

A!

Aalto-yliopisto

A! Aalto-yliopisto
AALTO-YLIOPISTO
JUNIOR



LUMA-KESKUS
SUOMI

PÄIVÄ LAADUNVALVONNASSA

KOHDERYHMÄ: Työ soveltuu kemian opetuksessa lukiolaisille. Työn voi toteuttaa esimerkiksi KE1 (Kemiaa kaikkialla) tai työkurssilla.

KESTO: 75 - 90 min

TAVOITE: Ymmärtää käytännön kautta analyttisen kemian rooli teollisuudessa. Päästä tutustumaan HPLC-menetelmään konsentraation määrittämisessä ja IR-menetelmään puhtauden määrittämisessä.

AVAINSANAT: Analytiikka - HPLC - IR - Laadunvalvonta - Kemian teollisuus - Elintarvikekemialla - Lääkekemialla

TYÖTURVALLISUUS JA JÄTTEIDEN KÄSITTELY

Laboratoriotakki, -lasit ja – hanskat.



Kuva 1: Aalto-yliopisto Junior

1. TYÖN IDEA

Laadunvalvonta on tärkeää, koska teollisuudessa tavoitteena on tuottaa tasalaatuisia tuotteita. Laadunvalvonta perustuu kokonaisvaltaiseen toiminnan ohjaukseen, jota lainsäädäntö ja viranomaisvaatimukset vaativat. Elintarvike- ja lääketeollisuudessa laadunvalvonta on erityisen tärkeää ja kontrolloitua, koska tuotteen turvallisuus on vahvasti sidottuna tuotteen laatuun.

Laadukkaan tuotteen tuottamiseksi, laatua valvotaan koko tuotantoprosessin aikana, raaka-aineista lopulliseen tuotteeseen. Jos laatua ei tarkkailtaisi koko prosessin aikana, mahdollisia vikoja olisi todella hankala löytää ajoissa. Esimerkiksi kontaminaatio raaka-aineissa todennäköisesti johtaa epäpuhtaaseen tuotteeseen, joten lähtöaineiden puhtautta kannattaa tarkastella ennen näiden käyttöä teollisuudessa. Tätä käytäntöä käytetään laajalti kemian teollisuudessa.

Elintarviketeollisuudessa käytetään aineita, joilla voi olla terveysvaikutuksia, jolloin näiden pitoisuuksien seuranta on tärkeä osa laadunvalvonnan prosesseja. Esimerkiksi elintarviketietoasetusten mukaan, jos juomassa on kofeiinia yli 150 mg/l, tuotteessa on oltava merkintä korkeasta kofeiinipitoisuudesta ja suurin vuorokautinen käyttömäärä on ilmaistava tarkasti [1].

Tässä työssä pääset tutustumaan laadunvalvonnan prosesseihin HPLC- ja IR-mittausten kautta, joita käytetään esimerkiksi konsentraation ja puhtauden määrittämiseksi teollisuudessa. Tehtävänäsi on selvittää ovatko tutkittavat kofeiinipitoiset juomat ja aspiriini tarpeeksi laadukkaita markkinoille eli toisin sanoen, täyttävätkö ne laatustandardit. Työssä pääset tarkastamaan vastaako kofeiinipitoisen juoman kofeiinin konsentraatio valmistajan ilmoittamaa arvoa HPLC-laitteella ja tutkimaan aspiriininäytteiden puhtautta IR-laitteella.

