

---

**ATR-ANALYSAATTORI RAAKA-AINEEN  
LAADUNVARMISTUKSESSA**

Kasviöljyseoksen peroksidiluvun määrittäminen



Ammattikorkeakoulun opinnäytetyö  
Bio- ja elintarviketekniikan koulutusohjelma  
Hämeenlinna, kevät 2016

Iida Oinonen



HÄMEENLINNA

Bio- ja elintarviketekniikan koulutusohjelma  
Meijeriteknologia

---

<b>Tekijä</b>	Iida Oinonen	<b>Vuosi</b> 2016
<b>Työn nimi</b>	ATR-analysaattori raaka-aineen laadunvarmistuksessa	

---

## TIIVISTELMÄ

Tämän opinnäytetyön toimeksiantajana toimi Valio Oy Turengin tehtaan laadunvalvontalaboratorio. Opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää Thermo Scientific™ Nicolet iS™ 50 -analysaattorin ATR-mittausmoduulin käyttömahdollisuuksia raaka-aineen laadunvarmistuksessa. Tavoite oli kehittää laitteelle menetelmä, jonka avulla lastenruokien raaka-aineiden laatua voidaan tehtaalla jatkossa entistä sujuvammin valvoa.

Tutkittaviksi raaka-aineiksi haluttiin lastenruoissa käytettävät jauheet, vitamiiniseokset ja kasviöljyseos. Opinnäytetyö painottui lopulta kasviöljyseoksien laadun tutkimiseen, sillä öljyistä saatiin kerättyä eniten näytteitä. Kasviöljyseoksen laadun mittariksi valittiin öljyn peroksidiluku, joka on yksi yleisimmin käytetyistä öljyn laatua kuvaavista suureista.

Työn teoriaosuudessa hyödynnettiin muun muassa laitevalmistajan laatimia teknisiä ohjekirjoja sekä kirjallisuutta spektroskopiasta ja infrapunatekniikasta. Lisäksi tutustuttiin laadunvarmistukseen, näytteenottoon ja näytteen käsittelyssä huomioitaviin tekijöihin. Lastenruokia koskeviin lainsäädännöllisiin näkökulmiin perehdyttiin myös lyhyesti. Opinnäytetyön käytännön osuudessa analysoitavista raaka-aineista otettiin näytteitä, jotka analysoitiin Thermo Scientific™ Nicolet iS™ 50 -analysaattorin ATR-mittausmoduulilla ja lähetettiin edelleen analysoitaviksi ulkopuoliseen laboratorioon.

Työskentelyn aikana keskeiseksi ongelmaksi nousi analysoitavien näytteiden pieni määrä sekä referenssitulosten puuttuminen. Luotettavien tulosten saaminen edellyttäisi vähintään rinnakkaismäärittämiä tutkittavista näytteistä. Koska menetelmän kehittäminen, kalibrointi ja validointi ovat jatkuvia prosesseja, on ATR-menetelmien kehittämistä jatkettava edelleen. Vaikka opinnäytetyössä ei saavutettu asetettua tavoitetta, pohjatyö tavoitteeseen pääsemiseksi saatiin luotua ja osoitettua, että ATR-mittausmenetelmä on käyttökelpoinen osa sujuvampaa laadunvarmistusta.

**Avainsanat** ATR, laadunvarmistus, raaka-aine, peroksidiluku

**Sivut** 36 s. + liitteet 9 s.

HÄMEENLINNA

Degree Programme in Biotechnology and Food Engineering

Dairy Technology

---

**Author**

Iida Oinonen

**Year** 2016

**Subject of Bachelor's thesis**

ATR-analyzer in raw ingredient quality control

---

ABSTRACT

This Bachelor's thesis was commissioned by Valio Oy Turenki UHT Plant and its quality control laboratory. The purpose of the thesis was to find out how useful Thermo Scientific™ Nicolet iS™ 50 analyzer and its ATR measurement unit would be in raw ingredient quality control. The aim was to develop a method for the analyzer with which the raw ingredient quality of kids food could be more easily and smoothly controlled in the factory's laboratory.

Investigated ingredients were flours, vitamin mixtures and vegetable oil mixture used in kids food processing. However, the thesis finally focused on investigating the quality of vegetable oil mixtures as it was an ingredient of which most samples could be collected. The peroxide value is the most common indicator of oil quality and it was chosen to be a factor to be developed for the ATR measurement unit.

The manufacturer's technical manual, literature about spectroscopy and infrared technology were used in the theoretical part of the thesis. Quality control, sampling, sample processing and legislation concerning kids food were also explored. In the practical part of the thesis samples of investigated ingredients were collected and analyzed with the ATR measurement unit and sent further to be analyzed.

Two key challenges emerged in the study i.e. the relatively small amount of samples and lack of reference results. Reference results would be needed to get more reliable results. As developing a new method, method calibration and validation are ongoing processes, the development of ATR methods should be further continued. Even though the thesis didn't reach its aims it was proved that as a sampling method ATR is a useful part of smooth quality control.

**Keywords** ATR (attenuated total reflectance), quality control, raw ingredient, peroxide value

**Pages** 36 p. + appendices 9 p.

# SISÄLLYS

## KÄSITE- JA LYHENNELUETTELO

1	JOHDANTO.....	1
2	MOLEKYYYLISPEKTROSKOPIA .....	2
2.1	Valo ja sähkömagneettinen säteily .....	2
2.2	Infrapunaspektroskopia .....	3
2.3	Interferometri ja FT-IR- eli Fourier-muunnettu infrapunaspektroskopia .....	4
2.4	Infrapuna-absorptiospektri .....	5
3	ATR – ATTENUATED TOTAL REFLECTANCE .....	8
3.1	ATR-mittausmenetelmän periaate.....	8
3.2	ATR-analysaattorille soveltuvat näytteet .....	12
3.3	Thermo Scientific™ Nicolet iS™ 50 -analysaattori .....	13
4	LAADUNVARMISTUS .....	16
4.1	Omavalvonta ja spesifikaatiot .....	16
4.2	Näytteenotto ja näytteiden käsittely .....	17
4.2.1	Näytteenoton virhelähteet.....	18
4.2.2	Haasteet näytteiden rakenteessa, hetero- ja homogeenisuus .....	18
4.3	Raaka-aineen laadunvarmistuskäytännöt Valio Oy Turengin tehtaalla .....	19
5	HAPETTUMINEN ÖLJYN LAATUUN VAIKUTTAVANA TEKIJÄNÄ .....	19
5.1	Hapettumisen vaikutukset öljyn aistinvaraisiin ominaisuuksiin .....	20
5.2	Öljyn hapettumisen mittaaminen ja seuranta .....	21
5.2.1	Peroksidiluku (PV) .....	21
5.2.2	Anisidiiniluku (AV).....	21
5.2.3	Totox-arvo .....	22
5.2.4	Happoluku .....	22
5.2.5	TBA-arvo.....	22
5.2.6	Jodiluku .....	23
5.3	Hapettumisen aiheuttamat muutokset öljyn IR-absorptiospektrissä ja niiden mittaaminen .....	23
6	LASTEN JA IMEVÄISIKÄISTEN RAVINTOVALMISTEITA KOSKEVAA LAINSÄÄDÄNTÖÄ.....	23
6.1	Lastenruoat .....	24
6.2	Äidinmaidonkorvike ja vieroitusvalmiste .....	24
7	OPINNÄYTETYÖN KÄYTÄNNÖN OSUUS.....	25
7.1	Tutkittavat näytteet.....	25
7.2	Näytteiden ottaminen ja ajaminen analysaattorille .....	26
7.3	Kasviöljyseosnäytteiden huonontaminen .....	26
7.4	Peroksidilukumääritykset Eurofins Scientific Finland Oy:n laboratoriossa .....	27
7.5	Peroksidilukutulosten kirjaaminen analysaattorille ja kalibroitipohjan testaaminen peroksidiluvun suhteen TQ-analyst -ohjelmistolla .....	27

---

8	TULOKSET JA TULOSTEN KÄSITTELY .....	29
8.1	Periaatteet menetelmän kalibroinnista, validiteetista ja reliabiliteetista .....	29
8.2	Tulosten matemaattinen analysointi .....	29
8.2.1	Otoskoko, keskiarvo ja keskihajonta .....	30
8.2.2	Piste-estimaatti ja väliestimaatit 95 prosentin ja 99 prosentin luottamustasolla .....	30
8.2.3	Johtopäätökset .....	31
9	POHDINTA JA YHTEENVETO .....	31
	LÄHTEET .....	34

Liite 1	Käyttöohje iS50 Nicolet ATR -mittausyksikölle
Liite 2	Näytteenoton seurantalomake jauhetilaan
Liite 3	Esimerkki Eurofins Scientific Finland Oy:n tutkimustodistuksesta
Liite 4	Peroksidilukutulokset
Liite 5	Lastenruokiin sallitut lisättävät ravintoaineet (KTMp 789/1997)

---

## KÄSITE- JA LYHENNELUETTELO

<b>Absorbanssi</b>	valon/säteilyn määrä, jonka näyte absorboi
<b>ATR</b>	Attenuated Total Reflectance, vaimennettu kokonaisheijastus
<b>Far-IR</b>	kaukoinfrapuna
<b>FT-IR</b>	Fourier Transformed Infrared, Fourier-muunnettu infrapuna
<b>HACCP</b>	Hazard Analysis and Critical Control Points, vaarojen arviointi ja kriittiset hallintapisteet
<b>IR</b>	Infrared, infrapuna
<b>MIR</b>	Mid Infrared, keski-infrapuna
<b>NIR</b>	Near Infrared, lähi-infrapuna
<b>PV</b>	Peroxide Value, peroksidiluku
<b>Transmittanssi</b>	valon/säteilyn määrä, joka kulkee näytteen lävitse

## 1 JOHDANTO

Korkealaatuisen ja turvallisen tuotteen valmistaminen edellyttää asianmukaisen tuotantoprosessin lisäksi korkealaatuisia raaka-aineita. Koko tuotanto- ja prosessointiketjun kattava laadunvarmistus on siten tärkeässä roolissa.

Opinnäytetyön toimeksiantajana toimi Valio Oy Turengin tehtaan laadunvalvontalaboratorio. Valio Oy Turengin tehtaalla valmistetaan muun muassa UHT-käsiteltyjä maitoja, kermoja, lastenruokia, äidinmaidonkorvikkeita ja vieroitusvalmisteita. Tehtaan laboratorioon oli investoitu uusi Thermo Scientific™ Nicolet iS™ 50 -analysaattori. Toimeksiantajan tavoite on tulevaisuudessa saada uudesta laitteesta mahdollisimman hyvin kaikki käyttöpotentiaali hyödynnettyä.

Opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää Thermo Scientific™ Nicolet iS™ 50 -analysaattorin ATR-toiminnon käyttömahdollisuuksia raaka-aineen laadunvarmistuksessa. Tavoite oli kehittää laitteelle menetelmä, jonka avulla lastenruokien raaka-aineiden laatu voitaisiin tehtaalla jatkossa entistä paremmin varmistaa. Tutkittaviksi raaka-aineiksi valikoituivat lastenruoissa käytettävät jauheet, vitamiiniseokset ja kasviöljyseos.

Raaka-aineen laadunvarmistus alkaa näytteenotosta. Luotettavien analyysitulosten saamiseksi on huolehdittava, että otettu näyte on edustava ja näytteen analyysi eli analysoitava ominaisuus tai komponentti säilyy näytteenoton ja analysoinnin välillä muuttumattomana. Lisäksi analyysimenetelmän tulee vastata haluttua tavoitettava. Toisaalta tarkintaan analyysi ei anna oikeaa tulosta ja on turha, jos näytteenotto on ollut puutteellinen tai virheellinen.

Molekyyli-spektroskopiaan kuuluvaa infrapunaspektroskopiaa käytetään aineiden tunnistamisessa ja molekyylien rakenteiden selvittämisessä. Infrapunaspektrin ominaisuudet määräytyvät tutkittavan näytteen molekyyli-rakenteen mukaan ja tuntemattomia näytteitä voidaan tunnistaa vertaamalla näytteen spektriä olemassa oleviin referenssispektreihin. ATR on infrapunaspektroskopiaa hyödyntävä näytteiden analysointimenetelmä, joka perustuu heijastuksen mittaamiseen. Analyysia varten näytteitä tarvitsee esikäsitellä hyvin vähän tai ei lainkaan ja siksi menetelmä on yleistynyt esimerkiksi juuri elintarviketeollisuuden analyyseissä.

Opinnäytetyöprojektille ennalta asetettua tavoitetta ei saatu lopulta täyttymään. Menetelmän kehittäminen Thermo Scientific™ Nicolet iS™ 50 -analysaattorin ATR-mittausyksikölle osoittautui pidemmän aikavälin projektiksi. Opinnäytetyöprojektin aikainen työskentely olikin lopulta menetelmän pilotointia ja menetelmän kehittämisen pohjatyötä. Pohjatyöllä pystyttiin kuitenkin osoittamaan, että ATR-analysaattoria on mahdollista käyttää osana raaka-aineen sujuvampaa laadunvarmistustyötä. Menetelmän läpiviemiseksi laitteelle vaaditaan vielä lisää näytteitä ja referenssejä kaikista tutkittavista raaka-aineista.

## 2 MOLEKYYLISPEKTROSKOPIA

Ainesosien fysikaalisten ominaisuuksien hyödyntäminen tietolähteenä ja kemiallisten menetelmien automatisoituminen ovat kaksi pääsyötä nopeiden elintarvikeanalyysimenetelmien kehittymiselle. Elintarvikkeiden fysikaalisiin ominaisuuksiin perustuvista nopeista analyysimenetelmistä pääosa on spektroskooppisia menetelmiä. Spektroskopia voidaan edelleen jakaa kahteen suurempaan joukkoon: fotonispektroskopiaan ja hiukkasspektroskopiaan. Fotonispektroskopiassa tarkastellaan sähkömagneettisen aallon välistä vuorovaikutusta aineeseen. Massaspektroskopiaa lukuun ottamatta kaikki spektroskooppiset menetelmät voidaan luokitella mittauksessa käytettävän energian mukaan. (Dufour 2009, 3.)

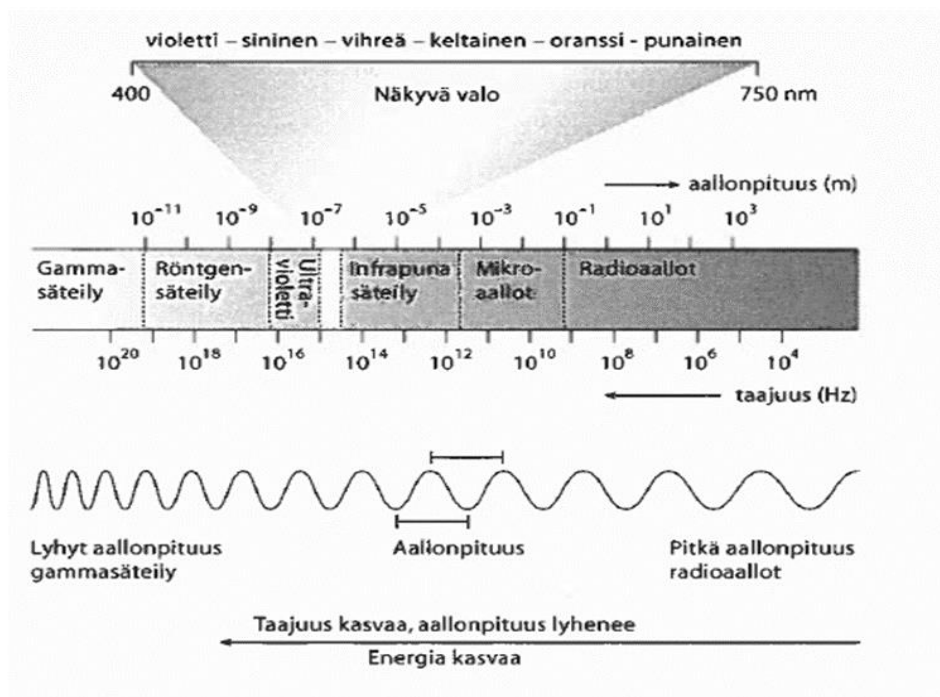
Valon absorptiota tai emissiota hyödynnetään useissa instrumenttianalytiikan sovelluksissa. Spektroskopiaa hyödyntävissä menetelmissä valon absorptio tai emissio on verrannollinen analysoitavassa näytteessä olevan aineen määrään tai pitoisuuteen. Spektroskopia tutkii siis aineen molekyylien sekä atomien ja sähkömagneettisen säteilyn välillä olevaa fysikaalis-kemiallista vuorovaikutusta. Vuorovaikutus noudattaa kvanttimekaniikan lakeja. (Breithaupt & Isengard 2009, 45; Lehtonen & Sihvonen 2004, 211.)

Kun spektroskooppisia menetelmiä käytetään, tarkastellaan yleensä vain tiettyjä aallonpituusalueita. Aallonpituudet ( $\lambda$ ) ilmoitetaan nanometreinä (nm), joka vastaa  $10^{-9}$  metriä. (Breithaupt & Isengard 2009, 45.) Toinen tapa kuvata absorptioiden paikkaa on käyttää aaltolukua, jonka yksikkö on  $\text{cm}^{-1}$ . Aaltoluku on aallonpituuden käänteisarvo ja se kertoo, kuinka monta aallonpituuden  $\lambda$  omaavaa aaltoa mahtuu yhden senttimetrin alueelle. Aaltoluvut ovat lisäksi suoraan verrannollisia käytetyn säteilyn energiaan. (Jaarinen & Niiranen 2005, 90.)

### 2.1 Valo ja sähkömagneettinen säteily

Näkyvä valo on yksi sähkömagneettisen säteilyn osa. Sähkömagneettinen säteily muodostuu kaikista aallonpituuksista. Sähkömagneettinen säteily koostuu gamma-, röntgen-, ultravioletti- ja infrapunasäteilystä, jo mainitusta näkyvästä valosta sekä mikro- ja radioaalloista. (Lehtonen & Sihvonen 2004, 213.) Kuvassa 1 (s. 3) on havainnollistettu sähkömagneettisen säteilyn eri aallonpituuksia ja taajuuksia.





Kuva 1. Sähkömagneettisen säteilyn aallonpituus ja taajuus. (Lehtonen & Sihvonen 2004, 213).

Kun sähkömagneettisen säteilyn aallonpituus kasvaa, säteilyn energia pienenee. Vastaavasti säteilyn taajuuden kasvaessa aallonpituus lyhenee ja energia kasvaa. (Lehtonen & Sihvonen 2004, 213.)

