointi- ja määritysrajojen olevan liian korkeita Tenax®:lla simuloitujen migraatioiden tulosten määrittämistä varten, mistä johtuen *LOD* ja *LOQ* päätettiin määrittää GC:ltä saadun datan signaali-kohinasuhteen avulla jokaiselle mittausjoukolle kaavoilla 10-15. Esimerkkilasku eräälle mittausjoukolle on esitettyä alla kalibrointisuoralla määritettyjen *LOD*:n ja *LOQ*:n jälkeen. Testimittausten datan perusteella signaali-kohinasuhteen määrittämistä varten valittiin kymmenen minuutin aikaväli, 12 minuutista 22 minuuttiin, jolloin AKD on kerennyt eluoitua. Tämä aikaväli täyttää European Pharmacopoeia:n määrittelemän

aikavälin, sillä leveämmän piikin puolivälissä intensiteettiinkin leveys oli rinnakkaisissa mittauksissa korkeintaan puoli minuuttia.

Saadusta datasta määritettiin ensin mittauspisteiden lukumäärä valitulla aikavälillä kaavalla 10. Mittauspisteiden valtavan lukumäärän vuoksi kaavoissa esitetyt summat laskettiin Excelillä.

$$f(x) = \sum_{t=12}^{22} x_t \quad (10)$$

$$f(x) = 12000 \frac{1}{10 \text{ min}}$$

Mittauspisteiden lukumäärän määrittämisen jälkeen laskettiin tyhjän näytteen pohjaviivan intensiteettien summa valitulla aikavälillä kaavalla 11.

$$n(a) = \sum_{t=12}^{22} a_t \quad (11)$$

$$n(a) = 54022,323 \dots \frac{\text{pA}}{10 \text{ min}}$$

Mittauspisteiden lukumäärän ja intensiteettien summan avulla määritettiin pohjaviivan korkeus, eli tyhjän näytteen signaalin keskiarvo, kaavalla 12.

$$\bar{x} = \frac{n(a)}{f(x)} \quad (12)$$

$$\bar{x} = \frac{54022,323 \dots \frac{\text{pA}}{10 \text{ min}}}{12000 \frac{1}{10 \text{ min}}}$$

$$\bar{x} = 4,50186 \dots \text{pA}$$

Signaali-kohinasuhteen laskemista varten tarvittavat mittauspisteiden intensiteettien ja laskennallisen keskiarvon erotukset sekä näiden erotusten neliöt laskettiin Excelillä mittauspisteiden suuren lukumäärän vuoksi. Tämän jälkeen signaali-kohinasuhde laskettiin kaavalla 13.

$$S/N = \sqrt{\frac{\sum_{t=i}^m u_t^2}{f(x)}} \quad (13)$$

$$S/N = \sqrt{\frac{1638,978 \dots \frac{\text{pA}}{10 \text{ min}}}{12000 \frac{1}{10 \text{ min}}}}$$

$$S/N = 0,369 \dots \text{pA}$$

Signaali-kohinasuhdetta hyödyntäen laskettiin mittaukselle havainnointiraja kaavalla 14.

$$LOD = 3,3 \cdot S/N \quad (14)$$

$$LOD = 3,3 \cdot 0,369 \dots \text{pA}$$

$$LOD = 1,108 \dots \text{pA}$$

Myös mittauksen määrittäjäraja laskettiin signaali-kohinasuhdetta hyödyntäen kaavalla 15.

$$LOQ = 10 \cdot S/N \quad (15)$$



$$LOQ = 3,695 \dots \text{pA}$$

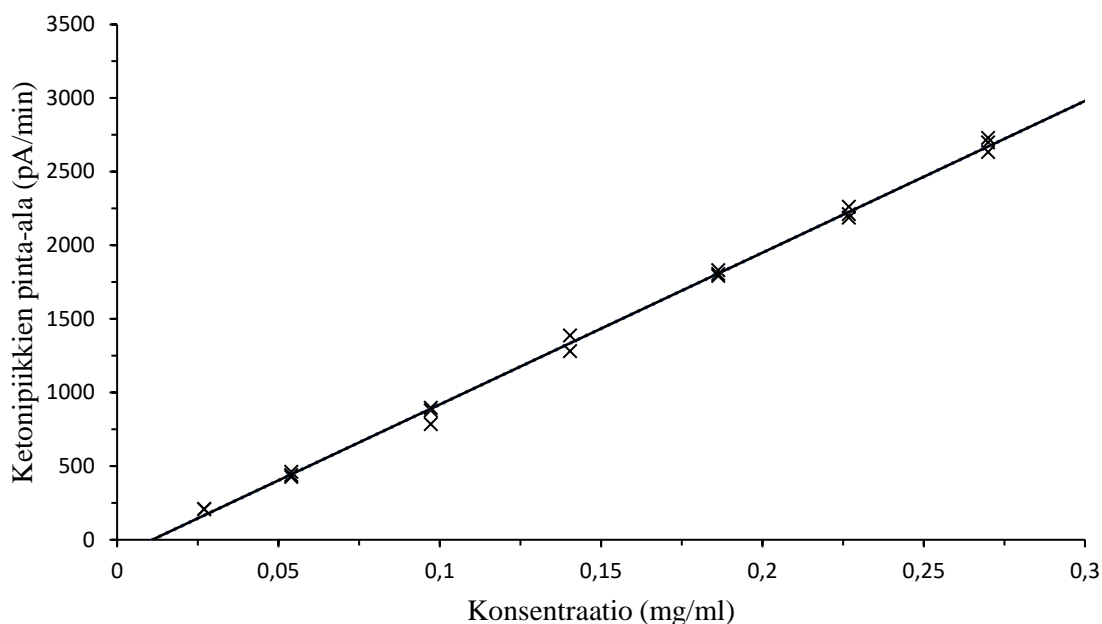
Kalibroitaisuoran kolmen pienimmän pitoisuuden mittausten sisäisten standardien sekä AKD-piikkien intensiteettien suuruudet on esitetty taulukossa 5. Verrattaessa tämän taulukon AKD-piikkien intensiteettejä laskettuihin havainnointi- ja määrittäysrajoihin, voidaan todeta analysoitavien AKD-piikkien intensiteettien olevan riittävän suuria määrittystä varten lukuun ottamatta yhtä poikkeusta, joka on merkitty taulukkoon tähdellä. Myös tämän mittauksen AKD-piikit voitiin havaita, mutta intensiteetit olivat liian heikkoja pitoisuuden määrittämiseen riittäväällä varmuudella, joten tämä mittauspiste jätettiin pois kalibroitaisuoralta. Korkeampien pitoisuuksien intensiteetit jätettiin merkitsemättä taulukkoon 5, sillä niiden sisältäessä korkeampia pitoisuuksia, myös intensiteetit ovat varmasti korkeampia kyseisillä näytteillä.

Taulukko 5. Kalibroitaisuoran AKD-piikkien (Ak1-Ak3) sekä sisäisen standardin (C32) intensiteetit

Rinnakkaiset	C32 (pA)	Ak1 (pA)	Ak2 (pA)	Ak3 (pA)
1.1*	462,2	3,4	6,4	2,5
1.2	443,9	5,4	11,8	4,1
1.3	441,0	5	10,1	3,8
2.1	447,6	12,6	35,2	11,2
2.2	460,8	12,8	32,1	9,9
2.3	486,8	12,1	31,1	9,2
3.1	487,4	12,9	31,8	10
3.2	467,2	26,3	75,4	22,6
3.3	485,5	29,7	86,4	27,4

\*Mittauksen intensiteettiapiikit liian matalia pitoisuuden määrittämiseen

Kalibroitaisuoraa varten tuloksista karsittiin pois myös rinnakkaiset mittaukset 3.1 sekä 4.1. Nämä mittauspisteet karsittiin pois näytteiden laimentaessa tapahtuneiden virheiden vuoksi. Loput mittaustulokset sijoitettiin kuvaajaan, ja siihen sijoitettiin lineaarinen suora. Kalibroitaisuora on esitetty alla kuvassa 15. Kalibroitaisuoran yhtälö on muotoa  $y=mx+b$  ja muuttujien  $m$  sekä  $b$  arvot virheineen on esitetty taulukossa 6.



Kuva 15. GC:llä ajettujen kalibrintinäytteiden tulokset ja siihen sovitettu kalibrintisuora.  
Suoran korrelaatiokerroin on 0,998.

Taulukko 6. Suoran muuttujien arvot sekä muuttujien virheet

Muuttuja	Arvo	Virhe
m	10309,95 (pA/min) / (mg/ml)	116,02 (pA/min) / (mg/ml)
b	-112,36 pA/min	19,83 pA/min

Taulukon muuttujia hyödyntäen määritettiin laskennalliset konsentraatiot mittauksen tuloksille kaavalla 16. Tämä tehtiin myös kaikille muille mittauksille osana mittausmenetelmien validointia. Esimerkkilasku laskennallisesta konsentraatiosta on esitettyä alla rinnakkaiselle mittaukselle 1.2.

$$C_l = \frac{A_k - b}{m} \quad (16)$$

$$C_l = \frac{206,78 \frac{\text{pA}}{\text{min}} - 112,36 \frac{\text{pA}}{\text{min}}}{10309,95 \frac{\text{pA}}{\text{min}} / \left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}}\right)}$$

$$C_l = 0,03095 \dots \text{mg/ml}$$

$$C_l = 0,031 \text{ mg/ml.}$$

Kalibrintisuoran mittausten todelliset ja lasketut konsentraatiot sekä näiden mittausten prosentuaalinen ero konsentraatioissa on esitetty liitteessä 4.

