

# Säilyvyyden parantaminen gluteenittomassa pullassa



Ammattikorkeakoulun opinnäytetyö  
Bio- ja elintarviketekniikan koulutusohjelma  
Hämeenlinna, kevät 2021  
Ellen Saulio

## TIIVISTELMÄ

Opinnäytetyön tavoitteena oli parantaa gluteenittoman pullan fysikaalista ja mikrobiologista säilyvyyttä viisi päivää. Erityisesti pullan rakenteellista pehmeyttä haluttiin lisätä. Lisäksi pohdittiin, vaikuttavatko reseptin muutokset taikinan käsiteltävyyssominaisuuksiin. Työ tehtiin gluteeniton leipomo ILONALLE. Yritys oli kiinnostunut myös hiivattomasta leivonnasta, jonka seurauksena leipomolle kehitettiin hapanjuuripullaresepti.

Opinnäytetyön kirjallisessa osiossa perehdytään gluteenittomaan leivontaan, lisä- ja apuaineisiin sekä säilyvyyteen. Myös tutkimuksen toiminnallisia menetelmiä avataan teoreettisesti. Toiminnallinen osuus koostuu koeleivonnasta sekä näytteiden analysoinnista reologisesti, aistinvaraisesti ja mikrobiologisesti. Tuotteiden aistinvaraisina arvioina toimi leipomon henkilökunta.

Reologisesti ja aistinvaraisesti pehmeimmiksi pulliksi valikoituneet sisälsivät alfa-amylaasientsyymejä. Entsyymit paransivat pullan reologisia ominaisuuksia yli viisi päivää. KVVY:n laboratorio teki pullan mikrobiologisen analyysin standardin SFS-EN ISO 4833-1:2014 ja menetelmän NMKL 98:2005 mukaan. Määritykset tehtiin 3 ja 6 päivän ikäisistä pullanäytteistä. Pilaajamikrobien, homeiden tai hiivojen osuus ei vaikuttanut 5 päivän säilyvyysaikaan negatiivisesti, jonka vuoksi tuotteen myyntiaikaa pystyttiin pidentämään.

Avainsanat: gluteeniton leivonta, reologia, entsyymi, retrogradaatio, aistinvarainen arviointi, tuotekehitys, konsistenssi

---

Author Ellen Saulio

Year 2021

Subject Improving the shelf life of gluten-free bun

Supervisor Susanna Peltonen

---

## ABSTRACT

The aim of the thesis was to develop a gluten-free bun that stays soft for five days. In addition, microbiological shelf life for at least five days was sought. The work was done for an ILONA gluten-free bakery. The company was also interested in yeast-free baking, which is why a fermented bun recipe was developed.

The theoretical part of the thesis dealt with gluten-free baking, additives and auxiliaries, and shelf life. The functional methods of the research are also clarified. The functional part consists of experimental baking and rheological, organoleptic and microbiological analysis of samples. The bakery staff evaluated the perceptible products.

The softest buns contained alpha-amylase enzymes. Enzymes improved the rheological properties of the bun over the target time. The laboratory of Kokemäki Watershed Water Protection Association performed the microbiological analysis of the bun according to the standard SFS-EN ISO 4833-1: 2014 and the method NMKL 98: 2005. Assays were carried out on bun samples of 3 and 6 days of the age. The proportion of contaminating microbes, molds or yeasts did not negatively affect the shelf life of 5 days, which allowed the shelf life of the product to be extended.

Keywords: Gluten-free baking, rheology, enzyme, retrogradation, organoleptic evaluation, product development, consistency

Pages 62 pages and appendices 9 pages

## Sisällys

1	Johdanto .....	1
2	Gluteeniton leivonta.....	2
2.1	Rakenteen muodostuminen .....	3
2.1.1	Neste .....	4
2.1.2	Hiiva.....	4
2.1.3	Hapanjuuri.....	5
2.1.4	Jauhot ja tärkkelys.....	6
2.1.5	Rasva .....	9
2.1.6	Suola ja sokeri .....	9
2.2	Entsyymit.....	10
2.2.1	Alfa-amylaasi .....	11
2.2.2	Beeta-amylaasi .....	13
2.2.3	Ksylanaasit.....	13
2.2.4	Proteaasit .....	14
2.3	Hydrokolloidit.....	14
3	Säilyvyys.....	16
3.1	Pakkasleivonta .....	18
3.2	Lisäaineet .....	19
4	Tuotekehitys ja koeleivonta .....	20
4.1	Tavoitteet.....	22
4.2	Toteutus .....	22
5	Tutkimusmenetelmät .....	22
5.1	Aistinvarainen arviointi .....	23
5.2	Mikrobiologinen tutkimus.....	24
5.3	Reologia.....	25
5.3.1	Viskometria .....	26
5.3.2	Kimmoisuus .....	26
5.3.3	Elastisuus.....	27
5.3.4	Venyvyys.....	27
5.3.5	Tahmeus .....	28
5.3.6	Kovuus .....	29
6	Tulokset .....	30
7	Johtopäätökset .....	37

## Kuvat, taulukot ja kaavat

Kuva 1.  $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2 C_2H_5OH + 2 CO_2 + 2 ATP$

Kuva 2. Suoraketjuisen amyloosin ja haarautuvan amylopektiinin polymeerirakenne.

Kuva 3. Tärkkelyksen retrogradaatioon vaikuttavat mm. lämpötilan muutos.

Kuva 4. Amyloosiketjun ja amylopektiiniketjun tärkkelyksen rakenne sekä maltogeenisen  $\alpha$ -amylaasin  $\alpha$ -1,4-glykosididosten hydrolysoituminen maltoosiksi.

Kuva 5. Ruoka- ja kahvileivissä sallittavia lisäaineita ja niiden käyttötarkoituksia.

Kuvio 6. Spiraalimallin tuotekehitysmetodi kaavio.

Kuva 7. Taikinan venyvyysominaisuuksien mittaaminen gluteenittomasta pullataikinasta oli mahdotonta sitkottomuuden vuoksi.

Kuva 8. Gluteenittoman pullan kiinteyden mittaaminen reologisesti.

Kuva 9. Bakteeriperäistä alfa-amylaasientsyymiä sisältävä pulla jää helposti tahmaiseksi.

Kuva 10. Aistinvarainen arviointi osoitti pullan B4 olevan miellyttävän.

Kuva 11. Hämähäkkikaaviot B1, B2, B3 ja B4 tuotteista. Värit kuvaavat arvioinnin raatilaisia.

Kuva 12. Mikrobien, homeiden ja hiivojen mikrobiologiset tulokset pullanäytteistä.

- Taulukko 1. Tutkimusmenetelmillä analysoitavat tuotteet.**
- Taulukko 2. Leipomotuotteiden mikrobiologiset raja-arvot.**
- Taulukko 3. Pullan kovuuden reologinen analyysi entsyymiä sisältävistä pullista.**
- Taulukko 4. Reologinen analyysi taikinarttuvuudesta.**
- Taulukko 5. Aistinvaraisen arvioinnin tulokset keskiarvoina B1, B2, B3 ja B4 tuotteille.**
- Taulukko 6. Happamuuden (pH) ja vedenaktiivisuuden (aw) määrittäminen pullanäytteistä**
- Taulukko 7. Johtopäätökset pullien eri ominaisuuksista.**

## **Liitteet**

- Liite 1 Pullan kovuuden pinta-alakuvaaja**
- Liite 2 Taikinarttavuus, kuvaaja B2 & B4**
- Liite 3 Taikinarttavuus, kuvaaja B1 & B3**
- Liite 4 Kovuuden mittaus paistettu raakapakaste B1, B2, B3, B4**
- Liite 5 Kovuuden mittaus tuore & vanha B3 ja B4**
- Liite 6 Mikrobiologia, mittausepävarmuus tutkituista tuotteista**
- Liite 7 Aistinvarainen arviointi ANOVA yksisuuntainen analyysi B1, B2, B3 ja B4**

**Liite 8      Aistinvarainen arviointi -lomake**

**Liite 9      Mikrobiologinen määrittäminen verrokista B1 (näytteistä 10785 ja 10786)**

## 1 Johdanto

Tärkkelys on gluteenittoman pullan ainesosista välttämätön. Se sitoo taikinan ainesosat yhteen ja antaa pehmeyttä mutta omaa myös kääntöpuolensa. Gluteeniton pullataikina on tarttuvaa ja heikkoa. Pulla pysyy pehmeänä lyhyen ajan tärkkelyksen fysikaalisten muutosten seurauksesta. Pullan fysikaalisten ominaisuuksien heikkeneminen johtuu reseptin ainesosista ja niiden pitoisuuksista. Mikrobiologinen pilaantuminen on myös riippuvainen ainesosien pitoisuuksista ja erityisesti vapaan veden määrän ( $a_w$ ) aiheuttavasta kosteudesta.