## 2.2 Infrapunaspektroskopia

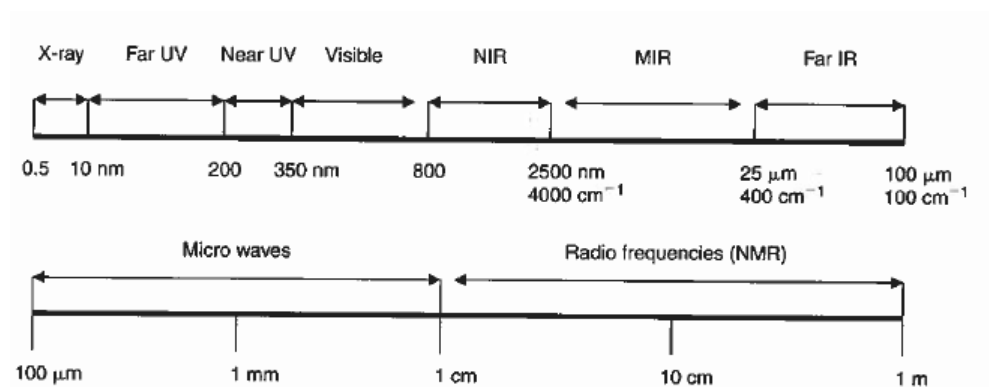
Infrapunaspektroskopiaa hyödynnetään aineiden tunnistamisessa ja molekyylien rakenteiden selvittämisessä. Jokaisella näytteellä on oma yksityiskohtainen ja moninainen IR-spektri, jota voidaan kutsua myös näytteen omaksi ”sormenjäljeksi”. IR-spektrin ominaiset piirteet määräytyvät näytteen molekyyli-rakenteen mukaan. Näytteiden tunnistaminen perustuu tuntemattoman näytteen spektrin vertaamiseen referenssispektreihin. Spektrien avulla voidaan esimerkiksi selvittää, mitä atomeja ja atomiryhmiä näyte sisältää ja millaiset sidokset atomeja yhdistävät. (Jaarinen & Niiranen 2005, 90.)

Infrapunasäteily on lämpösäteilyä, joka saa aineessa olevat molekyylit värähdys- ja pyörähdysliikkeeseen absorboituessaan näytteeseen (Jaarinen & Niiranen 2005, 90). Infrapunasäteilyn alue on sähkömagneettisen säteilyn spektrissä näkyvän valon ja mikroaaltojen välissä, kuten kuvasta 1 voidaan havaita. (Lehtonen & Sihvonen 2004, 219.)

Infrapunaspektroskopia luokitellaan perinteisesti kolmeen eri aallonpituusalueeseen. Eri aallonpituusalueiden infrapunatekniikat ovat lähi-infrapuna (Near Infrared, NIR), keski-infrapuna (Mid Infrared, MIR) ja kaukoinfrapuna (Far Infrared). (Lin, Rasco, Cavinato & Al-Holy 2009, 119.) NIR on ensimmäinen spektrialue, jolla on nähtävissä molekyylien värähtelyyn liit-

tyviä absorptiojuovia ja -huippuja. NIR-tekniikkaa käytetään laajalti elintarvikkeiden koostumusanalyysissä. Vaikka NIR on runsaasti käytetty tekniikka, pidetään keski-infrapuna- eli MIR-aluetta värähtelyspektroskopian pääalueena. Keski-infrapuna-alueella voidaan tunnistaa orgaanisia molekyylejä. Lisäksi proteiinien, polysakkaridien ja rasvojen muoto ja rakenne voidaan tunnistaa ja sen perusteella edelleen luokitella. (Dufour 2009, 5.)

Sähkömagneettisen säteilyn jakautumista aallonpituuksien mukaan on havainnollistettu tarkemmin kuvassa 2.



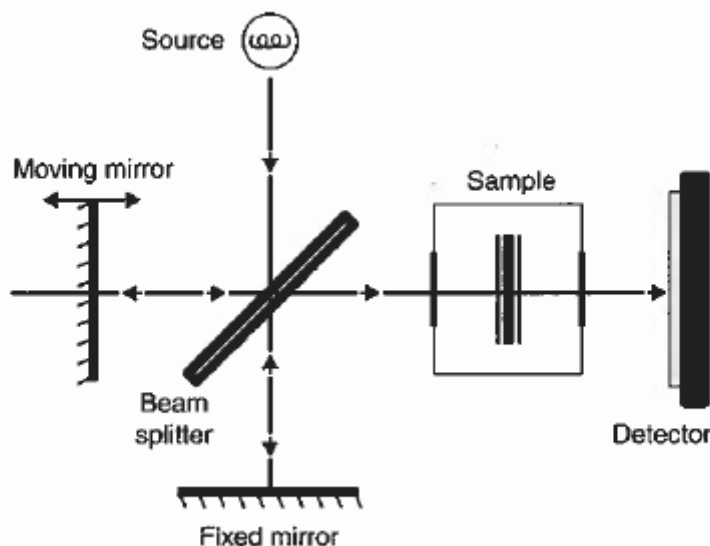
Kuva 2. Sähkömagneettisen säteilyn jakautuminen eri aallonpituuksiin (Dufour 2009, 5).

Molekyylit absorboivat MIR-energiaa aallonpituusalueella 4 000–400 cm<sup>-1</sup> ja molekyylien värähtelyjä esiintyy yhdessä tai useammassa kohtaa absorptiospektriä. MIR-spektri antaa runsaasti tietoa näytteen kemiallisesta rakenteesta ja pienetkin erot näytteissä voidaan mitata luotettavasti. (Subramanian, Prabhakar & Rodriguez-Saona 2011, 116–117.)

### 2.3 Interferometri ja FT-IR- eli Fourier-muunnettu infrapunaspektroskopia

Interferometri on optinen laite, joka mahdollistaa kontrolloidut häiriökuviot tai interferogrammit (Subramanian & Rodriguez-Saona 2009, 148). FT-IR-spektrometri tuottaa mittaussignaalin juuri interferometrin avulla. Signaali ei kuitenkaan anna säteilyn sisältämää intensiteettiä ja energiaa taajuuden funktiona, joten ajan suhteen mitatun spektrin muuttamiseen taajuuden suhteen mitatuksi tarvitaan matemaattinen Fourier-muunnos. (Lehtonen & Sihvonen 2004, 221.)

Interferometri muodostuu kiinteästä ja liikkuvasta peilistä, säteenjakajasta ja ilmaisimesta. Infrapunasäteily kulkee interferometrille, josta se säteenjakajan avulla jakaantuu kahteen yhtä intensiiviseen osaan. Jakaantuneet säteet heijastuvat sekä kiinteästä että liikkuvasta peilistä takaisin säteenjakajalle. Säteenjakajan jälkeen jakautuneet ja erilaisen reitin kulkeneet säteet yhdistyvät uudelleen. Yhdistymisen seurauksena muodostuu interferenssikuvio eli interferogrammi. (Jaarinen & Niiranen 2005, 95.) Interferometrin rakennetta on havainnollistettu kuvassa 3 (s. 5).



Kuva 3. Esimerkki interferometrin rakenteesta (Subramanian & Rodriguez-Saona 2009, 157).

Interferometriaan perustuvalla spektrillä on useita etuja tavanomaisemmilla dispersiiveillä välineillä saatuihin spektreihin nähden. Etuja ovat esimerkiksi merkittävä parannus signaali-kohina-suhteessa, erinomainen resoluutio ja korkeampi suoritusteho. Sisäisen laserin ansiosta myös spektrien aallonpituustarkkuus on huomattavasti parempi. (Gunstone 2008, 47.)

FT-IR-spektrometri voi mitata ja tallentaa jopa tuhansia mittauspisteitä eri aallonpituusalueilta sisältävän infrapunaspektrin muutamassa sekunnissa. Fourier-muunnosalgoritmin avulla eri spektrien mittauspisteitä voidaan yhdistää, jotta tavanomainen infrapuna-absorptiospektri saadaan muodostettua. (Gunstone 2008, 47; Lehtonen & Sihvonen 2004, 221.) FT-IR-spektrometrin läpi pääsee enemmän säteilyenergiaa, koska laitteen resoluutiota ei tarvitse rajoittaa. Suuremman läpikulkevan energian ansiosta laite on herkempi ja sen avulla voidaan mitata myös heikommin säteilyä läpäiseviä näytteitä. (Lehtonen & Sihvonen 2004, 221.)

Jotta spektrien antamaa informaatiota voidaan muuttaa hyödylliseksi dataksi, tarvitaan alustavia kalibrointeja. Kun kalibroinnit on tehty, on FT-IR-analyysillä mahdollista analysoida esimerkiksi öljyn *cis-trans*-suhteita, jodilukua, vapaiden rasvahappojen pitoisuutta, saippuoitumislukua ja peroksidilukua. (Gunstone 2008, 47.)

## 2.4 Infrapuna-absorptiospektri

Infrapunaspektri voidaan jakaa kahteen eri alueeseen, funktionaalisten ryhmien alueeseen ja ”sormenjälkialueeseen”. Aineiden funktionaaliset ryhmät tuottavat absorptiojuovia funktionaalisten ryhmien alueella, joka sijaitsee aallonpituusalueella  $4\,000\text{--}1\,400\text{ cm}^{-1}$ . Sormenjälkialue sijaitsee aallonpituusalueella  $1\,400\text{--}600\text{ cm}^{-1}$ . Kyseinen aallonpituusalue kuvastaa koko yhdistettä kokonaisuutena. Kahdella eri molekyylillä voi olla siis olla saman-

laiset funktionaaliset ryhmät, mutta niiden infrapunaspektrit eivät ole identtiset. Tämä johtuu siitä, etteivät funktionaaliset ryhmät ole täysin samanlaisessa ympäristössä molemmissa yhdisteissä. Yhdisteiden väliset eroavaisuudet tulevat esiin sormenjälkialueelle muodostuvista absorptiojuovista ja spektrissä olevista piikeistä. (Yurkanis Bruce 2011, 520.)

Infrapuna-absorptiospektrissä esiintyvien huippujen tunnistamisen taustalla on runsas määrä mittaustuloksia. Tulosten perusteella on laadittu korrelaatiotaulukoita, joissa on yleensä esitetty spektrialueen aallonpituus ja kyseisellä aallonpituusalueella infrapuna-absorption aiheuttava kemiallinen sidostyyppi. Taulukoissa 1 ja 2 (s. 7) on esitetty esimerkkejä, miten kemialliset sidokset käyttäytyvät absorptiospektrissä.

Taulukko 1. Esimerkki kemiallisten sidosten esiintymisestä absorptiospektrissä (Jaarinen & Niiranen 2005, 92).

Värähtelevä ryhmä	Aaltoluku	Havainto
C-H	$m(H) = 1,01$	massa kasvaa, aaltoluku pienenee
C-C	$m(C) = 12,01$	
C-I	$m(I) = 126,9$	
C-N	amiinit	sidosvoimakkuus ja aaltoluku kasvavat
C=N	imiinit	
C≡N	syanidit, nitrilit	

Korrelaatiotaulukoiden avulla voidaan helpottaa tuntemattomien näytteiden tunnistamista. Toisaalta vastaavasti tunnettuja näytteitä analysoitaessa on mahdollista ennakoida, millä aallonpituusalueella infrapuna-absorptio tulee todennäköisesti tapahtumaan.

Taulukon 2 (s. 7) ensimmäisessä sarakkeessa on esitetty kemiallisen yhdisteen luokka, toisessa sarakkeessa ryhmä ja kolmannessa aallonpituusalue ( $\text{cm}^{-1}$ ).

Taulukko 2. Toinen esimerkki kemiallisten sidosten esiintymisestä absorptiospektrissä. (Segneanu, Gozescu, Dabici, Sfirloaga &amp; Szabadaï 2012, 17–18.)

Class	Group	Wavenumber (cm <sup>-1</sup> )
<b>Hydrocarbons</b>		
Alkane	C-H	2850-3000
	C-C	800-1000
Aromatic	C-H	3000-3100
	C=C	1450-1600
Alkene	C-H	3080-3140
	C=C	1630-1670
Alkyne	C-H	3300-3320
	C-C	2100-2140
<b>Oxygen Compounds</b>		
Alcohol	O-H	3300-3600
	C-O	1050-1200
Ether	C-O	1070-1150
Aldehyde	C=O	1720-1740
	C-H	2700 -2900
Carboxylic Acids	C=O	1700-1725
	O-H	2500-3300
	C-O	1100-1300
Ester	C=O	1735-1750
	C-O	1000-1300 (2 bands)
Ketone	C=O	1700-1725
Acyl halides	C=O	1785-1815
Anhydrides	C=O	1750;1820 (2 bands)
	O-C	1040-1100
Amides	C=O	1630-1695
<b>Class</b>	<b>Group</b>	<b>Wavenumber (cm<sup>-1</sup>)</b>
	N-H	1500-1560
Isocyanates, Isothiocyanates, Diimides, Azides, Ketenes	-N=C=O,	2100-2270
	-N=C=S	
	-N=C=N-,	
	-N <sub>3</sub> , C=C=O	
<b>Nitrogen compounds</b>		
Amines	N-H	3300-3500
	C-N	1000-1250
	NH <sub>2</sub>	1550-1650
	NH <sub>2</sub> & N-H	660-900
Nitriles	C≡N	2240-2260
<b>Oxidized Nitrogen Functions</b>		
Oxime (=NOH)	O-H	3550-3600
	C=N	1665± 15
	N-O	945± 15
Amine oxide (N-O)	aliphatic	960± 20
	aromatic	1250± 50
N=O	nitroso	1550± 50
	nitro	1530± 20; 1350± 30
Alkyl bromide	C-H	667
<b>Sulfur compounds</b>		
Thiols	S-H	2550-2600
Esters	S-OR	700-900
Disulfide	S-S	500-540
Thiocarbonyl	C=S	1050-1200
Sulfoxide	S=O	1030-1060
Sulfone	S=O	1325± 25; 1140± 20
Sulfonic acid	S=O	1345
Sulfonyl chloride	S=O	1365± 5; 1180± 10
Sulfate	S=O	1350-1450

Jatkuu.

Jatkuu.

<b>Phosphorous compounds</b>		
Phosphine	P-H	2280-2440 950-1250
Phosphonic acid	(O=)PO-H	2550-2700
Esters	P-OR	900-1050
Phosphine oxide	P=O	1100-1200
Phosphonate	P=O	1230-1260
Phosphate	P=O	1100-1200
Phosphoramide	P=O	1200-1275
<b>Silicon compounds</b>		
Silane	Si-H	2100-2360
	Si-OR	1000-1110
	Si-CH <sub>3</sub>	1250± 10

### 3 ATR – ATTENUATED TOTAL REFLECTANCE

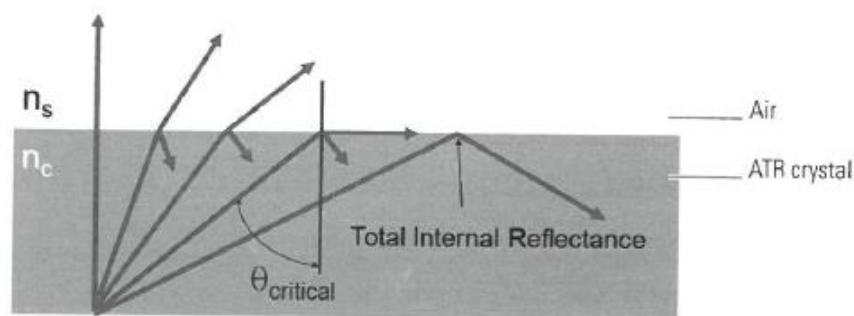
Transmittanssin eli läpäisykyvyn vastakohta on heijastavuus, jossa näytteen kohdistetun infrapunasäteen takaisin heijastumista mitataan. Tutkittavan näytteen paksuudella ei ole merkittävää vaikutusta heijastavuuteen, sillä analysoitavan näytteen pinta vaikuttaa muodostuvaan spektriin enemmän kuin näytteen sisus. Infrapunasäde on vuorovaikutuksessa ainoastaan näyttemateriaalin pinnalla ja se on siten ainoa näytteestä mitattu alue. Täysin tarkkaa infrapunasäteen tunkeutumissyvyyttä näytteeseen ei tiedetä. (Subramanian & Rodriguez-Saona 2009, 168–169; Thermo Fisher Scientific Inc. 2012a, 1.)

Kirjainlyhenne ATR tulee sanoista Attenuated Total Reflectance, joka suoraan käännettynä tarkoittaa vaimennettua kokonaisheijastusta. Nykyään se on yksi käytetyimmistä näytteen analysointitekniikoista. (Subramanian & Rodriguez-Saona 2009, 169.) Menetelmän etuna on se, että ATR-mittaus varten näytteitä tarvitsee valmistella vain vähän tai ei lainkaan (Thermo Fisher Scientific Inc. 2012a, 1).

#### 3.1 ATR-mittausmenetelmän periaate

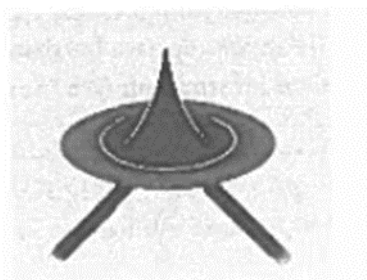
Kun infrapunasäde kulkee kahden eri taitekertoimen omaavan näyttemateriaalin läpi, osa valonsäteestä taittuu materiaalien rajapinnalla ja osa heijastuu siitä pois (Thermo Fisher Scientific Inc. 2012a, 1). Jos infrapunasäteen siirtyminen tapahtuu korkean taitekertoimen näytteestä matalan taitekertoimen näyttemateriaaliin eli yleensä analysoitavaan näytteeseen, on säteen tulo kulma, tai sisäinen kulma, pienempi kuin lähteneellä valonsäteellä. Analysoitavien näytteiden taitekertoimet ovat yleensä matalampia. (Subramanian & Rodriguez-Saona 2009, 169.)

Kun sisäinen kulma saavuttaa niin sanotun kriittisen tason, on ulkoinen kulma silloin 90 astetta ja valon eteneminen tapahtuu yhdensuuntaisesti rajapinnan kanssa. (Thermo Fisher Scientific Inc. 2012a, 2). Tätä on havainnollistettu kuvassa 4 (s. 9), missä kriittistä kulmaa on merkitty tunnuksella  $\theta_c$ . Kiteen taitekerrointa on merkitty tunnuksella  $n_c$  ja näytteen, tai ilman, taitekerrointa tunnuksella  $n_s$ .



