

Emilia Koskinen

Massaspektrometrian sovellukset analytiikassa

Opinnäytetyö

Syksy 2014

Tekniikan yksikkö

Bio- ja elintarviketekniikan koulutusohjelma



SEINÄJOEN AMMATTIKORKEAKOULU

Opinnäytetyön tiivistelmä

Koulutusyksikkö: Tekniikan yksikkö

Koulutusohjelma: Bio- ja elintarviketekniikan koulutusohjelma

Tekijä: Emilia Koskinen

Työn nimi: Massaspektrometrian sovellukset analytiikassa

Ohjaaja: Jarmo Alarinta

Vuosi: 2014

Sivumäärä: 41

Liitteiden lukumäärä: 0

Massaspektrometria on kemiallinen analyysimenetelmä, jolla voidaan selvittää, mitä alkuaineita ja yhdisteitä näyte sisältää. Massaspektrometriä käytetään sekä kvalitatiivisessa, että kvantitatiivisessa tutkimuksissa. Seinäjoen ammattikorkeakoulun Bio- ja elintarviketekniikan laboratoriossa on massaspektrometri, jota käytetään biofermentorissa kasvatettavien mikrobien tuottamien kaasuyhdisteiden analysoimiseen.

Tässä työssä selvitettiin, voisiko massaspektrometriä käyttää myös muunlaisissa käyttösovelluksissa. Raportissa tutustuttiin massaspektrometrian historiaan, teoriaan ja sovelluksiin aiheesta kirjoitetun kirjallisuuden kautta. Massaspektrometrillä tehtiin kokeellinen mittaus, josta raportoitiin tuloksia ja käyttökokemuksia. Kokemusten perusteella massaspektrometriä on mahdollista käyttää aiempaa laajemmin esimerkiksi suojakaasupakkausten suojakaasujen analysointiin. Työn perusteella massaspektrometrille on mahdollista löytää ja kehittää uusia käyttösovelluksia.

Avainsanat: massaspektrometria, kemiallinen analyysi, elintarvikekemiat

SEINÄJOEN AMMATTIKORKEAKOULU

Thesis abstract

Faculty: School of Technology

Degree programme: Food Processing and Biotechnology

Author: Emilia Koskinen

Title of thesis: Analytical Applications of Mass Spectrometry

Supervisor: Jarmo Alarinta

Year: 2014 Number of pages: 41 Number of appendices: 0

In the thesis the history, theory and applications of mass spectrometry were reviewed through literature written about the subject. Seinäjoki University of Applied Sciences has a mass spectrometer in The Food Processing and Biotechnology laboratory. The mass spectrometer is connected to a biofermentor. The microbes that are grown in the biofermentor produce gases which the mass spectrometer analyses. There was a need to find a wider use for the appliance.

The mass spectrometer was powered up, calibrated and some simple measurements, mass spectra, were taken of modified atmosphere packages. The results and experiences gained from the usage of the mass spectrometer were reported.

There is a possibility to find and develop new applications for the mass spectrometer: for example in the determination of gases in modified atmosphere packaging.

Keywords: mass spectrometry, chemical analysis, food chemistry

SISÄLTÖ

Opinnäytetyön tiivistelmä.....	2
Thesis abstract.....	3
SISÄLTÖ.....	4
Kuvio-, taulukko- ja kuvaluettelo.....	6
Käytetyt termit ja lyhenteet.....	7
1 JOHDANTO.....	10
1.1 Työn tausta.....	10
1.2 Työn tavoite.....	12
1.3 Työn rakenne.....	12
2 MASSASPEKTROMETRIA.....	13
2.1 Historiaa.....	13
2.2 Massaspektrometrin rakenne ja toimintaperiaate.....	13
2.3 Näytteen syöttö.....	15
2.4 Ionilähteet.....	16
2.4.1 Elektronipommitus.....	16
2.4.2 Kemiallinen ionisointi.....	17
2.4.3 Sähkösumutusionisointi.....	18
2.4.4 Lämpösumutusionisointi.....	18
2.5 Massa-analysaattori.....	19
2.5.1 Kvadrupolianalysaattori.....	19
2.5.2 Sektorilaite.....	20
2.5.3 Ioniloukku.....	21
2.5.4 Lentoaika-analysaattori.....	21
2.6 Detektori.....	21
2.7 Massaspektrin analysointi.....	22
3 MASSASPEKTROMETRIN SOVELTAMISALUEITA.....	23
3.1 Aminohapot, peptidit ja proteiinit.....	23
3.2 Sokerit ja hiilihydraatit.....	23
3.3 Rasvat.....	24
3.4 Vitamiinit.....	24

3.5 Elintarvikkeiden maut ja virhemaut.....	25
3.6 Bioaktiiviset ravinteettomat yhdisteet	26
4 MENETELMÄTESTAUS	27
4.1 Massaspektrometrin käynnistäminen	27
4.2 Massaspektrometrin kalibrointi.....	30
4.3 Massaspektrin tallennus.....	31
4.4 Massaspektrin tulkinta.....	33
4.5 Kalibrointia ja suojakaasupakkausmittauksia 26.5.2014	33
4.5.1 Mittaustulokset	34
4.5.2 Kalibrointi	36
4.5.3 Menetelmätestauksen yhteenveto	39
5 YHTEENVETO.....	40
LÄHTEET	41

Kuvio-, taulukko- ja kuvaluettelo

Kuvio 1. Kaavio massaspektrometristä (Laboratorioanalyysit [viitattu 17.11.2013]).....	14
Kuvio 2. Näytteen suorasyöttö	15
Kuvio 3. Näytteen syöttö kaasukromatografista mukaillen (Joint FAO/WHO Expert Committee of Food Additives 2006, 18).....	15
Kuvio 4. Elektronipommitus-ionisointi mukaillen (Mellon ym. 2000, 4)	17
Kuvio 5. Kvadrupolianalyysaattori mukaillen (Chemicool 2014.)	20
Kuvio 6. Instrument status kertoo laitteiden tilan.....	28
Kuvio 7. Control center Emission-välilehti.....	29
Kuvio 8. Control center Heaters-välilehti.....	29
Kuvio 10. Calibration status-ikkuna ja standardikaasun pyynti-ikkuna.....	31
Kuvio 11. Numeric view-ikkuna	32
Kuvio 12. Data review-ikkuna.....	32
Kuvio 13. Kaasukirjasto	33
Kuvio 14. Suojakaasupakkaus 1, mittausaika 4:40	35
Kuvio 15. Suojakaasupakkaus 2, mittausaika 5:04	35
Kuvio 16. Heliumkaasulla kalibroinnin tulokset Streams-ikkunassa.....	36
Kuvio 17. Heliumkaasulla kalibrointi.....	36
Kuvio 18. Argon(95%)-hiilidioksidi(5%) seoksella kalibroinnin tulokset Streams-ikkunassa.....	37
Kuvio 19. Argonin ja hiilidioksidin kaasuseoksella kalibrointi	37
Kuvio 20. Kaasuseoksella kalibroinnin tulokset Streams-ikkunassa	38
Kuvio 21. Kaasuseoksella kalibrointi.....	38
Taulukko 1 Mittaustuloksia 26.5.2014.....	34
Kuva 1. Thermo ONIX ProLab -massaspektrometri.....	10
Kuva 2. Monitienäytteen syöttö	11
Kuva 3. Näytteen syöttöletku monitienäytteen syötöltä massaspektrometrille	30

Käytetyt termit ja lyhenteet

Kaasufaasi	Aineen olomuoto
Kvadrupoli	Neljän sauvan muodostelma
Fermentori	Laitteisto, jossa voidaan säädetyissä oloissa kasvattaa soluja
Ioni	Sähköisesti varautunut atomi tai molekyyli
Yhdiste	Kahdesta tai useammasta keskenään reagoineesta alkua-ineesta koostuva aine
Paraabeli	Matemaattinen akselinsa suhteen symmetrinen tasokäyrä
Molekyyli	Kahden tai useamman kovalenttisesti sitoutuneen atomin muodostama sähköisesti neutraali ryhmä
Vakuumi	Tyhjiötila, jossa on ilmanpainetta pienempi paine.
Elektroni	Alkeishiukkanen, jolla on negatiivinen sähkövaraus
Fragmentti	Osa
Kromatografi	Laite, jolla eristetään, puhdistetaan tai määritetään kemiallisia yhdisteitä
Filamentti	Hehkulanka
Elektrodi	Sähköisen virtapiirin osa, jossa sähkö siirtyy väliaineeseen tai väliaineesta virtapiiriin
Eluentti	Ajoliuos
Kapillaari	Kapea rakenne tai putki, jossa neste etenee pinnan vetymisilmiön seurauksena

Aerosoli	Kaasun ja siinä leijuvien kiinteiden tai nestemäisten hiukasten seos
Poolinen	Molekyyli, jossa on negatiivisesti ja positiivisesti varautuneet päät
Konformaatio	Molekyylien erilaisia muotoja, joita saadaan kiertämällä vapaasti pyöriviä sidoksia
Heksapoli	Kuuden sauvan yhdistelmä
Oktapoli	Kahdeksan sauvan yhdistelmä
Entsyymi	Kemiallisia reaktioita nopeuttavia biologinen katalyytti
Kvantitatiivinen	Määrällisesti mitattavissa oleva ominaisuus
Karsinogeeni	Syövälle altistava aine
Antioksidantti	Toisten yhdisteiden hapettumista estävä kemiallinen yhdiste
Antropogeeninen	Ihmisperäinen
Toksiini	Biologisen organismin tuottama myrkyllinen aine
Alkaloidit	Kasviemäksiä, jotka ovat kasveissa esiintyviä typpipitoisia emäksisiä yhdisteitä
Glykoalkaloidit	Kasvisten luontaisia myrkkyjä
Aminohapot	Orgaanisia yhdisteitä, joissa on sekä amino- että karboksyyli-ryhmä
Peptidi	Aminohappoketju
Proteiini	Aminohappoketjuista koostuva orgaaninen yhdiste
Emulsio	Kahden luonnostaan toisiinsa sekoittumattoman nesteen, kuten veden ja öljyn seos

Triglyseridi	Muodostuu yhdestä glyserolimolekyylistä ja siihen esteröityneistä rasvahappoketjuista
Polymeeri	Molekyyli, joka koostuu useista pienistä molekyyleistä
Monosakkaridi	Yksinkertainen hiilihydraatti
Isomeria	Saman molekyylikaavan molekyylejä, joilla on erilainen rakenne
Sidostyyppi	Elektronien muodostama kemiallista yhdistettä koossa pitävä voima
Kvalitatiivinen	Laadullisesti mitattavissa oleva ominaisuus

1 JOHDANTO

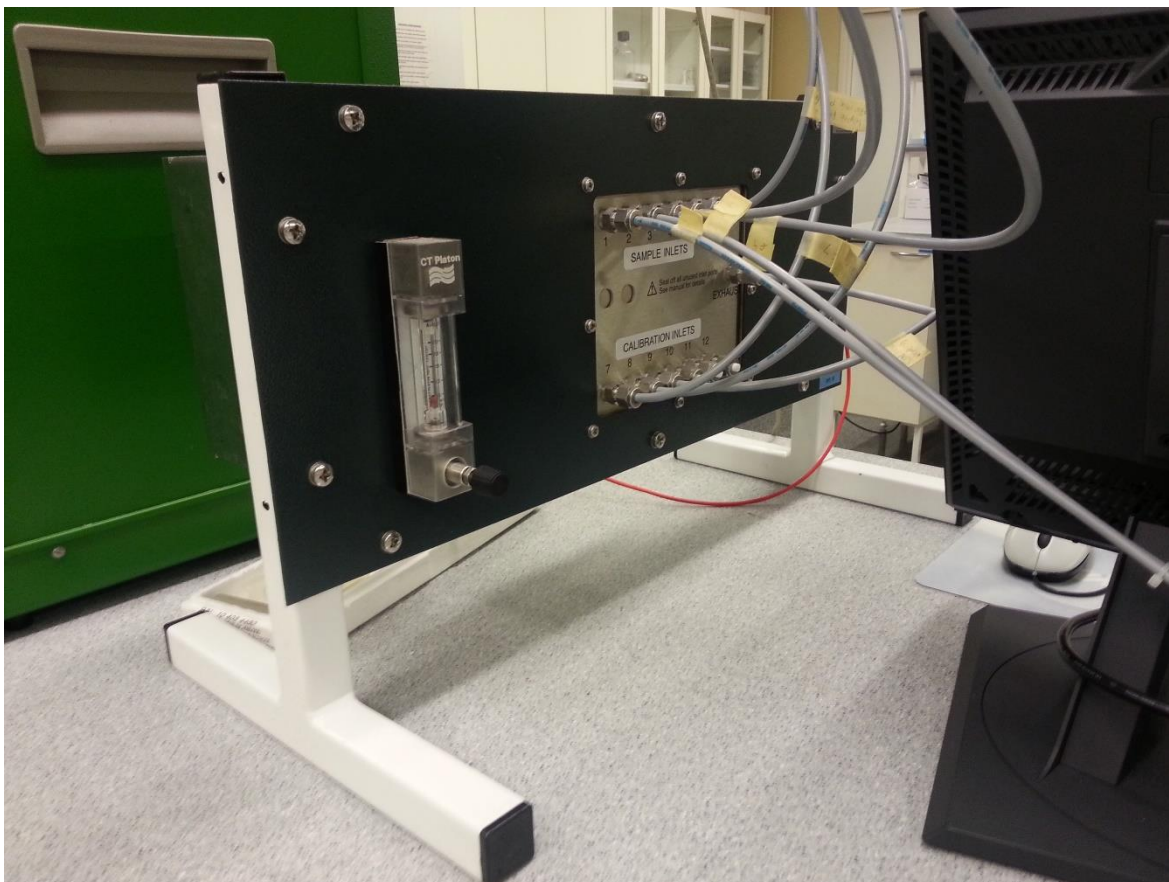
1.1 Työn tausta

Seinäjoen ammattikorkeakoulun bio- ja elintarviketekniikan koulutusohjelman laboratoriotiloista löytyy Thermo ONIXin ProLab -massaspektrometri (Kuva 1.). Laitteen mukana on tullut oma tietokoneohjelma GasWorks, jolla laitetta käytetään ja jonka kautta saadaan kaasufaasisien näytteiden mittaustulokset.