Olenainen ero gluteenillisen ja gluteenittoman leivonnan välillä ovat prolamiinit, joita gluteenittomissa viljoissa ei ole. Ne ovat proteiinien valkuaisaineita, jotka vaikuttavat vahvasti sitkon syntymiseen, mikä luo taikinoiden rakenteelliset ja leivottavuudelliset ominaisuudet. Gluteenittomassa leivonnassa sitkoelastisuutta muodostavat erilaiset apuaineet, kuten luonnonkuitu psyllium, sokeriliemestä bakteerikäymisen avulla valmistettu ksantaani ja karboksimeetyyliselluloosa. Gluteenittomien apuaineiden olennainen yhteys on se, että ne ovat hydrokolloideja. Ne sitovat hyvin vettä, jonka aiheutuksesta syntyvät geelimäiset ominaisuudet, jotka jäljittelevät gluteenin toimintoja eli sitkoa. Hydrokolloidit verkostoituvat taikinassa muodostaen kalvorakenteita, jolloin kaasun pidätyskyky kasvaa ja tilavuus sekä kosteus lisääntyvät. Nämä viskositeettia lisäävät ominaisuudet helpottavat gluteenittomien tuotteiden muotoiltavuutta sekä parantavat rakenteellista säilyvyyttä. (Salovaara ym., 2017, ss. 128-131)

Leivonnaisen pilaantuessa tapahtuu fysikaalista eli rakenteellista vanhenemista ja mikrobiologista pilaantumista eli homehtumista tai häältymistä *Bacillus*-bakteerien toimesta. Jossain tapauksessa myös kemiallista pilaantumista voi tapahtua aineiden tai ympäristön olosuhteiden reagoidessa keskenään. Opinnäytetyössä fysikaalisia vanhenemisominaisuuksia mitataan reologisesti, jonka avulla määritetään pullan pehmeys, taikinan tarttuvuus ja sitko eli venyvyyskyky. Mikrobiologista laboratoriotutkimusta ennen määritetään homeiden kasvulle otolliset olosuhteet vedenaktiivisuuden ja happamuuden (pH) mittaamisella.



Pullan luonnollista vanhenemista ei pystytä estää täysin mutta pilaantumista voidaan hidastaa pakkausvaihtoehdoilla, raaka-ainevalinnoilla ja niiden suhteilla. Ratkaisuina voidaan pitää myös hallitusti tärkkelystä hajottavia amylaasientsyymejä ja E-numeroituja lisäaineita. (Salovaara ym., 2017, s. 223-228) Gluteenittoman leivonnaisen luonnollista säilyvyyttä voidaan parantaa myös maitohappokäymisellä eli raski- ja juurileivonnalla, jolloin villihiiva synnyttää taikinaan happamuutta. Sen lisäksi raski lisää esiliisteröitymistä, jolla saadaan taikinaan viskoosia, jolloin tärkkelys sitoo veden ja ylläpitää taikinan rakennetta muotoilussa ja kypsytöksessä. (Salovaara ym., 2017, s. 118)

Gluteenittoman pullan leipomisen suurimmiksi haasteiksi aiheutuivat nopea fysikaalinen vanheneminen ja taikinan huono käsiteltävyys. Opinnäytetyö selvittää tuotekehitysprosessin kautta tutkimuskysymykset: ”Miten valmistaa 5 päivää säilyvä gluteeniton pulla?” ja ”Voidaanko reseptimuutoksilla parantaa myös taikinan käsiteltävyyttä?” Tuotteen fysikaalisia ja maullisia mieltymysominaisuuksia arvioidaan aistinvaraisesti. Aistinvaraisen arvioinnin arvioijajoukko koostuu gluteenittoman leipomon henkilökunnasta, koska heillä uskotaan olevan tarpeeksi kattava mieltymys kehitettyihin tuotteisiin.

## **2 Gluteeniton leivonta**

Gluteeni on kemiallinen yhdiste, jonka proteiinit gliadiini ja gluteniini muodostavat. Gluteenittomalta viljalta kyseinen yhdiste puuttuu ja luonnollisen sitkon muodostus on täten mahdotonta. Teknologisesti gluteenittomaksi leivonnaksi voidaan nimittää myös ruisleivonta, koska se on sitkotonta leivontaan ilman vehnä jauhoja mutta käsite täytyy erottaa lääketieteellisestä gluteenittomuus käsitteestä. Lääketieteellisessä merkityksessä keliakikko ei käytä ruista, ohraa ja vehnää. (Salovaara ym., 2017, s. 128)

Gluteenittomiksi leivontaviljoiksi voidaan käyttää kauraa, maissia, riisiä, hirssiä ja teffiä. Valeviljoiksi luokitellaan mm. tattari, koska se muistuttaa peruskoostumukseltaan viljan siementä mutta ei kuitenkaan virallisesti täytä viljan lajivaatimuksia. Myös palkokasveja voidaan käyttää gluteenittomassa leivonnassa, kuten hernettä ja papua. (Salovaara ym., 2017, s.128)

Gluteenittomassa leivonnassa tärkkelyksen rooli korostuu tuotteen eri vaiheissa: taikinan muodostamisessa, kypsymisessä ja vanhenemisessä. Gluteeniton pulla sisältää tärkkelyksen muodostavan geeliverkoston, joka syntyy tärkkelyksen sekoittuessa ja jakaantuessa tasaisesti taikinamassaan. Tärkkelys liisteröityy lämpötilan noustessa, jolloin tärkkelysjyvät ovat turpoavat. Tässä paistossa tapahtuvassa reaktiossa osa pitkistä tärkkelysketjuista valuu tärkkelyksen sisältä ulos, mikä muodostaa taikinaan vaahtomaisia ominaisuuksia ja lisää viskositeettia. Tärkkelys vaikuttaa gluteenittomassa tuotteessa loppuun asti. Tuotteen tärkkelysketjujen uudelleen kiteytyminen alkaa heti paiston jälkeen, mikä aiheuttaa gluteenittoman tuotteen nopean kuivumisen. (Salovaara ym., 2017, ss. 128–132)

Fysikaalisen vanhenemisen lisäksi gluteenittoman taikinan käsiteltävyysongelmat kasvavat tärkkelyspitoisuuden noustessa. Taikinan koossa pysymistä voidaan kuitenkin lisätä hydrokolloideilla, joita tarvitaan noin 1-2 % jauhojen painosta. Hydrokolloidien vaikutuksesta taikinan neste jakaantuu tasaisemmin tärkkelysgeelin ympärille ja veden puristuminen hidastuu, mikä laskee myös fysikaalisen vanhenemisen etenemistä. Esimerkiksi psyllium ja ksantaani yhdessä tai yksin nostavat taikinan käsiteltävyysominaisuuksia eli paksuuntumista ja viskositeettia. Tätä ominaisuutta voidaan kutsua taikinakonsistenssiksi. Konsistenssi kasvaa, kun hydrokolloideja lisätään ja laskee, kun vettä lisätään. Tärkkelyspitoisen tuotteen ongelmana on myös paistoväriin mahdoton muodostuminen valkuaisaineiden puuttumisen vuoksi. Kuitenkin paistoväriin ominaisuutta voidaan lisätä proteiinipitoisilla raaka-aineilla, kuten kananmunalla ja maitotuotteilla. Kananmuna lisää paistoväriin lisäksi elastisuutta ja kuohkeutta, kuten kaasun pidätyskykyä (Meira, 2020). Useat gluteenittomat tuotteet pakastetaan, koska pehmeänä pysymisen aika on niin lyhyt. Sulatettu leipä säilyy pehmeänä vähän aikaa, kunnes tärkkelyksen muutokset alkavat taas vaikuttaa. (Salovaara ym., 2017, s. 132)