Kuva 4. Heijastuman kriittinen kulma (Thermo Fisher Scientific Inc. 2012a, 2).

Täysi sisäinen heijastuma tapahtuu, kun lähes kaikki valon aallot/säteet heijastuvat takaisin. Kuvassa 4 tämä on kohta ”Total Internal Reflectance”. Heijastuman yhteydessä jokaisessa heijastuspisteessä osa valon energiasta pakenee käytetystä mittauskiteestä tai -kristallista, muodostaa pienen määrän säteilyä ja ulottuu edelleen noin 0,1–0,5 mikrometrin ( $\mu\text{m}$ ) päähän näytteen ulkopuolelle aaltona. Ilmiötä kutsutaan ”nopeasti haihtuvaksi aalloksi” (an evanescent wave). (Subramanian & Rodriguez-Saona 2009, 169; Thermo Fisher Scientific Inc. 2012a, 2.) Ilmiötä on havainnollistettu kuvassa 5. Ilmiön yhteydessä heijastuneen valon intensiteetti laskee. Tätä ilmiötä kutsutaan puolestaan vaimennetuksi kokonaisheijastukseksi (attenuated total reflectance). (Subramanian & Rodriguez-Saona 2009, 169.)

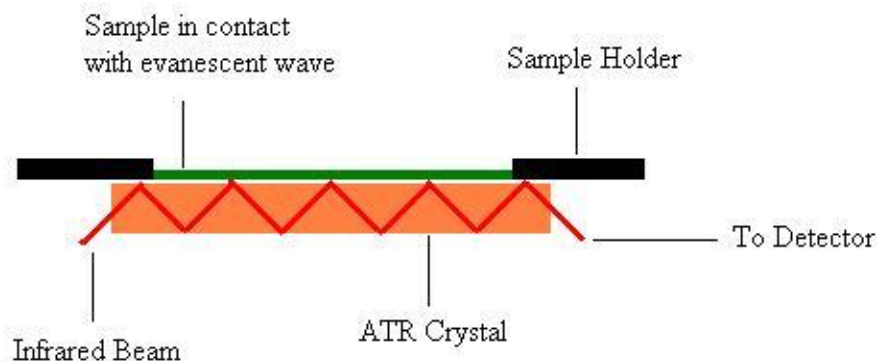


Kuva 5. Heijastuspisteessä valon muodostaman säteilyn aikaansaama nopeasti haihtuva aalto (Thermo Fisher Scientific Inc. 2012a, 2).

ATR-mittauksessa käytetty aallonpituusalue määräytyy käytetyn sädelähteen, säteenjakajan ja ilmaisimen mukaan. Keski-infrapuna- eli Mid-IR-alue on käytännöllinen esimerkiksi orgaanisille materiaaleille, missä kaukoinfrapuna- eli Far-IR-alue puolestaan soveltuu epäorgaanisten materiaalien analysointiin. Keski-infrapuna- eli NIR-alue ei yleensä ole käyttökelpoinen ATR-mittaukseen. Tämä johtuu siitä, että useimmiten infrapunasäteiden tunkeutumissyvyys näytteeseen on liian pieni tuottamaan näytteestä käyttökelpoisen spektrin. (Thermo Fisher Scientific Inc. 2012c, 11.)

Infrapunaspektrissä esiintyvien juovien ja huippujen voimakkuus määräytyy sekä infrapunasäteiden näytteessä kulkeman matkan pituuden, eli näytteen kulkeman, että näytteen koostumuksen mukaan. Mikäli ATR-kide mahdollistaa näytteestä useamman heijastuksen, on säteiden kulkema yhtä suuri kuin tunkeutumissyvyys kerrottuna heijastumien lukumäärällä. Fourier-muunnetussa ATR-mittauksessa (FT-IR/ATR) näytteen kulkema määräytyy näytteen tunkeutumissyvyyden mukaan. Transmittanssia hyödyntävässä mittauksessa tunkeutumissyvyys vastaa näytteen paksuutta. (Thermo

Fisher Scientific Inc. 2012a, 3.) Kuvassa 6 on havainnollistettu ATR-mittausta, jossa näytteestä tapahtuu useampi heijastuminen.

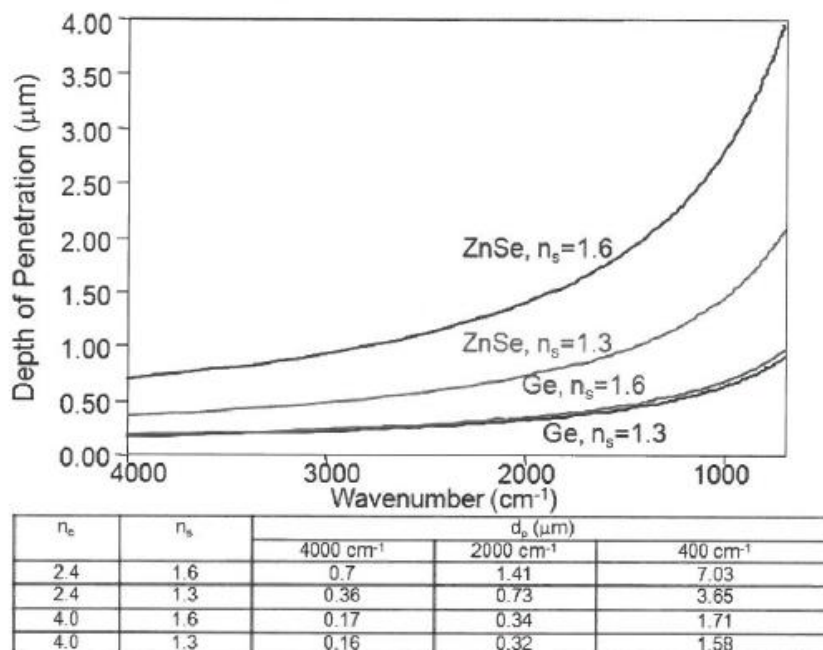


*Schematic of a multiple reflection ATR system*

Kuva 6. Havainnollistus useamman heijastuman ATR-systeemistä (Mistry n.d.).

Infrapunasäteen tunkeutumissyvyys on riippuvainen käytetystä aallonpituudesta. Pidemmät aallonpituusaallot tunkeutuvat näytteessä syvemmälle kuin lyhyemmät aallonpituusaallot. (Thermo Fisher Scientific Inc. 2012a, 4.) Lisäksi ATR-mittausmoduulin rakenne vaikuttaa säteen tunkeutumissyvyyteen. Mittausmoduulien rakennevaihtoehtoja on olemassa erilaisia. Mittauskiteen materiaaleja voivat olla esimerkiksi timantti, sinkkiselenidi tai germanium. (Subramanian & Rodriguez-Saona 2009, 169.) Kuviossa 1 (s. 11) on havainnollistettu aallonpituuden ja säteen tunkeutumissyvyyden välistä suhdetta ja niiden riippuvuutta kiteen ja näytteen taitekertoimista. Tarkasteltavina kiteinä ovat sinkkiselenidi (ZnSe) ja germanium (Ge). (Thermo Fisher Scientific Inc. 2012a, 4.)

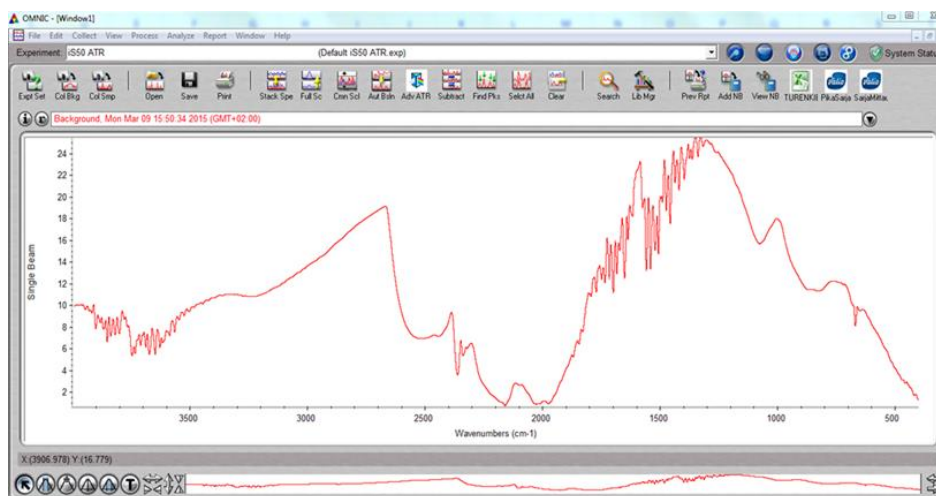




Kuvio 1. Käytetyn aallonpituuden ja säteen tunkeutumissyvyyden välinen suhde ja riippuvuus kiteen ja näytteen taitekerroimista (Thermo Fisher Scientific Inc. 2012a, 4).

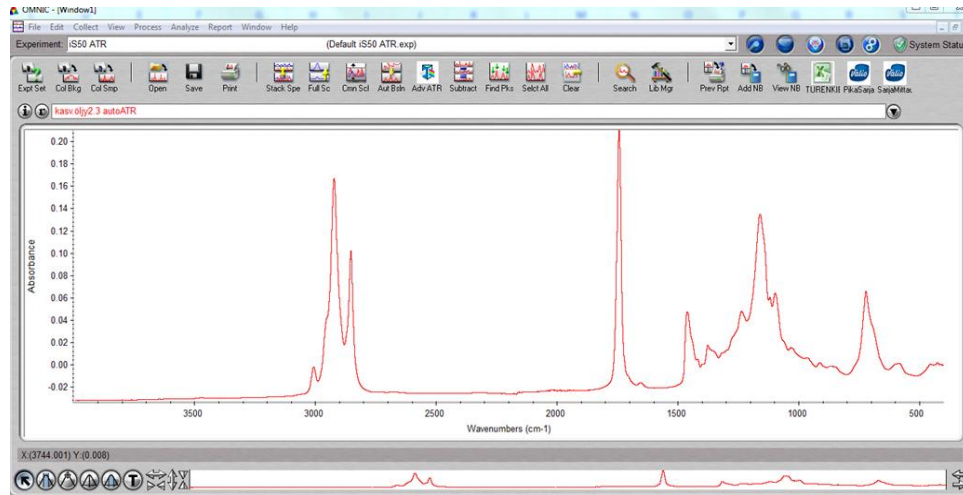
Kuviossa 1 kiteen taitekerrointa kuvataan tunnuksella  $n_c$  ja näytteen taitekerrointa tunnuksella  $n_s$ .

Näytteen analysointi ATR-mittausmenetelmällä aloitetaan aina taustaspektin mittaamisella. Taustaspektri muodostuu, kun ATR-mittausmoduulin näytealusta ajetaan tyhjänä ilman näytettä. Taustaspektri toimii mittauksen referenssispekttrinä ja sen muoto määräytyy käytetyn spektrometrin ja ATR-moduulissa käytetyn kiteen mukaan. (Thermo Fisher Scientific Inc. 2012a, 6.) Kuviossa 2 on esitetty esimerkki taustaspektristä, joka muodostui timanttikidettä hyödyntävästä ATR-mittausmoduulista. Timanttikiteen absorptiojuovat ja -piikit esiintyvät tyypillisesti aallonpituusalueella 2 300–2 000  $\text{cm}^{-1}$  (Thermo Fisher Scientific Inc. 2012c, 22).



Kuvio 2. Timanttikiteellä ajettu ATR-taustaspektri. Taustaspektin mittauksessa ATR-moduulin mittausalue on tyhjä.

Jokainen ATR-mittausmoduulilla mitattu näyte analysoidaan taustaspektriä vasten. Tällöin näytteen spektri muodostuu siten, että taustaspektrin omaisuudet ja energia on vähennetty näytespektristä eivätkä siten vääristä näytteestä saatua absorptiospektriä. (Thermo Fisher Scientific Inc. 2012a, 6.) Kuviossa 3 on esimerkki kasviöljynäytteen ATR-absorptiospektristä.



Kuvio 3. Esimerkki kasviöljyn ATR-absorptiospektristä.

Analysoitavasta näytteestä riippuen määräytyy ATR-absorptiospektrin muoto. Päinvastoin kuin transmittanssissa ei ATR:lla analysoida näytteen paksuudella ole juurikaan vaikutusta analyysiin, sillä spektri muodostuu näytteen pinnasta. Rajoittavana tekijänä saattaa olla näytteen homogeenisuus. Tästä huolimatta asianmukaisella näytteen esikäsittelyllä ATR:lla on mahdollista saada mitattua absorptiospektrejä hyvin määritellyin ominaisuuksin. (Subramanian & Rodriguez-Saona 2009, 169.)

### 3.2 ATR-analysaattorille soveltuvat näytteet

ATR-analyysitekniikkaa voidaan käyttää minkä tahansa näytteen analysointiin edellyttäen, että näyte on hyvässä kontaktissa kiteen kanssa. Lisäksi näytteen taitekertoimen tulee olla pienempi kuin kiteellä. (Thermo Fisher Scientific Inc 2012a, 4.)

ATR soveltuu esimerkiksi voimakkaasti absorboivien tai paksujen näytteiden analysointiin, sillä säteen tehokas tunkeutumissyvyys näytteeseen on lyhyt. Voimakkaasti absorboivat tai paksut näytteet muodostavat suuria, lukukelvottomia huippuja ja juovia, jos niitä mitataan infrapunatransmissionilla. (Thermo Fisher Scientific Inc 2012a, 4.) Taulukkoon 3 (s. 13) on koottu erilaisia ATR:lle soveltuvia näytetyyppejä.

Taulukko 3. Esimerkkejä ATR:lle sopivista näytteistä (mukailtu Thermo Fisher Scientific Inc A 2012, 5).

Näyte	Tyyppi	Esimerkki
Kiintoaineet	Tummat kiintoaineet	Kankaat, polymeerit
	Orgaaniset kiintoaineet	Parafiinit, organometallit
	Epäorgaaniset kiintoaineet	Talkki, geologiset näytteet
	Paksut kiintoaineet	Epoksihartsi
Nesteet	Vesiliuokset	Musteet, väriaineet, saippuat, pesuaineet
	Vedettömät liuokset	Kevyet öljyt, voiteluaineet, (liuottimet)
	Geelit ja pastat	Raskaat öljyt, rasvat, polyolit
	Biologiset materiaalit	Kudosnäytteet
Jauheet	Korkean molekyylipainon omaavat orgaaniset materiaalit	Lääkkeet, pigmentit

On tärkeää huolehtia, että tutkittava näyte ei reagoi ATR-kiteen kanssa (Thermo Fisher Scientific Inc 2012a, 4). Siksi ATR-mittausta ei tule käyttää esimerkiksi rikkihapon tai kaliumdikromaatin analysointiin, sillä ne reagoivat ATR:n timanttikiteen kanssa (Thermo Fisher Scientific Inc 2012c, 5).

Koska ATR-analysaattorilla ajetun näytteen absorbtiospektri muodostuu näytteen pinnan perusteella, asettaa näytteen rakenteen homogeenisuus rajoitteita analysoinnille. Analysoitavien näytteiden asianmukaisella esikäsittelyllä varmistetaan absorptiospektrien luotettavuus. (Subramanian & Rodriguez-Saona 2009, 169.) On kuitenkin huomioitava, että mikäli analysoitavan näytteen pinnan koostumus eroaa näytteen sisuksen koostumuksesta, ei ATR välttämättä ole sopiva keino näytteen analysointiin. Vaihtoehtoina on muokata näytettä halutun tiedon saamiseksi, esimerkiksi tablettien murskaaminen, tai valita toinen analysointimenetelmä. (Thermo Fisher Scientific Inc 2012a, 1.)

### 3.3 Thermo Scientific™ Nicolet iS™ 50 -analysaattori

Thermo Scientific™ Nicolet iS™ 50 -analysaattoriin voidaan käyttötapoiteiden mukaan lisätä erilaisia mittauskomponentteja, joiden ansioista analysaattorin käyttömahdollisuuksia voi monipuolistaa.

Valio Oy:n Turengin tehtaan laadunvalvontalaboratoriossa on käytössä kuvassa 7 (s. 14) esitetty sovellus Thermo Scientific™ Nicolet iS™ 50 -analysaattorista.



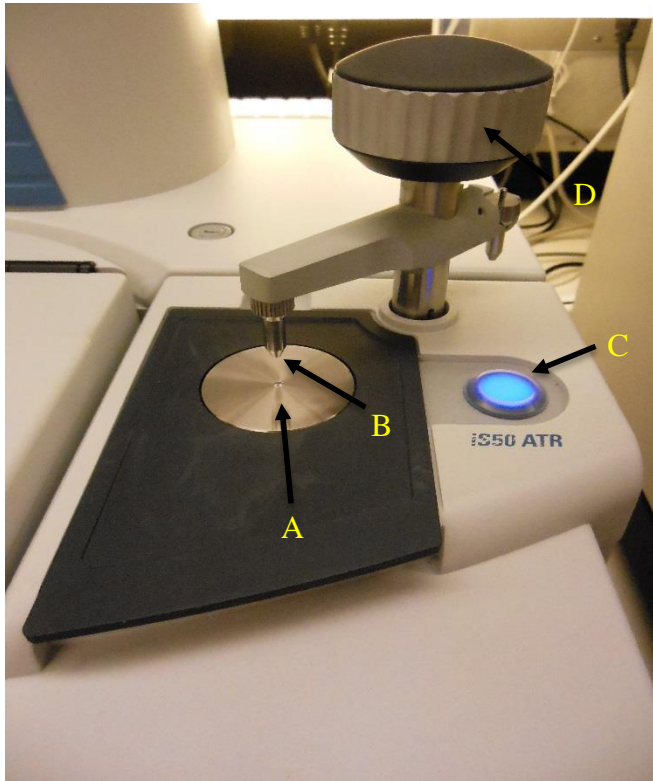
Kuva 7. Valio Oy Turengin tehtaan laadunvalvontalaboratorion Thermo Scientific™ Nicolet iS™ 50 -analysaattori (Oinonen 2015).

Kuvassa 7 olevat kirjaimet kuvaavat analysaattorin pääosia. Kirjainten selitykset on kerrottu alla:

- A = iS50 NIR -mittausmoduuli
- B = iS50 ATR -mittausmoduuli
- C = automaattinen iS50 ABX -säteenjakaja.

iS50 ABX -säteenjakaja muuttaa analysaattorin asetuksia sen mukaan, onko käytössä iS50 NIR -mittausmoduuli vai iS50 ATR -mittausmoduuli.