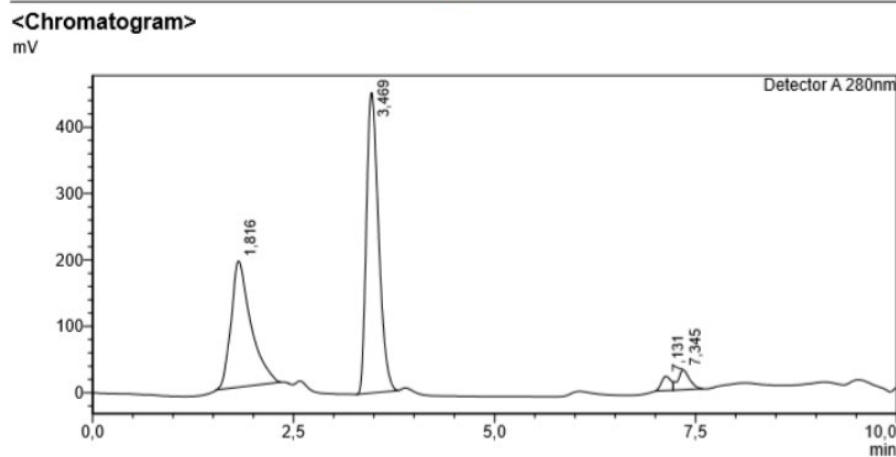
2. TAUSTATEORIA

HPLC

HPLC (High Performance Liquid Chromatography) on erotusmenetelmä, jolla näytteessä olevat eri aineet voidaan erotella toisistaan. Aineiden erotus tapahtuu nestefaasissa pylväässä. HPLC-pylväässä on hyvin ohut putki, jonka läpi pumpataan nestemäistä liuotinta. Pylvään sisällä on stationäärifaasi, joka on hienojakoinen kiinteä aine, jonka läpi liuotin liikkuu. Kun HPLC:llä analysoidaan näytettä, näyte pumpataan korkeassa paineessa pylvään läpi liuottimen kanssa. Näytteen aineiden erotus perustuu siihen, että eri aineet kulkevat pylvään läpi eri vauhtia. Kemialliset yhdisteet vuorovaikuttavat kiinteän faasin kanssa eri tavoin, jolloin kiinteä faasi jarruttaa yhdisteitä matkalla pylvään läpi eri tavoin.

Yleensä HPLC:n pylväässä oleva kiinteä faasi on pooliton, kun taas pylvään läpi kulkeva liuotin on poolinen. Esimerkiksi tässä työssä HPLC:n pylvään sisällä kiinteänä faasina on silikapartikkeleita, jotka on päällystetty pitkällä hiilivetyketjuilla. Poolittomat aineet vuorovaikuttavat kiinteän faasin kanssa enemmän kuin pooliset, jolloin ne jäävät kiinni kiinteään faasin ja liikkuvat hitaammin pylvään läpi. Pooliset aineet vuorovaikuttavat voimakkaammin poolisen liuottimen kuin poolittoman kiinteän faasin kanssa, jolloin ne liikkuvat pylvään läpi nopeasti.

Pylvään jälkeen laitteessa on UV-detektori, joka mittaa UV-säteilyn absorptiota, kun näyte kulkee pylväästä tulevan liuottimen läpi. Kun pylväästä tulee ulos UV-aktiivinen aine, tämä aine absorboi UV-säteilyä, mikä havaitaan detektorin signaalissa piikkinä. Tästä signaalista piirrettyä kuvaajaa ajan funktiona kutsutaan kromatogrammiksi. Kuva 2 on esimerkki kromatogrammista, jossa neljä piikkiä vastaavat kolmea eri ainetta, jotka olivat samassa näytteessä ja tulivat pylväästä ulos eri aikoihin.



Kuva 2: Kromatogrammi esimerkki (Aalto-yliopisto Junior)

Piikin koko on suoraan verrannollinen absorboivan aineen pitoisuuteen, jolloin näytteessä olevien aineiden pitoisuudet voidaan määrittää vertaamalla detektorin piikin pinta-alaa tunnetusta määrästä kyseistä ainetta aiheutuneeseen piikkiin.

Laadunvalvonnassa ja kemian tutkimuksessa HPLC:tä käytetään aineiden pitoisuuksien määrittämiseen. Tässä työssä käytetään HPLC:tä kofeiinin pitoisuuden määrittämiseen.

IR

IR-spektrometri on laite, joka mittaa näytteen infrapunasäteilyn absorptiota. Laitetta käytetään kemian alalla eri aineiden ja molekyylien tunnistamiseen. Tunnistaminen perustuu siihen, että tietyt kemialliset sidokset ovat IR-aktiivisia, eli ne absorboivat tietyn aallonpituuden omaavaa IR-säteilyä ja tämän seurauksena värähtelevät. Esimerkiksi kaikki pooliset sidokset ovat IR-aktiivisia. Eri sidokset absorboivat eri aallonpituuden säteilyä. Vaihtelu aallonpituuksissa johtuu sidoksen tyypistä, sidokseen osallistuvista atomeista ja värähtelyn tyypistä. Sama sidos voi siis värähdellä eri tavoin, jolloin sama sidos voi näkyä spektrissä useammassa piikissä.