Kuva 1. Thermo ONIX ProLab -massaspektrometri

ProLab on kvadrupolianaalysointinen massaspektrometrinen kaasuanalysijärjestelmä. Sitä voidaan käyttää ainoastaan kaasumaisten näytteiden analysointiin.



Kuva 2. Monitienäytteensyöttö

Massaspektrometri on kytkettynä fermentorin yhteyteen monitienäytteensyötön kautta (Kuva 2.). Tällöin massaspektrometrillä voidaan analysoida fermentorissa kasvatettavien mikrobien tuottamia kaasuja reaaliaikaisesti kasvatusprosessin aikana. Massaspektrometri analysoi tällöin lähinnä kasvatusprosessin kulkua, eikä mitattavana kohteena ole niinkään mikään yhdiste tai alkuaine, vaan niiden määrän muutokset ajan kuluessa. Monitienäytteensyötön ylärivillä on neljä paikkaa näytteille. Standardikaasuilla kalibrointia varten monitienäytteensyötössä on alarivillä omat paikkansa kolmelle eri kaasulle.

1.2 Työn tavoite

Työn tavoitteena on tutustua sekä massaspektrometriaan että sen sovelluksiin analytiikassa ja tutkia mahdollisuutta laajentaa massaspektrometrin käyttöä uusiin sovelluksiin. Kirjallisuusanalyysin keinoin selvitetään sekä yleistä teoriaa massaspektrometriasta että sen käyttösovelluksista. Työn kokeellisessa osuudessa tutustutaan Thermo ONIXin ProLab -massaspektrometrin käyttöön.

1.3 Työn rakenne

Työn ensimmäinen kappale on johdantokappale. Siinä kerrotaan työn taustoista, tavoitteesta ja rakenteesta. Toisessa kappaleessa kerrotaan massaspektrometriasta yleisesti. Siinä käydään läpi massaspektrometrian historiaa, tutustutaan massaspektrometrin rakenteeseen ja toimintaperiaatteeseen. Yleisimpiä käytettäviä menetelmiä käydään läpi ionilähteistä ja massa-analysointilaitteista. Lisäksi kappaleessa kerrotaan myös massaspekttrin analysoimisesta.

Kolmas kappale kertoo massaspektrometrian analyysisovelluksista. Massaspektrometria käytetään monilla aloilla kemiallisissa analyyseissa. Tähän kappaleeseen on koottu elintarvikealan sovelluksia.

Neljäs kappale kertoo Thermo Onix ProLab -massaspektrometrin käyttökokemuksista. Kappaleessa käydään läpi laitteen käynnistys, kalibrointi, massaspekttrin tallennus sekä tulkinta. Kappaleesta löytyy myös kuvioina ja taulukoina havainnollistettuja mittaustuloksia. Viimeinen eli viides kappale on yhteenvetokappale. Siihen on koottu keskeisimpiä ajatuksia tästä työstä.

2 MASSASPEKTROMETRIA

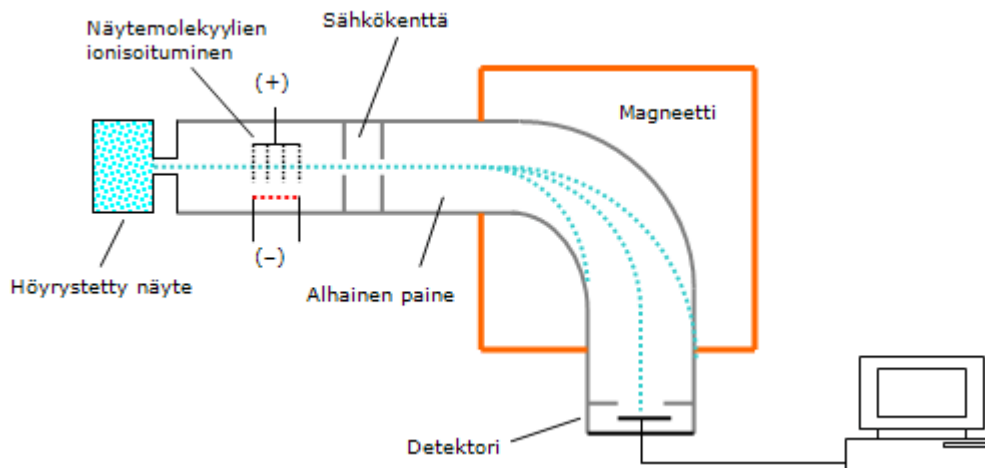
2.1 Historiaa

Massaspektrometria kehittyi hiukkasfysiikassa 1900-luvun vaihteessa tehdyistä tutkimuksista. 1900-luvun alkupuolella J.J. Thomson rakensi paraabelisen massaspektrografin, jolla mitattiin jännitteen suhdetta massaan (z/m) useilla ionilajeilla. Lausekkeessa z/m z -arvo on jänniteluku ja m -arvo on massaluku. Modernissa massaspektrometriassa mitattava suure on m/z ja sen yksiköksi on nimitetty thomson (Th). 1940-luvulla raakaöljyteollisuudessa selvitettiin orgaanisia rakenteita massaspektrometrian avulla. Niille molekyyleille, jotka kestivät kuumennetulle ja vakuoidulle ionilähteelle haihdutuksen hajoamatta, ionisointimenetelmäksi tuli elektronipommitus. 1950-luvun aikana massaspektrometrejä alettiin valmistamaan kaupalliseen käyttöön ja uusia käyttösovelluksia löydettiin. Massaspektrometriassa tutkitaan järjestelmiä, joilla tuotetaan pilkkoutuneita tai pilkkoutumattomia kaasufaasisia ioneja, jotka sen jälkeen luokitellaan niiden massa-jännitesuhteen mukaan sekä niiden suhteellisen määrän mukaan. (Mellon, Self & Startin 2000, 1-3.)

2.2 Massaspektrometrin rakenne ja toimintaperiaate

Massaspektrometrin kolme tärkeintä osaa ovat ionilähde, massa-analysointilaite ja detektori. Koska massa-analysointilaite ja detektori sekä useat ionilähteet tarvitsevat toimiakseen alhaisen paineen, tarvitaan laitteeseen myös pumppujärjestelmää. Lisäksi tietokoneohjelmaa tarvitaan detektorin vastaanottamien signaalien tallentamiseen. (Brinkmalm, Ekman & Silberring 2009, 15.)

Massaspektrometrin mittauksissa tutkittava näyte ionisoidaan ionisaattorissa. Suhteellisen vähän tutkittavaa yhdistettä ionisoituu ja hajoaa massafragmenteiksi ionisaattorissa saamansa ylimääräisen energian takia. Ionisaattorissa syntyneet ionit kiihdytetään lentämään massa-analysointilaiteeseen. Ionin varaus on yleensä positiivinen yhden arvoinen, joten erottelu tapahtuu ionin massan perusteella. Se, miten sähkö- tai magneettikenttä vaikuttaa ionin lentorataan, on perusteena massa-analysointilaiteen toiminnalle. (Jaarinen & Niiranen 2008, 123.)



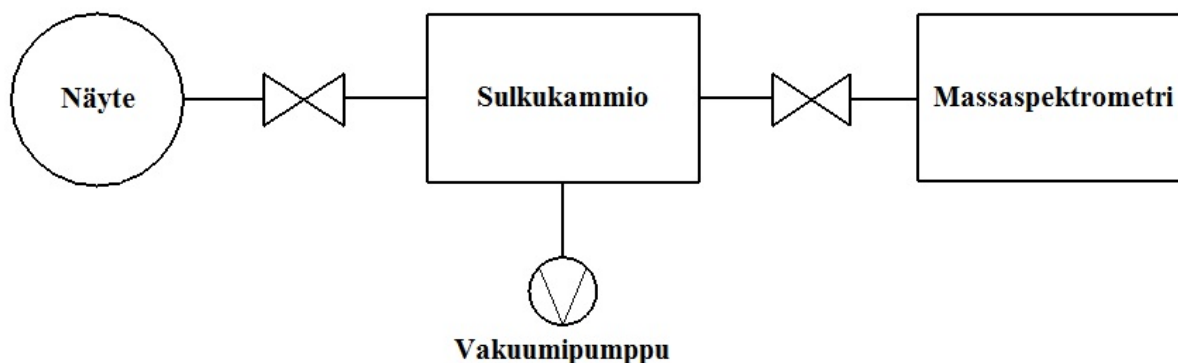
Kuvio 1. Kaavio massaspektrometrinä (Laboratorioanalyysit [viitattu 17.11.2013])

Massaspektrometriassa samamassaiset ja -varaukselliset hiukkaset kulkevat detektorille samaan pisteeseen (Kuvio 1.). Kunkin ionin lukumäärä ja massa rekisteröityvät detektorille. (Laboratorioanalyysit [viitattu 17.11.2013].)

Massaspektrometri kykenee rekisteröimään vain varauksellisia molekyylejä, koska niiden lentorataan voidaan vaikuttaa sähköisillä ja magneettisilla kentillä. Radikaalit ja varauksettomat molekyylit eivät reagoi näihin. Ionisointiprosessista sekä atomien ja molekyylin rakenteesta johtuen voi syntyä erilaisia ioneja. Yleisimmin ionit muodostuvat elektronin menetyksen kautta. Elektronegatiiviset atomit ja molekyylit voivat ionisoitaessa saada elektronin. Koska ionien ohjauslinssien napaisuus on aina sama kuin ohjattavien ionien, voidaan vain yhden tyyppisiä ioneja havaita. (Downard 2004, 10-11.)

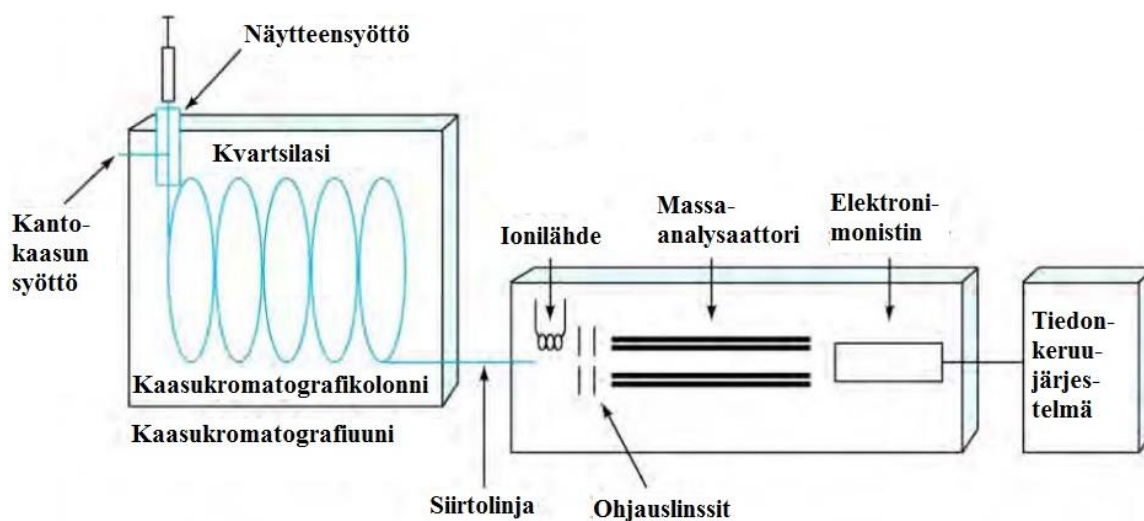
Pirstoutuneet ionit muodostuvat, jos ionisointiprosessissa on riittävästi energiaa molekyylin hajoamiseen pienempiin osiin, jotka voivat olla havaittavia ioneja tai havaitsemattomia radikaaleja ja varauksettomia molekyylejä. Pirstoutuneiden ionien vakaus vaikuttaa niiden ilmestymiseen massaspekttrissä. (Downard 2004, 11.)