ATR-mittausyksikön toimintaperiaate on käytännössä yksinkertainen ja näytteen ajaminen laitteella ei vaadi juurikaan esivalmisteluja. Kuvassa 8 (s. 15) näkyvälle hopean väriselle pyöreälle mittausalueelle (kuvassa 8 merkitty tunnuksella A) annostellaan tutkittavaa näytettä. Jos tutkitaan kiinteitä näytteitä tai jauheita, on erillinen ”mittaustuki” (kuvassa 8 merkitty tunnuksella B) hyvä rullata kiinni tutkittavaan näytteeseen erillisen säätövarren avulla (kuvassa 8 merkitty tunnuksella D). Tällä varmistetaan esimerkiksi se, ettei näytteeseen jää ylimääräistä ilmaa ja että näyte on tukevasti kosketuksissa laitteen kiteen kanssa. (Thermo Fisher Scientific Inc. 2012a, 3.) Nestemäisten näytteiden analysoinnissa ”mittaustukea” ei tarvitse käyttää.



Kuva 8. Thermo Scientific™ Nicolet iS™ 50 -analysointilaitteen ATR-mittausyksikkö. Mittausyksikkö on aktiivinen turkoosin valon palaessa (merkitty tunnuksella C). (Oinonen 2015.)

Thermo Scientific™ Nicolet iS™ 50 -analysointilaitteille sopivat ohjelmistot ovat OMNIC, OMNIC Spectra ja TQ Analyst. OMNIC-ohjelmisto ohjaa ATR:n toimintaa mukaan lukien kvantitatiiviset analyysit ja spektrien keräämisen, analysoinnin sekä hakemisen laitteiston tietokannasta. (Thermo Fisher Scientific Inc. 2012c, 5.) OMNIC Spectra -ohjelmisto sisältää spektrien tietokannan ja ominaisuudet, joiden avulla laitteen käyttäjän tietokoneen kovalevystä voi tehdä analysoitujen näytespektrien kirjaston. OMNIC Spectra -ohjelmiston avulla tuntemattomia näyttemateriaaleja voidaan tunnistaa. Toiminto perustuu näytteen spektrin vertaamiseen referenssispektreihin sekä valittuun spektrikirjastoon. Ihannetilanne on, että referensseistä tai kirjastosta löytyy spektri, joka vastaa hyvin tuntematonta näytettä. Tarkasteluun voi ottaa joko koko spektrin tai määrättyjä aallonpituusalueita. (Thermo Fisher Scientific Inc. 2012c, 5; Thermo Fisher Scientific Inc. 2009, 133.)

TQ Analyst -ohjelmiston avulla voidaan kehittää kalibroituja menetelmiä joko kvantitatiiviseen analysointiin tai spektritietojen luokitteluun. Kvantitatiivisessa menetelmässä määritetään yhden tai useamman komponentin pitoisuus näytteseoksessa. Menetelmää hyväksikäyttäen saadaan selville, kuinka paljon analysoitavaa komponenttia tuntematon näyte sisältää. Absorptiospektrissä olevien huippujen voimakkuus on suoraan verrannollinen analysoitavaan näyttemäärään. Mitä enemmän näyte sisältää jotakin komponenttia, sitä voimakkaampi on kyseisen komponentin huippu spektrissä. (Thermo Fisher Scientific Inc. 2011, 25–27.)

Luokittelevassa menetelmässä näytespektrin ominaisuuksia verrataan ennalta määrättyihin ryhmiin ja luokkiin spektreissä, joiden mukaan näyte on mahdollista tunnistaa. Tunnistaminen tapahtuu sen mukaan, mikä ryhmä tai luokka antaa parhaimman vastaavuuden tuntemattomaan näytteeseen. Luokittelevia menetelmiä käytetäänkin yleisesti laadunvalvonta-analyyseissä sekä kvantitatiivisten analyysien esivalmisteluissa. Niiden avulla voidaan määrittää tuntematon näyte tai esimerkiksi näyttemateriaalin puhtaus. (Thermo Fisher Scientific Inc. 2011, 25.)

## 4 LAADUNVARMISTUS

Laadunvarmistukseksi luetaan kaikki ne järjestelmälliset ja suunnitellut toimet, joiden olemassa olo on tärkeää laatuvaatimusten täyttymisen varmistamisen kannalta (Mäkelä 2007, 481). Elintarviketeollisuudessa tapahtuva laadunvarmistus koostuu muun muassa omavalvonnasta, hyvistä tuotantotavoista sekä laadunvarmistusta toteuttavasta ammattitaitoisesta henkilökunnasta. Edellä mainittujen tekijöiden lisäksi valmistettujen tuotteiden hyvä ja turvallinen laatu perustuu myös laadukkaisiin raaka-aineisiin. (Laatutyö elintarvikeketjussa 2011.) Elintarviketeollisuuden toimijat asettavat käyttämilleen raaka-aineille laatuvaatimuksia, joita raaka-ainetoimittajien edellytetään noudattavan. (Ruokatiето Yhdistys ry 2016).

Laadunvarmistus voidaan jaotella joko sisäiseksi tai ulkoiseksi laadunvarmistukseksi. Sisäisen laadunvarmistuksen avulla valvotaan omia tutkimustuloksia. Tarvittavat analyysit ja toimet suoritetaan tavallisesti omassa laboratoriossa. Ulkoisessa laadunvarmistuksessa toimintojen ja tulosten laatua valvotaan tarkastuskäynnein tai vertailututkimuksin. (Mäkelä 2007, 481.) Laadunvarmistuksen tärkeä päämäärä on varmistaa, että saadut tulokset vastaavat niille asetettuja vaatimuksia ja tarpeita (Harris 2010, 97). Laadunvarmistusmenetelmiä laboratoriossa ovat esimerkiksi mikrobiologiset, kemialliset, fysikaaliset ja aistinvaraiset analyysit.

Laadunvalvonnan yksi tavoite on estää virheiden syntyminen. Elintarviketeollisuudessa laadunvalvontaa on pyritty keskittämään entistä enemmän ennalta ehkäisevään toimintaan. (Ruokatiето Yhdistys ry 2016.)

### 4.1 Omavalvonta ja spesifikaatiot

Elintarvikkeiden on oltava turvallisia ja elintarvikelainsäädännön mukaisia. Omavalvonta on elintarvikealan toimijan oma järjestelmä, jonka avulla edellä mainittujen vaatimusten täyttyminen on tarkoitus varmistaa. Omavalvonta kuuluu elintarvikealan toimijan lakisääteisiin velvoitteisiin. (Elintarviketurvallisuusvirasto Evira 2012.) Raaka-aineen ja edelleen tuotteen laadunvarmistus perustuvat jatkuvaan riskinarviointiin ja sitä kautta toiminnan hallintaan (Laatutyö elintarvikeketjussa 2011). Omavalvonnassa oleellista on, että raaka-aineita, tuotantoprosesseja ja tuotteita koskevat vaarat on tunnistettu ja edelleen kirjattu omavalvontasuunnitelmaan (Ruokatiето Yhdistys ry 2016).

Elintarvikealalla omavalvonta perustuu HACCP-periaatteisiin. Kirjainyhdistelmä tulee sanoista Hazard Analysis and Critical Control Points. HACCP-menettelyn avulla valvonta on tarkoitus pystyä kohdistamaan tuotteen ja prosessin kannalta tärkeimpiin kohtiin, jotta kuluttajaan kohdistuva mahdollinen terveystarve saadaan poistettua. Käytännössä HACCP-menettelyssä kartoitetaan toiminnan kohdat, joihin liittyy terveystarve ja niiden pohjalta määritetään kriittiset hallintapisteet. Kriittiset hallintapisteet ovat esimerkiksi käsittely- tai työvaiheita, joissa riski on mahdollista todeta ja sen olemassa olo kyetään pysäyttämään. Tällaisissa pisteissä riskien hallinta on tärkeää tuoteturvallisuutta vaarantavien tekijöiden ehkäisemiseksi, vähentämiseksi hyväksyttävälle tasolle tai kokonaan poistamiseksi. (Elintarviketurvallisuusvirasto Evira 2016.)

Yksi laadunvarmistuksen tärkeistä vaiheista riskiarvioinnin ohella on käyttötavoitteiden laatiminen. Niiden avulla määritetään, mitä datalla ja saaduilla tuloksilla tehdään. Lisäksi näin voidaan estää datan ja tulosten väärinkäyttöä. Kun käyttötavoitteet on määritelty, voidaan laatia spesifikaatiot. Spesifikaatioissa määritetään esimerkiksi, millaisia tuloksia tavoitellaan ja millaisia varotoimenpiteitä analyttisessä prosessissa tulee huomioida. Spesifikaatioissa voidaan myös määrittellä näytteenottovaatimukset (kuinka monta näytettä tarvitaan ja miten näytteet otetaan), varotoimet näytteiden laadun säilymisen varmistamiseksi, tarkkuus, ”väärin” tulosten määrä, kalibrointitarkistukset sekä laadunvarmistusnäytteet. Käytännön rajoittavien tekijöiden, kuten ajan, analyysiin tarvittavien materiaalien saatavuuden ja hinnan puitteissa on hyvä lisäksi miettiä, millainen tarkkuuden taso riittää täyttämään asetetut käyttötavoitteet. (Harris 2010, 97.)

#### 4.2 Näytteenotto ja näytteiden käsittely

Analysoinnin avulla on tarkoitus saada tutkittavasta näytteestä informaatiota. Luotettavan tuloksen saavuttaminen on monien tekijöiden summa, jonka saavuttaminen edellyttää asianmukaista näytteenottoa ja näytteen säilytystä, mahdollista esikäsittelyä ja analyysiä. Lisäksi saatuja tuloksia on osattava tulkita oikein. (Suomi 2009, 10.) Jotta analyysitulosten laatu saadaan varmistettua, on kaikkia osatekijöitä valvottava riittävällä tarkkuudella (Lehtonen & Sihvonon 2004, 91).

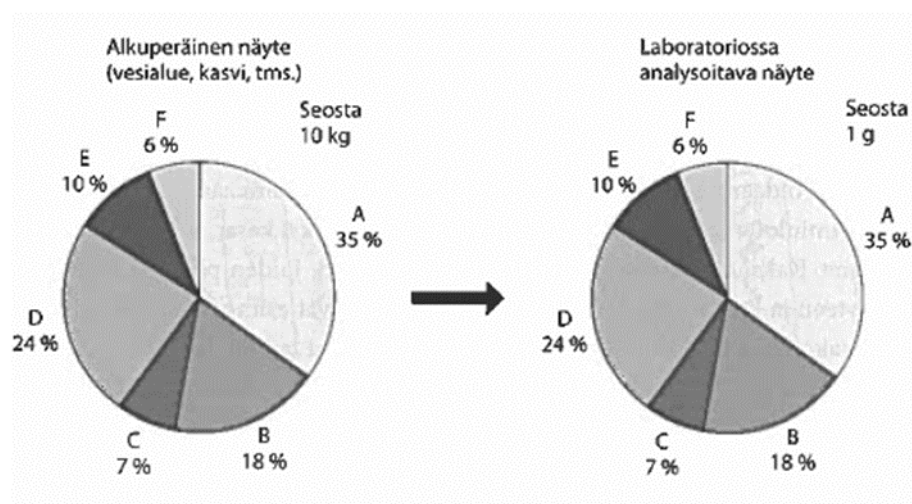
Laadunvarmistus alkaa näytteenotosta. Otettavien näytteiden tulee olla edustavia ja näytteenoton jälkeen analyysi eli tutkittava aine tai komponentti on säilytettävä. Mikäli analyysi menetetään näytteenoton jälkeen tai jos näyte ei ole edustava, on kaikista tarkinkin analyysi turha. (Harris 2010, 97.) Elintarvikeanalyysien suurin virhelähde on näytteenotossa tehty virhe. Näytteenoton jälkeen tapahtuvat työvaiheet eivät korjaa virheellistä näytteenottoa. Asianmukaisesti tehty näytteen analysointi antaa virheellisen tuloksen, jos näytteenotto on ollut puutteellinen. (Mattila, Piironen & Ollilainen 2003, 19.)

Edustavassa näytteessä kaikki näytteen sisältämät komponentit ovat samoissa suhteellisissa osuuksissa kuin alkuperäisessä näytteenottokohteesta. Näytteen on annettava luotettava kuva näytteenottokohteesta näytteenottohetkellä. Jotta tulokseen voidaan luottaa, ei näytteessä saa näytteenoton ja



analysointihetken välisenä aikana tapahtua kemiallisia tai fysikaalisia muutoksia, jotka voisivat vääristää tulosta. (Suomi 2009, 25.) Kuviossa 4 on havainnollistettu näytteenottokohde (vasemmalla) sekä siitä otettu edustava analysoitava näyte (oikealla). Tarkoituksenmukainen analyysi siis edellyttää tarkoituksenmukaista näytettä, joka edustaa sitä, mitä siitä tullaan analysoimaan (Harris 2010, 99).

Näytteenottotapaan vaikuttaa se, mitä tutkittavasta näytteestä halutaan analysoida. Millainen on tutkimuksen tarkoitus ja mitä sillä tavoitellaan? On myös otettava huomioon näytteenottokohteen ja tutkittavan näytteen ominaisuudet. Lisäksi on hyvä miettiä, vastaavatko näytteestä tehtävät analyysit niihin tekijöihin, mitä näytteenottomenetelmällä halutaan saavuttaa. (Mattiila ym. 2003, 20.) Oleellista on kuitenkin, että näytteenottokohteesta saadaan edustava ja kontaminoitumaton näyte (Suomi 2009, 30).



Kuvio 4. Näytteenottokohde ja siitä otettu edustava näyte. Edustava näyte sisältää samat komponentit kuin näytteenottokohde ja samoissa suhteissa, vaikka näytekoko olisi pienempi. (Suomi 2009, 25.)

#### 4.2.1 Näytteenoton virhelähteet

Mahdolliset analyysitulosta vääristävät tekijät on hyvä ottaa huomioon, kun näytteenottosuunnitelmaa tehdään (Mattiila ym. 2003, 32). Näytteenotossa esiintyvät systemaattiset virheet syntyvät usein monen tekijän yhteisvaikutuksesta. Virhelähteitä voivat olla esimerkiksi näytteenottoon sopimattomat välineet ja väärin kalibroidut tai säädetyt laitteet. Väärillä materiaalivalinnoilla pilataan muuten asianmukaisesti suoritettu näytteenotto, jos analysoitava näyte alkaa adsorboida itseensä aineita esimerkiksi säilytysmateriaalista. (Suomi 2009, 26.)

#### 4.2.2 Haasteet näytteiden rakenteessa, hetero- ja homogeenisuus

Näytteenottokohteet voivat olla joko hetero- tai homogeenisia. Heterogeeninen näyte ei ole koostumukseltaan tasalaatuinen ja se voi sisältää esimerkiksi nestemäisiä, kiinteitä tai kaasumaisia komponentteja. Jotta heterogeenisestä näytteenottokohteesta saadaan luotettava tulos, on näytteitä otettava



useampia ja kooltaan suurempia. Homogeeniset näytteet ovat koostumukseltaan tasalaatuisia ja niiden käsittely on heterogeenisiin näytteisiin nähden yksinkertaisempaa. (Suomi 2009, 26.) Jokaisen näytteen asianmukainen sekoittaminen on kuitenkin tärkeää.

Elintarvikenäytteet ovat yleensä heterogeenisiä ja biologisina kokonaisuuksina ne ovat harvoin täysin homogeenisia. Muun muassa maito, jauhot, margariini ja öljyt ovat esimerkkejä lähes homogeenisista näytteistä. Vastavasti esimerkiksi kasvikset, hedelmät ja kala ovat lähes poikkeuksetta heterogeenisiä näytteitä. Näytteen heterogeenisuus on huomioitava aina näytteenottosuunnitelmaa tehdessä. (Mattila ym. 2003, 20.)

#### 4.3 Raaka-aineen laadunvarmistuskäytännöt Valio Oy Turengin tehtaalla

Turengin tehtaan kriittiset kontrollipisteet (CCP) ovat neljän eri sterilisaattorin lämpötilat kestoputken loppupäästä mitattuna. Laadunhallinnan kontrollipisteitä löytyy kaikilta tehtaan eri prosessialueilta. Oleellista on kiinnittää huomiota allergeeneihin, vierasesineisiin ja -aineisiin. Raaka-aineiden tarkoitukseton sekoittuminen tulee myös estää. Osana tehtaan laadunvarmistusta ovat myös raaka-ainevalmistajien ja -toimittajien luona tehtävät auditoinnit. (Ahtiainen & Haipus, haastattelu 6.5.2015.)

Tehtaan raaka-aineen vastaanoton yhteydessä tarkistetaan lähetyslistat, jotta varmistutaan, että vastaanotettu raaka-aine vastaa tilattua. Samalla tarkistetaan tuotteen leimat ja pakkauksen moitteeton ulkonäkö. Lähtökohta ja peruseriaate ovat, että vastaanotettu raaka-aine on hyvää ja tavoitteenmukaista. Varsinaisen käyttöönoton yhteydessä raaka-aine arvioidaan vielä tarkemmin aistinvaraisesti. Raaka-aineesta riippuen voidaan niitä esimerkiksi maistaa ennen käyttöönottoa. Raaka-aineiden mukana toimitettavia erätodistuksia verrataan valmistajilta saatuihin raaka-ainespesifikaatioihin. Erätodistukset tarkistetaan lisäksi aina ennen raaka-aine-erän käyttöönottoa tai joissain tapauksissa jo ennen raaka-aineen saapumista tehtaalle. (Ahtiainen & Haipus, haastattelu 6.5.2015.)

Määrätyistä raaka-aineista tehdään aistinvaraisen arvioinnin lisäksi kemialliset ja mikrobiologiset määritykset. Tietyille raaka-aineille tehdään normaalin tarkastuksen ohella myös erilliset tarkastukset niille määriteltyjen protokollien mukaisesti. Vastavasti osa raaka-aineista voidaan vapauttaa erätodistusten perusteella tuotantoon. Opinnäytetyössä käsiteltävän ATR-menetelmän on tarkoitus tulevaisuudessa tukea lastenruokien raaka-aineiden vastaanottokäytäntöjä ja laadunvarmistusta. (Ahtiainen & Haipus, haastattelu 6.5.2015.)

## 5 HAPETTUMINEN ÖLJYN LAATUUN VAIKUTTAVANA TEKIJÄNÄ

Öljyt ja rasvat reagoivat hapen kanssa. Reaktio on monimutkainen ja yleensä ei-toivottu. Yleisin hapettumisprosessi on autoksidaatio. Hapettumista ei voi koskaan täysin estää, mutta keinoja hapettumisen hidastamiseksi ja vähentämiseksi on olemassa. (Gunstone 2008, 42; Miller n.d.)