## **2.1 Rakenteen muodostuminen**

Leivän ja pullan rakenneominaisuudet eivät selity suoranaisesti kemiallisilla yhdisteillä. Rakenne havaitaan näkö-, tunto- ja kuuloaistien yhteisvaikutuksena. Tuotteen keskinäinen molekyylinen järjestys luo ns. reologiset ominaisuudet. Ne voivat kuvata muotoa tai muodon muuttumista,

rakenteen hajoamista ja ulkoisen voiman aiheuttamaa värinää. Instrumentaalinen rakennemittaus on pureskelun ja siitä aiheutuvien muutoksien analyysi. (Tuorila & Appelbye, 2018, s.148)

Kaikki tuotteen reseptiin tarvittavat raaka-aineet muuttuvat rakenteellisesti taikinasta tuotteeksi ja fysikaaliseen vanhenemiseen asti. Kaikkien raaka-aineiden yhdistyessä muodostuu tuotteelle ominainen rakenne, jolloin jokaisella ainesosalla on ollut oma tehtävänsä. Erilaisten raaka-aineiden lisäksi leivän rakenteeseen vaikuttavat tekniset asiat, kuten vaivaaminen, muotoilu, kohotus ja paistaminen. Paistovaiheessa leivän lopullinen rakenne muodostuu. Onnistunut pulla on rakenteeltaan huokoinen, pehmeä ja kevyt. Pullan vanhetessa tilavuus yleensä pienentyy, tuote kuivuu tai homehtuu ja rakenteelliset eroavaisuudet tuoreeseen tuotteeseen lisääntyvät.

### 2.1.1 Neste

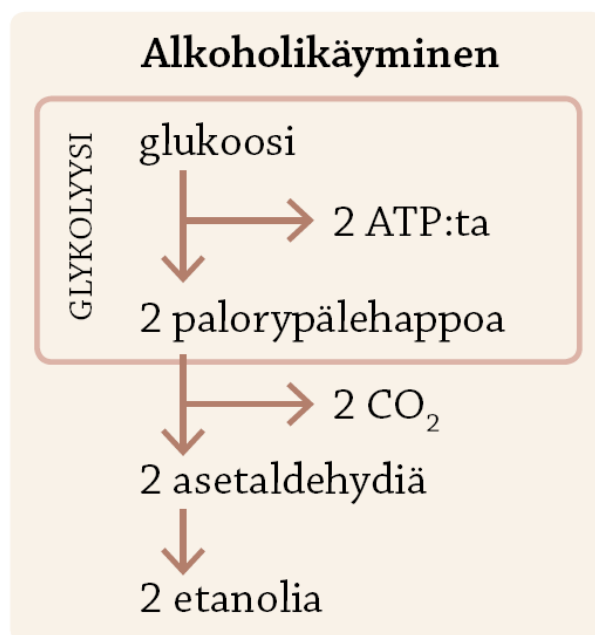
Taikinan syntymisen kannalta neste toimii rakenteenmuodostajana liuottaen kaikki vesiliukoiset aineet, kuten suolan, sokerin ja hiivan taikinaan. Hiivalle vesi on käymisen ja lisääntymisen kannalta välttämätön. Nesteen tehtävänä on myös liuottaa gluteenia eli proteiineja jauhoista. Gluteenittomassa leivonnassa neste imeytyy tärkkelyssidoksiin ja aikaansaa niiden turpoamisen. Veden lisäksi nesteenä voi käyttää maitoa, mehua, piimää ja muista nestepitoisia aineita. Nesteen valinnalla ja määrällä voidaan vaikuttaa leivonnaisen paistoväriin, kuoreen, makuun ja tuoreusominaisuuksiin. (Meira, n.d.)

### 2.1.2 Hiiva

Hiiva toimii leivonnaisen rakennetta nostattavana aineena. Se voi olla joko kemiallisesti valmistettu leivinhiiva *Saccharomyces cerevisiae* tai raski/hapanjuuri. Hiiva antaa rakenteelle kuohkeutta muuntaen hiilihydraatit hiilidioksidiksi ja etanoliksi käymisprosessin kautta. (Meira, n.d.) Samalla vapautuu ATP:ta eli adenosiinitrifosfaatteja, jotka ovat niin sanottuja energiamolekyylejä. (Peda.net; n.d.). Reaktiossa hiilidioksidia vapautuu gluteeniverkostoihin, jolloin taikinan rakenne pehmenee, konsistenssi nousee ja syntyy aromiaineita. Taikina kohoamisessa vaivauksessa sitoutunut ilma syrjäytyy. (Meira, n.d.; Salovaara ym., 2017, s. 19)

Kuvan 1. perusteella hiivan alkoholikäymisreaktion glykolyysivaiheessa glukoosi eli jauhojen tärkein sokeri vapauttaa pilkkomisen seurauksena kaksi ATP-molekyyliä ja muuttuu pyruvaateiksi eli palorypälehappoiksi. Pyruvaatti vapauttaa hiilidioksidia ja hajoaa asetaldehydiksi, jonka jälkeen asetaldehydi pelkistyy etanoliksi eli alkoholiksi. (Hammes & Gänzle, 1998, s. 199–216; Poutanen & Katina, 2014)

Kuva 1.  $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2 C_2H_5OH + 2 CO_2 + 2 ATP$  (peda.net, n.d.)



### 2.1.3 Hapanjuuri

Hapanjuurileivonta on ikivanha leivontateknikka. Sen ensimmäisessä vaiheessa valmistetaan raski. Käytännössä se tarkoittaa löysän alkutaikin, veden ja jauhojen sekoittamista yhteen. Raskiin voidaan lisätä vanhempaa, edellisestä leivonnasta säästettyä raskinsiementä. Se voi siis olla useita vuosiakin vanha. Raskinsiemenen tarkoituksena on siirtää leipomon raskimikrobit seuraaviin taikinoihin, joissa ne taas lisääntyvät. Raskinsiemenen osuus taikinasta on yleensä muutamia prosentteja mutta myös jopa 30 %. Raskin annetaan käydä 12-18 h, noin 28°C lämpötilassa. Sen käymiseen vaikuttavat lämpötilan ja ajan lisäksi mm. jauhotyyppi ja suola. Itse taikin valmistaminen on lähes samanlainen kuin hiivataikinalla. Hiivataikin kohotusaineena on

leivinihiiva, kun taas juuritaikinassa käymisen aiheuttaa raski. Raskin lisäksi juuritaikin lepoaika on pidempi, noin 8-12 h. (Salovaara ym., 2017, s. 117)