Jokaiselle AKD-vahalle määritettiin oma vastekerroin suoraan kaupallisesta tuotteesta. Tuotteet punnittiin vaa'alle 100 ml mittapulloihin, jotta AKD-pitoisuus saatiin riittävän alhaiseksi GC:llä mittaamista varten. Jokainen vastekerroin tehtiin kolmena rinnakkaisena näytteenä mittaamalla 1-2 ml laimennettua näytettä 250 ml tasapohjaiseen kolviin, johon lisättiin 50 ml 0,4 M KOH / 90 % etanolia sekä 1 ml sisäistä standardia. Näytteitä lämmitettiin kaksi tuntia 50 °C lämpötilassa.

Näytteiden lämmityksen jälkeen jäädytettyjen näytteiden pH säädettiin tasolle 1-2. Näytteisiin lisättiin 50 ml iso-oktaania ja näytteitä sekoitettiin tämän jälkeen 5 minuuttia. Iso-oktaanifaasit erotettiin 250 ml erlenmayereihin ja uutto toistettiin 50 millilitralla iso-oktaania. Erotetut iso-oktaanifaasit kuivattiin natriumsulfaatilla ja suodatettiin mustanauhaperin läpi 100 ml tasapohjaisiin kolveihin.

Kuivatut ja suodatetut näytteet haihdutettiin pieneen tilavuuteen, noin 1-2 ml, ja ne ajettiin GC:llä. Näytteiden tarkoilla tilavuuksilla ei ole tulosten kannalta merkitystä, sillä pitoisuudet lasketaan sisäistä standardia hyödyntäen. GC:ltä saaduista tuloksista laskettiin vastekertoimet eri AKD-laaduille kaavalla 4. Alla on esitetty esimerkkilasku vastekertoimen laskemisesta TKC18:n yhdestä rinnakkaisesta mittauksesta ja vastekertoimien tulokset on esitetty taulukossa 7. Alla olevassa laskussa tarvittava AKD:n massa määritettiin AKD-vahasta vahapitoisuuden sekä laimennosten perusteella. Laskettuja vastekertoimia käyttämällä voidaan määrittää kokonais-AKD -pitoisuus kartonkinäytteistä.

$$k = \frac{A_s \cdot m_n}{A_n \cdot m_s} \quad (4)$$

$$k = \frac{2152,03 \frac{\text{pA}}{\text{min}} \cdot 0,6147 \text{ mg}}{2328,57 \frac{\text{pA}}{\text{min}} \cdot 0,251 \text{ mg}}$$

$$k = 1,3643 \dots$$

Vastekertoimet määritettiin kolmena rinnakkaisena määrittymänä, joiden keskiarvot laskettiin. Lisäksi keskiarvon keskivirheet määritettiin eri AKD-laaduille. Esimerkkilasku keskiarvon keskivirheen laskemisesta on esitetty alempana.

$$\sigma_{\bar{x}} = \frac{\sqrt{\frac{1}{N-1} \cdot \sum_1^N (x - \bar{x})^2}}{\sqrt{N}} \quad (5)$$

$$\sigma_{\bar{x}} = \frac{\sqrt{\frac{1}{3-1} \cdot \sum_1^3 (x - 1,3643 \dots)^2}}{\sqrt{3}}$$

$$\sigma_{\bar{x}} = 0,0305 \dots$$

Kartonkinäytteiden saavuttua laboratorioon niitä säilytettiin koko tutkimuksen ajan olosuhdehuoneessa, missä lämpötila oli 23 °C ja ilmankosteus 50 %. Näyteniput oli myös suojattu valolta alumiinifoliolla ja nippuja säilytettiin pahvilaatikoissa.

Taulukko 7. AKD-laatuojen vastekertoimet

AKD-laatu*	Vastekerroin
PKC18	1,78 ± 0,11
TKC18	1,36 ± 0,03
TPKC18	1,72 ± 0,05

\*Lyhenteet avattu pääluvun 5 alussa

Kokonais-AKD:n määrittämistä varten jokaisesta kartonkilaadusta valmistettiin kolme todellista rinnakkaista näytettä eri arkeista tulosten edustavuuden varmistamiseksi. Kartonkiarkit leikattiin 3x25 mm kokoisiksi palasiksi silppurilla. Silputtua kartonkia punnittiin noin 2 g uuttosukkaa kohden, tarkka massa otettiin ylös. Lisäksi jokaisesta arkista määritettiin kuiva-ainepitoisuus punnitsemalla pieni pala arkkia ennen uuniin laittoa ja uunin jälkeen.

Kartonkinäytteissä ollut DAK määritettiin Soxhlet-uuttamalla näytteitä 80 millilitrassa iso-oktaania viiden tunnin ajan, minkä jälkeen iso-oktaani haihdutettiin 1-2 ml tilavuuteen pyöröhaihduttimella ja näytteet analysoitiin GC-FID:llä. Näytteet analysoitiin myös GC-MS:llä, jotta GC-FID:ltä saatujen kromatogrammien piikit pystyttiin todentamaan joko liittymään AKD-piikkeihin, tai liittymään AKD:sta riippumattomiin yhdisteisiin. Kromatogrammien sisäisen standardin piikkiä, AKD-piikkejä sekä aikaisemmin määritettyjä vastekertoimia sekä sisäisen standardin pitoisuutta hyödyntämällä näytteiden sitoutumattoman AKD:n pitoisuudet laskettiin kaavalla 3, josta esimerkkilasku tärkkistabiloidun, kationisen C18 pohjaisen AKD:n yhden rinnakkaisen mittauksen tuloksesta on esitettynä alla. Sitoutumattoman AKD:n tulokset esitetään myöhemmin taulukossa 8 yhdessä sitoutuneen AKD:n sekä kokonais-AKD -pitoisuuden kanssa.

$$\text{määrä}_{AKD} = \frac{A_n \cdot m_s}{A_s \cdot m_N} \cdot k \quad (3)$$

$$\text{määrä}_{AKD} = \frac{9168,62 \frac{\text{pA}}{\text{min}} \cdot 0,248 \text{ mg}}{1783,03 \frac{\text{pA}}{\text{min}} \cdot 2,38516 \text{ g}} \cdot 1,362 \dots$$

$$\text{määrä}_{AKD} = 0,7283 \dots \text{ mg/g}$$

Selluloosakuituihin sitoutuneen AKD:n määrittämistä varten Soxhlet-uutettujen näytteiden annettiin kuivua kaksi päivää, minkä jälkeen kuivuneet näytteet siirrettiin tasapohjaisiin pyörökolveihin. Pyörökolveihin lisättiin 0,4 M KOH / 90 % etanoliliuosta sekä sisäinen standardi, minkä jälkeen näytteitä lämmitettiin noin 90 °C lämpötilassa kaksi tuntia.

Lämmityksen jälkeen näytteiden annettiin viilentyä huoneenlämpöön, minkä jälkeen näytteiden pH säädettiin 2-3 alueelle 1 M suolahapolla. Näytteisiin lisättiin 50 ml iso-oktaania ja niitä sekoitettiin 5 minuuttia. Sekoitettujen näytteiden orgaanisen- ja vesifaasin annettiin erottua, minkä jälkeen orgaaninen faasi kerättiin talteen 250 ml erlenmayeriin. Edellä mainittu uuttaminen toistettiin kolmesti, ja jokaisen näytteen orgaaniset faasit kerättiin omiin erlenmayereihin. Tämän jälkeen orgaaniset faasit kuivattiin mahdollisesta erlenmayereihin siirtyneestä vedestä natriumsulfaatilla ja suodatettiin mustanauhasuodatinpaperin läpi uusiin tasapohjaisiin pyörökolveihin. Näytteet haihdutettiin pyöröhaihduttimella pieneen, noin 1-2 ml, tilavuuteen ja näytteet ajettiin GC:llä. GC:ltä saaduissa kromatogrammeissa esiintyi ylimääräisiä intensiteetti- ja retentioajoilla 18 ja 21 min. Mittaukset uusittiin uusilla näytteillä, mutta lämpötilaksi vaihdettiin 50 °C, loput vaiheet toistettiin yllä esitetyllä tavalla. Lasketulla lämpötilalla ylimääräisiä intensiteetti- ja retentioajoja ei kromatogrammeissa havaittu.

Sitoutuneen AKD:n pitoisuus laskettiin kuten sitoutumattomassa AKD:ssa. Kokonais-AKD - pitoisuus laskettiin lisäämällä sitoutumattoman AKD:n tulokseen sitoutuneen AKD:n tulos. Nämä tulokset on esitetty alla olevassa taulukossa 8. Taulukossa on myös esitettyä prosentuaalisesti, kuinka paljon kypsyttelyyn näytteeseen on jäänyt AKD:ta tuoreesta näytteestä. Rinnakkaisten näytteiden tuloksista määritettiin keskiarvo sitoutuneelle ja sitoutumattomalle AKD:lle, sekä keskiarvojen keskivirheet. Kokonais-AKD -pitoisuuden virhe määritettiin kumulatiivisena virheenä sitoutumattomasta sekä sitoutuneesta AKD:sta. Kypsyttelyjen näytteiden AKD-pitoisuuden prosentuaalinen osuus tuoreiden näytteiden AKD-pitoisuudesta laskettiin kokonais-AKD pitoisuuksien virheiden minimien ja maksimien avulla.