Hapettumisen aikana öljyyn muodostuu vaihteittain erilaisia hajoamistuotteita. Primaareja ja ensisijaisia reaktiotuotteita ovat hydroperoksidit, dieenit ja vapaata rasvahapot. Sekundaareina tuotteina syntyy karbonyylejä, aldehydejä, trieenejä ja ketoneja. Lopuksi syntyy tertiäärejä tuotteita. (Miller n.d.; Gunstone 2008, 42–43.)

Öllyjen hapettumiseen vaikuttaa aina öljyn tyyppi ja kemiallinen koostumus. Merenelävistä saatavat öljyt, kuten esimerkiksi kala- ja simpukkaöljyt, sisältävät runsaasti polytyydyttymättömiä rasvahappoja ja ovat siksi erittäin herkkiä hapettumaan. Tyydyttymättömillä rasvahapoilla on hiiliatomiensa välissä reaktiivisia kaksoissidoksia. Tyydyttyneillä rasvoilla kaksoissidokset puuttuvat, joten niiden hapettuminen on myös hitaampaa. Öljyn kemiallisen koostumuksen lisäksi öljyjen hapettumisnopeuteen voidaan vaikuttaa säätämällä öljyn vuorovaikutusta lämpötilan, hapen, valon, kosteuden sekä metallien suhteen. (Miller n.d.)

Lämpötila on yksi suurin osatekijä öljyn hapettumisessa. Öljyn prosessoinnissa, kuljetuksessa ja valmistuksessa tulisi mahdollisuuksien mukaan pitää lämpötila mahdollisimman alhaisena. Ilmassa olevalle hapelle altistuminen katalysoi vapaiden radikaalien muodostumista öljyissä. Hapen kanssa kosketuksissa olevan öljypinta-alan pienentäminen, ylimääräisen ilmatilan vähentäminen säiliöissä tai öljyn suojaaminen inertillä kaasulla, kuten tyrellä, ovat keinoja, jolla hapelle altistumista voidaan vähentää. Valon UV-säteet voivat laukaista oksidatiivisen reaktion. Öljyn suoraa altistumista valolle voidaan välttää säilyttämällä öljyä valoa läpäisemättömässä säilytysastiasassa. Metalleista erityisesti siirtymämetallit, kuten rauta tai kupari, toimivat pro-oksiantteina eli hapettumisen edistäjinä. Öljyn käsittelyssä tulisi välttää öljyn kosketusta tällaisten metallien kanssa. Kaikkien edellä mainittujen tekijöiden lisäksi ja yhteisvaikutuksesta myös öljyn kosteus voi edistää sen hapettumista. Öljyn vesipitoisuus olisikin hyvä rajoittaa 0,2 prosenttiin. (Miller n.d.)

Antioksidantit ovat hapettumisenestäjiä, jotka katkaisevat hapettumisreaktioita. Lisäksi antioksidantit hapettuvat itsessään, jolloin ne suojaavat ja ehkäisevät muiden yhdisteiden hapettumista. Antioksidantit eivät voi täysin pysäyttää hapettumista, mutta voivat hidastaa sen esiintymistä. Myös öljyjen hapettumista voidaan ehkäistä antioksidantein. Antioksidanteja on olemassa sekä synteettisinä että luonnollisia kasveista eristettyinä. Yleisiä käytettyjä antioksidanteja ovat esimerkiksi tokoferolit (E-vitamiini), karotenoidit ( $\beta$ -karoteeni), fosfolipidit, retinoli (A-vitamiini) ja ehkäisevät antioksidantit. Tällaisia ovat esimerkiksi sitruuna-, fosfori- ja askorbiinihappo. (Miller n.d.)

## 5.1 Hapettumisen vaikutukset öljyn aistinvaraisiin ominaisuuksiin

Hapettuminen aiheuttaa öljyyn sivumakuja ja -hajuja. Tutummin härskiintyneen öljyn tunnistaa pistävistä ja öljyisistä sivuhajuista. Sivumaut ja -hajut syntyvät pääasiassa sekundaaristen hapettumistuotteiden, erityisesti ketonien ja aldehydien, vaikutuksesta, jotka kyetään aistimaan jo pieninä pitoisuuksina. (Eskin, Schaich, Shahidi & Zhong 2013, 456.)

Hapettumisen vaikutuksesta öljyssä saattaa myös esiintyä aromien häviämistä tai laimenemista. Hapettumisen edetessä tuoreille öljyille tyypilliset aromit katoavat. Ilmiö saattaa johtua öljyn aromiyhdisteiden hapettumisesta tai aldehydien ja muiden hapettumistuotteiden pitoisuuden kasvaessa öljyn tyypilliset aromit jäävät näiden aiheuttamien makujuen alle. (Eskin ym. 2013, 457.)

Haju- ja makumuutosten ohella hapettuminen voi aiheuttaa öljyihin värimuutoksia. Öljy saattaa esimerkiksi tummua tai väri voi ruskistua. (Eskin ym. 2013, 456.)

## 5.2 Öljyn hapettumisen mittaaminen ja seuranta

Öljjien ja rasvojen osalta ollaan tavallisesti kiinnostuneita siitä, kuinka pitkälle öljy on jo hapettunut ja kuinka kauan öljy kestää ennen kuin se on käyttökeltotonta. Öljyille ja rasvoille halutaan selvittää ”hyllyikä”. Selvitystä varten on tehtävä sekä nykytilan mittauksia että ennustavia mittauksia. (Gunstone 2008, 42.)

Tässä luvussa käsitellään lyhyesti muutamia yleisiä menetelmiä ja arvoja, joilla öljyjen hapettumista ja laatua voidaan seurata.

### 5.2.1 Peroksidiluku (PV)

Hapettumisen ensisijaiset reaktiotuotteet ovat hydroperoksiedeja, joita mitataan peroksidiluvun avulla. Peroksidilukumittaus on yleisin öljyistä tehtävä testi. Juuri puhdistetun öljyn tai rasvan peroksidiluvun tulisi olla alle 1. Öljyn voidaan sanoa härskiintyneen, kun peroksidiluku ylittää arvon 10. Eli mitä laadukkaampi öljy on, sitä alhaisempi on peroksidiluku. (Gunstone 2008, 42–43; Miller n.d.) Toisaalta sekundääristen hapettumistuotteiden muodostuessa peroksidiluku pienenee. Peroksidiluku on kuitenkin hyvä keino selvittää primääreiden hapettumistuotteiden määrä tuoreissa öljyissä. (Miller n.d.)

Öljy saattaa olla hajuton, vaikka sen hydroperoksidipitoisuus olisi suuri. Tämä johtuu siitä, ettei sekundäärinen hapettuminen ole vielä alkanut. Toisaalta, jos hapettuminen on edennyt pitkälle, peroksidiluku voi olla suhteellisen pieni, mutta aistinvaraisesti öljy on selvästi härskiintynyt. (Miller n.d.)

### 5.2.2 Anisidiiniluku (AV)

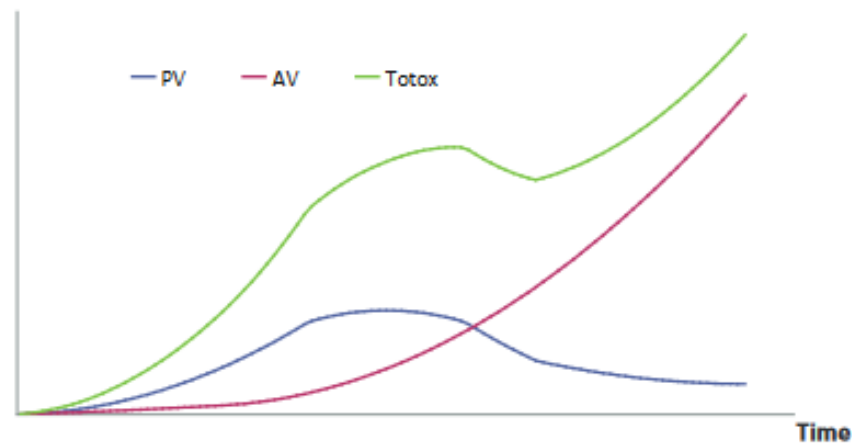
Hapettumisen sekundäärisessä vaiheessa hydroperoksidit hajoavat muodostaakseen karbonyylejä ja aldehydejä. Sekundäärit hapettumistuotteet antavat öljylle härskiintyneen hajun. Anisidiiniluvun avulla voidaan mitata sekundäärien hapettumistuotteiden pitoisuutta öljyissä. Mitä alhaisempi luku on, sitä laadukkaampaa on öljy. (Miller n.d.)

### 5.2.3 Totox-arvo

Totox-arvolla saadaan selville öljyn yleinen hapettumisen aste. Arvo lasketaan yhdistämällä peroksidi- ja anisidiiniluku kaavalla (1):

$$AV + 2 \times PV = Totox \quad (1)$$

Peroksidi- ja anisidiiniluvun muuttumista ja yhteyttä öljyn Totox-arvoon ajan kuluessa on havainnollistettu lisää kuviossa 5.



Kuvio 5. Öljyn hapettumisen ilmeneminen ajan kuluessa peroksidi- ja anisidiiniluvun sekä Totox-arvon suhteen (Miller n.d.).

Koska peroksidiluku saattaa hapettumisen yhteydessä laskea, on öljyn hapettumisen kokonaistilanteen selvittämisen kannalta tärkeää määrittää öljystä sekä AV-luku että Totox-arvo. Mitä pienempi on Totox-arvo, sitä parempi on öljyn laatu. (Miller n.d.)

### 5.2.4 Happoluku

Happoluvun avulla voidaan mitata, kuinka monta rasvahappoa on pilkottu niiden kantamolekyyleistä eli triglyserideistä tai fosfolipideistä. Öljyt koostuvat rasvahapoista. Rasvahappojen pilkkoutuminen kantamolekyyleistä kuvastaa hydrolyyttistä hajoamista. Happoluvun avulla voidaan selvittää myös raaka-aineissa olevaa mikrobien aiheuttamaa entsyymaattista aktiivisuutta. (Miller n.d.)

### 5.2.5 TBA-arvo

TBA- eli tiobarbituurihappo-arvolla voidaan tutkia sekundäärisiä oksidatiivisia aldehydituotteita. Arvoa käytetään lähinnä tutkittaessa polytyydyttymättömiä rasvahappoja. Testi ei ole täsmällinen ja tulokseen voi vaikuttaa muut ei öljyihin liittyvät komponentit, kuten sokerit. (Miller n.d.)

### 5.2.6 Jodiluku

Jodiluvulla mitataan öljyssä olevien reaktiivisten kaksoissidosten määrää. Jodiluku ei siis suoraan mittaa öljyn laatua, vaan enemminkin öljyn koostumusta. Suuri jodiluku kuvastaa suurta määrää reaktiivisia kaksoissidoksia. Kaksoissidoksia sisältävät öljyt (tydyttymättömät) ovat herkempiä hapettumaan. Jodiluvun avulla osataan paremmin ennakoida, kuinka paljon huomiota on kiinnitettävä kunkin öljyn hapettumisen hidastamiseksi. (Miller n.d.)

### 5.3 Hapettumisen aiheuttamat muutokset öljyn IR-absorptiospektrissä ja niiden mittaaminen

Öljyn hapettumisen aikana muodostuvia hydroperoksiedeja voidaan mitata kvantitatiivisesti infrapunaspektroskopiaa hyödyntäen. O-H-sidoksen värähtelystä muodostuneessa absorptiospektrissä aallonpituusalue 2,93  $\mu\text{m}$  kuvaa hydroperoksidien muodostumista. Vastaavasti MIR-spektrissä aallonpituudella 542  $\text{cm}^{-1}$  voidaan havaita hapettumisen aiheuttamia muutoksia. Spektrin huipun voimakkuus voidaan mitata ja muuttaa edelleen peroksidiluvuksi. (Shahidi & Zhong 2005, 362–363.)

Hapettumisen aiheuttamia muutoksia esiintyy absorptiospektrissä useassa kohdassa. Muutoksia on havaittu eri öljynäytteillä aallonpituudella 3 006  $\text{cm}^{-1}$ , jossa *cis*-kaksoissidos (=CH) on värähdellyt. Lisäksi hapettumisen seurauksena useita muutoksia ilmenee 3 050–2 740  $\text{cm}^{-1}$  välisellä alueella. Värähtelyn voimakkuuteen vaikuttaa aina tutkittavan öljyn koostumus. (Vlachos, Skopelitis, Psaroudaki, Konstantinidou, Chatzilazarou & Tegou, 2006, 460–463.)

## 6 LASTEN JA IMEVÄISIKÄISTEN RAVINTOVALMISTEITA KOSKEVAA LAINSÄÄDÄNTÖÄ

Minkä tahansa elintarvikkeen on elintarvikelain (23/2006) 7 §:n mukaan oltava sellainen, ettei se aiheuta vaaraa ihmisen terveydelle tai johda kuluttajaa harhaan. Elintarvikkeen kemiallisien, fysikaalisten ja mikrobiologisten ominaisuuksien sekä terveydellisen laadun ja yleisen koostumuksen on oltava sellaisia, että elintarvike soveltuu ihmisravinnoksi. Lisäksi 8 §:n mukaan ravitsemuksellisesti tai fysiologisesti vaikuttavien aineiden, kuten vitamiinien, kivennäisaineiden ja muiden vastaavanlaisten lisääminen elintarvikkeisiin on sallittua ainoastaan, jos niiden lisääminen ei vaaranna ihmisen terveyttä.

Kun elintarvikkeen ensisijainen kohderyhmä on joko lapset tai imeväisikäiset, on tuotteiden valmistuksessa ehdottomasti huomioitava voimassa olevat ravitsemussuositukset ja lainsäädännön asettamat rajat. Kauppa- ja teollisuusministeriö on antanut elintarvikelain pohjalta päätökset sekä lastenruoista (KTMp 789/1997) että äidinmaidonkorvikkeesta ja vieroitusvalmistesta (KTMp 1216/2007). Lapsen katsotaan olevan imeväinen alle 12 kuukauden ikäisenä. Yhdestä kolmeen vuotias lapsi luokitellaan pikkulapseksi. (KTMp 789/1997 3 §; KTMp 1216/2007 3 §.)

## 6.1 Lastenruoat

Kauppa- ja teollisuusministeriön päätöksessä (789/1997 3 §) lastenruoka tarkoittaa erityisruokavaliovalmistetta, joka on tarkoitettu tai sen on erikseen ilmoitettu sopivan alle kolmen vuoden ikäiselle lapselle. Päätöksessä huomioitavat lastenruoat ovat viljapohjaiset ja muut lastenruoat, joita myydään valmiiksi pakattuina tuotteen kokonaan peittävässä pakkauksessa. (KTMP 789/1997 2 §.)

Kauppa- ja teollisuusministeriön päätöksen (789/1997) 9 §:n mukaan lastenruoat eivät saa sisältää vieras- tai muita aineita sellaisia määriä, että niistä on haittaa lapsen terveydelle. Liitteessä 5 on esitettyinä ravintoaineita, joiden lisääminen lastenruokiin on sallittua niiden valmistusvaiheessa.

## 6.2 Äidinmaidonkorvike ja vieroitusvalmiste

Äidinmaidonkorvike on elintarvike, joka on yksinään tarkoitettu täyttämään imeväisikäisen lapsen ravitsemukselliset vaatimukset 4–6 ensimmäisen elinkuukauden aikana. Vieroitusvalmiste on tarkoitettu yli neljän kuukauden ikäisen, vähitellen monipuolistuvaan ruokavalioon siirtyvän imeväisen ravinnoksi ja pääasialliseksi nesteosuudeksi. Lisäksi on olemassa imeväisen erityisvalmiste, jota käytetään äidinmaidonkorvikkeen tai vieroitusvalmisteen sijaan, jos imeväinen ei esimerkiksi sairauden tai muun vastaavaan syyn vuoksi voi käyttää valmisteita, jotka on tarkoitettu terveelle imeväisikäiselle. (KTMP 1216/2007 3 §.)

Äidinmaidonkorvikkeen ja vieroitusvalmisteen valmistaminen on sallittua sellaisista proteiiniähteistä ja tarpeen tullen myös muista ainesosista, joiden soveltuvuus tuotteiden kohderyhmälle on osoitettu yleisesti hyväksytyllä tieteellisellä aineistolla. Äidinmaidonkorvikkeen ainesosien on sovelluttava imeväisen ravinnoksi syntymästä lähtien ja vieroitusvalmisteen yli neljän kuukauden ikäisen ravinnoksi. Tuotteiden on oltava nautintavalmiita sellaisenaan tai vastaavasti koostumuksen on oltava sellainen, että nautintavalmiuteen tarvitaan vain vesi. (KTMP 1216/2007 5 §.)

Taulukkoon 4 (s. 25) on listattu äidinmaidonkorvikkeen koostumuksen perusvaatimuksia, kun äidinmaidonkorvike on valmistettu lehmänmaidon proteiineista. Vastaavat koostumuksen perusvaatimukset vieroitusvalmistelle on esitetty taulukossa 5 (s. 25).

Taulukko 4. Äidinmaidonkorvikkeen yleisiä koostumusvaatimuksia (muokattu KTMP 1216/2007, liite 1).

	Vähintään	Enintään
Energia	250 kJ/100 ml (60 kcal/100 ml)	295 kJ/100 ml (70 kcal/100 ml)
Proteiini	0,45 g/100 kJ (1,8 g/100 kcal)	0,7 g/100 kJ (3 g/100 kcal)
Rasvat	1,05 g/100 kJ (4,4 g/100 kcal)	1,4 g/100 kJ (6,0 g/100 kcal)
Hiilihydraatit	2,2 g/100 kJ (9 g/100 kcal)	3,4 g/100 kJ (14 g/100 kcal)
Laktoosi	1,1 g/100 kJ (4,5 g/100 kcal)	-

Taulukko 5. Vieroitusvalmisteen yleisiä koostumusvaatimuksia (muokattu KTMP 1216/2007, liite 2).