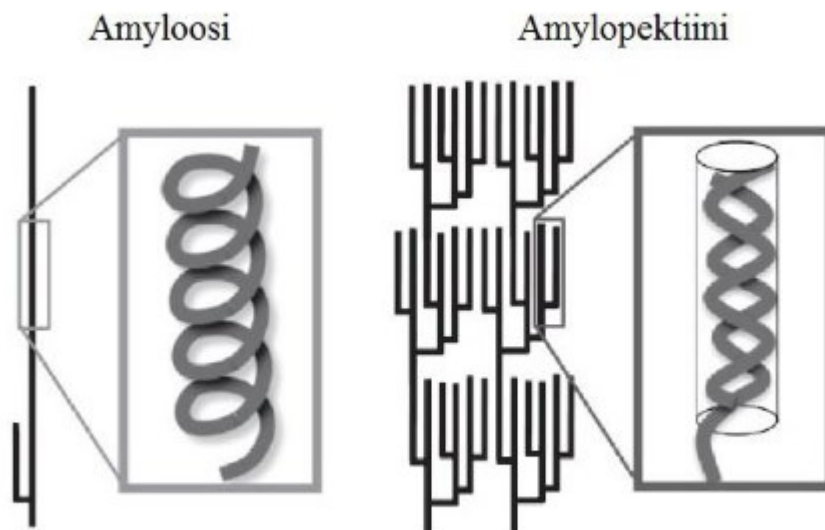
Käymisreaktio on samankaltainen hiiva ja hapanjuurileivonnassa, kun endogeeniset (jauhojen koostumus, entsyymit, jne.) ja eksogeeniset olosuhdetekijät (lämpötila pelkistymispotentiaalisuus, jne.) ovat optimaaliset. Reaktiolähtöaineina toimivat raskiseoksen (jauho + vesi) tuottamat villihiivat (laktobasillit) eli maitohappobakteerit, jonka tuotoksena syntyy etanolin lisäksi maitohappoa. Heterofermentatiiviset poikkeavat näistä homofermentatiivisista neljännen lopputuotteen, etikkahapon syntymisen vuoksi. Heterofermentatiiviset laktobasillit tuottavat siis maitohappoa, etikkahappoa, etanolia ja hiilidioksidia. (Hammes & Gänzle, 1998, ss. 199–216; Poutanen ym., 2014, ss. 75–87) Fermentaatiolämpötilaa muuttamalla voidaan vaikuttaa lopputuotteiden, kuten etikkahapon syntymisen määrään. Alhaisessa, noin 20-25 °C lämpötilassa viihtyvät hiivat ja etikkahappo, kun taas homofermentatiiviset bakteerit, kuten maitohappo suosii 32-38°C lämpötiloja. (Valjakka ym., 2003, ss. 269–295) Taikin hapattamisesta hyötyvät aromi- ja makuyhdisteet, mikrobiologinen säilyvyys (homeeton aika pitenee, estää häälytymisen), ravintoarvot voivat parantua happojen seurauksesta sekä konekäsiteltävyys ja kaasunpidätyskyky voivat kasvaa. Tekniikka säästää tuotetta säilöntäaineilta, mikä vaikuttaa luonnonmukaiseen imagoon. (Salovaara ym., 2017, s. 118)

#### **2.1.4 Jauhot ja tärkkelys**

Jauhot toimivat yleensä leivonnaisten pääraaka-aineena. Viljalaji, sen jakaisuus sekä sakoluku eli jauhojen entsyymiaktiivisuus vaikuttavat olennaisesti toteutettavan leivonnaisen rakenteeseen. Gluteenillisen viljan prolamiinipitoisuus ja sitä johdettu sakoluku on tarpeeksi korkea, jonka vuoksi se antaa lähes rajattomat mahdollisuudet toteuttaa rakenteeltaan kuohkeita leivonnaisia, kun taas gluteenittoman viljan sakoluku ei ole lainkaan oleellinen sen heikon amylaasiaktiivisuuden vuoksi. Gluteenin prolamiinipitoisuus on yleensä 50 %. Gluteenittoman jauhon tärkeimpänä ominaisuutena voidaan kuitenkin pitää tärkkelyksen osuutta, mikä pullan leivonnassa olisi hyvä olla vähintään 30 % jauhojen painosta. (Leipätiedotus, n.d.; Arendt & Dal, 2008, ss. 293–295)

Tärkkelyksellä on monia ainutlaatuisia ominaisuuksia, jotka määräävät sen toimivuuden erilaisissa elintarvikesovelluksissa, erityisesti leipomotuotteissa, joissa se vaikuttaa viljapohjaisten elintarvikkeiden koostumukseen, ulkonäköön ja yleiseen hyväksyttävyyteen. Suurin osa tärkkelysrakeista koostuu amyloosin ja amylopektiinin seoksesta. Kemialliselta koostumukseltaan tärkkelys sisältää amyloosi- ja amylopektiinimolekyylejä, jotka ovat pitkäketjuisia polysakkarideja. Vaikka tärkkelysrakeet eivät ole vesiliukoisia ne hydratoituvat helposti vesiliuoksessa ja turpoavat. Amyloosi on olennaisesti lineaarinen molekyyli, joka koostuu (1,4) -sidoksista  $\alpha$ -D-glukopyranosyyliyksiköistä. Amylopektiini koostuu (1,4) -sidottujen  $\alpha$ -D-glukopyranosyyliähteiden ketjuista, jotka on kytketty toisiinsa (1,6) -sidoksilla. Edellä mainituista amyloosi on suoraketjuinen ja amylopektiini puolestaan haarautuva molekyyli (Kuva 2.). Niiden erilaiset rakenteet vaikuttavat tärkkelyksen käyttäytymiseen. (Arendt & Dal, 2008, ss. 289–319)

Kuva 2. Suoraketjuisen amyloosin ja haarautuvan amylopektiinin polymeerirakenne. (Lamberg, 2016)

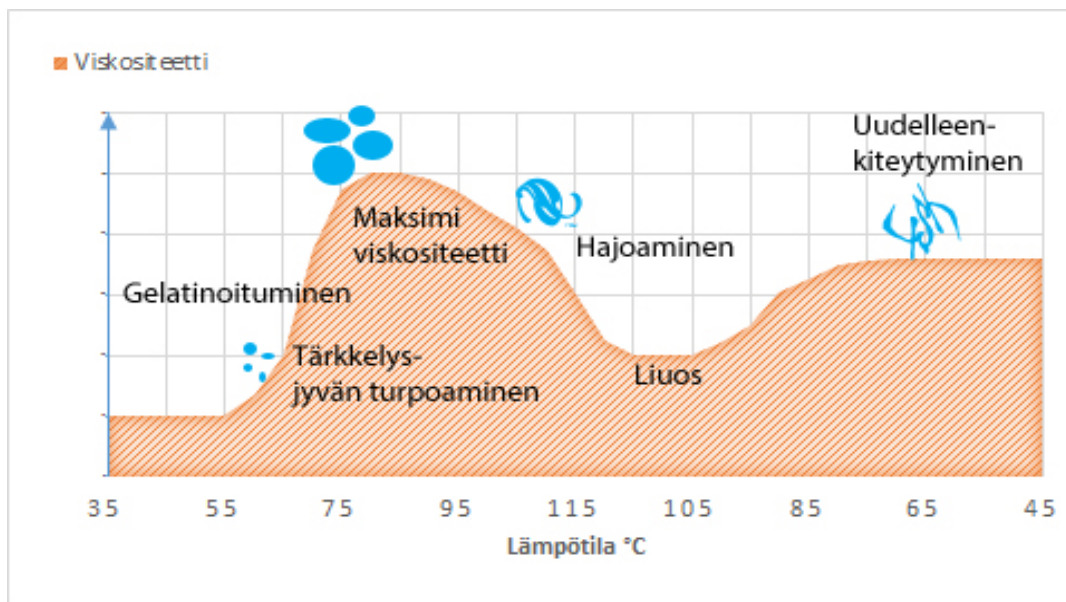


Yksikierteisen rakenteensa vuoksi amyloosi liukenee kylmään nesteeseen niukasti mutta kuumaan kokonaan. Amylopektiini on heikko liukenemaan kuumaan sekä kylmään nesteeseen. Joissain tapauksissa amyloosi voi kuitenkin muodostaa amylopektiinin kaltaisen kaksoiskierteisen

rakenteen, jonka seurauksena se muuttuu liukenemattomaksi. Reaktio voi tapahtua esimerkiksi uudelleen kuumentamisen ja jäädyttämisen seurauksena. (Arendt & Dal, 2008, ss. 289–319)

Turpoamista voidaan jatkaa lisäkuumennuksen avulla. Silloin amyloosi ja amylopektiiniosat uuttautuvat rakeestaan ja muodostavat viskoosisen suspension. Suspension jäädyttäminen johtaa geelin muodostumiseen. Ajan myötä amyloosin lineaaristen ketjujen ja amylopektiinin lyhyiden ketjujen kiteytyminen eli tärkkelyksen polysakkaridien uudelleen järjestäytyminen tapahtuu. Sitä kutsutaan nimellä retrogradaatio. Retrogradaatio on nopeinta amyloosin kanssa ja paljon hitaampaa ja epätäydellisempää amylopektiinin kanssa, koska sen haarat ovat lyhyitä. (FAO, n.d.) Retrogradaatio aiheuttaa erityisesti gluteenittomalle leivälle ja pullalle nopean fysikaalisen vanhenemisen suuren tärkkelyspitoisuutensa vuoksi. Kuva 3. havainnollistaa lämpötilamuutoksen vaikutuksia tärkkelyksen gelatunoitumiseen ja retrogradaatioon. Lämpötilan lisäksi tärkkelyksen muutoksiin vaikuttavat muut reseptin ainesosat, olosuhteet, kuten pH sekä suolojen, sokerien ja lipidien läsnäolo (Hopia, 2017).