2.3 Näytteen syöttö



Kuvio 2. Näytteen suorasyöttö

Puhdas näyte voidaan syöttää laitteeseen suorasyötöllä sulkukammion kautta (kuvio 2.). Näin toimitaan myös, jos halutaan näytteen summaspektri. Yleensä massaspektrometri on yhdistetty kromatografiin (Kuvio 3.). Kaasukromatografian kautta syötetty näyte on tyypillisesti liuos. Ionisaattorin jännitteet kytketään päälle vasta, kun liuotin on kulkenut ionisaattorin läpi. Tällöin säästetään filamenttia ja elektrodeja likaantumiselta. (Jaarinen & Niiranen 2008, 123-124.)



Kuvio 3. Näytteensyöttö kaasukromatografista mukailten (Joint FAO/WHO Expert Committee of Food Additives 2006, 18)

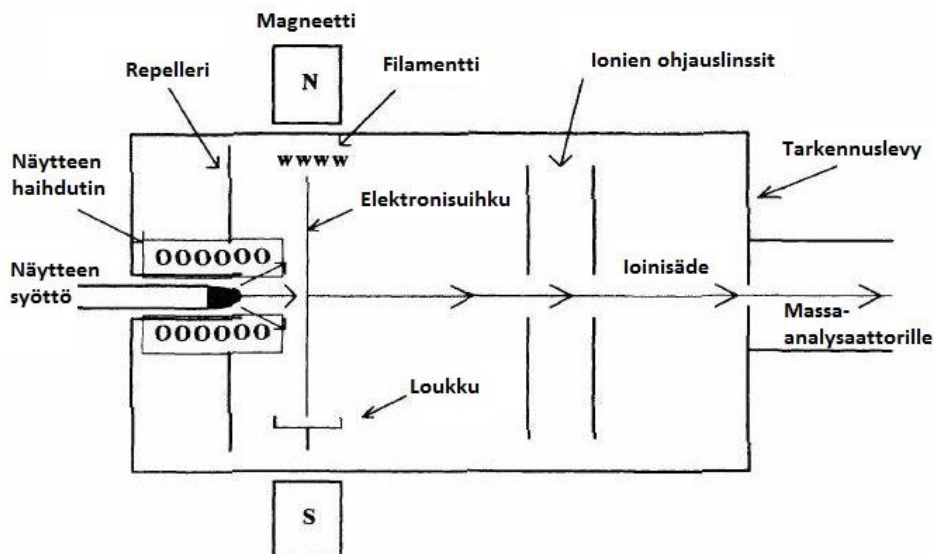
2.4 Ionilähteet

Massaspektrometrissä ionilähteen tehtävä on luoda kaasufaasisia ioneja. Analysoitavat atomit, molekyylit ja yhdisteet siirtyvät kaasufaasiin ja ionisoituvat joko yhtäaikaaisesti, kuten sähkösumutusionisoinnissa tai erillisen prosessin kautta, kuten hohtopurkauslamppua käytettäessä. Heikot ionilähteet voivat saada aikaan ehjiä ioneja isoista ja hauraista molekyyleistä, kuten proteiineista, nukleiinihaposta ja myös eikovalenttisesti sitoutuneista yhdisteistä. Ionilähteet valitaan pitkälti käyttötarkoituksen mukaan. Ionilähteiden valikoima on laaja ja niistä osa on erittäin spesifisiä ja toiset taas soveltuvat useisiin käyttötarkoituksiin. (Brinkmalm ym. 2009, 16.)

Nestekromatografia-massaspektrometreillä voidaan analysoida useampia erilaisia yhdisteitä kuin kaasukromatografia-massaspektrometreillä. Kun näyte syötetään nestekromatografista, tarvitaan välille erityinen liitososa, jolla kolonnista tuleva eluenttiliuos poistetaan. Nestekromatografia-massaspektrometriassa käytetään myös erilaista ionisointitekniikkaa kuin kaasukromatografia-massaspektrometriassa. (Jaarinen & Niiranen 2008, 209.)

2.4.1 Elektronipommitus

Elektronipommitus on ionisointitapa, jota käytetään lähes kaikissa massaspektrometreissä. Ionisaattorissa olevasta hehkulangasta, filamentista, irtoaa korkean lämpötilan vaikutuksesta elektroneja. Elektroneja kiihdytetään sähkökentässä, jolloin ne saavat kineettistä energiaa. Jos kiihdytysjännite on 70 V, elektronin kineettinen energia on 70 eV. Ionisaatioon tarvitaan n. 10 eV. Tutkittava molekyyli menettää elektronin ja siitä syntyy molekyyli-ioni M^+ . Molekyyli-ioniin jää paljon ylimääräistä energiaa, mistä johtuen sen sidokset yleensä katkeavat. Molekyyli-ionista, joka on positiivisesti varautunut, syntyy kaksi osaa. Toinen osa on sähköisesti neutraali ja toisella on positiivinen varaus. Jos energiaa on vielä jäljellä, voivat osat eli massafragmentit hajota edelleen pienemmiksi osiksi. (Jaarinen & Niiranen 2008, 124.)

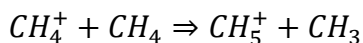


Kuvio 4. Elektronipommitusionisointi mukailten (Mellon ym. 2000, 4)

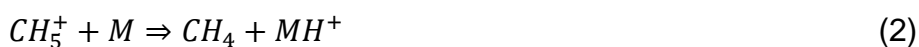
70 eV elektroneja siirtyy filamentilta loukkua kohden ionisointikammiossa (Kuvio 4.). Repelleri työntää haihdutettuja ioneja kulkemaan elektronisuihkun läpi kohti ionien ohjauslinssettä sekä massa-analyysaattoria. (Mellon ym. 2000, 4.)

2.4.2 Kemiallinen ionisointi

Kemiallisessa ionisoinnissa näyte ionisoidaan ionisoituneen kaasun esimerkiksi metaanin avulla. Metaanista elektronipommituksessa syntyvät CH_4^+ -ionit reagoivat edelleen neutraalien metaanimolekyylien kanssa (reaktioyhtälö 1).



Näytemolekyyliin M törmää reaktiossa syntynyt positiivinen CH_5^+ -ioni, joka siirtää sille protonin H^+ (reaktioyhtälö 2).



Massaspektriin saadaan massasignaali, joka on yhdisteen moolimassa + yksi ($M + 1$). Kemiallisessa ionisaatiossa syntynyt MH^+ -ioni hajoaa erilailla kuin elektroni-ionisaatiosta saatu M^+ -ioni. Massaspektrit eroavat käytetyn ionisaatiotavan mukaan. Usein käytetään yhdistelmiä, joissa esimerkiksi massaspektri mitataan elektronipommituksella ja molekyyli­massan varmennukseen käytetään kemiallista ionisaatiota. (Jaarinen & Niiranen 2008, 125.)

2.4.3 Sähkösumutusionisointi

Sähkösumutusionisoinnissa nestekromatografiliuosta ajetaan pienellä virtausnopeudella ohuen kapillaarin läpi, jossa on muutaman kV:n jännite suhteessa sumutuskammioon. Silloin liuoksesta poistuu elektroneja. Typpikaasua käytetään sumuttimessa ja kuivauksen apuna. Eluenttiliuoksesta muodostuvista pienistä sähköisesti varatuista pisaroista tulee liuottimen haihduttua pienempiä, ja sähkövaraus keskittyy aikaisempaa pienempään tilaan. Pisanan varaustiheys kasvaa, ja sähköinen poistovoima voittaa pintajännityksen. Pisarat hajoavat nanometrien kokoisiksi aerosolihiukkasiksi. Liuottimen haihduttua tutkittavan näytteen ionit vapautuvat samassa muodossa kuin ne olivat eluenttiliuoksessa. (Jaarinen & Niiranen 2008, 211.)

Sähkösumutuksella voidaan analysoida myös yhdisteitä, joissa on heikkoja sidoksia. Massaspektri on yksinkertainen eikä anna paljoa informaatiota yhdisteen rakenteesta, koska fragmentoituminen on vähäistä. Sähkösumutustekniikalla voidaan tutkia molekyyli­painoluokkaa 100 000 olevia suuria yhdisteitä. (Jaarinen & Niiranen 2008, 211-212.)

2.4.4 Lämpösumutusionisointi

Lämpösumutusionisointia käytettäessä voidaan saada kaasufaasisia ioneja pysyvistä molekyyleistä. Näyte sumutetaan kuumennetusta metallikapillaarista alipaineistettuun kammioon jossa on kuumennettua kaasua. Kuumasta kaasusta johtuen pienet pisarat jatkavat haihtumista ja kaasufaasisia ioneja muodostuu. Menetelmä tarvitsee varauksellisten tai poolisten yhdisteiden lisäksi haihtuvaa puskuria. Haih-

duttimen lämpötila on riippuvainen käytettävän liuottimen rakenteesta. Lämpösumutus on jatkuvatoiminen ionilähde ja sitä käytetään yleensä yhdessä kvadrupolianaalysaattorin tai magneettisen sektorilaitteen kanssa. (Brinkmalm ym. 2009, 27.)

2.5 Massa-analysaattori

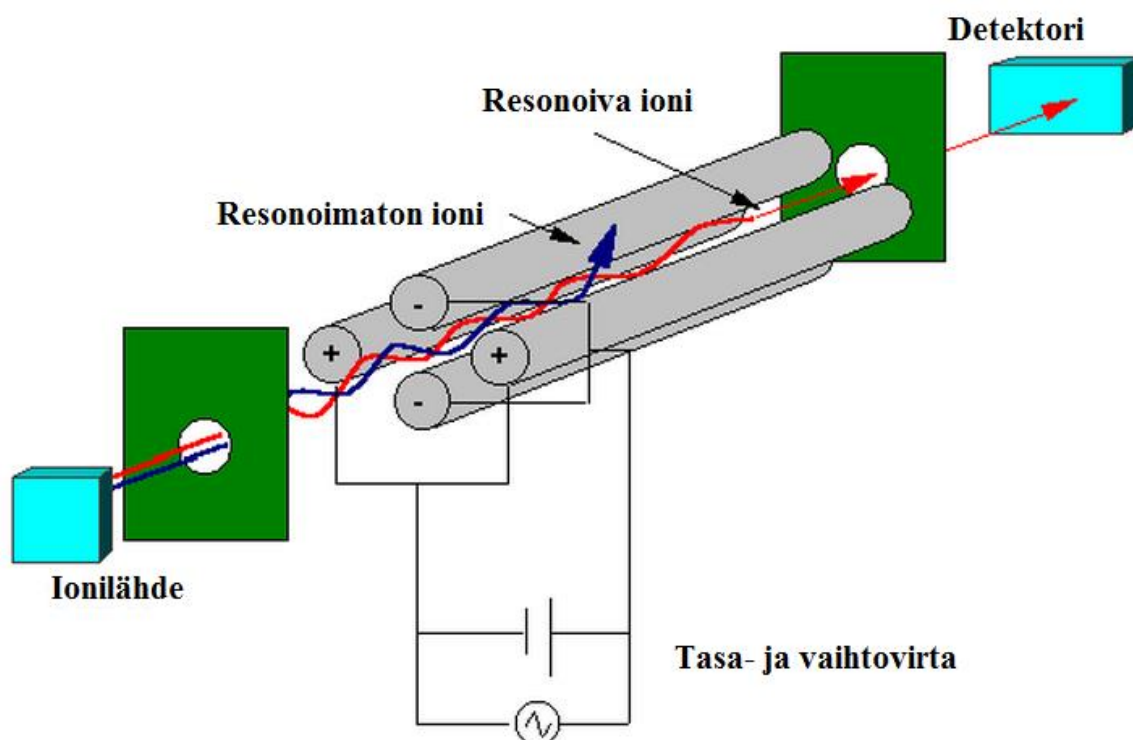
Massa-analysaattori kykenee erottamaan atomit, molekyylit sekä yhdisteet niiden massan mukaan. Konformaation ei pitäisi vaikuttaa erotuskykyyn. (Brinkmalm ym. 2009, 38.) Massa-analysaattoreina käytetään korkean erotuskyvyn sektorilaitetta tai yleisimmin käytettävää kvadrupolianaalysaattoria. Harvemmin käytettäviä massa-analysaattoreita ovat ioniloukku sekä lentoaika-analysaattori. Kvadrupolianaalysaattori koostuu neljästä yhdensuuntaisesta sauvasta, joiden tuottama värähtelevä sähkökenttä ohjaa ionien kulkua. Eräät m/z -suhteen ionit lentävät toisiinsa sähköisesti kytketyn sauvaston läpi eräillä tasa- ja vaihtovirroilla. Muut ionit törmäävät sauvastoon eivätkä pääse detektorille. Mitä pitempään ionit viipyvät analysaattorissa, sitä tarkemmin ionien erottelu tapahtuu. Erimassaiset ionit erottuvat sitä huonommin, mitä suurempi repellerin jännite on. (Jaarinen & Niiranen 2008, 125-126.)