	Vähintään	Enintään
Energia	250 kJ/100 ml (60 kcal/100 ml)	295 kJ/100 ml (70 kcal/100 ml)
Proteiini	0,45 g/100 kJ (1,8 g/100 kcal)	0,7 g/100 kJ (3,5 g/100 kcal)
Rasvat	0,96 g/100 kJ (4,0 g/100 kcal)	1,4 g/100 kJ (6,0 g/100 kcal)
Hiilihydraatit	2,2 g/100 kJ (9 g/100 kcal)	3,4 g/100 kJ (14 g/100 kcal)
Laktoosi	1,1 g/100 kJ (4,5 g/100 kcal)	-

Sekä äidinmaidonkorvikkeeseen että vieroitusvalmisteseen on rasvojen osalta kiellettyä lisätä seesamin- tai puuvillansiemenöljyä. Trans-rasvahappopitoisuus kokonaisrasvapitoisuudesta saa olla korkeintaan kolme prosenttia. Pitkäketjuisten monitydyttymättömien rasvahappojen (20 ja 22 hiiliatomia) lisääminen on sallittua. Enimmäispitoisuuksina kokonaisrasvahappopitoisuudesta sallitaan yksi prosentti monitydyttymättömiä n-3-rasvahappoja ja kaksi prosenttia monitydyttymättömiä n-6-rasvahappoja. (KTMP 1216/2007, liite 1–2.)

## 7 OPINNÄYTETYÖN KÄYTÄNNÖN OSUUS

Opinnäytetyön käytännön osuus rajattiin koskemaan lastenruoissa käytettävien kasviöljyseoksien, jauheiden ja vitamiiniseoksien laatua, sillä tuoter ryhmänä lastenruoat ovat erityisen kriittinen.

### 7.1 Tutkittavat näytteet

Tutkittavia näytteitä olivat kasviöljyseokset, kuusi erilaista jauheseosta ja neljä erilaista vitamiiniseosta. Tutkittavista raaka-aineista kerättiin näytteitä

ja ne ajettiin ATR-analysaattorille. Näytteistä muodostuneet spektrit tallennettiin analysaattorin tietokantaan. Jokaiselle tutkittavalle raaka-aineelle luotiin oma tallennuskansio ja laitteen ohjelmiston tietokantaan erilliset raaka-ainekirjastot. Luotujen kirjastojen pohjalta on tulevaisuudessa tavoite verrata uusia raaka-aine-eriä aiempiin. Asianmukaisten kalibrointien ja riittävän suuren näytemäärän pohjalta raaka-aineen laatu on jatkossa tarkoitus varmistaa.

Kasviöljyseoksen laatua laboratoriossa haluttiin ja halutaan jatkossa tarkastella peroksidiluvun avulla, joka on yleisin öljyn hapettumisesta kertova arvo, kuten luvussa 5.2.1 on myös mainittu.

Jauheille ja vitamiiniseoksille alettiin rakentaa näytetietokantaa ATR:n tietokantaan. Tavoite on jatkossa varmistaa tulevien jauhe- ja vitamiinierien yleinen laatu vertaamalla uudesta näytteestä saatua spektrien tietokantaan jo ajettujen spektrien keskiarvoihin.

### 7.2 Näytteiden ottaminen ja ajaminen analysaattorille

Analysoitavia kasviöljyseosnäytteitä olivat seoksen valmistajalta eli lähettäjältä tullut näyte, ennen purkua kuormasta otettu näyte ja näyte ennen öljyseoksen käyttöönottoa tuotannossa. Samasta näyte-erästä saatiin analysoitavaksi siis kolme eri näytettä. Samalla pystyttiin myös seuraamaan, muutuiko kasviöljyseoksen laatu kuljetuksen ja säilytyksen aikana.

Jauhe- ja vitamiiniseosnäytteet otettiin tehtaan varastoihin jo vastaanotetuista raaka-aine-eristä. Näytteet otettiin sattumanvaraisesta kohdasta raaka-aine-erää. Ennen näytteenottoa raaka-ainetta sekoitettiin huolellisesti.

Turengin tehtaalla osa raaka-aineiden annostelusta ja sekoituksesta tapahtuu jauhetilassa. Jauhetilaan laadittiin seurantalomake (liite 2) ennen tuotantoon käyttöön otettavan kasviöljyseoksen näytteenotosta. Näytteisiin merkittiin näytteenottopäivä ja tilanteen mukaan myös tiedot öljyn erästä, säiliöstä ja parasta ennen -päiväyksestä.

ATR-analysaattorin käytöstä näytteiden mittaamisessa laadittiin laboratorion henkilökunnalle käyttöohje (liite 1/1–1/4), jonka mukaan kasviöljy-, jauhe- ja vitamiiniseosnäytteet ajettiin.

### 7.3 Kasviöljyseosnäytteiden huonontaminen

Osaa kasviöljyseosnäytteistä lähdettiin tahallisesti huonontamaan, jotta ATR-analysaattorille kehitettävää mittaamenetelmää varten saataisiin mahdollisimman erilaista ja monipuolista numeerista dataa.

Kasviöljyseoksia lähdettiin huonontamaan tavoilla, joilla öljy oli tarkoitus saada mahdollisimman hyvin hapettumaan. Tarkoitus oli saada öljyn peroksidilukua tietoisesti suuremmaksi. Osaa kasviöljyseosnäytteistä kuumentettiin mikroaaltouunissa noin +100-asteiseksi, jonka jälkeen niistä ajettiin näytteet ATR-analysaattorilla. Osaa öljynäytteistä pidettiin läpinäkyvässä



muovipikarissa ikkunalla altistettuna auringonvalolle. Lisäksi muutamia näytteitä säilytettiin valossa ilman kantta mahdollisimman hyvin altistettuna ilman hapelle.

#### 7.4 Peroksidilukumääritykset Eurofins Scientific Finland Oy:n laboratoriossa

Analysoitavat öljynäytteet lähetettiin ATR-mittauksen jälkeen Eurofins Scientific Finland Oy:n akkreditoituun laboratorioon peroksidiluvun määrittämiseksi. ATR:llä mitatut kasviöljyseosnäytteet, sekä huononnetut että huonontamattomat, pakattiin foliolla peitettyihin kannellisiin muovipikareihin ennen analysoitavaksi lähettämistä.

Turengin tehtaan laadunvalvontalaboratoriossa öljyseoksia ei ollut mahdollista analysoida peroksidiluvun suhteen. Eurofins Scientific Finland Oy:n laboratorion määrittämisessä kasviöljyseoksen peroksidiluku määritettiin titrausmenetelmän AOCS 8b-90:2011 avulla. Liitteessä 3 on esitetty esimerkki kasviöljyseoksen peroksidilukumäärityksen tutkimustodistuksesta.

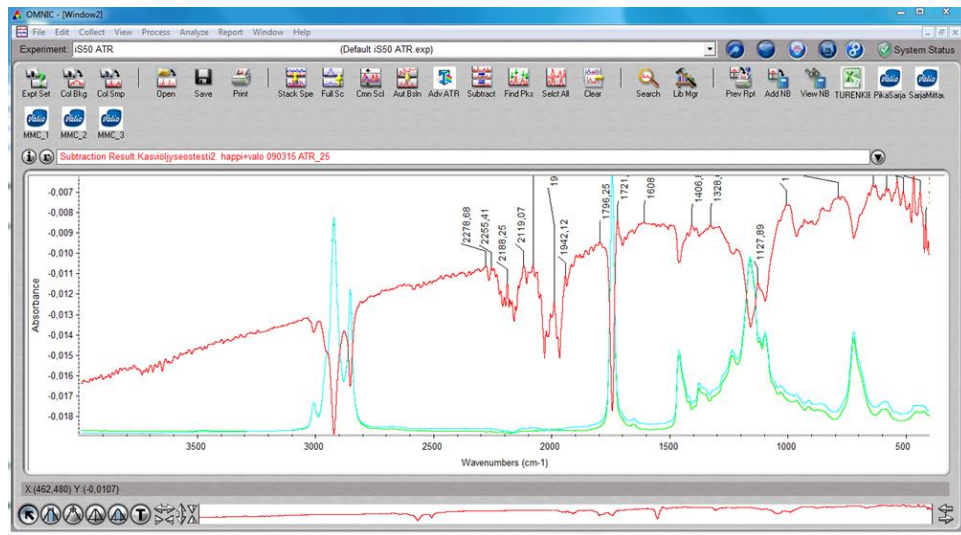
#### 7.5 Peroksidilukutulosten kirjaaminen analysaattorille ja kalibrointipohjan testaaminen peroksidiluvun suhteen TQ-analyst -ohjelmistolla

Kun Eurofins Scientific Finland Oy:n peroksidiluvun määrittäminen kasviöljyseoksesta oli valmistunut, kirjattiin tulos Thermo Scientific™ Nicolet iS™ 50 -analysaattorin tietokantaan kasviöljyseoksen oikealle absorptiospektrille näytetunnisteen mukaisesti.

TQ-analyst -ohjelmisto teki analysaattorille automaattisesti kalibrointiallin tietokantaan syötettyjen tulosten ja valitun aallonpituusalueen perusteella. Laitteisto laskee arvon kysytylle suurelle annettujen parametrien mukaisesti. Jos tarkasteluun on otettu tutkittavaa ominaisuutta parhaiten kuvaava aallonpituusalue ja syötetyt analyysitulokset vastaavat oikeita spektrejä, vastaavat syötetyt tulokset analysaattorin määrittämiä arvoja.

Oikean aallonpituusalueen löytäminen on tärkeää, jotta näytteestä saadut määrittämis tulokset saadaan syötettyä absorptiospektrin oikeaan kohtaan eli siihen, missä ne spektrissä sijaitsevat. Kun kalibrointi on tehty oikean aallonpituusalueen mukaan, uusille tuntemattomille näytteille saadaan määritettyä todenmukainen mittaustulos.

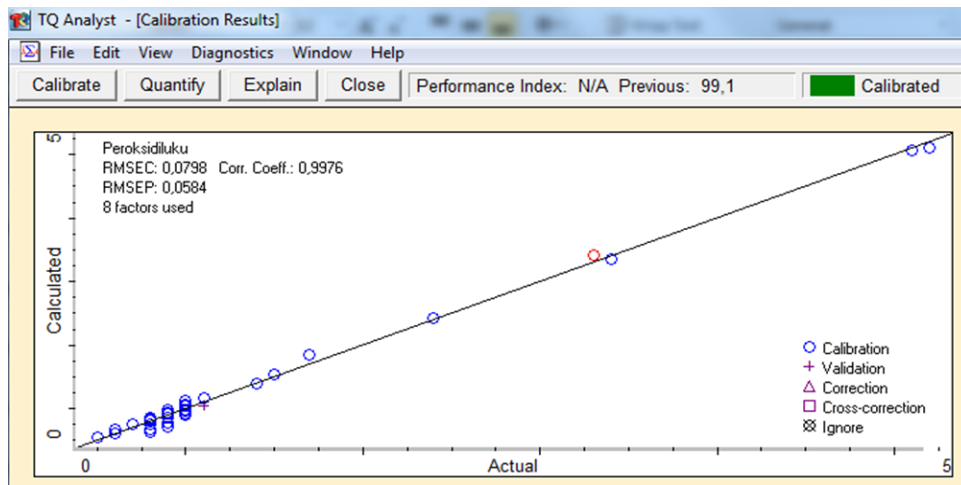
Peroksidiluvun tarkasteluun parhaiten soveltuvan aallonpituusalueen löytämiseksi hyödynnettiin muun muassa OMNIC-ohjelmiston toimintaa, jolla eri spektrejä voitiin vertailla ja ”vähentää toisistaan”, jolloin tuloksena saadaan erotusspektri. Kuviossa 6 (s. 28) on esitetty esimerkki, jossa kahdesta kasviöljyseoksen absorptiospektristä on muodostettu erotusspektri. Erotusspektrin huiput on lisäksi esitetty numeroarvoin.



Kuvio 6. Kahden eri öljynäytteen absorptiospektrit (turkoosi ja vihreä spektri) sekä spektrien erotusspektri (punainen spektri).

Erotusspektrin avulla kahden eri spektrin ja siten kahden eri näytteen komponenttien eroavaisuudet on mahdollista saada selville. Tätä ominaisuutta hyödynnettiin myös peroksidiluvulle oikean aallonpituusalueen löytämiseksi.

Kuviossa 7 on esitetty kalibrointisuora, jolla saatiin toistaiseksi parhain korrelaatio kasviöljyseoksen todellisen ja analysaattorin laskeman peroksidilukutuloksen välillä. Tulos saatiin aallonpituusalueella  $2\ 977\text{--}2\ 782\ \text{cm}^{-1}$ .



Kuvio 7. Opinnäytetyön käytännön osuuden pohjalta saavutettu toistaiseksi onnistunein kalibrointisuora kasviöljyseoksen peroksidiluvulle.

Kuviosta 7 on kuitenkin havaittavissa, että peroksidilukutulokset ovat painottuneet voimakkaasti kalibrointisuoran alaosaan. Kalibrointipisteet (kuviossa 7 sinisillä ympyröillä) sijoittuvat kalibrointisuoralle melko hyvin, mutta luotettavamman kalibrointipohjan luominen edellyttäisi kalibrointipisteitä tasaisesti koko suoralle.

## 8 TULOKSET JA TULOSTEN KÄSITTELY

Opinnäytetyön käytännön osuuden aikana ATR-analysaattorin tietokantaan saatiin kerättyä peroksidilukutiedot 41 kasviöljyseosnäytteestä. Peroksidilukutulokset on listattu taulukkoon, joka löytyy liitteestä 4.

Vitamiiniseosnäytteitä saatiin ajettua laitteen tietokantaan yhteensä 12 kappaletta. Vastaavasti jauhenäytteitä ajettiin kymmenen kappaletta. Koska jo raaka-ainenäytteiden keräysvaiheessa oli selvää, ettei jauhe- ja vitamiini-seoksista saada kerättyä riittävästi eränäytteitä, ei kyseisiä raaka-aineita tarkastella myöskään matemaattisesti.

### 8.1 Periaatteet menetelmän kalibroinnista, validiteetista ja reliabiliteetista

Menetelmän validointi on prosessi, jolla on tarkoitus osoittaa ja varmistaa, että analyttinen menetelmä vastaa ja on hyväksyttävä sille aiottuun tarkoitukseen (Harris 2010, 100). Kehitetyn kalibroitimallin kykyä ja toimivuutta tunnistaa tuntemattomia näytteitä tulee arvioida, kun uutta analyysimenetelmää otetaan käyttöön. Mallin validiteetin osoittamiseksi kalibroйдulla laitteella analysoidaan tietty lukumäärä näytteitä eli referenssejä, joiden ominaisuudet ovat tiedossa, kuten esimerkiksi rasva- tai kuiva-ainepitoisuus. Analysoitavien näytteiden tulee olla uusia ja ennestään tuntemattomia eikä niitä ole saanut käyttää kalibrointipohjan luomisessa. Kalibrointimallin antamia tuloksia verrataan referenssiarvoihin ja jos tulokset ovat merkittävästi identtiset, voidaan kehitetyn mallin olettaa antavan luotettavia tuloksia myös tuntemattomista näytteistä. (Romía & Bernárdez 2009, 78.)

Menetelmän ja mittaamisen validiteetti kuvaa, kuinka onnistuneesti on pystytty mittaamaan sitä, mitä oli tarkoitus mitata. Tavoitellussa ihannetilanteessa muuttuja mittaa juuri sitä, mitä oli suunniteltukin. Reliabiliteetti kuvaa menetelmän kykyä tuottaa ei-sattumanvaraisia tuloksia. Kyse on ennen kaikkea mittauksen luotettavuudesta. Jos mittaus tuottaa eri mittauskerroilla samanlaisia tuloksia samasta tai samantyyllisestä aineistosta, voidaan mittauksen ja menetelmän reliabiliteettia pitää suurena. (Holopainen & Pulkkinen 2012, 16–17.)

### 8.2 Tulosten matemaattinen analysointi

Opinnäytetyön käytännön osuuden aikana saatujen kasviöljyseosnäytteiden peroksidilukutulosten (liite 4) perusteella peroksidiluvulle laskettiin keskiarvo ja keskihajonta. Lisäksi peroksidiluvulle määritettiin piste-estimaatti ja väliestimaatti eli luottamusväli luottamustasoilla 95 ja 99.

Luottamusväli ilmaisee piste-estimaattiin liittyvän virhemarginaalin. Luottamustaso puolestaan kuvaa sitä, kuinka suuri on todennäköisyys sille, että perusjoukkoa kuvaa tunnusluku sijaitsee tarkasteltavalla luottamusvälillä. (Holopainen & Pulkkinen 2012, 168.)

## 8.2.1 Otokoko, keskiarvo ja keskihajonta

Kasviöljyseoksen peroksidilukutuloksia saatiin 41 kappaletta eli tutkimuksen otoskoon suuruus oli  $n = 41$ .

Peroksidilukutuloksille laskettiin kaavan (2) perusteella aritmeettinen keskiarvo ja kaavan (3) perusteella keskihajonta.

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (2)$$

jossa

$n$  = havaintoarvojen lukumäärä  
(Holopainen & Pulkkinen 2012, 83).

Kaavalla (2) laskettuna kasviöljyseoksen peroksidiluvun keskiarvoksi saatiin 1,82.

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (3)$$

jossa

$\bar{x}$  = havaintoarvojen eli otoksen aritmeettinen keskiarvo  
 $n$  = havaintoarvojen lukumäärä  
(Holopainen & Pulkkinen 2012, 90).

Peroksidiluvun keskihajonnaksi saatiin kaavan (3) mukaan 2,68.

## 8.2.2 Piste-estimaatti ja väliestimaatit 95 prosentin ja 99 prosentin luottamustasolla

Peroksidiluvun piste-estimaatti on sama kuin sille kohdassa 8.2.1. laskettu keskiarvo 1,82.

Luottamusvälin laskuissa käytettiin Studentin t-jakaumaa, vaikka otoskoko oli suurempi kuin 30 ( $n = 41$ ).

Väliestimaatit laskettiin kaavalla (4).

$$\bar{x} - t_{\alpha/2} \times \frac{s}{\sqrt{n}} \leq \mu \leq \bar{x} + t_{\alpha/2} \times \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (4)$$

jossa

$\bar{x}$  = havaintoarvojen eli otoksen aritmeettinen keskiarvo  
 $n$  = otoskoko  
 $s$  = otoksesta laskettu keskihajonta  
 $t_{\alpha/2}$  = luottamustasoon liittyvä kriittinen arvo  
(Holopainen & Pulkkinen 2012, 168; 182).

Kun hyödynnetään Studentin t-jakaamaa, noudattaa testimuuttuja jakaamaa vapausastein  $n-1$ . Peroksidiluvulle käytetty vapausaste oli siten 40. Yksisuuntaisella testillä merkitsevyystasoksi määräytyi siten 95 prosentin luottamusvälillä 2,021 ja vastaavasti 99 prosentin luottamusvälillä 2,704.

Kaavalla (4) laskettuna saatiin peroksidiluvun luottamusväliksi 95 prosentin luottamustasolla  $0,966 \leq \mu \leq 2,679$ . Vastaavasti luottamustasolla 99 oli peroksidiluvun luottamusväli  $0,676 \leq \mu \leq 2,968$ .