Kuva 3. Tärkkelyksen retrogradaatioon vaikuttavat mm. lämpötilan muutos. (Hopia, 2017)



### 2.1.5 Rasva

Kemialliselta rakenteeltaan rasvat koostuvat pääosin glyserolin esteröityneistä rasvahapoista. Peruskoostumukseltaan viljan energia on varastoitunut tärkkelyksenä mutta useat viljan siemenet ovat energiavarastoltaan rasvaa. Vehnässä ja rukiissa rasvaa on noin 2 % kun taas gluteenittomissa viljoissa ja tärkkelyksissä kauraa lukuun ottamatta on huomattavasti vähemmän rasvaa (~0.1-1 %) (Finell, n.d.). Rasvalla voidaan helpottaa leivontaa etenkin vaivauksen lopussa- ja/tai muotoiluvaiheessa mutta pääasiallisesti rasvan tehtävänä on ylläpitää kaasurakkuloiden rakennetta, jonka kautta taikinaan muodostuu kimmoisuutta. Leipomoteknologiassa käytetty rasvat ovat suunniteltu eri käyttötarkoituksia varten. Moniin leivonnaisiin sopiva taikinamargariini sisältää noin 80 % rasvaa, yleensä hieman suolaa, maitoproteiinia ja emulgointiaineita. Loput taikinamargariinista on vettä. Margariinin käyttötarkoitus on riippuvainen etenkin rasvan plastisuudesta ja kiderakenteesta. Plastisuudella tarkoitetaan kiinteä ja öljymäisen rasvan suhdetta tietyissä lämpötiloissa. Kiderakenteeseen voidaan vaikuttaa mm. margariinin valmistusprosessin jäähdytysnopeudella. Itse kiderakenteen laatu vaikuttaa rasvan sulamiskäyttäytymiseen taikinassa. (Salovaara ym., 2017, ss. 36–39) Öljy heikentää taikinan kaasunpidätyskykyä poolittoman rakenteensa vuoksi. Leivästä/pullasta tulee mureneva ja kooltaan pienempi tämän vaikutuksesta. Emulgointiaineet ovat rasvan kaltaisia tai rasvasta eristettyjä lisäaineita. Ne mahdollistavat rasvan ja veden tasaisen seoksen hidastamalla myös tärkkelyksen uudelleenkiteytymisestä. Vehnän ja rukiin luonnollinen rasva käyttäytyy samalla tavalla kuin emulgointiaineet, jonka vuoksi kyseisiä emulgointiaineita käytetään parantamaan rakenteellisia ominaisuuksia. (Meiram, 2020; Leipätiedotus, n.d.; Salovaara ym., 2017, ss. 37–39)

### 2.1.6 Suola ja sokeri

Suola ja sokeri vaikuttavat maun lisäksi taikinan rakenteeseen. Suola toimii kohoamisessa rajoittavana tekijänä, kun taas sokeri toimii hiivan tai hapanjuuren ravinteena ja nopeuttaa kohoamista. Suola lisää rakenteeseen kimmoisuutta ja auttaa kosteuden säilyttämisessä. Sokeri antaa paiston yhteydessä myös väriä. Suola- ja sokerituotteita on paljon erilaisia. Suola voi olla luonnollista merisuolaa, mineraalisuolaa ja jodioitua suolaa. (Meiram, 2020) Leipomoteollisuus



suosii elintarvikeviraston suosituksen vuoksi jodioitua suolaa. Sen käytöllä katetaan käytännölliset ja terveydelliset hyödyt. (VRN, 2015) Sokerit voidaan jakaa mm. hienojakoisuusasteiden mukaan (hienosokeri, raesokeri jne.) ja erilaisiin siirappeihin (glukoosisiirappi, tummasiirappi jne.) käyttötarkoituksesta riippuen. (Meiram, 2020)

## 2.2 Entsyymit

Entsyymit ovat proteiineja, joiden avulla voidaan nopeuttaa erilaisia kemiallisia reaktioita. Erilaisia entsyymejä ja niiden aiheuttamia kemiallisia reaktioita esiintyy luonnossa, kuten kasveissa, eläinten ruoan sulatuksessa ja viljan itäessä. (Salovaara ym., 2017, s. 72) Entsyymejä valmistetaan paljon myös teollisesti, koska ne omaavat erinomaisten kemialliset reaktio-ominaisuudet. (Vehmaanperä, 2013) Entsyymit toimivat kemiallisten reaktioiden katalyytteinä eli nopeuttavat reaktiota, jolloin ne toimivat vain substraatin eli reaktioaineen/toiminnan kohteen työstäjänä. Entsyymi itse ei muutu tai kulu reaktiossa. Entsyymeillä on kuitenkin olosuhteille ominaisia rajoitteita, kuten lämpötilan, pH:n ja veden määrään vaikuttavia vaatimuksia. Myös olemassa olevan entsyymin lopputuotteen määrä vaikuttaa reaktioaktiivisuuteen. Entsyymeitä voidaan kuitenkin muokata kemiallisesti ja tehdä niistä preparaatteja eli mm. lämmön kestäviä. Entsyymien yliannostus voi aiheuttaa leivontaan johdannaisia haasteita, kuten leivontavirheitä taikinan kypsymisessä ja leikkautuvuudessa. Tyypillisten leivonnassa käytettävien entsyymien toiminta rajoittuu hapanjuurileivontaan taikinan alhaisen happamuuden vuoksi. pH:n lisäksi veden, suolan ja ravinteiden vähäisyys vaikuttavat entsyymien inhiboitumiseen, jonka vuoksi entsyymien lisääminen juurileivonnassa on melko turhaa. (Salovaara ym., 2017, ss. 73–75)

Viljan ydin sisältää proteiineja, jotka koostuvat aminohapoista ja aiheuttavat jyvän itäessä entsyymaattisen reaktion, joka jauhon ja veden kanssa liisteröityessä purkaa amylaaseja taikinaa. Amylaasin aktiivisuudelle on määritetty sakolukukerroin, jonka avulla voidaan laskea viljojen itämisaktiivisuus ja leivontalaatu. Amylaasit ovat vanhimpia ja käytetyimpiä entsyymejä leivonnassa. Niitä on luontaisesti jauhoissa, maltaissa, sienissä ja homeissa. Niitä voidaan käyttää jauhojen sakoluvun säätämiseen ja leivän fysikaalisen vanhenemisen hidastajana. (Katina & Manner, 2011, s. 42)

Muita vähemmän tavallisia leivontaan käytettäviä entsyymejä ovat lipoksygenaasit (sisuksen vaaleus, sekoituskestävyys, taikinan käsiteltävyys ja tilavuus), glukoosioksidaasi (taikinan vahvistus, tilavuuden lisääntyneisyys ja tarttuvuuden vähentyminen), ristosilloittavat entsyymit, kuten lakkaasi ja transglutaminaasi (sitkon vahvistus, veden sidonnan ja tilavuuden lisääntyneisyys). (Katina & Manner, 2011, s. 42)