IR-spektrometrin toimintaperiaate on, että se kohdistaa näytteeseen IR-säteilyä ja mittaa mitä aallonpituuksia näyte absorboi. Tulokset näytetään yleensä IR-spektrinä, eli kuvaajana jossa x-akselilla on säteilyn aaltoluku

(joka on aallonpituuden käänteisluku) ja y-akselilla absorbanssi tai transmittanssi. Transmittanssi on se osuus säteilystä, joka ei absorboidu, ja joka on pienempi mitä suurempi absorbanssi on.

IR-spektrissä näkyvät piikit vastaavat jokainen tiettyä aallonpituutta, jonka näyte on absorboinut. Tietyt sidokset absorboivat tiettyä aallonpituutta, jolloin spektrin avulla voi selvittää mitä sidoksia näyte sisältää. Tämä on välttämätöntä näytteen tunnistamiseksi. Spektrejä voi myös verrata keskenään.

Laadunvarmistuksessa usein verrataan puhtaan aineen spektriä näytteen spektriin. Jos näytteen spektrissä näkyy ylimääräisiä piikkejä, ei näyte ole puhdasta. Tässä työssä vertaamme aspiriiniksi oletetun näytteen IR-spektriä puhtaan aspiriinin spektriin, selvittääksemme onko näyte laatuvaatimukset täyttävää puhdasta lääkettä.

3. ENNAKKOTEHTÄVÄT ENNEN OPINTOKÄYNTIÄ

Mitä laadunvalvonta on ja miksi sen on teollisuudessa tärkeää?

Laadunvalvonta on laadun tarkastelua koko tuotantoprosessin aikana. Teollisuudessa pyritään tasaiseen lopputulokseen, joka täyttää asetetut laatustandardit. Näitä standardeja määräävät sekä lainsäädäntö että viranomaisvaatimukset.

Onko kofeiini poolinen vai pooliton molekyyli? Miksi?

Poolinen. Happi ja typpi molekyylit vetävät elektronitiheyttä vierekkäisiltä hiililtä, mikä aiheuttaa varausjakauman epätasaisuuden eli poolisuuden.

Mitä funktionaalisia ryhmiä asetyylisalisyylihaposta eli aspiriinista löytyy?

Karboksyyli- ja fenyyli-ryhmä sekä esterisidos

4. TYÖN SUORITUS

Laitteistot

- HPLC, jossa UV-Vis-detektori
- IR-spektrometri

Tarvittavat välineet HPLC-osioon

- Kofeiinipitoisia juomia
- Dekantterilaseja
- Kemikaaliruisku
- Mikrofiltteri (0.2 µm)
- Näytepulloja
- Näytepullon sulkija
- Ajoliuokset: isopropanoli ja MQ-vesi
- Tietokone

Tarvittavat välineet IR-osioon

- Aspiriini-näytteitä
- Spaatteli
- Denaturoitu etanoli
- Nukkaamaton paperi

HPLC-osion työvaiheet

Ohjaajat tekevät HPLC-laitteen alkuvalmistelut ja varsinaisen ajon ja neuvovat miten näytteet laitetaan laitteeseen ja miten laitteen kuvaajia tulkitaan.

Tehtäväsi on määrittää juomien kofeiinin konsentraatio ja verrata saatuja tuloksia tuoteselosteisiin eli valmistajien antamiin arvoihin.

Kaada kofeiinipitoiset juomat omiin dekantterilaseihin ja sekoita. Jos juomassa on hiilihappoja, odota että kupliminen loppuu ennen seuraavaa työvaihetta.

Laimenna juomaa assistenttien ohjeiden mukaan. Laimennus on tehtävä niin että kofeiinin pitoisuus on alle 200 mg/l ja yli 10 mg/l. Täten juomasta riippuen näytettä on laimentaa eri tavalla. Esimerkiksi energiajuomaa on yleensä hyvä laimentaa suhteessa 1:4 ja

Täytä ruisku näyteliuoksella. Annostele ruiskulla noin 1–1,5 ml juomia **mikrofilterin läpi** näytepulloihin.

Laita korkit näytepulloihin päälle ja sinetöi ne näytepullonsulkijalla. Muista merkitä näytteet.

Näyteajon jälkeen saat ohjaajalta näytteesi piikin pinta-alan sekä aiemmin määritetyn standardisuoran. Analysoi näytteet ohjaajan ohjeiden mukaan.

IR-osion työvaiheet

Ohjaajat valmistelevat erilaiset näytteet etukäteen analyysiä varten

Tehtäväsi on määrittää, ovatko näytteet aspiriinia ja jos kyllä, niin ovatko ne puhtaita.