### 8.2.3 Johtopäätökset

Kohdassa 8.2.2. määritettyjen tulosten perusteella huomataan, että luottamustason tarkentuessa luottamusväli, jolla peroksidiluku sijaitsee kasvaa. Sekä 95 prosentin että 99 prosentin luottamustasolla lasketut tulokset puoltavat sitä, että väli, jolla kasviöljyseoksen peroksidiluku todennäköisesti sijaitsee, on melko suuri ja siten epätarkka. Tämän ja kuvion 7 (s. 28) perusteella voidaan todeta, että hajonnaltaan suurempia ja erilaisia peroksidilukutuloksia tarvittaisiin lisää.

## 9 POHDINTA JA YHTEENVETO

Opinnäytetyön aikana yhdeksi keskeiseksi ongelmaksi osoittautui kasviöljyseosnäytteiden referenssimäärittysten puuttuminen. Turengin tehtaalla laadunvalvontalaboratoriossa öljyn peroksidiluvun määrittäminen ei ollut ainakaan toistaiseksi mahdollista, joten ulkopuolisen laboratorion palveluiden hyödyntäminen oli välttämätöntä. Tuloksien luotettavuuden varmistamiseksi olisi ollut tärkeää saada vähintään yksi rinnakkainen analyysitulosisää jokaista tutkittavaa näytettä kohden.

Näytteiden lähettäminen ulkopuoliseen laboratorioon on myös kustannuskysymys. Jälkeenpäin ajatellen öljynäytteiden lähettämistä analysoitavaksi olisi pitänyt yrittää järkeistää mittausdatan keräysvaiheessa. Toisaalta tähän pyrittiinkin mittaamalla ATR-analysaattorilla huononnettavien öljynäytteiden peroksidilukua tietyin väliajoin huonontamisen aikana. Tarkoitus oli lähettää öljynäyte edelleen analysoitavaksi peroksidiluvun ollessa kalibrointipohjan kannalta ”sopiva”. Käytännössä tämän toteuttaminen oli kuitenkin haasteellista, sillä kalibrointipohja itsessään oli kehitysvaiheessa ja siten puutteellinen eikä jo aiemmin mainittua referenssiä pystynyt laadunvalvontalaboratoriossa määrittämään. Lisäksi analysaattorille ajetun kasviöljynäytteen ei voi varmuudella sanoa olevan täysin vertailukelpoinen Eurofins Scientific Finland Oy:n määrittämän peroksidilukutuloksen kanssa. On hyvin todennäköistä, että kasviöljyn laadussa tapahtuu joitakin muutoksia analysaattorille ajon ja Eurofins Scientific Finland Oy:n suorittaman analysoinnin välillä. Myös siksi oman referenssituloksen määrittäminen olisi ollut erittäin hyödyllistä.

Referenssien puuttumisen lisäksi tutkittavia raaka-aineita tulee tehtaalle suhteellisen harvoin. Joko käyttömäärät ovat hyvin pieniä tai saapuvan raaka-aineen erä koko on suuri ja raaka-ainetta riittää siten pidemmäksi ai-

kaa. Tämän vuoksi myös tutkittavien näytteiden määrä jäi pieneksi eikä esimerkiksi vitamiiniseoksista ja jauheista ollut järkevää lähteä tekemään numeerista ja matemaattista analysointia.

Peroksidiluvun määrittämiseksi absorptiospektristä tarvitaan aallonpituusalue, jolta TQ Analyst -ohjelmisto etsii peroksidiluvun arvon. Yhtä tällaista kohtaa ei opinnäytetyön aikana onnistuttu löytämään. Toistaiseksi parhain kalibroitaisuora (kuvio 7, s. 28) saatiin aallonpituusalueella  $2\,977\text{--}2\,782\text{ cm}^{-1}$ . Kirjallisuuden perusteella öljyn laatuun viittaavia muutoksia havaitaan esimerkiksi aallonpituusalueella  $542\text{ cm}^{-1}$  ja  $3\,050\text{--}2\,740\text{ cm}^{-1}$ , jota kalibroitaisuora myös puoltaa. Kalibroinnin toimivuutta aallonpituudella  $542\text{ cm}^{-1}$  kannattaa kuitenkin vielä tutkia.

Vaikka opinnäytetyön alkuperäiseen tavoitteeseen ei lopulta päästykään, pystyttiin työn avulla kuitenkin osoittamaan, että ATR-analysaattoria voidaan jatkossa hyödyntää osana entistä tehokkaampaa vastaanotettavien ja käyttöön otettavien raaka-aineiden laadunvalvontaa.

Kokonaisuutena opinnäytetyöprosessi oli haastava, mutta opettavainen, jonka aikana esimerkiksi tietous laboratorioissa käytettävästä laitetekniikasta lisääntyi. Lisäksi prosessin aikana kertyi tärkeää kokemusta siitä, mitä laitteen tai uuden analyysimenetelmän käyttöönotto laboratoriossa käytännössä vaatii. Tulevaisuudessa mahdollisissa vastaavissa toimeksiannoissa tietää myös, mihin kiinnittää huomiota ja missä asioissa voi omaa toimintaansa vielä parantaa.

Kuten jo aiemmin todettiin, vaikka opinnäytetyössä ei saavutettu ennalta suunniteltua tavoitetta, on menetelmien kehittäminen edelleen hyödyllistä. Sekä jauhe- että vitamiiniseosnäytteitä on hyvä kerätä vielä runsaasti laitteen tietokantaan, jotta kyseisten raaka-aineiden laadusta on helpompi muodostaa luotettavampi yleiskuva, johon tulevia näyte-eriä voidaan verrata. Koska kyseisiä raaka-aine-eriä saapuu tehtaalle suhteellisen harvoin, on kyseessä pidemmän ajan projekti, jolle saatiin opinnäytetyön aikana luotua pohja, jota työstää edelleen.

Kasviöljyseoksen peroksidiluvun määrittämiseen vaadittavan kalibroinnin läpiviemiseksi ja menetelmän validoimiseksi tarvitaan vielä myös lisää öljynäytetuloksia. Jos kasviöljyseosnäytteitä tullaan vielä jatkossa tahallisesti huonontamaan, on öljyn huononemisen tilannetta hyödyllistä seurata myös aistinvaraisesti. Peroksidilukumääritystulosten saaminen vain yhdeltä taholta on myös haaste. Jos tuloksia ei ole mahdollista määrittää tehtaan omassa laadunvalvontalaboratoriossa, mahdollisuutta määrittää peroksidiluku esimerkiksi Valion muissa toimipisteissä kannattaa selvittää. Kun peroksidiluvulle saadaan määritettyä ylärajan suhteen spesifikaatio, voidaan myöhemmin myös selvittää, kuinka monta peroksiditulosta tarvitaan, jotta tietyn prosenttiosuuden varmuudella öljyn peroksidiluku sijaitsee tietyllä välillä. Spesifikaation alarajaa peroksidiluvulle tuskin tarvitaan määrittää, sillä mitä pienempi peroksidiluvun arvo on, sitä parempaa öljy on laadultaan.

Kasviöljyseoksen laadun selvittämisen lisäksi ATR-mittausta voisi olla mahdollista hyödyntää esimerkiksi maitoraaka-aineen koostumusanalyysissä, laktoosin hydrolyysin selvittämisessä tai esimerkiksi lopputuotteiden vitamiinipitoisuuksien tai muiden ravintoarvojen mittaamisessa.

## LÄHTEET

Ahtiainen, P. 2015. Laatuvaava. Valio Oy Turengin tehdas. Haastattelu 6.5.2015.

Breithaup, D. & Isengard, H-D. 2009. Food analysis. Teoksessa Campbell-Platt, G. (toim.) Food science and technology. West Sussex: Wiley-Blackwell, 33–56.

Dufour, É. 2009. Principles of Infrared Spectroscopy. Teoksessa Sun, D-W. (toim.) Infrared Spectroscopy for Food Analysis and Control. Dublin: Academic Press Elsevier, 3–27.

Elintarvikelaki. 23/2006. 13.1.2006.

Elintarviketurvallisuusvirasto Evira 2012. Elintarvikkeet. Viitattu 12.4.2016.

<http://www.evira.fi/portal/fi/tietoa+evirasta/asiakokonaisuudet/omavalvonta/elintarvikkeet/>

Elintarviketurvallisuusvirasto Evira 2016. Omavalvonta. HACCP. Viitattu 10.5.2016.

<https://www.evira.fi/yhteiset/omavalvonta/haccp/>

Eskin, M. N. A., Schaich, K. M., Shahidi, F. & Zhong, Y. 2013. Lipidi oxidation. Teoksessa Eskin, M. N. A. & Shahidi, F. (toim.) Biochemistry of foods. 3. painos. Elsevier, Academic Press, 419–472.

Gunstone, F. D. 2008. Oils and Fats in the Food Industry. Food Industry Briefing Series. West Sussex: Wiley-Blackwell.

Haipus, K. 2015. Laboratorion tiimivalmentaja. Valio Oy Turengin tehdas. Haastattelu 6.5.2015.

Harris, D. C. 2010. Quantitative Chemical Analysis. 8. painos. New York: W. H. Freeman and Company.

Holopainen, M. & Pulkkinen, P. 2012. Tilastolliset menetelmät. 5.–7. painos. Helsinki: SanomaPro Oy.

Jaarinen, S. & Niiranen, J. 2005. Laboratorion analyysitekniikka. 5. uudistettu painos. Helsinki: Edita.

KTMP, Kauppa- ja teollisuusministeriön päätös lastenruoista nro 789/1997. 13.8.1997.

KTMP, Kauppa- ja teollisuusministeriön päätös lastenruoista nro 789/1997. Liite 4. pdf-tiedosto. Viitattu 23.3.2016.

<http://www.finlex.fi/data/sdliite/liite/1995.pdf>



KTMP, Kauppa- ja teollisuusministeriön päätös äidinmaidonkorvikkeesta ja vieroitusvalmisteesta nro 1216/2007. 7.12.2007.

KTMP, Kauppa- ja teollisuusministeriön päätös äidinmaidonkorvikkeesta ja vieroitusvalmisteesta nro 1216/2007. Liite 1–2. pdf-tiedosto. Viitattu 23.3.2016.

<http://www.finlex.fi/data/sdliite/liite/5460.pdf>

Lin, M., Rasco, B., Cavinato, A. & Al-Holy, M. 2009. Infrared (IR) Spectroscopy – Near-Infrared Spectroscopy and Mid-Infrared Spectroscopy. Teoksessa Sun, D-W. (toim.) Infrared Spectroscopy for Food Analysis and Control. Dublin: Academic Press Elsevier, 119–144.

Laatutyö elintarvikeketjussa. 2011. Ruokatieto & ProAgria Keskusten liitto. Verkko-opiskelumateriaali 2011–2012. Viitattu 20.4.2016.

[http://www.laaturketju.fi/laaturketju/www/fi/pdf/LAATUTYELINTARVIKETJUSSA\\_elokuu2011suojattu3.pdf](http://www.laaturketju.fi/laaturketju/www/fi/pdf/LAATUTYELINTARVIKETJUSSA_elokuu2011suojattu3.pdf)

Lehtonen, P. O. & Sihvonen, M-L. 2004. Laboratorioalan analyttinen keemia. 1. painos. Opetushallitus. Helsinki: Edita Prima Oy.

Mattila, P., Piironen, V. & Ollilainen, V. 2003. Elintarvikekemian ja -analytiikka. Helsinki: Yliopistopaino.

Mistry, J. n.d. Review: ATR-IR Spectroscopy for the Coatings Industry The Coatings Institute. 6 (3). Viitattu 20.7.2015.

<http://coatings.mst.edu/v6i1/v6i3/>

Miller, M. n.d. Oxidation of food grade oils. Plant & food research, pdf-tiedosto. Viitattu 26.5.2015.

<http://www.oilfats.org.nz/documents/Oxidation%20101.pdf>

Mäkelä, S. 2007. Laadunvarmistus laboratoriossa. Teoksessa Korkeala, H. (toim.) Elintarvikehygienian – ympäristöhygienian, elintarvike- ja ympäristötoksikologia. Helsinki: WSOY Oppimateriaalit Oy, 480–483.

Romiá, M. B. & Bernárdez, M. A. 2009. Multivariate Calibration for Quantative Analysis. Teoksessa Sun, D-W. (toim.) Infrared Spectroscopy for Food Analysis and Control. Dublin: Academic Press Elsevier, 51–104.

Ruokatieto Yhdistys ry 2016. Omavalvonta ja muu laadunvalvonta. Viitattu 12.4.2016.

<http://www.ruokatieto.fi/ruokakasvatus/ruokaketju-ruuan-matka-pelloilta-poytaan/elintarviketeollisuus/ymparisto-ja-laatuasiat/omavalvonta-ja-muu-laadunvalvonta>

Segneanu, A. E., Gozescu, I., Dabici, A., Sfirloaga, P. & Szabadai, Z. 2012. Organic Compounds FT-IR Spectroscopy. InTech. pdf-tiedosto. Viitattu 10.4.2016.

<http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/37659.pdf>

Shahidi, F. & Zhong, Y. 2005. Lipid oxidation: Measurement methods. Teoksessa Shahidi, F. (toim.) *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. 6. painos. John Wiley & Sons, Inc. 357–385.

Subramanian, A. & Rodriguez-Saona, L. 2009. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. Teoksessa Sun, D-W. (toim.) *Infrared Spectroscopy for Food Analysis and Control*. Dublin: Academic Press Elsevier, 145–178.

Subramanian, A., Prabhakar, V. & Rodriguez-Saona, L. 2011. Infrared Spectroscopy in Dairy Analysis. Teoksessa Fuquay, J. W., Fox, P. F. & McSweeney, P. L.H. (toim.) *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Volume one. 2. painos. Elsevier: Academic Press, 115–124.

Suomi, J. 2009. *Kemiallisen näytteen esikäsittely*. 1. painos. Keuruu: Otavan Kirjapaino Oy.

Thermo Fisher Scientific Inc. 2009. *OMNIC Spectra. User Guide*. [sisäinen dokumentti]

Thermo Fisher Scientific Inc. 2011. *TQ Analyst Software. User Guide*. [sisäinen dokumentti]

Thermo Fisher Scientific Inc. 2012a. *FT-IR Spectrometers. ATR Accessories and Modules. Tips for ATR Sampling*. [sisäinen dokumentti]


Thermo Fisher Scientific Inc. 2012b. *FT-IR Spectrometers. Nicolet iS50. Getting Started*. [sisäinen dokumentti]

Thermo Fisher Scientific Inc. 2012c. *Nicolet iS50 Spectrometer. iS 50 ATR Module. User Guide*. [sisäinen dokumentti]

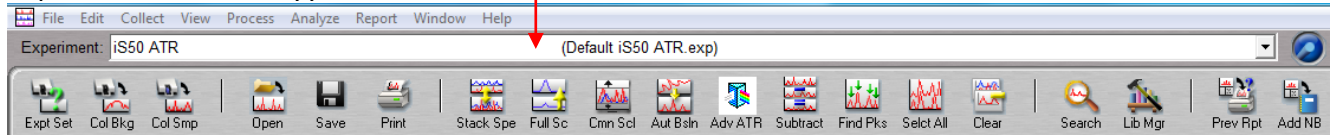
Vlachos, N., Skopelitis, Y., Psaroudaki, M., Konstantinidou, V., Chatzilazarou, A & Tegou, E. 2006. Applications of Fourier transform-infrared spectroscopy to edible oils. *Analytica Chimica Acta* 573–574. Saatavilla Sciece Direct-tietokannassa. 459–465.

Yurkanis Bruice, P. 2011. *Organic chemistry*. 6. painos. United States: Pearson, Prentice Hall.

KÄYTTÖOHJE iS50 NICOLET ATR -MITTAUSYKSIKÖLLE

- Avaa Omnic-ohjelma 

Experiment-rivillä näkyy, mikä moduuli on aktiivinen



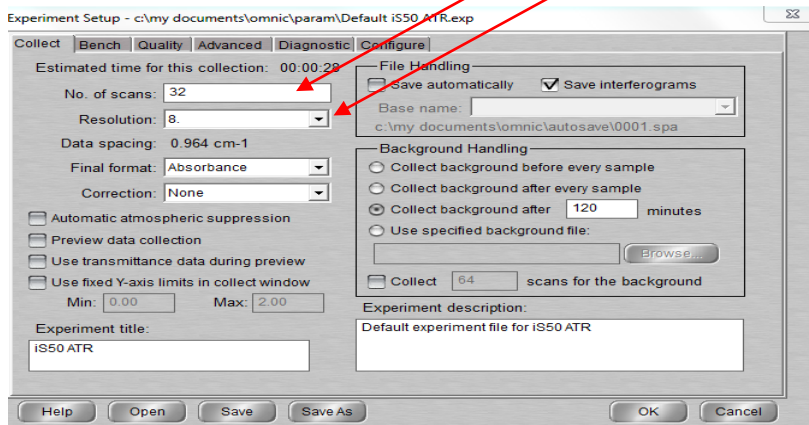
- Käynnistä ATR-mittausyksikkö painamalla laitteen oikealta reunalta sinertävää nappulaa siten (napin alapuolella on teksti iS50 ATR), että siihen tulee sininen valo. (Tässä vaiheessa laite tekee itse tarvittavat sisäiset säädöt, jonka vaiheet näkyvät näytöllä.)