Lämpötilan muuttamisen lisäksi työssä seurattiin sitoutuneen AKD:n määrityksessä käytettävän emäksen vahvuuden vaikutusta analyysituloksiin. Analyysit tehtiin yllä mainitun 0,4 M KOH/ 90 % etanolin lisäksi 2 M KOH/90 % etanolilla. Näissä analyyseissä käytettiin korjattua 50 °C lämpötilaa. GC:ltä saaduissa kromatogrammeissa kyettiin havaitsemaan ylimääräisiä intensiteetti- ja retentioajoja samoilla alueilla, kuin aiemmin 90 °C lämpötilassa toteutetuissa analyyseissä. Nämä ylimääräiset piikit analysoitiin GC-MS:llä ja tunnistettiin.

Taulukko 8. Kartonkinäytteiden AKD-pitoisuudet

Näyte	DAK (mg/g)	AKD (mg/g)	Kokonais- AKD (mg/g)	Prosenttia tuoreesta näytteestä	Prosenttia sitoutunut
PKC18T	1,06 ± 0,01	0,16 ± 0,03	1,22 ± 0,04	-	13,1
PKC18K	0,89 ± 0,01	0,28 ± 0,01	1,17 ± 0,02	95,9	23,9
TKC18T	0,73 ± 0,00*	0,07 ± 0,02	0,80 ± 0,02	-	8,8
TKC18K	0,60 ± 0,01	0,16 ± 0,00*	0,76 ± 0,02	95,0	21,1
TPKC18T	0,95 ± 0,01	0,18 ± 0,01	1,13 ± 0,02	-	15,9
TPKC18K	0,84 ± 0,03	0,22 ± 0,00*	1,06 ± 0,04	93,8	20,8

\*Laskettu virhe pienempi, kuin 0,01 mg/g kartonkia

## 7 Migraatioanalyysit

Monien elintarvikkeiden sisältämä öljy kykenee liuottamaan itseensä rasvaliukoisia yhdisteitä, kuten kuvassa 11 esitettyä AKD:stä hydrolysoitua DAK:ta. Eri kartonkilaaduilla retentoituvan AKD:n määrä sekä hydrolysoituneen DAK:n ja vapaan reagoimattoman AKD:n määrä vaihtelee ja tästä syystä tutkielmassa testattiin yhden AKD-laadun sijaan kolmea eri AKD-laatua näiden erojen havaitsemiseksi. Migraatioanalyysijä todellisilla elintarvikkeilla on haasteellista toteuttaa ja tästä syystä migraation tutkiminen on suuressa roolissa myös tuoteturvallisuuden varmistamisessa.

Migraation simuloimiseen käytettiin Tenax®:ia, iso-oktaania sekä oliiviöljyä. Oliiviöljy sekä iso-oktaani valittiin simulanteiksi, sillä niitä käytetään yleisesti määrittäessä AKD-migraatiota. Tenax® valittiin simulantiksi, sillä tämä on kiinteä simulantti, jonka migraatiotulosten oletettiin olevan huomattavasti matalammat, sillä yhdiste ei imeydy kartonkiin.

Tenax®:lla simuloidut migraatiot suoritettiin punnitsemalla petrimaljassa olevan kartongin päälle Tenax®:ia, minkä jälkeen malja suljettiin ja käärittiin alumiinifolioon, joka suojaa näytettä valolta. Näytteiden annettiin seistä huoneenlämmössä 10 päivää, minkä jälkeen

Tenax®:iin migratoitunut AKD uutettiin iso-oktaanilla ja näytteeseen lisättiin sisäinen standardi. Näyte haihdutettiin pieneen tilavuuteen ja ajettiin GC-FID:llä.

GC:ltä saatujen kromatogrammien perusteella määritettiin elintarvikesimulantteihin migratoituvan AKD:n määrä kaavalla 7. Esimerkkilasku Tenax®:lla simuloitujen migraatiden tulosten laskemisesta on esitetty alla yhdellä PKC18:n rinnakkaisella näytteellä. Tenax®, iso-oktaani- sekä oliiviöljymigraatioiden tulokset lasketaan samalla kaavalla.

$$\text{määrä}_{mig.AKD} = \frac{m_s}{A_k} \cdot \frac{A_n}{A_s} \quad (7)$$

$$\text{määrä}_{mig.AKD} = \frac{0,251 \text{ mg}}{0,95 \text{ dm}^2} \cdot \frac{275,09 \frac{\text{pA}}{\text{min}}}{5647 \frac{\text{pA}}{\text{min}}}$$

$$\text{määrä}_{mig.AKD} = 0,01287 \dots \text{ mg/dm}^2$$

Tästä migratoituneen AKD:n määrästä voidaan määrittää elintarvikekontaktissa migratoituvan AKD:n määrä kertomalla tulos eurooppalaisen kuutiomallin elintarvikekontaktin kertoimella 6 dm<sup>2</sup>/kg. Tällöin elintarvikkeeseen migratoituneen AKD:n määräksi saadaan 0,08 mg/kg elintarviketta. Elintarvikesimulantteihin migratoituvan AKD:n määrät on esitetty taulukossa 9.

Oliiviöljymigraatio suoritettiin leikkaamalla arkeista 0,95 dm<sup>2</sup> kokoisia näytteitä, jotka upotettiin petrimaljoissa 50 ml oliiviöljyä. Petrimaljat suljettiin ja peitettiin alumiinifoliolla, jotta näytteet pysyvät suojattuna valolta sekä kontaminanteilta. Kartonkinäytteiden lisäksi valmistettiin yksi nollanäyte mittaamalla 50 ml oliiviöljyä petrimaljaan ilman kartonkia. Tästä eteenpäin nollanäyte preparoitiin samalla tavalla, kuin analyysinäytteet. Näytteitä pidettiin huoneenlämmössä 10 päivää, minkä jälkeen petrimaljoista mitattiin 5 ml oliiviöljyä tasapohjaisiin pyörökolveihin. Kolveihin lisättiin 50 ml 2 M KOH / 95 % etanolia sekä 1 ml sisäistä standardia. Näytteitä refluksoititiin tunti noin 70 °C:ssa. Jäähdytettyihin näytteisiin lisättiin 50 ml ionivaihdettua vettä ja näytteet uutettiin kahdesti 50 ml iso-oktaania. Orgaaninen faasi erotettiin erlenmayeriin ja kuivattiin mahdollisesta siirtyneestä vesifaasista



natriumsulfaatilla. Kuivattu orgaaninen faasi suodatettiin mustanauhasuodatinpaperin läpi uuteen tasapohjaiseen kolviin ja erlenmayer pestiin kahdesti 10 ml puhtaalla iso-oktaanilla. Pesuliuos lisättiin orgaaniseen faasiin, näyte haihdutettiin pieneen tilavuuteen ja ajettiin GC-FID:llä. Migraatioiden tulokset on esitetty taulukossa 9.

Iso-oktaaniuutto toteutettiin leikkaamalla arkeista 0,95 dm<sup>2</sup> näytepalat näyttestanssilla, minkä jälkeen näytteet leikattiin riittävän pieniksi palasiksi, että ne saatiin siirrettyä 250 ml hiokselliseen tasapohjaiseen kolviin. Pyörökolviin lisättiin 125 ml iso-oktaania ja kolvi suljettiin korkilla. Kolviin merkittiin tussilla nestepinnan raja, jotta kolvin tiiveys kyettiin tarkastamaan helposti migraatioajan jälkeen. Näytteiden annettiin seistä huoneenlämmössä 48 tuntia, jonka jälkeen migraatiossa käytetty iso-oktaani suodatettiin uuteen 250 ml tasapohjaiseen kolviin. Migraatioastia sekä näytteet pestiin kahdesti 25 ml puhtaalla iso-oktaanilla ja pesuissa käytetyt iso-oktaanit lisättiin suodattamalla migraatiossa käytettyyn iso-oktaaniin. Näyteliuokseen lisättiin 1 ml sisäistä standardia, minkä jälkeen näytteet haihdutettiin pyöröhaihduttimella pieneen, noin 1-2 ml, tilavuuteen ja näytteet ajettiin GC-FID:lla. Iso-oktaanimigraation tulokset laskettiin kromatogrammin datasta, kuten Tenax®:lla simuloitujen migraatioiden tapauksissa. Migraatioiden tulokset on esitetty alla olevassa taulukossa 9.