Puhdista näytealusta denaturoidulla etanolilla käyttämällä nukkaamatonta paperia.

Avaa Omnic spectra ohjelma. Valitse ponnahdusikkunassa (Smart Accessory Change iD7 ATR - Diamond, minkä pitäisi olla oletuksena, ja klikkaa "OK". Kiristä spektrometrin kärki paikalleen ja aja tausta ohjelmalla klikkaamalla "**Col Bkg**" (Collect background, painike löytyy paneelin vasemmasta yläkulmasta). Klikkaa Confirmation-ponnahdusikkunassa "OK". Odota että näytölle ilmestyy Confirmation-ponnahdusikkuna ja valitse "No".

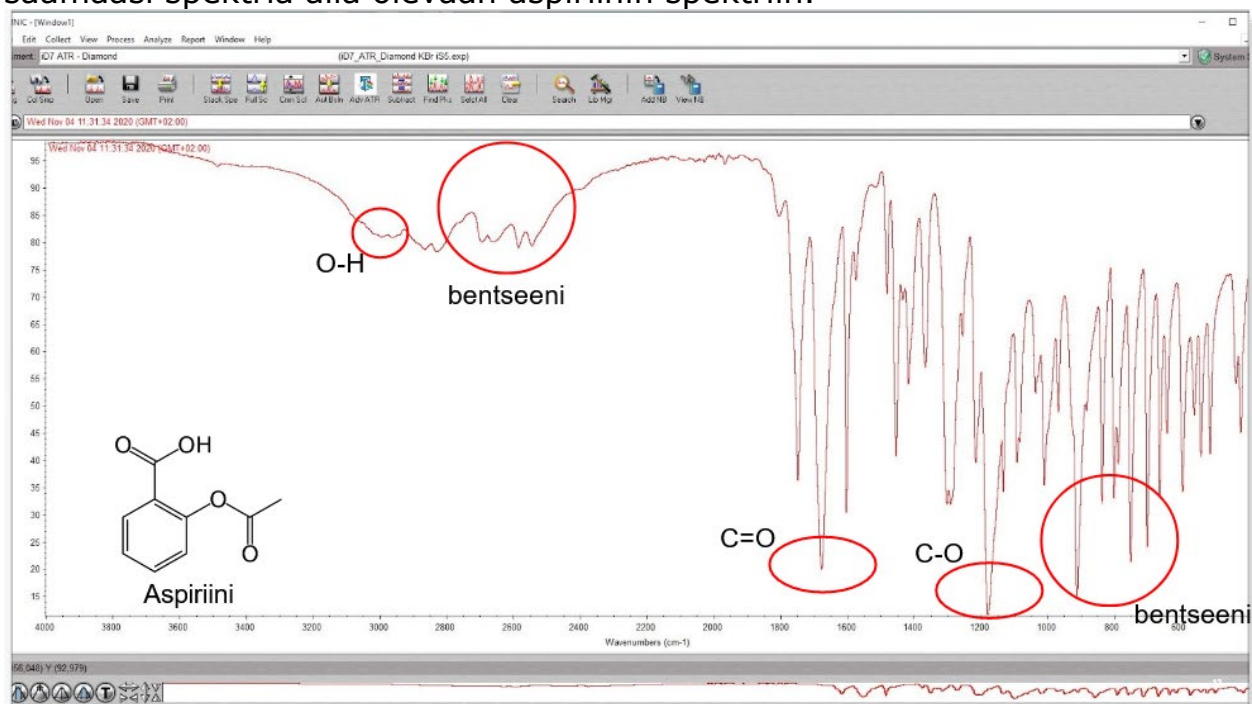
Löysennä kärki ja annostele spaattelilla näytettä niin, että näyte-aukko peittyy. **Ole varovainen, ettet naarmuta laitteen timanttia.**

Kiristä spektrometrin kärki paikalleen ja aja näyte valitsemalla **"Col Smp"**. Anna näytteelle sopiva nimi ja valitse **"OK"**. Valitse Confirmation-ponnahdusikkunassa **"OK"**.

Kun näyte on ajettu, valitse **"Yes"** Confirmation-ponnahdusikkunassa.

Valitse Process-välilehdeltä **"% Transmittance"** tai Ctrl+T, jotta spektrit olisivat transmittanssi eikä absorbanssi -käyriä.

Kun näyte on ajettu ja spektri näkyvillä, analysoi spektriä vertaamalla saamaasi spektriä alla olevaan aspiriinin spektriin.