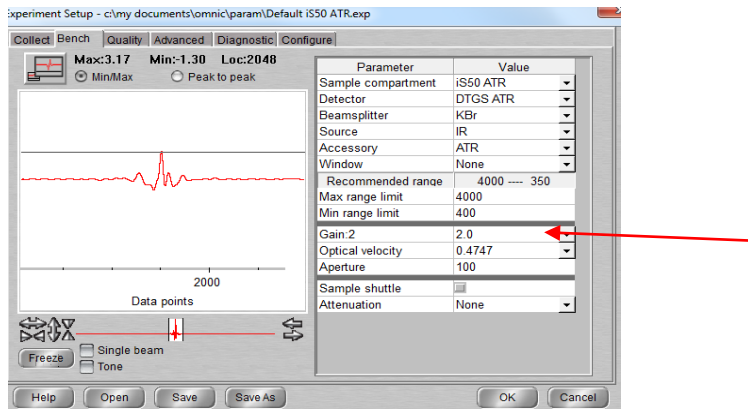
ATR-mittausasetusten säätö (Expt Set)

- Klikkaa vasemmasta yläkulmasta **Expt Set**



- Määritä ATR:n mittausparametrit toiminnolle **Scan**, **Resolution** (Collect-valikko) ja **Gain** (Bench-valikko)
- Tarkista **aina** ennen mittausta oikeat säätöarvot → löytyvät keskusyksikön kyljestä listasta "Mittausparametrit eri tuotteille"





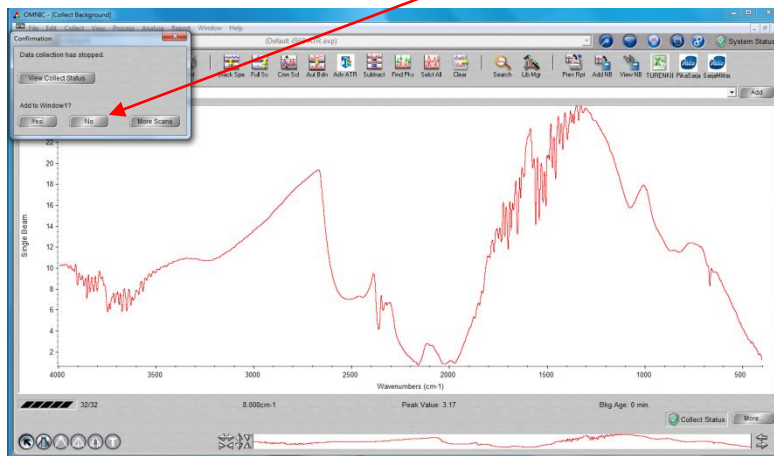
- Kun oikeat säädöt on asetettu, paina lopuksi OK

Tee Background –mittaus ennen näytteen ajoa (Col Bkg)

- Poista suojakansi mittausalueelta, jos sellainen on
- Puhdista ATR:n mittausalue esim. vedellä kostutetulla paperilla ja kuivaa
- Suorita mittaus painamalla **Col Bkg**



- Mittaus on suoritettu, klikkaa No

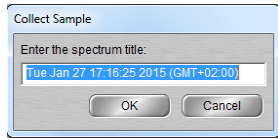


Näytteen ajaminen (Col Smp)

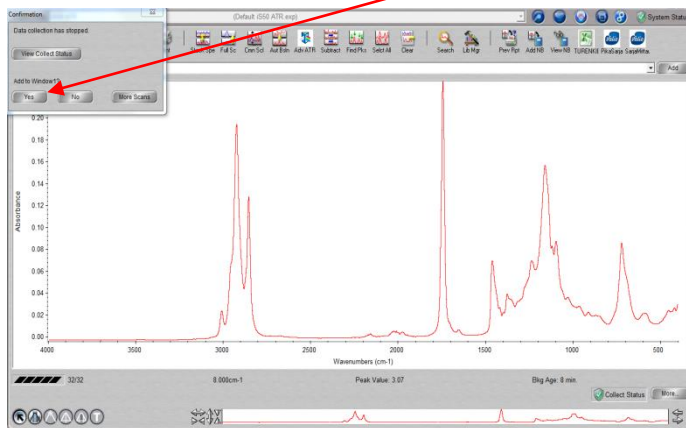


- Klikkaa **Col Smp**
- Sekoita näyte huolella ja annostele ATR:n mittausalueelle → keskellä olevan "aukon" tulee peittyä kokonaan
  - Kun mittaat jauheita (tai kiinteitä näytteitä), pyöritä säädettävä "kosketuspää" kiinni näytteeseen. "Kosketuspää" on asettunut näytteeseen tiiviisti, kun pyörittäessä kuuluu "loksahdus" ja säätöpää alkaa "pyöriä tyhjä" (suoja-mekanismi, joka varmistaa, ettei liika kiristäminen ole mahdollista)
  - Nesteillä ja öljyillä "kosketuspää" ei tarvitse käyttää

- Kirjoita näytetunniste: tuote, erä, mahdollinen pe. päivä ja loppuun tunniste ATR (esim. KorvikePremix UF1234 120515 ATR) ja klikkaa OK
  - **HUOM! Öljyillä lisäksi tieto, mistä näyte on otettu (auto, ennen valmistusta tms.)**



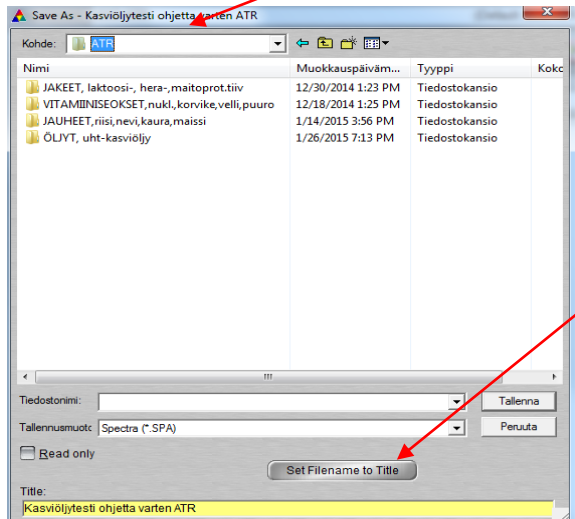
- Mittauksen päätyttyä klikkaa Yes



- Tallenna spektrit tietokoneelle File -> Save As -> C:\my documents\omnic\Spectra\ATR
  - → näytteille luotu omat kansiot, jonne tallettaa

- Klikkaa **Set Filename to Title** ja

klikkaa Tallenna



-Toista kunnes, kaikki spektrit on tal-

lennettu

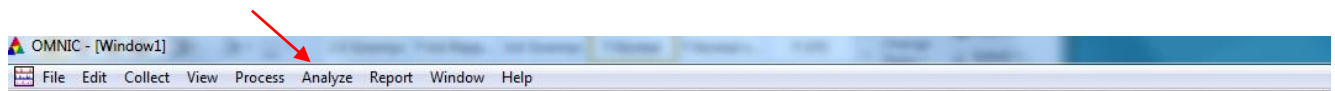
- Jos olet ajanut useamman samanlaisen näytteen, voit tallentaa ne yhdellä kertaa valitsemalla **Selct All** → toimi kuten edellä ja paina Set Filename to Title (kunnes laite ei enää tarjoa uutta spektrin nimeä)

- **HUOM!** Muista lähettää UHT-kasviöljyseosnäytteet Eurofinsille peroksidilukumääritykseen.

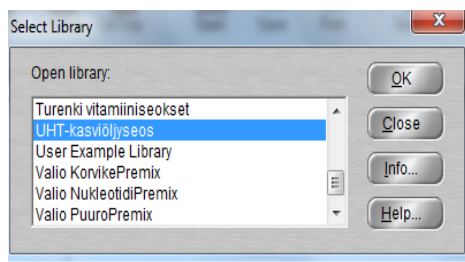
→ Kirjoita läheteeseen sama näytetunniste kuin tiedostoon tallettaessa jatkokäsittelyn helpottamiseksi!

### (Spektrien tallennus ATR-kirjastoon)

- Klikkaa tallennettava spektri aktiiviseksi
- Mene Analyze –valikkoon ja valitse **Add to Library**

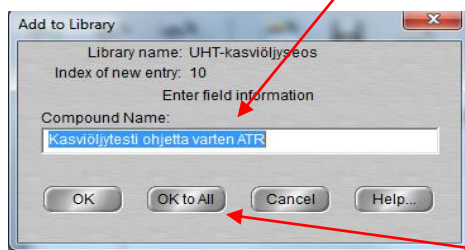


- Valitse **Select Library** –valikosta oikea kirjasto talletettavalle spektrille ja klikkaa OK



Näyte	Kirjaston nimi
KorvikePremix	Valio KorvikePremix
PuuroPremix	Valio PuuroPremix
VelliPremix	Valio VelliPremix
NukleotidiPremix	Valio Nukleotidipremix
NeVi-jauho	Turenki NeVi-jauho
Maissijauho	Turenki Maissijauho
Riisijauho	Turenki Riisijauho
Kaurajauho	Turenki Kaurajauho
UHT-kasviöljyseos (Jakeet)	UHT-kasviöljyseos (Jakeet)

- Talletettavan spektrin nimi tulee automaattisesti näyttöön, paina OK



- Jos olet ajanut useamman samanlaisen näytteen, voit siirtää ne yhdellä kertaa kirjastoon valitsemalla **Select All** → toimi kuten edellä, mutta tallettaessa spektriä, paina **OK to All**



- Lopuksi puhdista ja kuivaa ATR:n mittausalue ja ”kosketuspään” kovera kosketuspinta huolellisesti kostealla paperilla. Käytä tarvittaessa apuna rikkaimuria (jauheet ja kiinteät aineet) tai etanolilla kostutettua paperia (öljynäytteet). Suojaa mittausalue esim. tyhjän petrimaljan kannella.

UHT-KASVIÖLJYSEOKSEN NÄYTTEENOTON SEURANTATAULUKKO  
JAUHETILAAN

**UHT-kasviöljyseoksen näytteenoton seuranta**

<b>Viikko</b>	<b>Näytteenottopäivä</b>	<b>Erä/pe-päivä/säiliö</b>
6.		
7.		
8.		
9.		
10.		
11.		
12.		
13.		
14.		
15.		
16.		
17.		
18.		
19.		
20.		
21.		

ESIMERKKI EUROFINS SCIENTIFIC FINLAND OY:N  
TUTKIMUSTODISTUKSESTA



Valio Oy, Turenki  
Koulutie 3  
14200 TURENKI

Tutkimustodistus



Todistus : AR-15-FL-005440-01

Asiakaskoodi : FL0000036

Näyte: Kasviöljyseos autonäyte ~~20150407~~ 4.15 testi  
Näyttenumero: 493-2015-00013317  
Näytesarjan kuvaus:  
Näytteen saapumispäivä: 10/04/2015

Tutkimus - Laboratorio	Tulos	Yksikkö	MU
(a) FL001 - Peroksidiluku (PV) - EUFIRA Akkreditointi: SFS EN ISO/IEC 17025:2005 FINAS T089 Menetelmä: AOCs Cd 8b-90-2011, mod., Titraus Peroksidiluku	2,4	mEq/kg	± 34%

(a) = Akkreditoitu menetelmä

MU = Expanded Measurement Uncertainty, k=2 (Lajennettu mittausepävarmuus, k=2)

\* = Tulos alle määntysrajan

#### Laboratoriolyhenteet

EUFIRA - Eurofins Scientific Finland Raisio (Food & Agro), FINLAND

*Riina Karlsson*

Raisio, 24/04/2015

Riina Karlsson

Laboratoriopäällikkö

+358 503 859 935

Asiakirjojen osittainen kopioiminen on kielletty. Testaustulos koskee vain tutkittua näytettä. Lausunto ei kuulu akkreditoinnin piiriin. Akkreditoitujen menetelmät on arvioitu tutkimuksen suorittaneen laboratorion oman maan akkreditointilimen toimesta. Mittausepävarmuuksien osalta lisätietoja saatavilla pyydettäessä. Tämä tutkimustodistus on luotu sähköisesti ja se on tarkastettu ja hyväksytty.

Sivu 1/1

#### Eurofins Scientific Finland Oy

PL 75 (Raisionkaari 55)  
21201 Raisio  
Finland



Y-tunnus 1514462-1  
www.eurofins.fi  
FoodAgro@eurofins.fi



## KOOSTE KASVIÖLJYSEOKSEN PEROKSIDILUKUTULOKSISTA

<u>Näytetunniste</u>	<u>Peroksidiluku [mEq/kg]</u>
Kasviöljyseos 23.12.2014 säiliönäyte 1.	0,5
Kasviöljyseos 23.12.2014 säiliönäyte 2.	0,7
Kasviöljyseos 23.12.2014 säiliönäyte	0,6
Kasviöljyseos 23.12.2014 hyvä näyte	3,3
Näyte 1. e1507 29.12.2014 säiliönäyte	0,9
Näyte 2. e1507 29.12.2014 autosta ennen purkua	1,1
Näyte 3. e1507 29.12.2014 lähettäjältä näyte	1,1
Näyte 4. e1517 30.12.2014 lähettäjältä näyte	0,9
Näyte 5. e1517 30.12.2014 autosta ennen purkua	0,9
Näyte 6. e1517 30.12.2014 säiliönäyte	0,8
Näyte 1. säiliönäyte e54 22.01.15	1
Näyte 2. säiliönäyte e54 22.01.15	0,8
A5S1 5.2.2015	0,8
5.2.2015 lähettäjän näyte	0,9
5.2.2015 näyte autosta	0,9
7520 Valio Seos e157	1
Kasviöljyseos. Lähettäjän näyte 23.2.	0,5
Kasviöljyseos. Säiliönäyte 16.2. A5S1	0,7
Kasviöljyseos. Säiliönäyte uusi 23.2. A5S2	0,4
Kasviöljyseos 1.3. A5S2	0,6
Kasviöljyseos, lähett.näyte erä 1050 (vanha)	1
Kasviöljyseos, lähett.näyte 17.3. erä 1071	3,4
Kasviöljyseos, autonäyte 17.3. erä 1071	1
Autonäyte 10.3.15, lähettäjän erä 1050	0,8
A5S1 9.3.15	0,8
Näyte 1. TESTI 1.	1,5
Kasviöljyseos 2.3. auto	0,6
Kasviöljyseos 2.3. lähett.näyte	0,8
Kasviöljyseos autonäyte 300315 e1224 testi	5,1
5014947 Valioseos, erä 1174, 10.4.2015	1
5014947 Valioseos, ERÄ 1155	1,7
Kasviöljyseos lähett.näyte erä 1224 30.3.2015	0,9
Kasviöljyseos lähett.näyte 30.3.2015 erä 1224	0,9
Kasviöljyseos autonäyte erä 1155 7.4.2015	0,9
Kasviöljyseos A5S2 erä 1155 8.4.2015	0,9
Kasviöljyseos 070515 e1265	5,2
180515 e1265 näyte2.	12
180515 e1265 näyte3.	13
Kasviöljyseos autonäyte erä 1155 7.4.2015 testi	2,4
Kasviöljyseos autonäyte erä 1174 13.4.15	1
Kasviöljyseos lähettäjän näyte erä 1174 13.4.15	1,4

## LASTENRUOKIIN SALLITUT LISÄTTÄVÄT RAVINTOAINEEET (KTMp 789/1997)

2884

N:o 789

Liite IV

## RAVINTOAINEEET

## 1. Vitamiinit

<u>Vitamiinit</u>	<u>Vitamiinivhdiste</u>
A-vitamiini	Beta-karoteeni Retinoli Retinyyliasettaatti Retinyylipalmitaatti
D-vitamiini	D <sub>2</sub> -vitamiini (ergokalsiferoli) D <sub>3</sub> -vitamiini (kolekalsiferoli)
B <sub>1</sub> -vitamiini	Tiamiinihydrokloridi Tiamiinimononitraatti
B <sub>2</sub> -vitamiini	Riboflaviini Riboflaviini-5'-fosfaatti, natrium
Niasiini	Nikotiiniamidi Nikotiinihappo
B <sub>6</sub> -vitamiini	Pyridoksiini-5'-fosfaatti Pyridoksiinihydrokloridi Pyridoksiinipalmitaatti
Pantoteeni-happo	Dekspantenoli D-pantotenaatti, kalsium D-pantotenaatti, natrium
Folaatti	Foolihappo
B <sub>12</sub> -vitamiini	Hydroksokobalamiini Syanokobalamiini
Biotiini	D-biotiini
C-vitamiini	Kaliumaskorbaatti Kalsium-L-askorbaatti L-askorbiinihappo Natrium-L-askorbaatti 6-palmityyli-L-askorbiinihappo (askorbylipalmitaatti)
K-vitamiini	Fyllokinoni (Fytomenadioni)

## E-vitamiini

D-alfa-tokoferoli  
DL-alfa-tokoferoli  
D-alfa-tokoferoliasetaatti  
DL-alfatokoferoliasetaatti

## 2. Aminohapot

L-arginiini ja sen hydrokloridi  
L-fenyylialaniini  
L-histidiini ja sen hydrokloridi  
L-isoleusiini ja sen hydrokloridi  
L-kysteiini ja sen hydrokloridi  
L-kystiini ja sen hydrokloridi  
L-leusiini ja sen hydrokloridi  
L-lysiini ja sen hydrokloridi  
L-metioniini  
L-treoniini  
L-tryptofaani  
L-tyrosiini  
L-valiini

## 3. Muut

Inositoli  
L-karnitiini  
L-karnitiinihydrokloridi  
Koliini  
Koliini bitartraatti  
Koliini kloridi  
Koliinisitraatti

## 4. Kivennäisaineet

Kivennäisaineet    Sallitut suolat

Kalsium (Ca)    Kalsiumglukonaatti  
Kalsiumglyserofosfaatti  
Kalsiumhydroksidi  
Kalsiumkarbonaatti  
Kalsiumkloridi  
Kalsiumlaktaatti  
Kalsiumoksidi  
Ortofosforihapon  
kalsiumsuolat  
Sitruunahapon  
kalsiumsuolat

N:o 789

2885

Magnesium (Mg)	Magnesiumglukonaatti Magnesiumglyserofosfaatti Magnesiumhydroksidi Magnesiumkarbonaatti Magnesiumkloridi Magnesiumlaktaatti Magnesiumoksidi Magnesiumsulfaatti Ortofosforihapon magnesiumsuolat Sitruunahapon magnesiumsuolat	Kupari (Cu)	Kupariglukonaatti Kuparikarbonaatti Kupari-lysiinikompleksi Kuparisitraatti Kuparisulfaatti
		Sinkki (Zn)	Sinkkiasetaatti Sinkkiglukonaatti Sinkkikloridi Sinkkilaktaatti Sinkkioksidi Sinkkisitraatti Sinkkisulfaatti
Kalium (K)	Kaliumglukonaatti Kaliumglyserofosfaatti Kaliumkloridi Kaliumlaktaatti Sitruunahapon kaliumsuolat	Mangaani (Mn)	Mangaaniglukonaatti Mangaaniglyserofosfaatti Mangaanikarbonaatti Mangaanikloridi Mangaanisitraatti Mangaanisulfaatti
Rauta (Fe)	Alkuainemuotoinen rauta (karbonyylirauta, elektrolyyttirauta, vetypelkistetty rauta) Ferriammoniumsitraatti Ferridifosfaatti (Ferripyrofosfaatti) Ferrisakkaraatti Ferrofumaraatti Ferroglukonaatti Ferrokarbonaatti Ferrolaktaatti Ferrositraatti Ferrosulfaatti Natriumferridifosfaatti	Jodi (I)	Kaliumjodaatti Kaliumjodidi Natriumjodaatti Natriumjodidi —————