Taulukko 9. Migraoituneen DAK:n määrä mg/kg elintarviketta kohden, BfR:n raja-arvo 5 mg/kg elintarviketta

Näyte	Tenax® (mg/kg)	Iso-oktaani (mg/kg)	Oliiviöljy (mg/kg)
PKC18K	0,08 ± 0,02	3,95 ± 0,19	1,58 ± 0,05
TKC18K	0,08 ± 0,02	3,83 ± 0,07	1,57 ± 0,14
TPKC18K	0,03 ± 0,01	4,50 ± 0,07	1,00 ± 0,01

GC:ltä saaduista migraatioanalyysien kromatogrammien avulla määritettiin myös migraoituneen AKD:n prosentuaalinen osuus vastaavan AKD-laadun kokonasmigraatiotuloksesta. Tämä helpottaa migraatiotulosten vertaamista toisiinsa kokonais-AKD -pitoisuuksien vaihdella eri AKD-laatuisten välillä. Migraatioanalyysien kromatogrammeista laskettiin AKD-pitoisuus sisäistä standardia vasten, kuten aiemmin

kokonais-AKD:n määrittämisessä. Tämä tulos jaettiin vastaavan näytteen kokonais-AKD - pitoisuudella ja prosentuaaliset osuudet on esitetty taulukossa 10.

Taulukko 10. Migraoituneen DAK:n prosentuaalinen osuus kokonais-AKD:stä

Näyte	Tenax® (%)	Iso-oktaani (%)	Oliiviöljy (%)
PKC18K	1,0	74,8	21,6
TKC18K	1,2	62,2	25,5
TPKC18K	0,4	66,0	16,5

Kokeellisessa osiossa määritettiin kartonkinäytteiden hydrofobisuutta myös Cobb<sub>180</sub>-mittauksella. Näytteistä leikattiin sopivan kokoisia, noin 14 x 14 cm kokoisia palasia, jotka punnittiin. Punnitut näytteet altistettiin vedelle Cobb-testilaitteistoissa 180 sekunnin ajan. Tämän jälkeen näytteistä kuivattiin näytteen pinnalle jäänyt imeytymätön vesi ja näytteet punnittiin uudelleen. Cobb<sub>180</sub>-arvot laskettiin kaavalla 2. Esimerkkilasku on esitetty alla. Näytteiden Cobb<sub>180</sub>-arvot on esitetty taulukossa 11. Jokaiselle näytteelle tehtiin kolme rinnakkaista määrittystä, mistä laskettiin tulosten keskiarvot ja keskiarvojen keskivirheet aiemmin esitetyillä kaavoilla.

$$X = 100 \frac{1}{\text{m}^2} \cdot (b - a) \quad (2)$$

$$X = 100 \frac{1}{\text{m}^2} \cdot (6,4060 \text{ g} - 5,6919 \text{ g})$$

$$X = 71,41 \frac{\text{g}}{\text{m}^2}$$

Taulukko 11. Kypsytettyjen kartonkinäytteiden Cobb<sub>180</sub>-arvot

Näyte	Cobb <sub>180</sub> -arvo
PKC18K	46 ± 1
TKC18K	68 ± 1
TPKC18K	73 ± 2

Kokeellisen osuuden migraatiotuloksia pyrittiin vertaamaan myös todellisilla elintarvikkeilla tehtyihin migraatioanalyysiin. Tähän hyödynnettiin taulukossa 8 esitettyjä tuloksia sekä tutkimuksessa *Dialkylketones in Paperboard Food Contact Materials—Method of Analysis in Fatty Foods and Comparative Migration into Liquid Simulants Versus Foodstuffs* olevan taulukon 4 tuloksia. Sekä kokeellisessa osuudessa määritettyjä migraatiotuloksia, että tutkimuksen tuloksia pyrittiin vertaamaan laskemalla migraatioiden prosentuaalinen osuus iso-oktaanilla simuloituista migraatiotuloksista. Alla olevassa taulukossa 12 on laskettu tutkimuksen todellisten elintarvikkeiden migraatioiden/iso-oktaanimigraatioiden prosentit. Prosentuaaliset osuudet on laskettu jakamalla todellisilla elintarvikkeilla suoritettujen migraatioiden tulokset iso-oktaanimigraation tuloksella. Samat prosentiosuudet laskettiin myös tämän tutkielman kokeellisen osuuden migraatioiden tuloksille kartonkinäytteiden Tenax®/iso-oktaaniprosenttina. Näiden laskujen tulokset on esitetty taulukossa 13.

Taulukko 12. Tutkimuksen<sup>43</sup> todellisten elintarvikkeiden migraatioiden prosentuaaliset osuudet iso-oktaanimigraatioiden tuloksista

Elintarvike	Elintarvikkeen migraatiotuloksen prosentuaalinen osuus iso-oktaanimigraation tuloksesta (%)
Cheddar juusto	0,11
Gouda juusto	0,09
Salami	0,05
Kroissantti	0,02

Taulukko 13. Kartonkinäytteiden Tenax®:lla simuloitujen migraatioiden prosentuaaliset osuudet iso-oktaanimigraatioiden tuloksista

Näyte	Tenax®:lla simuloitujen migraatioiden tulosten prosentuaaliset osuudet iso-oktaanimigraation tuloksesta (%)
PKC18K	1,9
TKC18K	2,1
TPKC18K	1,3

## 8 Tulosten validointi

Mittausmenetelmien kehitystä varten tutkielmassa määritettiin jokaisesta mittauksesta signaali-kohinasuhde toteamis- ja määritysrajojen laskemista varten. Signaali-kohinasuhteen sekä toteamis- ja määritysrajojen laskemisesta esitettiin esimerkkilaskut edellisessä luvussa. Tämän lisäksi jokaisesta mittausmenetelmästä analysoitiin mittalaitteen toistotarkkuutta, selektiivisyyttä ja spesifisyyttä sekä herkkyyttä. Mittausmenetelmien tarkkuutta analysoitiin takaisinsaannolla AKD-vahoja hyödyntäen. Selektiivisyyden ja spesifisyyden arviointi toteutettiin vertaamalla analyysissä mitattua tyhjää näytettä sekä analyysinäytettä. Mittausten toistettavuutta arvioitiin teettämällä samat mittaukset toisella henkilöllä.

Toteamis- ja määritysrajat mittauksille on esitetty liitteessä 5. Liitteeseen on rajojen lisäksi merkitty myös C18 piikeistä matalin intensiteetti, jolla voimme todentaa, että mittaustulokset on mahdollista laskea ja esittää tuloksissa riittävällä tarkkuudella.

Mittalaitteen toistotarkkuus määritettiin jokaisen analyysimenetelmän yhteydessä erikseen. Mittaussarjoista valittiin yksittäiset näytteet, jotka vastasivat ominaisuuksiltaan omia mittaussarjojaan mahdollisimman hyvin, eli näytteiden mittaustulokset olivat mahdollisimman lähellä rinnakkaisten näytteiden keskiarvoa. Nämä näytteet ajettiin useasti ja toistotarkkuus laskettiin %RSD:nä kaavalla 18. Esimerkkilasku on esitetty alla TPKC18K sitoutuneen AKD:n mittaukselle. Kaikkien mittausmenetelmien %RSD:t on esitettyinä taulukossa 14.

$$\%RSD = \frac{S}{\bar{x}} \cdot 100 \% \quad (18)$$

$$\%RSD = \frac{\sqrt{\frac{1}{3-1} \cdot ((0,167 \dots - 0,167 \dots)^2 + (0,166 \dots - 0,167 \dots)^2 + (0,168 \dots - 0,167 \dots)^2) \frac{\text{mg}}{\text{g}}}}{0,167 \dots \frac{\text{mg}}{\text{g}}} \cdot 100 \%$$

$$\%RSD = 0,513 \dots$$

Taulukko 14. Mittausmenetelmien %RSD:t

Menetelmä	%RSD
AKD:n määrittäminen	0,5
DAK:n määrittäminen	0,6
Tenax®:lla simuloitu migraatio	2,4
Iso-oktaanimigraatio	1,2
Oliiviöljymigraatio	1,8

Mittausmenetelmien tarkkuutta analysoitiin AKD-vahojen takaisinsaannoilla. Kokonais-AKD:n määrittäminen suoritettiin laimentamalla tunnettu määrä vahaa ja suorittamalla määrittäminen samalla menetelmällä, jolla kokonais-AKD määritetään kartonkinäytteistä. Alla olevassa taulukossa 15 on esitettyä takaisinsaannolla saadut massat ja niiden prosentuaaliset osuudet alkuperäisestä massasta.

Taulukko 15. Kokonais-AKD:n takaisinsaannot

Näyte*	Laskettu massa (mg)	Todellinen massa (mg)	Tarkkuus (%)
PKC18V1	1,092	1,150	94,9
PKC18V2	0,602	0,659	91,3
PKC18V3	0,863	0,734	117,6
TKC18V1	0,614	0,615	99,9
TKC18V2	0,502	0,478	105,1
TKC18V3	0,319	0,334	95,5
TPKC18V1	0,914	0,853	107,2
TPKC18V2	0,626	0,666	94,0
TPKC18V3	0,448	0,449	99,7

\*Vahalla tehdyt rinnakkaiset mittaukset

Mittausten spesifisyyttä arvioitiin teettämällä jokaiseen mittaukseen nollanäytteet, jotka valmistettiin samalla menetelmällä kuin analyysinäytteet. Verrattaessa nollanäytteiden ja

analyysinäytteiden GC:ltä saatuja kromatogrammeja, voidaan menetelmien olettaa olevan spesifisiä dialkyyliketonien määrittämiseen. Näytteiden retentiopiikit tunnistettiin myös GC-MS:n avulla AKD:tä vastaavien dialkyyliketonien retentiopiikeiksi. Nollanäytteissä ei havaittu yhdisteitä, jotka retentoituisivat samaan aikaan dialkyyliketonien kanssa. Poikkeuksena tässä oli oliiviöljyllä simuloitu migraatioanalyysi, mikä otettiin huomioon migraatiotuloksia laskettaessa.