2.5.1 Kvadrupolianaalysaattori

Kvadrupolianaalysaattori, eli kvadrupolisuodin, päästää läpi vain erään m/z -suhteen ionit. Korkeamman tai matalamman m/z -suhteen ionien lentorata taipuu ja ne jäävät suotimeen. Massaspektri saadaan ajamalla näyte kaikilla tarkoitukseen sopivilla m/z -taajuuksilla ja jokaiselta taajuudelta kerätään läpi menevien ionien määrä. (Brinkmalm ym. 2009, 49.)

Menetelmän erotuskyky on riippuvainen siitä, montako kierrosta ioni kulkee analysaattorissa. Erotuskykyä heikentävät ionien nopeuden nosto ja vaihtojännitteen lasku. Kolmen kvadrupolin järjestelmällä voidaan suorittaa tandemmassaspektoriaa. Toinen kvadrupoli, joka voi olla myös heksa- tai oktapoli, ei toimi kahden muun tavalla suodattimena, vaan on törmäyskammio sisältäen kaasua. Tällä tekniikalla saadaan tehokkaasti aikaan ionien fragmentteja ja sen avulla voidaan löytää ionin esiasteita. (Brinkmalm ym. 2009, 50-51.)

Analysaattori käyttää tasavirran ja radiotaajuudella muuttuvan vaihtovirran yhdistelmää. Neljä symmetrisesti järjestettyä yhdensuuntaista sauvaa on kytketty vastakkaisesti pareihin (Kuvio 5.). Ionilähteestä tulevat ionit saapuvat analysaattorille sauvojen väliin ja kulkevat niiden mukaisesti. Eräillä tasajännitteillä ja vaihtojännitteen amplitudeilla vain pienellä osalla ioneista on vakaa lentorata ja ne pääsevät läpi törmäämättä sauvoihin. Painavimmat ionit reagoivat lähinnä tasajännitteen vaikutuksesta, kun taas kevyemmät ionit reagoivat myös vaihtojännitteen muutoksiin. (Brinkmalm ym. 2009, 49.)



Kuvio 5. Kvadrupolianalysaattori mukaillen (Chemicool 2014.)

2.5.2 Sektorilaitte

Ionien erotteluun osallistuu sekä sähkö-, että magneettisektori korkean erotuskyvyn laitteissa. Ionin alkuainekoostumus voidaan määrittää riittävän tarkan massan avulla. Laitteiden käyttö on vaativampaa kuin kvadrupolilaitteinen. (Jaarinen & Niiranen 2008, 127.)

Varautunut ioni ohittaa poikittaisesti magneettikentän, joka ionin ollessa oikeassa kulmassa magneettikenttään muuttaa ionin lentorataa kaarevaksi. Samalla varauksella olevat ionit voivat kulkea eri lentorataa, jos niiden nopeudet ovat erilaiset. (Downard 2004, 43.)

2.5.3 Ioniloukku

Kvadrupolianalysoitsijan ja ioniloukkumassaspektrometrin toimintaperiaate on samantapainen. Elektronipurkaus ionisoi näytteen ioniloukussa. Sopivien radiotaajuusjännitteiden avulla saadaan ionit ioniloukusta ohjattua detektorille. Ioniloukkutekniikka on varsin herkkä, koska ioniloukossa kaikki ionit ovat aluksi stabiileja ja ne ohjataan jännitteitä muuttamalla detektorille. (Jaarinen & Niiranen 2008, 128.)

2.5.4 Lentoaika-analysoitsija

Erimassaisten ionien nopeuseroihin perustuu lentoaikamassaspektrometria. Ionit saavat saman kineettisen energiaa, kun ne kiihdytetään vakiojännitteellä. Raskaat ionit lentävät kevyitä hitaammin. Samaan aikaan lähteneet erimassaiset ionit saapuvat eri aikaan detektorille, siitä niiden massat saadaan selville. Lentoaikamassamenetelmä on nopea ja sillä saavutetaan suuri resoluutio. (Jaarinen & Niiranen 2008, 127.)

2.6 Detektori

Detektorin tehtävänä on muuntaa saapuvien partikkelien energia sähköiseksi signaaliksi, jonka tiedonkeruujärjestelmä siirtää tietokoneelle. Kun saapuva partikkeli iskeytyy detektorille, vapautuu törmäyksestä energiaa, jonka johdosta erittyy sekundaarisia partikkeleja esimerkiksi elektroneja tai fotoneja. (Brinkmalm ym. 2009, 65.) Irronneet elektronit lentävät detektorina käytettävän elektronimonistimen perää kohden ja törmäävät pian uudelleen seinämään. Uudessa törmäyksessä vapautuvien elektronien signaali vahvistetaan ja sitä voi verrata analysoitsijan läpi tulevien ionien

määrään. Analysaattorin jälkeen asetettu poikkeutuslevy ohjaa positiivisesti varautuneet ionit detektoriin. (Jaarinen & Niiranen 2008, 128.)

2.7 Massaspektrin analysointi

Massaspektrien vertaaminen tietokoneen avulla kirjastospektreihin on nopein tapa tulkita massaspektrejä. Pieniä poikkeamia spektreihin aiheutuu näytteessä olevista epäpuhtauksista sekä eri laitteiden hieman toisistaan poikkeavasta toiminnasta. Mitatusta spektristä on vähennettävä, lähinnä kosteudesta ja ilmasta syntyvät, taustasignaalit ennen tietokonehakua. (Jaarinen & Niiranen 2008, 130.)

Kaikkien aineiden kirjastospektrejä ei ole saatavilla, joten massaspektrejä voidaan joutua tulkitsemaan myös manuaalisesti. Molekyyli-ioniä vastaava piikki haetaan ensin. Sen molekyylin moolimassa on sama kuin sen massa. Spektrin suurimpaan piikkiin suhteutetaan muiden piikkien koot ja sille annetaan arvo 100 %. Molekyyli-ioni voi hajota niin paljon, ettei siitä saada havaittavaa signaalia. Silloin yritetään selittää sopivan neutraalin osan lohkeaman avulla peruspiikki. Molekyyli-ionin massa on peruspiikin ja neutraalin osan massan erotus. (Jaarinen & Niiranen 2008, 130.)

Ioni ilmestyy massaspektriin vahvistetusta sähkövirrasta, joka muodostuu ionin iskeytyessä detektorille. Massaspektrin vertikaaliselle y-akselille piirtyy ionivirta, ionien lukumäärä tai kaikista yleisimmin suhteellinen ionimäärä. Siinä suurimman virran saanut ionisignaali saa arvokseen 100 % suhteellisen ionimäärän asteikolla. Muiden ionien suhteellinen määrä mitataan tähän peruspiikkiin verrattuna. Suhteelliseen ionimäärään vaikuttavat ionien vakaus, varauksettomien aineiden vakaus, massaresoluutio sekä detektorin tehokkuus. (Downard 2004, 17.)

3 MASSASPEKTROMETRIN SOVELTAMISALUEITA

3.1 Aminohapot, peptidit ja proteiinit

Aminohapot, peptidit ja proteiinit vaikuttavat elintarvikkeiden fysikaalisiin ominaisuuksiin, biologiseen aktiivisuuteen sekä aistittaviin ominaisuuksiin. Ne pystyvät muodostamaan viskoelastisia verkkoja, sitomaan vettä, emulsioimaan rasvaa ja öljyä, sitomaan makuja sekä muodostaa pysyviä vaahtoja. Peptidien ja proteiinien eristämisestä ja luokittelusta on tehty lukemattomia tutkimuksia, jotta niiden rakenteiden välisiä suhteita ja niiden aktiivisuutta elintarvikkeissa voitaisiin ymmärtää. (Fay & Kussman 2010, 78.)

Tandemmassaspektrometria on aminohappojen määrittämiseen hyvin soveltuvaa. Joitain aminohappoja ja peptidejä voidaan ionisoida suoraan sähkösumutus-ionisoinnilla tai kemiallisella ionisoinnilla, koska ne ovat riittävän haihtuvia. Kaasukromatografian ja massaspektrometrin yhdistelmällä on mahdollista tutkia haihtuvia yhdisteitä, joita muodostuu aminohappo/sokerireaktioissa, kuten esim. Maillardin reaktiossa. (Mellon ym. 2000, 170-174.)

Analysoimalla elintarvikkeen proteiineja voidaan määrittää sen ainutlaatuiset ominaisuudet, tuotantomenetelmä tai maantieteellinen alue. Proteiinien kautta voidaan myös valvoa elintarvikkeiden geenimanipulointia. (Fay & Kussman 2010, 80.)

3.2 Sokerit ja hiilihydraatit

Sähkösumutus-ionisointia yhdessä massaspektrometrin kanssa on käytetty yhtä kauan hiilihydraattien määrittämiseen kuin muiden biopolymeerien. Hiilihydraattien massaspektrit ovat vähemmän hyödyllisiä kuin peptidien, koska hiilihydraatit ovat samankaltaisia monosakkaridijäämien kanssa. Näytteiden tarkkaa valmistelua tarvitaan, jotta yhdisteen isomeria ja sidostyyppit voidaan määrittää. (Mellon ym. 2000, 213.)

3.3 Rasvat

Rasvat ovat suurin energian lähde ruokavaliossa ja tärkeä osa elintarvikkeiden rakenteessa ja suutuntumassa. Rasvojen hapettuminen elintarvikkeiden säilytyksen aikana on yksi suurin syy virhemakuihin. (Mellon ym. 2000, 192.) Rasvat ovat monimuotoisia yhdisteitä useilla erilaisilla biologisilla tarkoituksilla, kuten esimerkiksi toimivat energiavarastoina ja muodostavat solukalvoja. Rasvat poikkeavat muista biomolekyyleistä, koska niillä ei ole yhtenäistä kemiallista rakennetta. Massaspektrometrian ja tietokoneiden tuoreen kehityksen avulla on edetty rasvojen tutkimuksessa. (Cifuentes 2013, 351-354.)

Öljyissä ja rasvoissa olevat triglyseridit ovat tärkeä osa ruokavaliotamme. Rasvojen ravintoarvo on riippuvainen rasvahappojen tyydyttyneisyydestä. Rasvoissa tutkitaan niiden tuoreutta, aitoutta ja laatua. Rasvoja voidaan tutkia myös tuoteturvallisuuden takia. (Cifuentes 2013, 369-370.)

3.4 Vitamiinit

Vitamiinit ovat mikroravinteita. Niitä on yleensä tärkeää saada pieniä määriä ravinnosta, koska ne ylläpitävät kehon toimintaa ja niitä ei syntetisoida riittävästi normaaliin tarpeeseen. Vitamiineja voidaan analysoida kvalitatiivisesti ja kvantitatiivisesti massaspektrometrillä, mutta muutamaa poikkeusta lukuun ottamatta tämä ei ole kannattavaa. Huomio on kasvavassa määrin kiinnitetty sekä vitamiiniaineenvaihdunnan tuotteisiin, että vitamiinien imeytymiseen. Näistä sovelluksista saadaan lisää tietoa väestön ravinnetarpeista sekä siitä, milloin ravinnelisät ovat suotavia. Parhaimman mahdollisen ravinnelisän valitsemiseen voidaan käyttää näitä menetelmiä sekä selvittää kuinka hyvin ravinnelisä imeytyy prosessoiduista elintarvikkeista, raaka-aineista tai tableteista. (Mellon ym. 2000, 244.)