Kuva 3: Aalto-yliopisto Junior

Voit lopuksi käyttää myös apuna ohjelman sisäistä **"Search"** painiketta, joka vertaa spektriä valmistajan tietokantaan. Tästä voi olla hyötyä puhtauden arvioimisessa.

Voit halutessasi tallentaa spektrin File-välilehden Save-toiminnolla.

Ennen seuraavan näytteen spektrin ajamista, poista vanha spektri valitsemalla Edit - Clear tai painamalla CTRL+Del.

5. POHDITTAVAA

Kuinka luotettavia HPLC ja IR menetelmät ovat?

Hyvin luotettavia, jos käytettävät laitteet ovat hyvässä kunnossa ja käyttäjä tietää mitä tekee. HPLC:tä käytettäessä on luotettavien tulosten saamiseksi varmistettava, että näytteen piikin päälle ei osu muita piikkejä ja että standardit on tarkasti valmistettu. IR antaa luotettavia tuloksia näytteen sisältämistä funktionaalisista ryhmistä, mutta tarkempi analyysi voi olla haastavaa ja vaatia kokemusta, ettei spektristä tee vääriä johtopäätöksiä.

Mihin HPLC-menetelmää voidaan hyödyntää?

Menetelmää hyödynnetään laajasti kemian alan tutkimuksessa, kun halutaan erottaa näytteen eri komponentit toisistaan. Erotuksen jälkeen, detektorista riippuen, menetelmällä voi esimerkiksi selvittää mitä tai kuinka paljon eri aineita näytteessä on. Esimerkiksi tutkimuksessa HPLC:tä voidaan käyttää selvittämään kuinka paljon tiettyä ainetta on syntynyt tutkitussa reaktiossa tai laadunvalvonnassa sitä voidaan käyttää valvomaan pysyykö tietyn aineen pitoisuus sallituissa rajoissa.

Mihin IR-menetelmää voidaan hyödyntää?

Menetelmää voi käyttää näytteen sisältämien funktionaalisten ryhmien määrittämiseen ja aineiden tunnistamiseen kemian alan tutkimuksessa. Tätä menetelmää hyödynnetään esimerkiksi tullissa ja poliisilaitoksella. Tutkimuksessa IR-menetelmää voidaan hyödyntää tätä laajemmin seuraamaan kemiallisten sidosten muutoksia reaktion aikana.

6. YHTEYS AALTO-YLIOPISTON TOIMINTAAN

Sekä HPLC että IR-menetelmät ovat yleisesti käytössä kemian alalla, sekä teollisuudessa että yliopistojen tutkimusryhmissä. Aalto-yliopiston kemian tekniikan korkeakoulun tutkimusryhmät käyttävät molempia menetelmiä paljon, HPLC- ja IR-laitteita löytyy koululta useita.

HPLC:tä käytetään aineiden erottamiseen toisistaan ja pitoisuuden määrittämiseen, mikä on usein tärkeää kemian tutkimuksessa. Esimerkiksi orgaaninen tuote usein halutaan erottaa liuottimista ja reagoimattomista lähtöaineista. Uusia kemiallisia prosesseja ja katalyyttejä kehittävät ryhmät taas käyttävät menetelmää selvittääkseen, kuinka paljon haluttua tuotetta ja sivutuotteita on reaktorissa syntynyt.

IR:ää käytetään aineiden tunnistamiseen ja puhtauden määrittämiseen, esimerkiksi uusien menetelmien kehittämiseen, joilla saadaan puhdasta tuotetta. Jos uutta reaktiota kokeiltaessa reaktorista tulee ulos tuntematonta ainetta, on IR-spektrometri usein ensimmäinen menetelmä, jotta käytetään aineen tunnistamiseksi.

7. TEHTÄVÄ OPINTOKÄYNNIN JÄLKEEN

Voitte jatkaa keskustelua muista analyyttisistä menetelmistä, joita hyödynnetään kemian teollisuudessa ja kemian roolista yhteiskunnassa.

8. VIITTEET

- i. <https://www.ruokavirasto.fi/yritykset/elintarvikeala/valmistus/elintarvikkeista-annettavat-tiedot/pakkausmerkinnat/kayttoohje-ja-varoitusmerkinta/kofeiinia-sisaltavien-elintarvikkeiden-varoitus--ja-kayttoohjemerkinnaat/>
- ii. Kuvat 1-3: Aalto-yliopisto Junior