Mittausten toistettavuus määritettiin teettämällä kokonais-AKD:n sekä iso-oktaanimigraation mittaukset toisella henkilöllä. Muista menetelmistä toistettavuutta ei teetetty. Tulokset laskettiin, kuten aiemmissa mittauksissa ja ovat esitettyinä taulukoissa 16 ja 17.

Taulukko 16. Kokonais-AKD:n toistettavuuden tulokset

Näyte	Kokonais-AKD-1* (mg/g)	Kokonais-AKD-2* (mg/g)
PKC18K	1,17 ± 0,02	1,14 ± 0,01
TKC18K	0,76 ± 0,02	0,75 ± 0,02
TPKC18K	1,06 ± 0,04	1,12 ± 0,01

\*Mittauksen tekijä eri

Taulukko 17. Iso-oktaanimigraation toistettavuuden tulokset

Näyte	Iso-oktaanimigraatio-1* (mg/kg)	Iso-oktaanimigraatio-2* (mg/kg)
PKC18K	3,95 ± 0,19	4,41 ± 0,01
TKC18K	3,83 ± 0,07	3,56 ± 0,06
TPKC18K	4,50 ± 0,07	4,58 ± 0,03

\*Mittauksen tekijä eri

## 9 Tulosten arviointi

Liitteessä 3 olevia havainnointi- ja määrittäysrajoja tarkastellessa voidaan todeta, että kaikki tutkielmassa tehdyt mittaukset kyettiin määrittämään riittävällä tarkkuudella. Kalibrointisuoraa

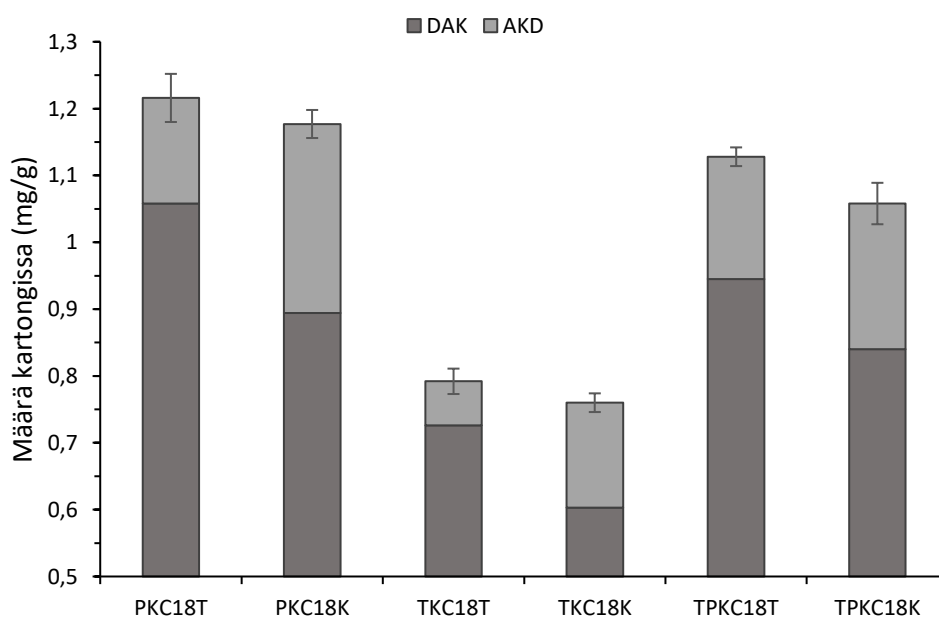
tarkastelemalla voidaan havaita tulosten olevan lineaarisia ja tulosten mittausalueen olevan lineaarinen ainakin 0,23 g/l pitoisuuteen asti. Minkään näytteen konsentraatio ei kuitenkaan tulosten perusteella tätä ylittänyt, joten menetelmän mittausalue on lineaarinen analysoitavalla alueella. Validoinnissa tarkkuus määritettiin takaisinsaannoilla vahoista. Kokonais-AKD:n takaisinsaannot antoivat tuloksia, jotka olivat lähellä alkuperäistä näytteeseen punnittua AKD:n massaa. Taulukosta 15 voidaan havaita takaisinsaantojen osuvan 91,3 ja 117,6 prosentin välille, mikä on myös tarkkuuden vaihteluväli. On kuitenkin muistettava, että kaupalliset AKD-vahat sisältävät aina myös pieniä määriä AKD:n oligomeerejä, joiden määrä vääristää hieman näytteeseen punnitun AKD:n massaa. Toistettavuutta tarkasteltaessa taulukoista 16 ja 17 voidaan havaita, ettei analyysin tekijällä ole merkittävää vaikutusta tulosten suuruuteen. Menetelmien toistotarkkuutta arvioitaessa %RSD-tulosten perusteella voidaan sanoa, että mittaukset kyetään tekemään luotettavasti. Tenax®-migraatiossa %RSD oli hieman korkea, mutta olisi luultavasti laskenut lisäämällä mittauksien lukumäärää. Tätä ei kuitenkaan testattu pitkien migraatioaikojen ja rajallisen ajan vuoksi.

Toistettavuuden tulokset vaihtelivat hieman, sillä näytteiden analysoinnin välillä oli kulunut muutamia kuukausia, minkä aikana näytteet olivat saattaneet kypsyä lisää. Tämä näkyy hieman pienempänä kokonais-AKD -pitoisuutena sekä suurempana sitoutuneen AKD:n osuutena kokonaispitoisuudesta. Näiden validointimenetelmien perusteella voidaan olettaa, että mitatut tulokset ovat oikeellisia ja valitut menetelmät soveltuvat näiden näytteiden AKD-pitoisuuksien sekä migraation analysointiin.

Valmiita analyysimenetelmiä testattaessa ennen varsinaisten näytteiden saapumista käytössä oli C16/C18 pohjaisella AKD:llä massaliimattua kartonkia, jolloin GC-FID:ltä saaduissa kromatogrammeissa havaittiin kolme intensiteettiipiikkiä, jotka vastasivat GC-MS:llä tarkasteltaessa C16 ja C18 pohjaisia AKD:itä. Varsinaisia näytteitä analysoitaessa GC-FID antoi kaksi AKD:seen liittyvää intensiteettiipiikkiä, jotka vastasivat aiemmin GC-MS:llä analysoitujen näytteiden C18 intensiteettiipiikkejä. Näillä menetelmillä kyetään siis arvioimaan AKD-pitoisuuden lisäksi myös AKD-massaliiman koostumusta, eli koostuuko massaliima pelkästään C18 AKD:sta vai AKD-seoksia.

Taulukon 8 kokonais-AKD -pitoisuuksien tuloksia tarkastellessa voidaan havaita, että tuoreissa näytteissä kokonais-AKD -pitoisuudet olivat hieman korkeampia kuin kypsissä näytteissä. Kokonais-AKD:n muutokset näytteitä kypsytettäessä on esitetty graafisesti kuvassa 16. PKC18:n kokonais-AKD -pitoisuus tuoreessa näytteessä oli 1,22 mg/g ja kypsytetyssä näytteessä 1,17 mg/g, TKC18:ssa vastaavat pitoisuudet olivat 0,80 mg/g ja 0,76 mg/g ja TPKC18:lla 1,13 mg/g sekä 1,06 mg/g. Kokonais-AKD -pitoisuuden pieni lasku kypsytettäessä selittyy kypsyessä tapahtuvalla AKD:n retentoitumisella. AKD-pitoisuudet eivät kuitenkaan laskeneet merkittävästi, korkeintaan muutamia prosentteja. Otettaessa huomioon tulosten keskivirheet, osuvat kypsytettyjen näytteiden ja tuoreiden näytteiden pitoisuudet samalle alueelle.

AKD:n retentoituminen selluloosakuituun voidaan havaita myös suoraa sitoutuneen AKD:n prosentuaalisen osuuden kasvulla taulukossa 8 esitetyissä tuloksissa. PKC18:n sitoutuneen AKD:n osuus tuoreessa näytteessä oli 13,1 % ja kypsytetyssä näytteessä 23,9 %, TKC18:ssa vastaavat osuudet olivat 8,8 % ja 21,1 % ja TPKC18:lla 15,9 % sekä 20,8 %. Erot sitoutuneen AKD:n määrässä on esitetty graafisesti kuvassa 16. Suurin kokonais-AKD pitoisuus sekä suurin sitoutumattoman AKD:n osuus olivat PKC18:ssa, jolloin tällä massaliimatulle kartongille voitaisiin olettaa olevan myös korkein hydrofobisuus ja täten matalin Cobb<sub>180</sub>-arvo.



Kuva 16. Kokonais-AKD:n määrät (mg/g kartongkia) viriheinen kartonkinäytteissä. Kokonais-AKD on summa DAK:n sekä AKD:n määristä.