Vitamiinit jaetaan vesi- ja rasvaliukoisiin. Vesiliukoisten vitamiinien rakenteet ovat melko monimuotoiset, kun taas kaikissa rasvaliukoisissa vitamiineissa on isopreeniyksiköt. Kaikkia vitamiineja ei ole tutkittu massaspektrometrillä niin laajasti, että niistä olisi tarpeeksi kattavaa tutkimuspohjaa. (Mellon ym. 2000, 244.)

3.5 Elintarvikkeiden maut ja virhemaut

Kaasukromatografian ja massaspektrometrin yhdistelmää käytetään tutkittaessa monimutkaisia ja epävakaita yhdisteitä, joista elintarvikkeiden maut muodostuvat. Analyttisen kemian peruseriaatteita hyödynnetään näytteiden ottamisessa ja käsittelyssä. Näytettä on mitattava pitkällä aikavälillä, koska massaspektrometrin aromiyhdisteiden havaitsemisherkkyys on suhteellisen pieni verrattaessa taustahäiriöiden havaitsemisherkkyteen. (Mellon ym. 2000, 55-56.)

Useimmat elintarvikkeiden maut muuttuvat ajan kuluessa, joten näytteet edustavat vain senhetkistä tilannetta. Elintarvikkeiden makuprofiili muuttuu vielä suussa joh-tuen ruuan pureskelusta ja suussa erittyvistä entsyymeistä, jotka aloittavat ruuan-sulatuksen. Elintarvikkeen maistaminen on monipuolinen aistimus, johon vaikutta-vat mm. aromi, maku, rakenne ja suuntuntuma. Maistamista stimuloivat elintarvik-keista lähtevät kemikaalit, jotka havaitaan suussa ja nenässä. Useita elintarvikkeista haihtuvia yhdisteitä voidaan tunnistaa massaspektrometrillä, kuitenkin vain pieni osa näistä yhdisteistä vaikuttavat elintarvikkeen maun aistimiseen. (Mellon ym. 2000, 56-57.)

Perinteisillä menetelmillä esanssit sekä makuaineet uutetaan näytteestä ja vaikka uute laimennettaisiin alkuperäiseen pitoisuuteen, aromit eroavat tiivistämättömän näytteen aromeista. Uusilla kehittyneemmällä näytteen uuttomenetelmillä voidaan vähentää epävakaiden yhdisteiden hajoamista. Näytteiden käsittelyyn, säilytykseen ja aliotantaan on kiinnitettävä erityistä huomiota, jotta saadaan kvantitatiivisesti luotettavia tuloksia. (Mellon ym. 2000, 56.)

Massaspektrometrillä on mahdollista löytää luontaisista aromiyhdisteistä mahdolli-set lisäaineet tai epäpuhtaudet. Sen avulla voidaan myös verrata keinotekoisia ja luontaisia aromeja toisiinsa. Myös aromien esiasteet voidaan luokitella massaspektrometrillä. (Mellon ym. 2000, 62.)

3.6 Bioaktiiviset ravinteettomat yhdisteet

Bioaktiivisiin ravinteettomiin yhdisteisiin kuuluu useita luontaisia aineita, kuten karsinogeenit ja antioksidantit, joilla voi olla haitallisia tai hyödyllisiä vaikutuksia. Elin-
tarvikkeiden bioaktiivisia yhdisteitä on tutkittu vähemmän kuin antropogeenisiä yh-
disteitä, kuten esimerkiksi synteettisiä torjunta-aineita. Luontaisia ja luonnonmukai-
sia yhdisteitä on perinteisesti pidetty turvallisempina vaihtoehtoina. Kuitenkin asen-
teet kaikenlaisten bioaktiivisten yhdisteiden tutkimiseen ovat muuttumassa. (Mellon
ym. 2000, 93.)

Luontaisia toksiineja voidaan tunnistaa ja määrittää massaspektrometrian avulla.
Näytteiden ionisointiin on käytetty perinteisiä menetelmiä sähkösumutus-ionisointia
ja kemiallista ionisointia. Näissä menetelmissä saattaa tulla virheitä tärkeiden näy-
teyhdisteiden häviämisestä johtuen tai hallitsemattomista rakennemuutoksista joh-
tuen. Uusien hellävaraisempien ionisointimenetelmien kehittymisen sekä tandem-
massaspektrometrian yleistymisen vuoksi, voidaan kasveja analysoida vähäisellä
näytteeksi käsittelyllä. (Mellon ym. 2000, 94.)

Alkaloideja sisältävät kasvit ja kasvituotteet ovat merkittävä lähde ihmisten ja eläin-
ten altistumiselle luontaisille toksiineille. Useimmissa alkaloidimyrkytystapauksissa
on vahingossa nautittu syömäkelvottomia kasvilajeja, jotka muistuttavat syöntikel-
poisia kasvilajeja. Joissain yleisissä ruoissa kuten raaissa tomaateissa, muna-
koisossa ja perunoissa on merkittävä määrä myrkyllisiä glykoalkaloideja. Tavallisim-
min näiden kemikaalien pitoisuus on niin pieni, etteivät ne ole terveydelle haitallisia.
Kuitenkin uusien lajikkeiden ja geneettisesti muunneltujen kasvien kohdalla on tär-
keää tunnistaa ja säädellä luontaisten toksiinien tasoja. (Mellon ym. 2000, 94-95.)

4 MENETELMÄTESTAUS

4.1 Massaspektrometrin käynnistäminen

Ensimmäisenä käynnistetään tietokone, jolla Prolab-massaspektrometrin käyttämiseen tarvittava ohjelma Gasworks on. Massaspektrometrin päävirtakytkin löytyy laitteen takaa, ja myös monitienäytteesyötön takaa löytyy oma päävirtakytkin. Laitteisiin kytketään virta ja Prolab-massaspektrometri suorittaa muutamassa sekunnissa oman sisäisen käynnistyksensä. Etupaneeliin syttyy ylin valo sen merkiksi.

Standardikaasupullot avataan n. 1 barin paineeseen. Kalibroinnissa käytettävät kaasut ovat argon(95%)-hiilidioksidi(5%) seos, typpi(79%)-happi(15%)-hiilidioksidi(5%)-argon(1%) seos sekä helium(99,996 %). Paineilmaventtiili tulee avata n. 0,25 barin paineeseen.

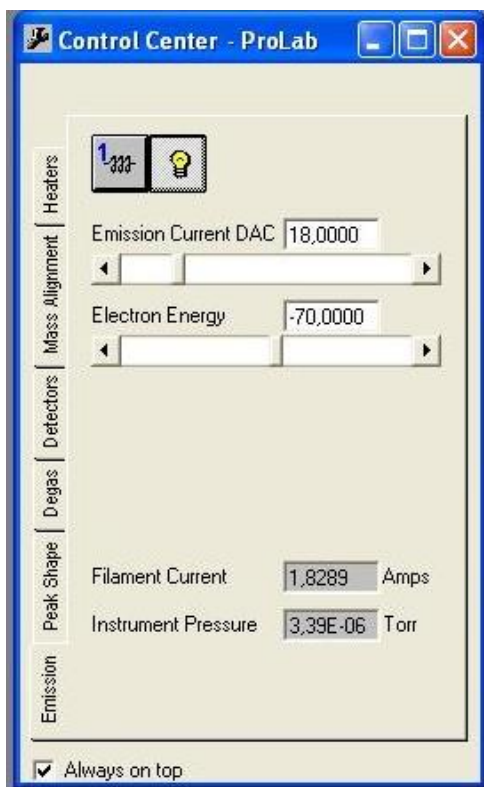
Noin kahden minuutin kuluttua turbomolekyylipumpun käyttönopeus on saavutettu ja toiseksi ylin valo syttyy. Noin kymmenen minuutin kuluttua järjestelmä saavuttaa tarvittavan alipaineen ja kolmanneksi ylin valo syttyy. Kun kolme ylintä valoa palavat sinisinä voidaan aloittaa laitteen käyttö Gasworks-ohjelman kautta.

Connect-pikavalintapainikkeella saadaan tietokoneen ja massaspektrometrin välille yhteys. Status-painikkeella nähdään laitteiden tilat (Kuvio 6.). Kaikkien muiden kohdalla pallot pitäisi olla vihreitä, mutta Emission- ja Filament current sence-pallot punaisina. Turbo speed kohdan 100 % kertoo, että turbomolekyylipumppu on käyttönopeudessaan. Instrument pressure kohdasta näkee laitteen paineen, joka tulisi olla $<10^{-5}$ Torr. Jos laitteen paine ei ole tarpeeksi alhaalla, kun filamenttiin läpi alkaa kulkemaan virtaa, palaa filamentti poikki.

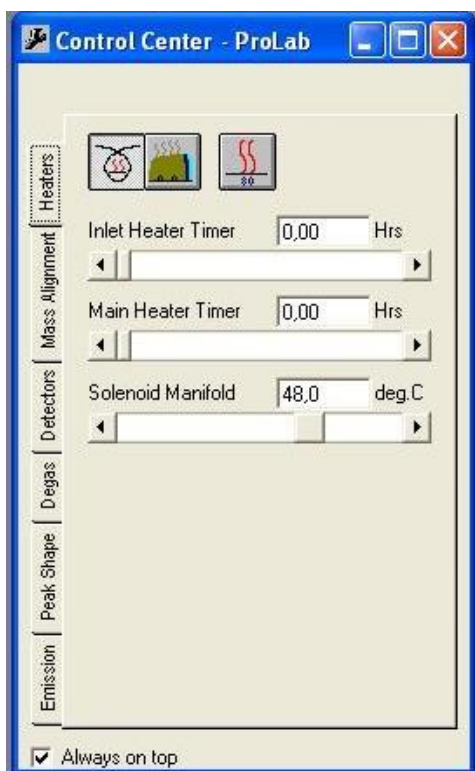
Control Center- pikavalintapainikkeen kautta päästään ohjaamaan laitteita. Emission välilehdeltä löytyy lamppupainike, jolla ionisointi käynnistetään (Kuvio 7.). Filamentin läpi kulkevaa virtaa voidaan tarkkailla tältä välilehdeltä. Sen tulisi olla välillä 1,6 – 1,8 Amps. Heaters-välilehden kautta saadaan näytteen lämmitys päälle, jolloin näyte kuumenee kulkiessaan punaisen näytteesyöttöletkun läpi monitienäytteesyötöltä massaspektrometrille (Kuvio 8.). Punainen näytteesyöttöletku kuumenee erittäin kuumaksi ja sen koskemista tulisi välttää (Kuva 3.).

PC - Instrument Communications Link		
●	Ambient Temperature	31,4 deg.C
●	Amplifier Zero Offset	-28,0022
●	Analog Input 2	0
●	Analog Input 3	0
●	DC Offset	-0,2403
●	DC/RF Ratio	8,3985
●	Electron Energy	-69,9633
●	Emission	0
●	Emission Current Sense	0,1 uAmps
●	Emission lockout	(Off)
●	Filament Current Sense	0,0031 Amps
●	Filament Select	(One)
●	Focus Voltage Sense	-105,1 Volts
●	Inlet Heater	(Off)
●	Inlet Heater Timer	0,00 Hrs
●	Instrument Pressure	3,28E-06 To
●	Main Heater	(Off)
●	Main Heater Timer	0,00 Hrs
●	Multiplier Status	0 Off
●	Pole Bias Sense	0,0 Volts
●	Relay 1	(Off)
●	Relay 2	(Off)
●	Relay 3	(On)
●	Repeller Voltage Sense	1,0 Volts
●	RF Deviation	2,6 Volts
●	RF Frequency Synthesiser	2000000,0 Hz
●	RF Only	(Normal)
●	RF Transformer Temperature	22,0 deg.C
●	RF1 Level	21,0 Volts
●	RF2 Level	21,0 Volts
●	Rod DC (+)	0,9 Volts
●	Rod DC (-)	-0,9 Volts
●	SEM Voltage	0,0000
●	Solenoid AIN #1	0
●	Solenoid Controller	1
●	Solenoid Controller Temp.	28,0 deg.C