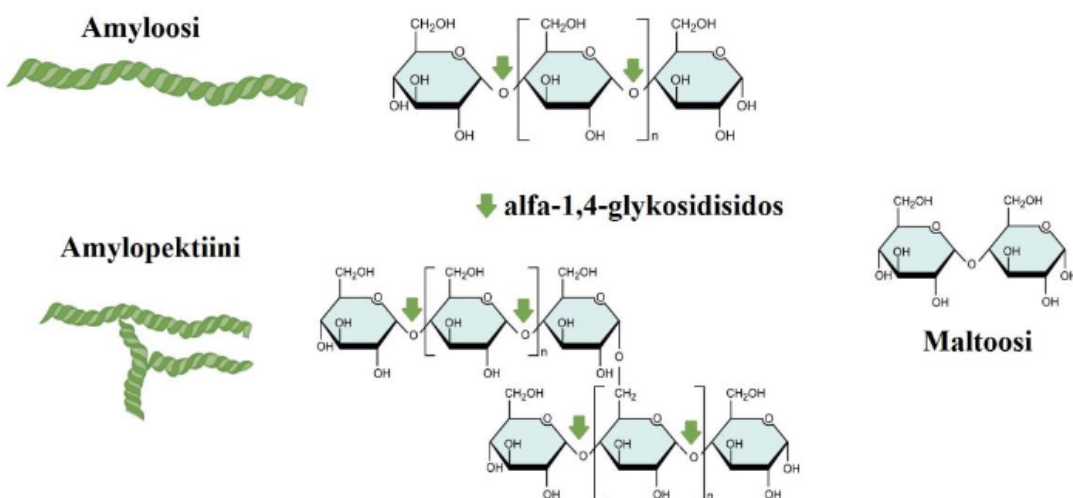
### 2.2.1 Alfa-amylaasi

Viljat sisältävät luontaisesti pieniä määriä endogeenisiä entsyymejä, kuten alfa-amylaaseja, jotka ovat viljan tärkeimpiä tärkkelystä hajottavia entsyymejä. Leivonnassa voidaan viljan luontaisen entsyymin lisäksi käyttää homeperäistä alfa-amylaasia ja bakteeriperäistä maltogeenistä alfa-amylaasia. Alfa-amylaasin aktiivisuus on parhaimmillaan viljan itäessä mutta hidastuu erityisesti, jos viljan tärkkelysjyvänen on täysin ehjä. Alfa-amylaasin toiminta leivonnaisissa aktivoituu noin 60 asteessa mutta menee muutamassa minuutissa ohi, kun paistolämpötila tavallisesti nousee yli 80 asteen ja entsyymi inaktivoituu. Alfa-amylaasi lisää hiivan, maltaan, sienen tai bakteerien kanssa kuoren paistoväriä sekä kaasuntuotannon kautta myös tilavuutta leivonnaisissa. (Salovaara ym., 2017, s. 74)

Pääasiallisesti leivontaan käytetyt alfa-amylaasientsyymit ovat joko homeperäisiä, bakteeriperäisiä tai maltogeenisiä (bakteeriperäinen). Homeperäisen alfa-amylaasi entsyymin inaktivoitumislämpötila on alempi kuin viljan luonnollisen amylaasin, jonka vuoksi sen käyttäminen on helppoa ja vaaratonta yliannostusvaaran vuoksi. (Salovaara ym., 2017, s. 74) Bakteeriperäinen alfa-amylaasientsyymi kestää korkeitakin lämpötiloja, jonka vuoksi soveltuu leipomoteollisuuteen erityisen hyvin mutta vaatii tarkkaa annostelua, koska aktiivisuus saattaa jatkua paiston jälkeenkin, jonka riskinä taikinamainen lopputulos. (Salovaara ym., 2017, s. 74) Bakteeriperäinen lämmön kestävä alfa-amylaasi on endogeeninen entsyymi ja täten pilkkoo tärkkelysketjuja sattumanvaraisesti mistä tahansa ketjun kohdasta tuottaen pilkkoutunutta tärkkelystä ja erilaisia oligosakkarideja. (Salovaara ym., 2017, s. 75)

Maltogeeninen alfa-amylaasi on bakteeriperäinen mutta edeltävistä amylaaseista syys-seuraussuhteiltaan parhain. (Salovaara ym., 2017, s. 75) Muun muassa *Bacillus stearothermophilus*-bakteerit voivat tuottaa tätä hydrolaasientsyymiä (glukaani 1,4-alfa-maltohydrolaasi), jonka lisäksi sitä voidaan tuottaa geneettisesti *Bacillus subtilis* -bakteerilla. Bakteerit katalysoivat haarautumattoman (amyloosipolymeerin) ja haarautuneen (amylopektiinipolymeerin) sekä siihen liittyvien glukoosipolymeerien  $\alpha$ -1,4-glykosididosten hydrolyysin maltoosiksi. Maltogeeninen  $\alpha$ -amylaasi katkoo maltoosiyksiöitä niin kauan, että amyloosipolymeeri hajoaa tai haaroittuneen amylopektiinipolymeerin haara saavutetaan. (The Universal Protein Resource, 2016.) Maltogeeninen amylaasientsyymi estää tärkkelyksen uudelleen kiteytymisen eli tärkkelyksen uudelleen järjestäytymisen, koska se on jo liisteröitymisvaiheessa pilkkonut haaroittuneet ja haarautumattomat tärkkelysketjut. Maltogeeninen alfa-amylaasi tuottaa pääosin tärkkelyksestä maltoosia mutta myös pidempi ketjuisia dektriinejä, jotka ovat pilkkoutuneet amylopektiinin haaraketjuista. Maltogeeninen amylaasi kestää paistovaiheen lämpötiloja hyvin, jonka vuoksi annosteluongelmien syntyminen ei ole niin herkässä. (Salovaara ym., s. 74) Maltogeeninen  $\alpha$ -amylaasi on eksogeeninen entsyymi, koska se katkaisee polymeeriketjuja ns. ei-pelkistävästä päistä. (Sinott, 2017, s. 343)

Kuva 4. Amyloosiketjun ja amylopektiiniketjun tärkkelyksen rakenne sekä maltogeenisen  $\alpha$ -amylaasin  $\alpha$ -1,4-glykosididosten hydrolysoituminen maltoosiksi. (The Pennsylvania State University, 2016)



*Bacillus*-suvun bakteerit erittävät myös pilaantumista lisääviä alfa-amylaasi entsyymejä. Ne aiheuttavat häälymistä eli rihmatautia leivän paiston jälkeen. Luonnollisesti viljan oma alfa-amylaasi lopettaa toimintansa eli inaktivoituu paistossa mutta tämä rihmoittumista aiheuttava *Bacillus*-suvun alfa-amylaasi on muodostunut vasta paiston jälkeen. Reaktio aiheuttaa tahmaisuuksi eli toimii samankaltaisesti kuin fysikaalista pehmeyttä tarkoituksella parantavana aineena käytetyt alfa-amylaasientsyymit. Tehokas häälymistä estävä keino on leivän nopea jäädyttäminen alle 20 asteen lämpötilaan sekä leivän pH:n optimoiminen alle viiden. Vaikutusta voidaan tehostaa lisäksi säilöntäaineilla, kuten asetaatilla ja propionaatilla. (Salovaara ym., 2017, s. 226)

### **2.2.2 Beeta-amylaasi**

Beeta-amylaasia on endogeeninen entsyymi, jota on jauhoissa luonnostaan alfa-amylaasin lisäksi. Sen toiminta ei ole yhtä kriittistä kuin alfa-amylaasientsyymien. Beeta-amylaasi on eksoentsyymaatti, joka tarkoittaa tärkkelyksen hajottamista glukoosiketjun ei-pelkistävästä päistä kahden glukoosiyksikön (maltoosin) verran. Beeta-amylaasin reaktiivinen toiminta-alue päättyy jo 60-65 asteessa mutta toimii erityisen tärkeänä entsyymaattisena komponenttina taikinoissa, koska hiiva käyttää tuottamaa maltoosia ravinnokseen. (Salovaara ym., 2017, s.75)