Taulukossa 11 esitetyissä Cobb<sub>180</sub>-testien tuloksissa näkyy selkeästi, että PKC18:n Cobb<sub>180</sub>-arvo oli matalin, 46 g/m<sup>2</sup>. Vastaavat arvot TKC18:lla ja TPKC18:lla olivat 55 g/m<sup>2</sup> sekä 73 g/m<sup>2</sup>. Sekä Cobb<sub>180</sub>-testien, että AKD-pitoisuuksien perusteella voidaan päätellä PKC18:n olevan paras koeajoissa käytetyistä AKD-massaliimoista kartongin hydrofobisuuden parantamisen näkökulmasta.

Koeajoissa massaan lisätty AKD-vahan määrä alitti sekä Kiinan, että Yhdysvaltojen virastojen määrittämät enimmäispitoisuudet, kuten aiemmin mainittiin. BfR:n määrittämän migraoituvan AKD:n raja-arvo 5 mg/kg elintarviketta alitettiin myös jokaisessa migraatiokokeessa. Iso-oktaanilla saadut tulokset olivat korkeimpia, 3,83 – 4,50 mg/kg elintarviketta. Nämä korkeat tulokset selittyvät sillä, että iso-oktaanimigraatio on lähempänä uuttoa iso-oktaanin imeytyessä kartonkiin, kuin pintakontaktissa tapahtuvaa migraoitumista. Iso-oktaanin imeytyessä kartonkinäytteeseen, on siihen mahdollisesti migraoituvan AKD:n määrä paljon korkeampi. Toiseksi korkeimmat tulokset saavutettiin oliiviöljyllä, joka niin ikään imeytyy kartonkinäytteisiin. Oliiviöljyllä saadut migraatiotulokset asettuivat 1,00 ja 1,58 mg/kg elintarviketta välille. Kiinteänä simulanttina Tenax®:lla oli selkeästi matalimmat migraatiotulokset. Tämän migraation tulokset asettuivat 0,03 ja 0,08 mg/kg elintarviketta välille.

Taulukkoa 10 tarkasteltaessa voidaan havaita, että kokonais-AKD -pitoisuuksiin verrattaessa prosentuaalisesti eniten AKD:tä migraoitui PKC18K:sta sekä TKC18K:sta. Prosenttiosuus TPKC18K:ssa on reilusti matalampi simuloitaessa elintarvikekontaktia Tenax®:lla ja oliiviöljyllä. Simuloitaessa kontaktia iso-oktaanilla, ovat TPK18K:n tulokset yllättäen lähellä TKC18K:ta. Tämä saattaa johtua promovoinnissa käytetyn yhdisteen liukoisuudesta iso-oktaaniin.

Vaikka aiemmin esitetyistä Cobb<sub>180</sub>-arvoista TPK18:n tulos oli korkein, siitä migraoituneet DAK:n määrät, iso-oktaanilla simuloitua elintarvikekontaktia lukuun ottamatta, olivat matalimmat. Promovointi ei siis vaikuttaisi tässä tilanteessa parantavan hydrofobisuutta suuresti, mutta vaikuttaisi estävän migraoitumista elintarvikekontaktisimulantteihin paremmin, kuin koeajoissa käytetyt promovomattomat AKD-laadut.

Tutkielmassa pyrittiin myös vertaamaan simulanteilla saatuja migraatiotuloksia todellisilla elintarvikkeilla tehtyihin migraatioanalyysiin. Näiden tulosten perusteella taulukoita 12 ja 13 verrattaessa voidaan havaita Tenax®:lla suoritettujen migraatioanalyysien antavan jopa 100 kertaisen migraatiotuloksen verrattaessa Lestido-Cardaman ryhmän tekemiin todellisten elintarvikkeiden migraatioanalyysien tuloksiin. Näistä taulukoista voidaan myös havaita, että Tenax®:lla suoritettut migraatiot sijoittuvat suuruusluokassaan nestemäisten simulanttien, kuten oliiviöljyn ja iso-oktaanin, ja todellisten elintarvikkeiden välimaastoon.

## 10 Yhteenveto

Tuloksia arvioitaessa voitiin havaita, että päällystämättömien kartonkien hydrofobisuutta ei voida arvioida pelkästään selluloosakuituihin sitoutuneen AKD:n perusteella. Määritettäessä hydrofobisuutta sitoutuneen AKD:n analysoinnin lisäksi myös esimerkiksi Cobb-arvojen mittaaminen auttaa hydrofobisuuden arvioinnissa. Koeajojen yhteydessä käytetyistä massaliimoista näiden tulosten perusteella paras kartongin hydrofobisuutta parantava massaliima oli polymeeristabiloitu kationinen C18 pohjainen AKD. Liima-aineen annostelun ollessa yhtä suuri kaikilla koeajoissa käytetyillä AKD-laaduilla, voitiin PKC18-AKD:n nähdä retentoituvan parhaiten sekä sen muokkaavan kartonkia hydrofobisemmaksi verrattaessa TKC18- ja TPKC-AKD:lla massaliimattuihin kartonkeihin.

Migraation simuloimiseen käytettävää menetelmää valittaessa täytyy ottaa huomioon, mitä tuloksilla pyritään todentamaan. Jos tulosten tiedetään olevan hyvin matalia esimerkiksi aiempien näytteiden perusteella, voi migraatio olla mielekkäintä toteuttaa esimerkiksi iso-oktaanilla menetelmän nopeuden vuoksi. Tässä tutkielmassa iso-oktaanilla simuloitujen migraatioiden tulokset olivat riittävän matalat BfR:n säädöksen toteutumiseen. Mikäli taas halutaan määrittää paljonko todellisuudessa kiinteisiin elintarvikkeisiin voisi migratoitua DAK:ta, antaa Tenax®:lla simuloitu migraatio paremmin todellisuutta vastaavia tuloksia tälle analyysille, mutta huomattavasti suurempia tuloksia, kuin todellisilla elintarvikkeilla suoritettut migraatioanalyysit, mikä havaittiin verrattaessa kokeellisen osuuden tuloksia muihin tutkimuksiin.

Oliiviöljymigraatio oli haasteellinen toteuttaa simulantin vuoksi. Oliiviöljy sotki GC:ltä saatuja kromatogrammeja ja retentoitui osittain samaan aikaan, kuin ensimmäinen AKD:n C18 intensiteettiipiikeistä. Tästä syystä tuloksia laskettaessa täytyi nollanäytteen, eli iso-oktaaniin liuenneen oliiviöljyn, antamasta kromatogrammista määrittää sisäisen standardin avulla vastekerroin, jotta migraatitulos kyettiin laskemaan tarkemmin. Kromatogrammien epäselvyys johtuu oliiviöljyn koostumuksesta. Oliiviöljyllä sekä iso-oktaanilla simuloituista migraatioista saadut kromatogrammit on esitetty liitteessä 6. Oliiviöljyn monet erimittaiset hiilivetyketjut retentoituvat suuremman ajan kuluessa, kuin esimerkiksi iso-oktaanin yksittäinen intensiteettiipiikki. Verrattaessa iso-oktaanilla simuloituun migraatioon, on myös migraatioaika huomattavasti pidempi oliiviöljymigraatiossa. Iso-oktaanilla simulointi suoritetaan kahden päivän aikana, kun oliiviöljyllä vastaava aika on 10 päivää. Tämä hidastaa migraatitulosten saamista huomattavasti. Iso-oktaanin ja oliiviöljyn antaessa korkeampia tuloksia, kuin todellisilla elintarvikkeilla,<sup>43</sup> ei tulosten kannalta ole juuri väliä, kumpi simulantti valitaan mittaukseen, jos voidaan olettaa myös iso-oktaanilla saatujen tulosten jäävän BfR:n ohjeistusten rajoihin. Nestemäisistä simulanteista oliiviöljy olisi iso-oktaania parempi elintarvikesimulantti, mutta standardin mukainen menetelmä on huomattavasti haastavampi sekä hitaampi toteuttaa. Tämän lisäksi standardimenetelmässä käytetään hyvin haitallista booritrifluoridin metanoliliuosta, joka lisää menetelmän riskitekijöitä. Näistä syistä valittaessa simulanttia oliiviöljyn sekä iso-oktaanin välillä, saattaa iso-oktaani nousta usein suositummaksi vaihtoehdoksi.

AKD-migraation tutkimuksen tulevaisuutta ajatellen kannattaisi tutkia simulanteilla, jotka eivät imeydy päällystämättömään kartonkiin, mutta olisivat lähellä todellisia kiinteitä elintarvikkeita, joiden pakkaamiseen tällaista materiaalia käytetään. Tämän tutkielman tulosten perusteella Tenax® olisi hyvä lähtökohta tällaisten yhdisteiden etsimiseen. Myös nestemäisten elintarvikkeiden pakkaamiseen käytettävien kartonkien elintarvikekontaktin simulointia voisi jatkossa tutkia eri simulanteilla. Iso-oktaani saattaa toimia tässä hyvin, mutta vertailua olisi syytä tehdä todellisten elintarvikkeiden, kuten ruokaöljyjen kanssa. Tämän tutkielman iso-oktaani- ja oliiviöljymigraatioiden tulokset vastaavat kuitenkin lähinnä kiinteiden elintarvikkeiden pakkausmateriaalien tuloksiin, sillä analyseissä käytetyt näytteet olivat päällystämättömiä, mistä johtuen nestemäiset simulantit imeytyivät kartonkiin.