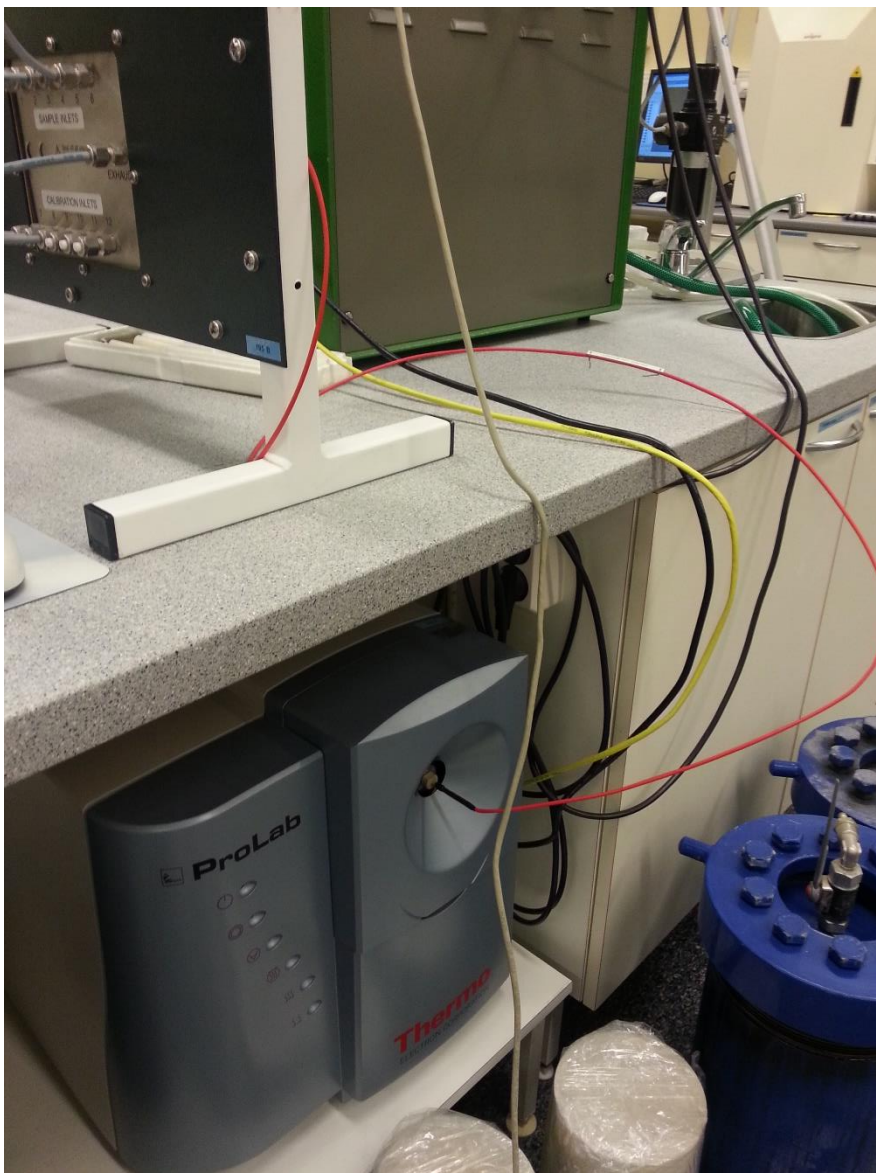
Kuvio 6. Instrument status kertoo laitteiden tilan



Kuvio 7. Control center Emission-välilehti



Kuvio 8. Control center Heaters-välilehti



Kuva 3. Näytteensyöttöletku monitienäytteensyötöltä massaspektrometrille

4.2 Massaspektrometrin kalibrointi

Massaspektrometrin kalibrointi standardikaasuja käyttäen aloitetaan Schedule-pikapainiketta painamalla. Calibration status-ikkunasta voi seurata kalibroinnin etene- mistä (Kuvio 10.). Ohjelma pyytää erikseen jokaisen standardikaasun liittämistä ja ok-painikkeen painamisen jälkeen monitienäytteensyötön paineilmaventtiili aukeaa ja kaasu alkaa virrata laitteelle. Ohjelma odottaa kaasuvirtauksen tasaantumista en- nen kalibroinnin alkua ja siinä kestää hetken aikaa.



Kuvio 9. Calibration status-ikkuna ja standardikaasun pyynti-ikkuna

4.3 Massaspektrin tallennus

Kalibroinnin onnistuttua alkaa ohjelma automaattisesti ottamaan näytteitä neljältä eri näytteenottoapaikalta sekä paineilmasta. Ohjelma vaihtaa näytteenottoapaikkaa 20 sekunnin välein, kunnes näytteenotto pysäytetään. Mittaustuloksia voi seurata Numeric view-ikkunasta (Kuvio 11.).

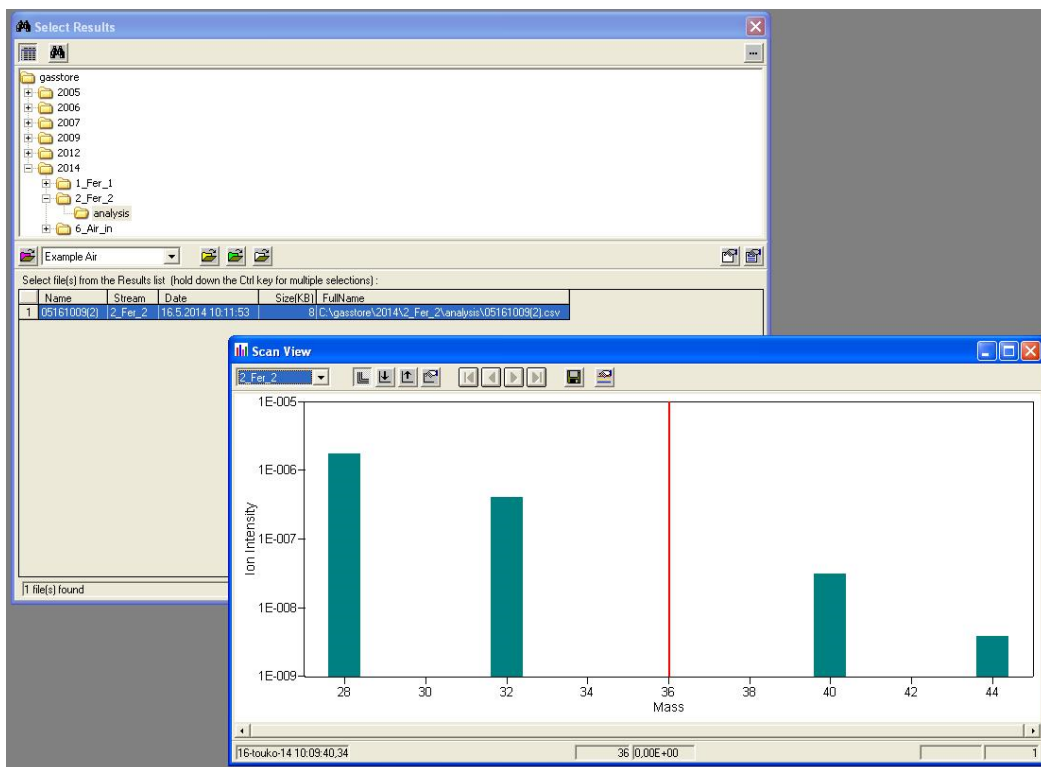
Mittaustulokset myös tallentuvat automaattisesti koneelle excel-tiedostoina, joista niitä voi tarkastella ja työstää. Tulokset löytyvät myös Gasworks-ohjelman Data review- pikapainikkeen kautta (Kuvio 12.). Näytteenotto lopetetaan Stop schedule-painikkeella.

Massaspektrometrin sammuttaminen aloitetaan Control center-painiketta painamalla. Emission-välilehdeltä sammutetaan lammupainike ja filamentin läpivirtauksen pitäisi vähentyä. Heaters-välilehdeltä sammutetaan näytteen kuumennus ja punainen näytteesyöttöletku alkaa hitaasti viilenemään. Filamentin pitäisi antaa viiletä n. puolen tunnin ajan ennen kuin laitteen takaa saa sammuttaa virran.

Numeric Received Results Data From - 2 Fer 2 26-touko-14 11:05:03,89

Stream \ Analyte	4 Fer 4 26-touko-14 11:03:51,48	6 Air in 26-touko-14 11:04:15,68	1 Fer 1 26-touko-14 11:04:39,78	2 Fer 2 26-touko-14 11:05:03,89
Nitrogen	0,00 %	0,00 %	23,07 %	0,00 %
Oxygen	0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %
Argon	0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %
Carbon Dioxide	0,00 %	0,00 %	76,93 %	100,00 %
Inlet Flow	1,00		1,00	1,00
CER (3)				
OUR (3)				
RQ (3)				
CER (4)	0			
OUR (4)	0			
RQ (4)	0			
CER (1)			0	
OUR (1)			0	
RQ (1)			0	
CER (2)				0
OUR (2)				0
RQ (2)				0
Mass 28	1,7955E-06	1,8478E-06	2,0021E-06	1,8205E-06
Mass 32	4,1492E-07	4,2859E-07	9,2507E-08	3,8187E-07
Mass 40	3,1039E-08	3,2057E-08	7,2655E-09	2,8565E-08
Mass 44	4,0372E-09	4,0998E-09	1,7855E-07	1,9097E-08

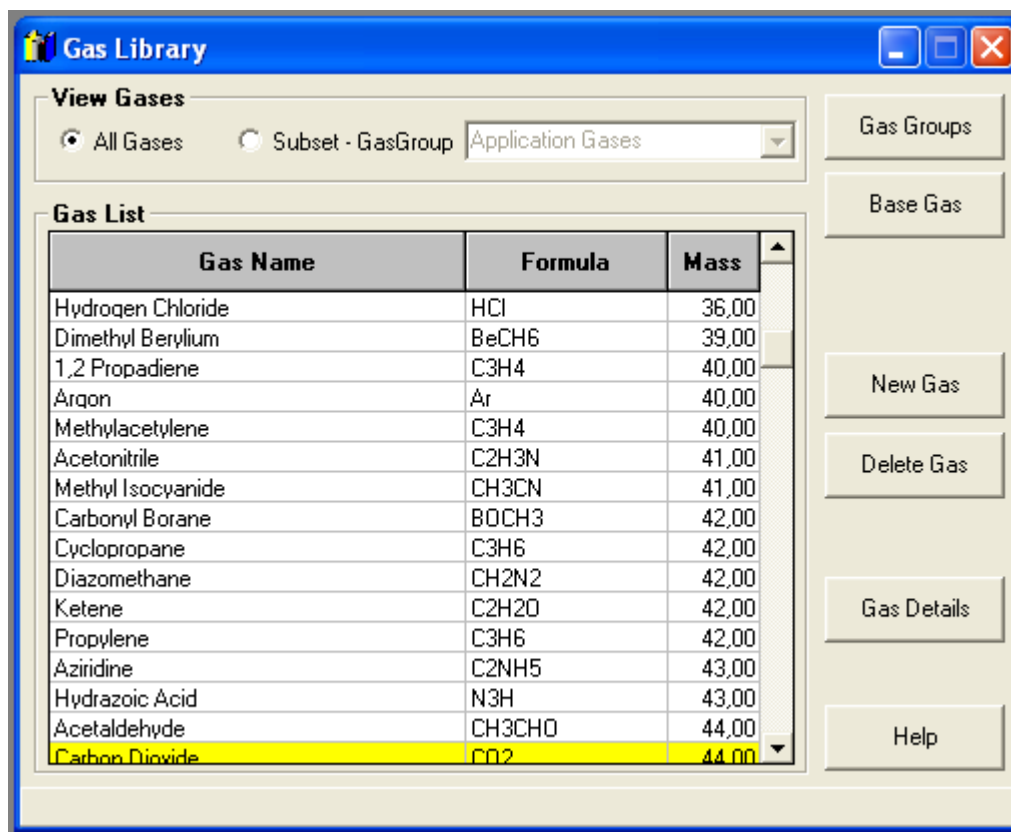
Kuvio 10. Numeric view-ikkuna



Kuvio 11. Data review-ikkuna

4.4 Massaspektrin tulkinta

Massaspektrin tulkintaan saa apua Gasworks-ohjelmasta löytyvästä kirjastosta (kuvio 13.). Massaspektrin piikkien kohdilla olevia massalukuja verrataan kirjastossa oleviin massalukuihin.



Kuvio 12. Kaasukirjasto

4.5 Kalibrointia ja suojakaasupakkausmittauksia 26.5.2014

Kokeen tavoitteena oli kokeilla, soveltuuko Thermo ONIXin Prolab-massaspektrometri käytettäväksi myös muihin mittauksiin kuin fermentorikasvatuksen kanssa samanaikaisesti tehtäviin kaasumittauksiin. Massaspektrometri kalibroitiin ohjeiden mukaisesti, ja näytteenottoaikoista 1 ja 2 otettiin muutamat näytteet suojakaasupakkauksista sekä näytteenottoaikoista 3 ja 4 otettiin muutamat näytteet ilmasta. Suojakaasupakkaukset oli pakattu elintarvikelaboratorion tiloissa, ja näytteenottoletku painettiin neulalla kalvon läpi kohtaan, jossa oli vahvikkeena ja vuotoesteenä teippiä.