### **2.2.3 Ksylanaasit**

Jauhot sisältävät luonnostaan endogeenisiä ksylanaaseja. Niiden toiminta perustuu jauhojen veteen liukenemattoman arabinoksylanaasin hydrotoitumiseen, josta muodostuu vesiliukoinen arabinoksylanaasi. Endogeeniset ksylanaasit pilkkovat taikinassa arbinoksylanaaseja endoentsyymien mekanismilla. Mikrobiperäiset ksylanaasit lisäävät taikinan pehmeyttä, stabiilisuutta, elastisuutta ja venyvyyttä. Ksylanaasin optimoitu käyttö lisää uuninousua ja tilavuutta tuotteessa. (Katina & Manner, 2011, s. 42) Liiallinen arabinoksylanaasin käyttö heikentää taikinan laatua ja tuotteen lopputulosta aiheuttaen raakaa sisustaa. Kaupalliset ksylanaasipreparaatit sisältävät usein muita spesifisiä entsyymiseoksia, jonka vuoksi niiden

vaikutukset voivat olla amylolyyttisiä. Esim. alfa-amylaasin lisäys voi olla tarkoituksen mukaista. (Salovaara ym., 2017, s. 76)

#### 2.2.4 Proteaasit

Leivontaan käytettävät proteaasit pilkkovat jauhojen proteiineja peptideiksi ja aminohapoiksi. Ne edistävät taikinoiden reologisia ominaisuuksia, jolloin myös taikinan käsiteltävyyssominaisuudet helpottuvat. Proteaaseilla voidaan korvata erityisesti glutationi tai sulfiitti, jotka vaikuttavat taikinan kemiallisiin pehmeysominaisuuksiin. Proteaasit, jotka tuottavat aminohappoja toimivat myös leipomotuotteiden väri- ja makuominaisuuksien muokkaajina Maillardin reaktion kautta. (Katina & Manner, 2011, s. 42) Proteaaseja käytetään myös ravitsemuksellisenä lisänä elintarvikkeissa. Gluteeniproteiinien peptidisidokset hydrolysoituvat proteaasien avulla. Endoproteaasit, joita kutsutaan myös proteinaaseiksi, pilkkovat proteiiniketjujen sisäiset sidokset vähentäen siten niiden molekyylipainoa ja muodostaen peptidejä. Eksoproteaasit ja peptidaasit vapauttavat aminohappoja taas ketjun päistä. Useimpien proteolyyttisten entsyymien luokittelu perustuu niiden katalyyttisen mekanismin kemiaan. (Kuddus, 2018, ss. 224–226) Proteaaseja saadaan erilaisista organismiryhmistä, kuten kasveista, eläimistä ja mikro-organismeista, mutta kaupallisesti elinkelpoisia proteaaseja saadaan mikro-organismeista, erityisesti bakteeri- ja sienilajeista. Mikro-organismit erittävät solunulkoisia ja solunsisäisiä proteaaseja sekä upotetussa että kiinteässä tilassa käymisprosessissa. *Bacillus*-bakteerilajit, kuten *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis* ja *Aspergillus*-sienilajit, kuten *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. oryzae*, ovat parhaita proteaasientsyymien lähteitä. Proteaasientsyymien laaja lämpötila-alue (10–80 °C) ja pH (4–12) lisää niiden käyttöä elintarviketeollisuudessa. (Kuddus, 2018, ss. 25, 248–249)

### 2.3 Hydrokolloidit

Hydrokolloidit ovat gluteenittoman leivonnan olennaiset raaka-aineet viskositeetin muodostamisessa ja vaahtokuplien stabiloimisessa. Viskositeetti ympäröi vaahtokuplaa, jolloin kuplat eivät kiinnity toisiinsa latistaen kuohkeutta. Hydrokolloidit ovat hiilihydraattipolymeerejä, jotka sitovat vettä ja toimivat viskositeetin nostamisen lisäksi paksunnosaineina esim. kiisseleissä.

Hydrokolloideilla on erilaisia kemiallisia rakenteita, jonka vuoksi niiltä löytyy myös toiminnallisia eroavaisuuksia. Gluteenittoman leivonnan toimivimmiksi hydrokolloideiksi voidaan luokitella selluloosajohdannaiset, kuten karboksimeetyliselluloosa eli CMC (E466) ja hydroksiprometyyliselluloosa eli HPMC (E464). CMC on hyvin varauksellinen, jonka ansiosta se kykenee vuorovaikutuksiin proteiinien kanssa vaahtokuplien seinämissä. Jo hyvin pieni määrä CMC:tä (1-2% jauhojen painosta) lisää taikinan konsistenssia ja lopputuotteen tilavuutta. Bakteriperäinen ksantaani (E415), galaktomannaanista muodostunut guarumi (E412) ja psyllium kuuluvat myös tärkeisiin gluteenittoman leivonnan hydrokolloideihin. (Salovaara ym., 2017, ss. 130–131) Bakteriperäinen ksantaani valmistetaan käymisprosessissa syntyvästä sokerista *Xanthomonas campestris* -bakteerin avulla. *Xanthomonas campestris*-sukuun kuuluvat bakteerit tuottavat ksantaanikumin nimistä polysakkaridia fermentaation avulla. Ksantaanikumi on tärkeä elintarviketeollisuudessa sen taipuvien ominaisuuksien vuoksi. Se liukenee sekä kuumaan että kylmään veteen, on stabiili myös happamissa olosuhteissa ja nostaa viskositeettia jo pieninä pitoisuuksina. Ksantaani ja guarumi toimivat synnergisesti viskositeetin kasvattamisessa. Ksantaani muistuttaa rakenteeltaan selluloosaa. (Damodaran ym., 2007, ss. 138–141)

Guarumi valmistetaan palkokasveihin kuuluvasta guar-kasvin (*Cyamopsis tetragonoloba*) siemenistä. Se luokitellaan stabilointi- ja sakeuttamisaineisiin, jota saa käyttää lisäaineita salliviin elintarvikkeisiin. (Ruokavirasto, 2021) Guarumi on pääosin galaktomannaanista koostuva polysakkaridi. Galaktomannaani sisältää D-mannopyranoosista ja D-galaktopyranosyylistä. Guarumia voidaan pitää kustannustehokkaana sakeuttamisaineena pienen pitoisuuden aiheuttamasta suuresta viskositeetin kasvattajasta. Partikkelikoon ja molekyylipainon suhde ovat pääsyyllisiä korkeaan viskositeettiin ja kasvunopeuteen. (Demodaran ym., 2008, s. 138)

Muita hydrokolloideja ovat pektiini (E410), johanneksenleipäpuunjauhe (E410) sekä pellavan siemenet (musiinipolysakkaridin vuoksi). Pektiniit ovat suurimolekyyliähiilihydraatteja, joita esiintyy kaikissa kasvikunnan tuotteissa. Pektiniä tehdään omena- ja sitrushedelmienpuristusjätteestä. Pektini on vesiliukoinen hiilihydraatti, jota käytetään pääosin hillojen, hyytelöiden, marmeladien ja muiden tuotteiden rakenteen muodostamiseen. Pektiniä pidetään yleisesti haitattomana, ja sitä käytetään elintarvikelisiä aineena. Kaupallisina

mikrobikantoina voidaan käyttää mm. *Moniliella SB9*, *Penicillium spp.* ja *Aspergillus spp.* pektinaasin lähteitä. (Kuddus ym., 2018, s. 25)

Johanneksen leipäpuujauhe (E410) valmistetaan palkokasveihin kuuluvasta johanneksenleipäpuun (*Ceratonia siliqua*) siemenistä. Se kuuluu emulgointi- stabilointi- ja sakeuttamisaineisiin ja sitä valmistetaan kaakaon ja suklaan korvikkeena samankaltaisten makuominaisuuksien vuoksi. Sitä käytetään mm. keveän energiasisältönsä vuoksi. (Ruokavirasto, n.d.; Boned, 2019.)