## Kirjallisuusuuttelo

1. Eichhorn, S. J.; Etale, A.; Wang, J.; Berglund, L. A.; Li, Y.; Cai, Y.; Chen, C.; Cranston, E. D.; Johns, M. A.; Fang, Z.; Li, G.; Hu, L.; Khandelwal, M.; Lee, K. Y.; Oksman, K.; Pinitsoontorn, S.; Quero, F.; Sebastian, A.; Titirici, M. M.; Xu, Z.; Vignolini, S. ja Frka-Petesic, B., Current international research into cellulose as a functional nanomaterial for advanced applications, *Journal of Materials Science*, **2022**, 57, 5697–5767.
2. Cegi, Cegi preliminary statistics 2022, 2022.
3. Nobre Joana Filipa Simões Pinheiro, *The impact of e-commerce on packaging paper and paperboard segment*, pro gradu -tutkielma, NOVA - School of Business and Economics, Portugal, 2020.
4. Hubbe, M., Paper's resistance to wetting-A review of internal sizing chemicals and their effects, *BioResources*, **2006**, 4, 1070–1087.
5. XXXVI. Papiere, Kartons und Pappen für den lebensmittelkontakt, 2023.
6. U.S. Food & Drug Administration, 21 CFR § 176.170 Components of paper and paperboard in contact with aqueous and fatty foods, **1977**.
7. National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, Standard for Uses of Additives in Food Contact Materials and Articles, GB 9685-2016.
8. Crèvecoeur, A., Pulp and paper industry definitions and concepts, 2021.
9. Kirwan, M. J., *Handbook of Paper and Paperboard Packaging Technology*, Wiley-Blackwell, Chicester, 2013.
10. Suhr, M.; Klein, G.; Kourti, I.; Rodrigo Gonzalo, M.; Giner Santonja, G.; Roudier, S. ja Delgado Sancho, L., Best available techniques (BAT) reference document for the production of pulp, paper and board, **2015**.
11. Cegi, Key statistics 2021, **2021**.
12. Peijs, T.; Kirschbaum, R. ja Lemstra, P. J., Chapter 5: A critical review of carbon fiber and related products from an industrial perspective, *Advanced Industrial and Engineering Polymer Research*, **2022**, 5, 90–106.
13. Bajpai, P., *Pulp and Paper Industry: Energy Conservation*, Elsevier, 2016.
14. Czihak, C.; Müller, M.; Schober, H.; Heux, L. ja Vogl, G., Dynamics of water adsorbed to cellulose, *Physica B Condensed Matter*, **1999**, 266, 87–91.
15. Ghanbarian, B.; Aslannejad, H. ja Raoof, A., Modeling water imbibition into coated and uncoated papers, *Chemical Engineering Science*, **2018**, 189, 33–42.
16. Małachowska, E.; Pawcenis, D.; Dańczak, J.; Paczkowska, J. ja Przybysz, K., Paper ageing: The effect of paper chemical composition on hydrolysis and oxidation, *Polymers (Basel)*, **2021**, 13, 1029.
17. Neimo, L., *Papermaking science and technology. Book 4, Papermaking chemistry*, Fapet, Helsinki, 1999.

18. Drelich, J. W.; Boinovich, L.; Chibowski, E.; Della Volpe, C.; Hołysz, L.; Marmur, A. ja Siboni, S., Contact angles: History of over 200 years of open questions, *Surface Innovations*, **2020**, *8*, 3–27.
19. Bildik, A. E. ja Hubbe, M. A. G. K. B., Alkyl ketene dimer (AKD) sizing of paper under simplified treatment conditions, *Tappi J*, **2016**, *15*, 545–552.
20. Wang, H.; Sun, J.; Zhao, Y.; Zhang, Z. ja Cheng, S., Janus particles stabilized alkenyl succinic anhydride emulsion as internal sizing agent, *Cellulose*, **2022**, *29*, 6361–6372.
21. Xu, L.; Myers, J. ja Hart, P. W., How to use alum with cationic dispersed rosin size, *TAPPI Journal*, **2016**, *15*, 331–335.
22. Thorn, I. ja Au, C. O., *Applications of Wet-End Paper Chemistry*, Wiley-Blackwell, Chicester, 2009.
23. Kitaoka, T.; Isogai, A. ja Onahe, F., Sizing mechanism of emulsion rosin size-alum systems Part 2. Structures of rosin size components in the paper sheet, *Nordic Pulp & Paper Research Journal*, **1997**, *12*, 26–31.
24. Candy, L.; Vaca-Garcia, C. ja Borredon, E., Synthesis of alkenyl succinic anhydrides from methyl esters of high oleic sunflower oil, *European Journal of Lipid Science and Technology*, **2005**, *107*, 3–11.
25. Lindfors, J.; Salmi, J.; Laine, J. ja Stenius, P., AKD and ASA model surfaces: preparation and characterization, *BioResources*, **2007**, *2*, 652–670.
26. Ntifafa, Y.; Xu, L.; Bollinger, S.; Ji, Y. ja Hart, P. W., Alkenyl Succinic Anhydride: The Question of Covalent Bonding and Chemistry Considerations for Better Sizing—Review, *Polymers (Basel)*, **2023**, *15*, 2876.
27. Sauer, J. C., DuPont de Nemours Inc., Ketoethones and process therefor, Yhdysvallat, US2369919, 1945.
28. Sauer, J. C., Ketene dimers from acid halides, *Journal of American Chemical Society*, **1947**, *69*, 2444–2448.
29. Gerstenhaber, D. ja Hercules Incorporated, Preparation of alkyl ketene dimer, Yhdysvallat, US7960497B2, 2011.
30. Rustan, A. C. ja Drevon, C. A., Fatty Acids: Structures and Properties. Teoksessa: *Encyclopedia of life sciences*, Wiley, 2005.
31. Hardell, H.-L. ja Woodbury, S. E., A new method for the analysis of AKD oligomers in papermaking systems, *Nordic Pulp & Paper Research Journal*, **2002**, *17*, 340–345.
32. Lindstrom, T. ja Soderberg, G., On the mechanism of sizing with alkylketene dimers: Part 1. Studies on the amount of alkylketene dimer required for sizing different pulps, *Nordic Pulp & Paper Research Journal*, **1986**, *1*, 26–33.
33. Lindström, T. ja Larsson, P. T., Alkyl ketene dimer (AKD) sizing - a review, *Nordic Pulp & Paper Research Journal*, **2008**, *23*, 202–209.
34. Li, G.; Song, Z.; Liu, W.; Yu, D. ja Wang, H., Alkyl Ketene Dimer Emulsions Stabilized by Layered Double Hydroxide Particles Modified with Glutamic Acid, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **2017**, *56*, 11435–11442.

35. Prévot, V.; Gastaldi, C. ja Forano, C., Pickering emulsions based on layered double hydroxides and metal hydroxides, *Developments in Clay Science*, **2022**, *10*, 351–375.
36. Lindstrom, T. ja Soderberg, G., On the mechanism of sizing with alkylketene dimers, *Nordic Pulp & Paper Research Journal*, **1986**, *1*, 39–45.
37. Kumar, S.; Chauhan, V. S. ja Chakrabarti, S. K., Separation and analysis techniques for bound and unbound alkyl ketene dimer (AKD) in paper: A review, *Arabian Journal of Chemistry*, **2016**, *9*, 1636–1642.
38. Laitinen, R., *Development of LC-MS and extraction methods for the analyses of AKD, ASA and rosin sizes in paper products*, Acta Universitatis Lappeenrantaensis Lappeenranta, 2006.
39. Baty, J. W.; Minter, W. ja Lee, S. Y., The Role of Electrophilic Metal Ions Aluminum ( III ) and Magnesium ( II ) in Paper Degradation and Deacidification, *Book and Paper Group Annual*, **2010**, *29*, 1–10.
40. Regulation (EC) No 1935/2004 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 27 October 2004.
41. Ruokavirasto, <https://www.ruokavirasto.fi/elintarvikkeet/elintarvikeala/pakkaukset-ja-kontaktimateriaalit/kysyttya-kontaktimateriaaleista/puu-paperi-ja-kartonki/>. Luettu 1.11.2023
42. EUROOPAN PARLAMENTIN JA NEUVOSTON ASETUS (EY) N:o 1935/2004, *EYVL*, **2004**, *47*, 4–18.
43. Lestido-Cardama, A.; Störmer, Á. ja Franz, R., Dialkylketones in paperboard food contact materials—Method of analysis in fatty foods and comparative migration into liquid simulants versus foodstuffs, *Molecules*, **2020**, *25*, 915.
44. Martorana, E.; Fischer, S. ja Kleemann, S., Quantitative analysis of synthetic sizing agents (ASA/AKD) using NIR spectroscopy, *Nordic Pulp & Paper Research Journal*, **2009**, *24*, 335–341.
45. Shrivastava, A. ja Gupta, V., Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods, *Chronicles of Young Scientists*, **2011**, *2*, 21–25.
46. European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare, <https://faq.edqm.eu/pages/viewpage.action?pageId=48201796>. Luettu 1.11.2023
47. Derra, R. ja Jung, T., Evaluation of the transfer of dialkylketones into foodstuffs, *6th International Symposium on Food Packaging: Scientific Developments Supporting Safety and Innovation*, 2016.
48. European Medicines Agency, ICH Topic Q 2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology (CPMP/ICH/381/95), 1995.