4.5.1 Mittaustulokset

Mittaustulokset on taulukoitu mittausajan ja neljän eri atomimassan mukaan. Kyseiset massaluvut kuuluvat tyypelle (N₂) atomimassa 28, hapelle (O₂) atomimassa 32, argonille (Ar) atomimassa 40 ja hiilidioksidille (CO₂) atomimassa 44. Näistä neljästä koostuu ilmakehän kaasuseos suhteella 78 % typpeä, 21 % happea, 0,9 % argonia ja 0,03 % hiilidioksidia. Taulukkoon on lisäksi laskettu mittaustuloksista keskiarvot sekä keskiarvoista prosentuaaliset osuudet (Taulukko 1).

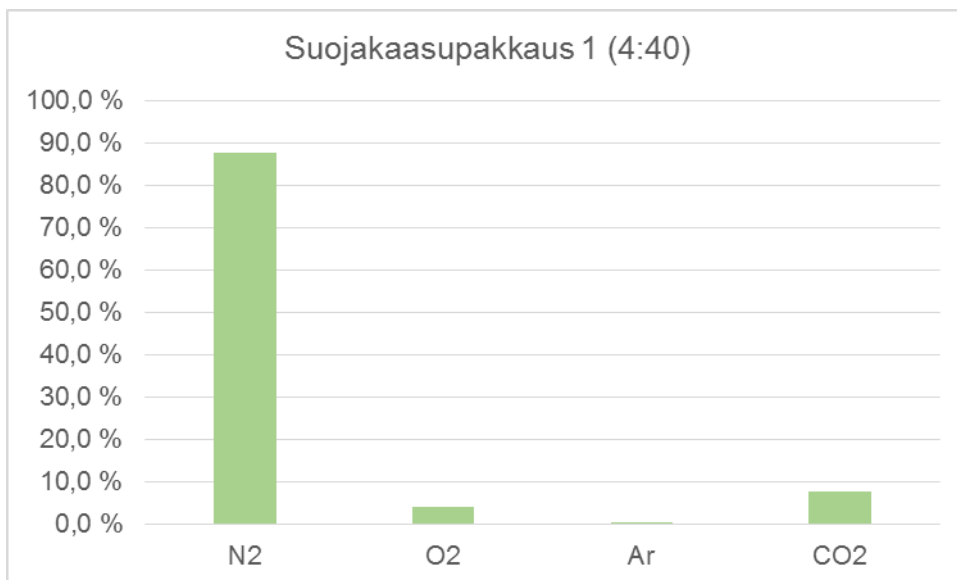
Taulukko 1 Mittaustuloksia 26.5.2014

Suojakaasupakkaus 1					Suojakaasupakkaus 1				
Mittausaika	mass28	mass32	mass40	mass44	Mittausaika	mass28	mass32	mass40	mass44
00:37	1,84E-06	4,25E-07	3,18E-08	4,22E-09	01:02	1,83E-06	4,25E-07	3,18E-08	4,21E-09
02:39	1,81E-06	4,19E-07	3,13E-08	4,10E-09	03:03	1,81E-06	4,17E-07	3,12E-08	4,09E-09
04:40	2,00E-06	9,25E-08	7,27E-09	1,79E-07	05:04	1,82E-06	3,82E-07	2,86E-08	1,91E-08
06:41	1,94E-06	1,71E-07	1,81E-08	1,40E-07	07:05	1,93E-06	1,64E-07	1,25E-08	1,36E-07
Ka	1,90E-06	2,77E-07	2,21E-08	8,18E-08	Ka	1,85E-06	3,47E-07	2,60E-08	4,09E-08
%	83,3 %	12,2 %	1,0 %	3,6 %	%	81,7 %	15,4 %	1,2 %	1,8 %
Ilma 1					Ilma 2				
Mittausaika	mass28	mass32	mass40	mass44	Mittausaika	mass28	mass32	mass40	mass44
01:26	1,83E-06	4,22E-07	3,15E-08	4,16E-09	01:50	1,82E-06	4,22E-07	3,15E-08	4,15E-09
03:27	1,80E-06	4,16E-07	3,11E-08	4,05E-09	03:51	1,80E-06	4,15E-07	3,10E-08	4,04E-09
05:28	1,79E-06	4,13E-07	3,08E-08	3,98E-09	05:53	1,79E-06	4,12E-07	3,07E-08	3,95E-09
Ka	1,81E-06	4,17E-07	3,12E-08	1,22E-08	Ka	1,80E-06	4,16E-07	3,11E-08	4,05E-09
%	79,7 %	18,4 %	1,4 %	0,5 %	%	80,0 %	18,5 %	1,4 %	0,2 %

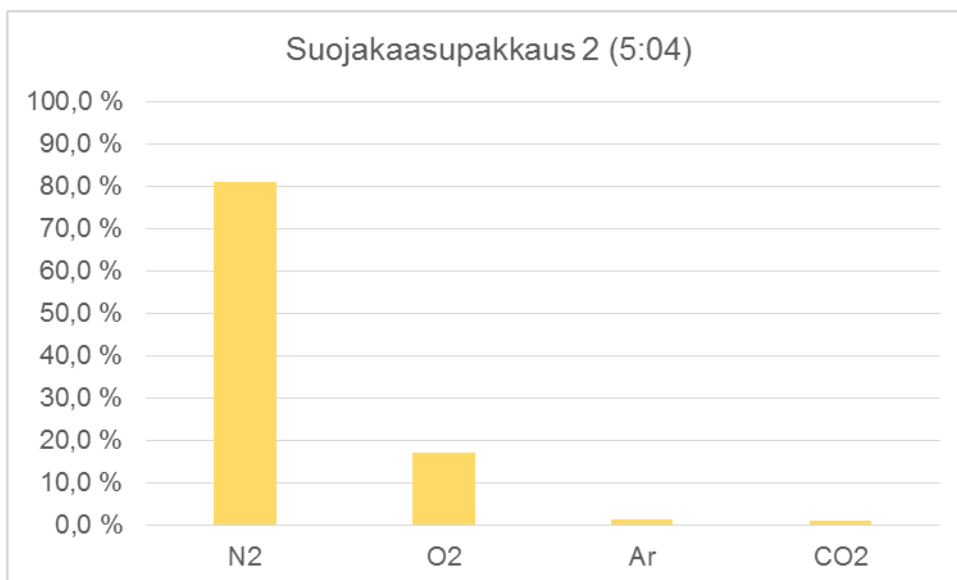
Mittaustuloksissa kaikki muut tulokset noudattavat samaa kaavaa, paitsi suojakaasupakkauksista otetut kolmas ja neljäs mittaus. Näissä tuloksissa on huomioitava näytteenottoletkujen pituus ja se, että niissä on aluksi ilmaa. Suojakaasupakkauksen kolmatta mittausta, jonka mittausaika oli 4:40, tarkastellaan tarkemmin pylväskuvaajan muodossa (Kuvio 14.). Tässä näyttäisi typpi- ja hiilidioksidiosuudet olevan koholla verrattaessa ilmakehän kaasuseokseen. Happiosuus on vastaavasti pienempi kuin ilmassa ja pieni määrä argonia on suunnilleen sama kuin ilmassakin. Tässä suojakaasupakkauksessa voisi päätellä typen ja hiilidioksidi olleen pakkauskaasuina ja ne ovat onnistuneet jonkin verran happea pakkauksesta syrjäyttämään.

Toisen suojakaasupakkauksen kolmatta mittausta, jonka mittausaika oli 5:04, tarkastellaan tarkemmin pylväskuvaajan muodossa (Kuvio 15.). Mittaustulokset vas-

taavat melko hyvin ilmakehän kaasuseosta. Suojakaasupakkauksen pakkauskaasut ovat voineet päästä sekoittumaan ilman kanssa esimerkiksi mittausneulan teke-
mästä reiästä.



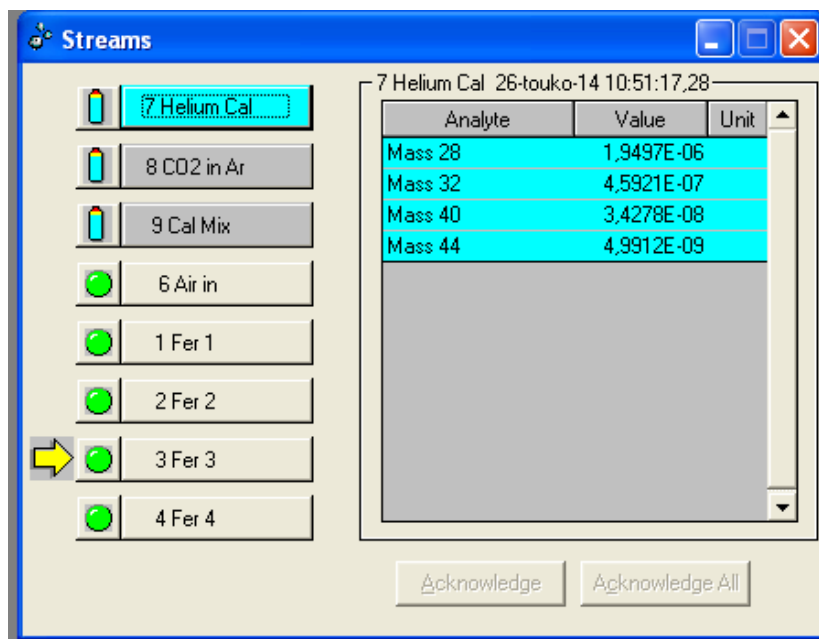
Kuvio 13. Suojakaasupakkaus 1, mittausaika 4:40



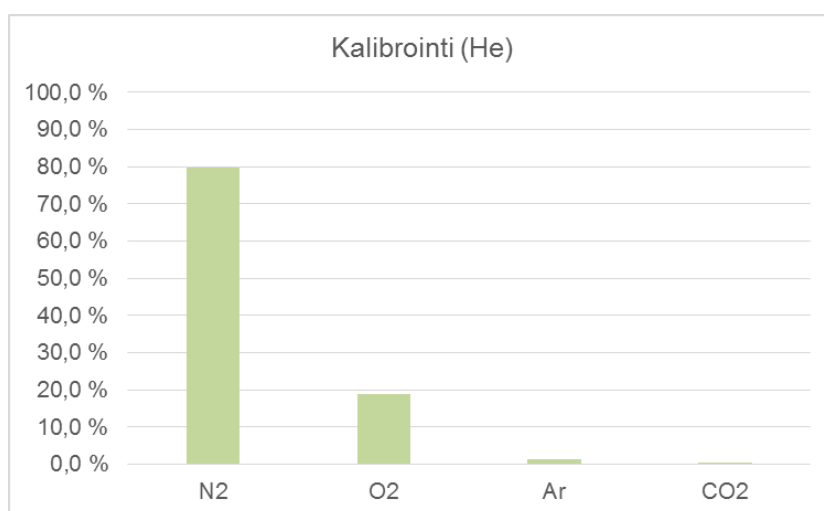
Kuvio 14. Suojakaasupakkaus 2, mittausaika 5:04

4.5.2 Kalibrointi

Kalibrointimittausten tulokset löytyvät Streams-painikkeen kautta. Ensimmäinen kalibrointi tehtiin standardikaasuna heliumia (99,996%) käyttäen (Kuvio 16.). Atomi-
massat kuuluvat typelle, hapelle, argonille ja hiilidioksidille. Pylväskuvaajasta nähdään, että se vastaa hyvin ilmakehän kaasuseosta (Kuvio 17.). Laitteiston toiminnassa voi olla vikaa tai standardikaasu voi olla myös vanhentunutta.

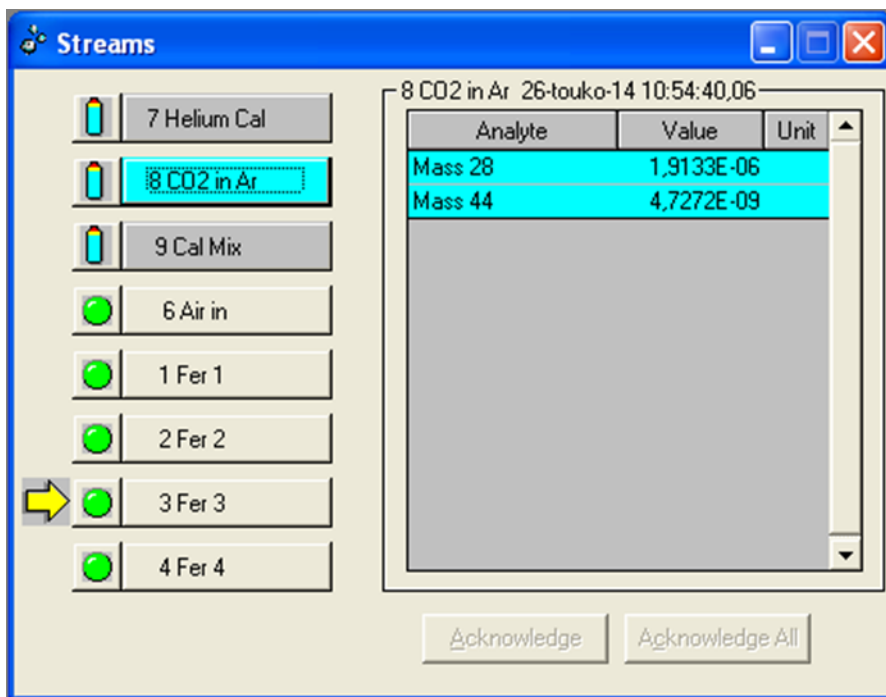


Kuvio 15. Heliumkaasulla kalibroinnin tulokset Streams-ikkunassa

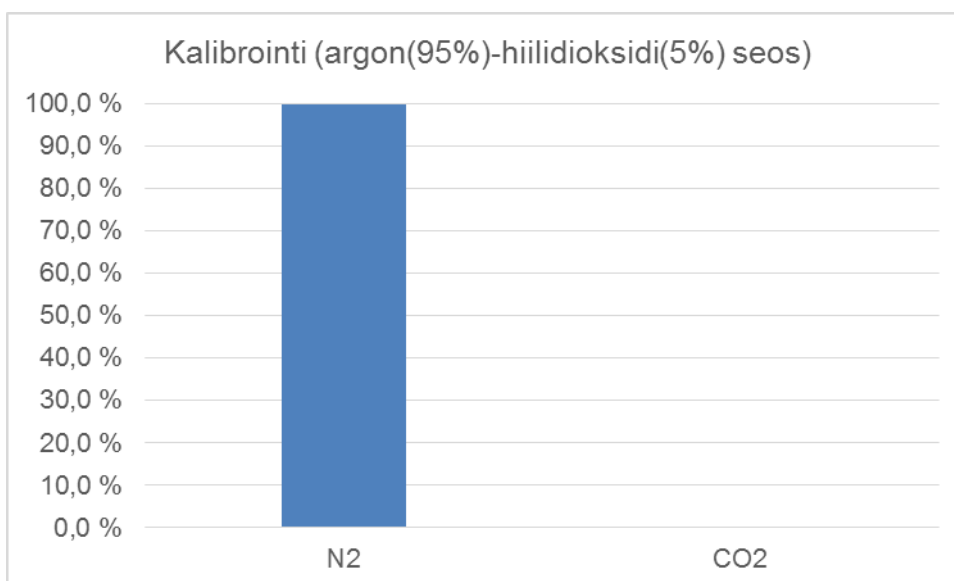


Kuvio 16. Heliumkaasulla kalibrointi

Seuraavaan kalibrointiin käytettiin argon(95%)-hiilidioksidi(5%) seosta. Mittaustulos löytyy myös Streams-painikkeen kautta (Kuvio 18.). Atomimassat kuuluvat typelle ja hiilidioksidille. Pylväskuvaajasta nähdään, että seoksesta on tallentunut lähes kokonaisuudessaan typpeä ja hyvin pieni osa hiilidioksidia (Kuvio 19.).



Kuvio 17. Argon(95%)-hiilidioksidi(5%) seoksella kalibroinnin tulokset Streams-ikkunassa

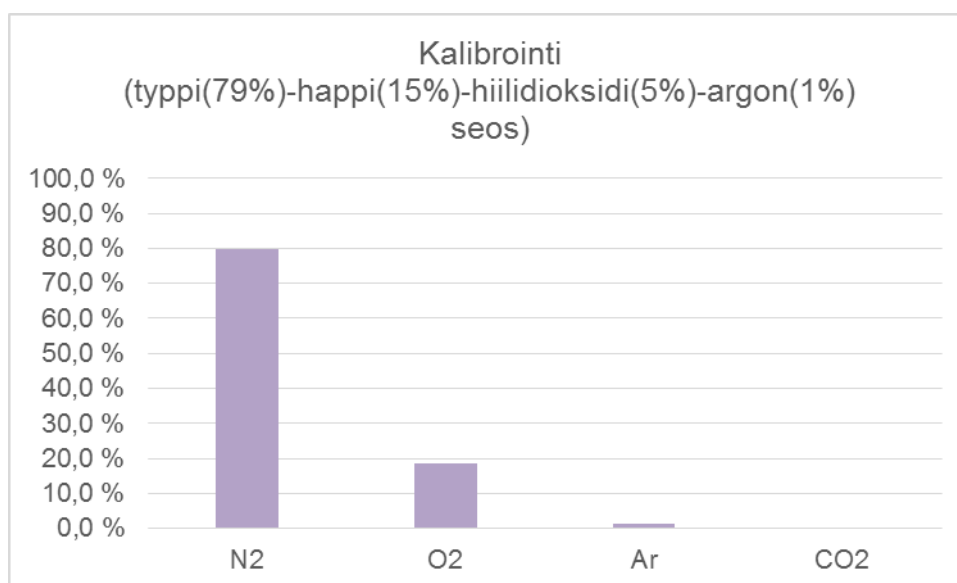


Kuvio 18. Argonin ja hiilidioksidin kaasuseoksella kalibrointi

Viimeinen kalibroitikaasuseos oli typpi(79%)-happi(15%)-hiilidioksidi(5%)-argon(1%) seos. Mittaustulokset löytyivät Streams-painikkeen kautta (Kuvio 20.). Atomimassat kuuluvat typelle, hapelle argonille ja hiilidioksidille. Pylväskuvaajasta nähdään tulosten vastaavan hyvin ilmakehän kaasuseosta (Kuvio 21.).



Kuvio 19. Kaasuseoksella kalibroinnin tulokset Streams-ikkunassa



Kuvio 20. Kaasuseoksella kalibrointi

4.5.3 Menetelmätestauksen yhteenveto

Massaspektrometrin käyttö sujui ohjeiden mukaisesti. Ongelmakohtia ilmeni vasta, kun kalibrointia ja mittaustuloksia alettiin tarkastella. Ilmeisesti kalibrointi ei onnistunut, koska kaikilla kalibrointikaasuilla tallennetut mittaukset poikkesivat kyseisistä kaasuista. Näin ollen myöskään mittaustulokset eivät ole luotettavia, eikä niistä voi tehdä varmoja päätelmiä.

Jatkoa varten tulisi massaspektrometrin toimintaa tarkastaa. Mahdolliset löystyneet liittimet tulisi kiristää, jotta niiden kautta ei pääsisi ilmapuotoa tapahtumaan. Lisäksi vakuumpumpun toimintaa pitäisi seurata tarkemmin. Alipaine voisi olla vielä alhaisempi. Pumppua voitaisiin kokeilla pitää käynnissä pitempään, jos siten saataisiin alhaisempi paine aikaan.

Massaspektrometri ei kyennyt tunnistamaan heliumkaasua ollenkaan. Kaasupullot ja kaasupullojen paineensäätimet tulisi tarkastaa. Myös letkut, joita pitkin kaasut kulkevat laitteelle pitää tarkastaa sekä niiden oikeaa pituutta voidaan tarkistaa. Lisäksi saattaa olla niin, että laitteen filamentin jännite on liian pieni, eikä se kykene ionisoimaan heliumia ollenkaan. Käytettävät taajuudet tulisi myös tarkistaa, jos kaikki mitattavat kaasut eivät sovi niille taajuuksille.

Kun massaspektrometrin toimintaviat on tunnistettu ja korjattu, on se varmasti hyvä analysointimenetelmä monenlaisille kaasunäytteille. Laitteen käyttäminen oli sujuvaa, ja sillä on mahdollista saada nopeasti tuloksia useista näytteistä.

5 YHTEENVETO

Kaikkialla ympärillämme on asioita, jotka koostuvat erittäin pienistä molekyyleistä ja alkuaineista. Meidän oma kehommekin on rakentunut lukemattomista yhdisteistä. Niiden lisäksi uusia yhdisteitä ja aineita imetään ympäristöstämme sekä ravinnostamme. Massaspektrometrian avulla voidaan tutkia yksittäisten näytteiden sisältämiä yhdisteitä. Tutkijat voivat löytää sairauksille sekä aiheuttajia että niiden estäjiä. Elintarvikkeista voidaan tunnistaa mahdollisesti terveyttä edistäviä tai terveydelle haitallisia aineita. Massaspektrometria on jatkuvan kehityksen alla, ja uusia mahdollisia sovelluksia kehitetään koko ajan.

Massaspektrometriaa on mahdollista käyttää epäsuoriin mittauksiin. Massaspektrometri voi olla kytkettynä vaikka fermentoriin, ja silloin voidaan analysoida kasvuliuoksessa kasvavien mikrobin tuottamia kaasuja. Niistä voidaan saada tietoa vaikka mikrobin aineenvaihdunnasta. Massaspektrometriassa saadaan näytteen tulokset melko nopeasti ja sähköisessä muodossa, jolloin niitä voi helposti vertailla tunnetuihin yhdisteisiin. Massaspektristä näyte tunnistetaan kvalitatiivisesti, mutta myös kvantitatiivista tietoa saadaan suhteellisen ionimäärän muodossa.

Massaspektrometrialla on jonkin verran rajoitteita. Tutkittavan näytteen on oltava puhdasta, jotta massaspektriin ei tule häiriötä. Näytteen valmistelu ja käsittely saattavat olla tämän vuoksi työläitä. Näyte pitää ionisoida. Monissa laitteissa ionisoituminen onnistuu vain kaasufaasisille yhdisteille. Mahdollisten tutkittavien näytteiden määrä vähenee siksi huomattavasti. Joitain kiinteitä ja nestemäisiä aineita voidaan ionisoida kaasukromatografista tai nestekromatografista. Näitä yhdistelmämenetelmiä voi käyttää vain juuri niille soveltuvissa laitteissa.

Menetelmätestauksen perusteella massaspektrometriä on mahdollista käyttää aiempaa laajemmin esimerkiksi suojavaasupakkausten suojavaasujen analysointiin. Työn perusteella massaspektrometrille on mahdollista löytää ja kehittää uusia käyttösovelluksia.

LÄHTEET

- Brinkmalm, A. M., Ekman, R. & Silberring, J. 2009. Mass spectrometry: instrumentation, interpretation and applications. [Verkkokirja]. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc. [Viitattu 5.2.2014]. Saatavana Ebrary – e-kirjakokoelmasta. Vaatii käyttöoikeuden
- Chemicool. 2014. Definition of quadrupole mass spectrometry. [Verkkosivusto]. [Viitattu 12.11.2014]. Saatavana: http://www.chemicool.com/definition/quadrupole_mass_spectrometry.html
- Cifuentes, A. 2013. Wiley series on mass spectrometry: foodomics: advanced mass spectrometry in modern food science and nutrition. [Verkkokirja]. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc. [Viitattu 9.11.2014]. Saatavana Ebrary – e-kirjakokoelmasta. Vaatii käyttöoikeuden
- Downard, K. 2004. Mass spectrometry: a foundation course. [Verkkokirja]. Cambridge: The Royal Society of Chemistry. [Viitattu 4.6.2014]. Saatavana Ebrary – e-kirjakokoelmasta. Vaatii käyttöoikeuden
- Fay, L. B. & Kussmann M. 2010. Mass spectrometry and nutrition research. [Verkkokirja]. Cambridge: The Royal Society of Chemistry. [Viitattu 7.11.2014]. Saatavana Ebsco – e-kirjakokoelmasta. Vaatii käyttöoikeuden
- Jaarinen, S. & Niiranen J. 2008. Laboratorion analyysitekniikka. 5.-6. painos. Helsinki: Edita Prima Oy
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 2006. Compined compendium of food additive specifications. [Verkkoyulkaisu]. Rome: FAO. [Viitattu 12.11.2014]. Saatavana: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0691e/a0691e.pdf>
- Laboratorioanalyysit. Ei päiväystä. Massaspektrometria. [Verkkoyulkaisu]. Opetushallitus. [Viitattu 17.11.2013]. Saatavana: http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/analyysimenetelmat_5-5_massaspektrometria.html
- Mellon, F., Self, R. & Startin J.R. 2000. Mass spectrometry of natural substances in food. [Verkkokirja]. Cambridge: The Royal Society of Chemistry. [Viitattu 10.2.2014]. Saatavana Ebrary – e-kirjakokoelmasta. Vaatii käyttöoikeuden