**Liitteet**

1. F-jakauma, kun  $\alpha=0,05$
2. GC:n parametrit
3. Kalibrintisuoran rinnakkaisten mittausten AKD-piikkien pinta-alat sekä todelliset konsentraatiot
4. Kalibrintinäytteiden todelliset ja laskennalliset konsentraatiot
5. Toteamis- ja määritysrajat mittauksille sekä matalampien C18 retentiopiikkien intensiteetit
6. Oliiviöljyllä sekä iso-oktaanilla simuloitujen migraatioiden kromatogrammit

Liite 1. F-jakauma, kun  $\alpha=0,05$ 

df1 \ df2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
100	253,04	19,49	8,55	5,66	4,41	3,71	3,27	2,97	2,76	2,59	1,91	1,70	1,59	1,52	1,48	1,45	1,43	1,41	1,39
90	252,90	19,48	8,56	5,67	4,41	3,72	3,28	2,98	2,76	2,59	1,91	1,70	1,60	1,53	1,49	1,46	1,44	1,42	1,40
80	252,72	19,48	8,56	5,67	4,41	3,72	3,29	2,99	2,77	2,60	1,92	1,71	1,61	1,54	1,50	1,47	1,45	1,43	1,41
70	252,50	19,48	8,57	5,68	4,42	3,73	3,29	2,99	2,78	2,61	1,93	1,72	1,62	1,56	1,52	1,49	1,46	1,44	1,43
60	252,20	19,48	8,57	5,69	4,43	3,74	3,30	3,01	2,79	2,62	1,95	1,74	1,64	1,58	1,53	1,50	1,48	1,46	1,45
50	251,77	19,48	8,58	5,70	4,44	3,75	3,32	3,02	2,80	2,64	1,97	1,76	1,66	1,60	1,56	1,53	1,51	1,49	1,48
40	251,14	19,47	8,59	5,72	4,46	3,77	3,34	3,04	2,83	2,66	1,99	1,79	1,69	1,63	1,59	1,57	1,54	1,53	1,52
30	250,10	19,46	8,62	5,75	4,50	3,81	3,38	3,08	2,86	2,70	2,04	1,84	1,74	1,69	1,65	1,62	1,60	1,59	1,57
20	248,01	19,45	8,66	5,80	4,56	3,87	3,44	3,15	2,94	2,77	2,12	1,93	1,84	1,78	1,75	1,72	1,70	1,69	1,68
10	241,88	19,40	8,79	5,96	4,74	4,06	3,64	3,35	3,14	2,98	2,35	2,16	2,08	2,03	1,99	1,97	1,95	1,94	1,93
9	240,54	19,38	8,81	6,00	4,77	4,10	3,68	3,39	3,18	3,02	2,39	2,21	2,12	2,07	2,04	2,02	2,00	1,99	1,97
8	238,88	19,37	8,85	6,04	4,82	4,15	3,73	3,44	3,23	3,07	2,45	2,27	2,18	2,13	2,10	2,07	2,06	2,04	2,03
7	236,77	19,35	8,89	6,09	4,88	4,21	3,79	3,50	3,29	3,14	2,51	2,33	2,25	2,20	2,17	2,14	2,13	2,11	2,10
6	233,99	19,33	8,94	6,16	4,95	4,28	3,87	3,58	3,37	3,22	2,60	2,42	2,34	2,29	2,25	2,23	2,21	2,20	2,19
5	230,16	19,30	9,01	6,26	5,05	4,39	3,97	3,69	3,48	3,33	2,71	2,53	2,45	2,40	2,37	2,35	2,33	2,32	2,31
4	224,58	19,25	9,12	6,39	5,19	4,53	4,12	3,84	3,63	3,48	2,87	2,69	2,61	2,56	2,53	2,50	2,49	2,47	2,46
3	215,71	19,16	9,28	6,59	5,41	4,76	4,35	4,07	3,86	3,71	3,10	2,92	2,84	2,79	2,76	2,74	2,72	2,71	2,70
2	199,50	19,00	9,55	6,94	5,79	5,14	4,74	4,46	4,26	4,10	3,49	3,32	3,23	3,18	3,15	3,13	3,11	3,10	3,09
1	161,45	18,51	10,13	7,71	6,61	5,99	5,59	5,32	5,12	4,96	4,35	4,17	4,08	4,03	4,00	3,98	3,96	3,95	3,94



## Liite 2. GC:n parametrit

---

FID-detektori	Lämpötila 310 °C
Injektori	300 °C, split 1:30
Injektoritilavuus	1 µl
Kapillaarikolonne	Zebtron ZP-5MSi (5 % Phenyl-95 % Dimethylpolysiloxane; 30 m x 0,32 mm, filmin paksuus 0,25 µm)
Kantokaasu	Helium
kantokaasun virtausnopeus	2,7 ml/min
Lämpötilaohjelma	210 °C minuutin ajan, lämpötilan nosto 5°C /min lopetuslämpötilaan asti (300 °C). Lämpötilaa pidetään lopetuslämpötilassa viisi minuuttia

---

Liite 3. Kalibrointisuoran rinnakkaisten mittausten AKD-piikkien pinta-alat sekä todelliset konsentraatiot

Rinnakkaiset	$A_k$ (PY)	$C_t$ (mg/ml)
1.1*	460,79	0,027
1.2	206,78	0,027
1.3	209,96	0,027
2.1	460,79	0,054
2.2	439,36	0,054
2.3	427,38	0,054
3.1*	455,61	0,097
3.2	786,27	0,097
3.3	895,77	0,097
4.1*	879,58	0,140
4.2	1281,38	0,140
4.3	1388,37	0,140
5.1	1830,24	0,186
5.2	1804,43	0,186
5.3	1790,97	0,186
6.1	2187,38	0,227
6.2	2211,77	0,227
6.3	2261,52	0,227
7.1	2698,73	0,270
7.2	2632,42	0,270
7.3	2728,57	0,270

\*Virhe sattunut kalibrointinäytteitä valmistettaessa, ei tule mittauksesta

## Liite 4. Kalibrointinäytteiden todelliset ja laskennalliset konsentraatiot

Kalibrointinäyte	Todellinen konsentraatio (mg/ml)	Laskennallinen konsentraatio (mg/ml)	Todellisen konsentraation prosentuaalinen osuus (%)
1.1*	0,027	0,056	48,6
1.2	0,027	0,031	87,2
1.3	0,027	0,031	86,4
2.1	0,054	0,056	97,1
2.2	0,054	0,054	100,9
2.3	0,054	0,052	103,1
3.1*	0,097	0,055	176,4
3.2	0,097	0,087	111,5
3.3	0,097	0,098	99,4
4.1*	0,140	0,096	145,9
4.2	0,140	0,135	103,9
4.3	0,140	0,146	96,5
5.1	0,186	0,188	98,9
5.2	0,186	0,186	100,2
5.3	0,186	0,185	100,9
6.1	0,227	0,223	101,7
6.2	0,227	0,225	100,6
6.3	0,227	0,230	98,5
7.1	0,270	0,273	99,0
7.2	0,270	0,266	101,4
7.3	0,270	0,276	98,0

\*Virhe sattunut näytteiden valmistuksessa, ei tule mittauksesta

## Liite 5. Toteamis- ja määritysrajat mittauksille sekä matalamman C18 piikin intensiteetit

Analyysi	LOD	LOQ	C18 intensiteetti
PKC18 vastekerroin	0,1	0,5	79,7
TKC18 vastekerroin	0,1	0,5	90,8
TPKC18 vastekerroin	0,1	0,5	59,7
PKC18T DAK	4,3	14,4	169,2
TKC18T DAK	2,9	9,6	144,6
TPKC18T DAK	1,7	5,8	116,6
PKC18T AKD	4,7	15,7	83,5
TKC18T AKD	3,1	10,4	19,8
TPKC18T AKD	3,9	13,0	32,8
PKC18K DAK	1,2	4,1	154
TKC18K DAK	1,2	4,1	217,8
TPKC18K DAK	0,7	2,4	96,9
PKC18K AKD	4,3	14,4	17
TKC18K AKD	4,3	14,4	25,5
TPKC18K AKD	2,4	5,3	36
PKC18K Tenax®	1,8	6,1	10,5
TKC18K Tenax®	1,8	6,1	9,9
TPKC18K Tenax®	0,6	2,0	2,0
PKC18K iso-oktaani	0,8	2,6	80,1
TKC18K iso-oktaani	0,8	2,6	137,7
TPKC18K iso-oktaani	3,8	12,6	180
PKC18K oliiviöljy	2,5	8,3	10,9
TKC18K oliiviöljy	2,5	8,3	8,8
TPKC18K oliiviöljy	2,5	8,3	11,4

## Liite 6. Oliiviöljyllä sekä iso-oktaanilla simuloitujen migraatioiden kromatogrammit