Pellavan siemen on taas terveydellisten ominaisuuksien, kuten kuitujen, omega-3-rasvahappojen, lignaanien ja valkuaisaineiden lisäksi musiinin vuoksi arvokas. Musiini on pellavasiemenen kuoren kuitu, jota voidaan käyttää elintarvikkeisiin guarkumivalmisteiden tapaan. Se on jopa tehokkaampi kuin useat muut kaupalliset guarkumivalmisteet. (Ryhänen, 2006)

### 3 Säilyvyys

Rakenteellisen säilyvyyden, kuohkeuden ja miellyttävyyden lisäksi pitkä säilyvyysaika lisää pullan käyttöikä ja kysyntää. Käyttöiästä hyötyvät tuottajat mutta myös kuluttajat. Säilyvyyteen voidaan vaikuttaa lisäaineiden lisäksi pakkaamisella, ympäristön olosuhteilla, kuten lämpötilalla sekä säilyvyyttä parantavilla aineilla. Uusimpia säilöntämenetelmiä ovat suojakaasupakkaaminen, säteilyttäminen ja säilyvyyttä lisäävien ominaisuuksien edistäminen geenimuuntelun avulla. (Gould, 2012; Ruokavirasto, 2020)

Leipomotuote voi pilaantua kemiallisesti, fysikaalisesti ja mikrobiologisesti. Kemiallinen pilaantuminen tarkoittaa raaka-ainekomponenttien reaktioista aiheutuvia haitallisia muutoksia. Esimerkiksi rasvan härskiintyminen on kemiallinen pilaantumisreaktio. (Salovaara ym., 2017, s. 224) Fysikaalinen pilaantuminen tarkoittaa aikaan ja olosuhteisiin sidonnaisia rakenteellisia muutoksia, kuten kuivumista, kovettumista ja murenemistä. Sisuksen pehmeiden menettämisessä tapahtuu amylopektiiniosan retrogradoitumista, jolloin leivän sisus jäykistyy. Kuori imee sisustan nesteet, jolloin kuori muuttuu nahkeaksi ja sisusta kuivaksi. Rakenteellisten muutosten lisäksi aromit haalistuvat. Lisäaineilla ja entsyymeillä voidaan hidastaa tärkkelyksen uudelleen kiteytymistä ja säädellä kosteutta. (Salovaara ym., 2017, ss. 225–226)

Mikrobiologinen pilaantuminen johtuu paiston jälkeen tapahtuneesta hometartunnasta. Homeet ovat myseelejä muodostavia mikrosieniä, jotka leviävät itiöiden, konidioiden tai hyyfinosien avulla. Homeet ja homeitiöt eivät kestä paistamista mutta niiden läsnäolo vallitsee lähes kaikkialla. Niitä on käsissä, työvälaineissä ja huoneilmassa. Ne voivat heti paiston jälkeen kiinnittyä tuotteen pinnalle tai viipaleiden väliin ja näin kasvaa näkyviksi homekasvustoiksi olosuhteiden edusta. Kosteuden ja ravinteiden lisäksi homeet tarvitsevat suotuisan lämpötilan (25-45 °C) ja pH-alueen 3-5 (Ruokavirasto, 2019). Kaiken kasvun edellytyksenä voidaan pitää myös happea. Sen avulla ne lisääntyvät kylmissäkin lämpötiloissa, kuten jääkaapissa, mutta kasvu on tällöin hidasta. Leipomoissa on hyvä välttää kaikenlaista pölyä ja kosteuden kertymistä, jottei itiöiden ja homeiden kasvu saa mahdollisuuksia. Tuloilman suodatus, ylipaine ja työntekijöiden aseptinen työskentely ehkäisevät myös homeiden syntymistä. (Salovaara ym., 2017, s. 224) Homeet ja homeitiöt tuhoutuvat vasta +70–+80 °C lämpötilassa. (Ruokavirasto, 2019)

Hiivat ovat yksisoluisia mikrosieniä, joiden lisääntyminen tapahtuu pääasiassa vegetatiivisesti kuroutumalla. Lisääntyäkseen hiivat tarvitsevat sokereita, jonka vuoksi niiden lisääntyminen makeissa vesipitoisissa elintarvikkeissa, kuten hilloissa on tavallisimpia kasvualustoja. Hiivat viihtyvät kosteammassa olosuhteissa kuin homeet. Hiivat tarvitsevat toimintaansa happea mutta selviävät myös hapettomissa, anaerobisissa olosuhteissa. Niiden optimaalinen lisääntymislämpötila on +20–+35 °C ja pH 5. Kuitenkin niiden lisääntymistä voi tapahtua myös 3-8 pH alueella. Hiivat kuolevat yli 45 asteessa. (Ruokavirasto, 2019)

Homeiden lisäksi bakteerit voivat uhata leipomotuotteen säilyvyyttä. Häältyminen eli rihmatauti on toinen mikrobiologinen pilaantumistapa, joka johtuu muiden aineiden, kuten jauhojen mukana tulleista lämpöä kestävästä *Bacillus* -suvun kestoitiöistä, kuten *Bacillus subtilis* -bakteerista. *Bacillus*-itiöt alkavat kasvaa paiston jälkeen kosteassa leivän sisustassa erittäin entsyymejä, kuten tärkkelystä hajottavia amylaaseja ja proteiineja hajottavia proteolyttisiä entsyymejä, jotka pilkkovat tärkkelystä tahmentaan leivonnaisen sisustan. Kuvitteellisesti bakteerit valmistavat itselleen tahmaisen ympäristön homerihmojen vetämistä varten. Yleisimpiä leipätuotteissa esiintyneitä homeita ovat vihreä leipähome – *Penicillium* ja liituhome – *Saccharomycopsis*. Muita homelajeja ja homeiden sukulaisia ovat mm. *Aspergillus niger*, *Eurotium rebrum* ja *Rhizopus*



*stolonifer*. Homehtumis- ja häälytymisvaarassa olevien leipomotuotteiden suojeluun auttaa mm. reseptimuutokset, jotka alentavat pH:ta. (Salovaara ym., 2017, ss. 224–226)

Kemiallinen pilaantuminen voidaan havaita aistinvaraisesti tai reaktiokinetiikan avulla. Mikrobiologinen säilyvyys voidaan varmistaa laboratoriokokeella tuotteelle ominaisissa säilytysolosuhteissa. Useimmilla elintarvikkeilla on mikrobiologiset raja-arvot. Raja-arvoilla voidaan valvoa elintarvikkeiden laatua. Fysikaalinen säilyvyys varmistetaan aistinvaraisella arvioinnilla ja reologialla eli rakenteen mittauksella. Fysikaalisille ominaisuuksille ei ole raja-arvoja. (Ruokavirasto, 2020)

Leipomotuotteiden luonnollista säilyvyyttä lisäävät pullataikinassa olevat suola ja sokeri veden aktiivisuuden vuoksi. Taikinassa oleva suola ja sokeri sitovat vesimolekyyliä, jolloin pieni vapaan veden määrä ( $a_w$ ) heikentää mikrobien kasvumahdollisuuksia. (Ruokavirasto, 2020)

### **3.1 Pakkasleivonta**

Pakkasleivonta mahdollistaa jatkuvan tuoreiden leivonnaisten saatavuuden ja työkustannussäästön sekä leipomossa että mahdollisella loppukäyttäjällä (jos tuote myydään raakapakasteena). Pakkasleivonnan haitoiksi koituvat tuotetilavuuden pieneneminen, suuri huokoisuus tai muita laatuvirheitä sekä lisääntyneet energiakustannukset. (Salovaara ym., 2017, s. 134)

Nostattamattomat leivonnaiset säilyvät jopa 2-4 kuukautta pakkasessa. Suurien määrien pakastamisesta seuraava sulattaminen aiheuttaa helposti laatuvirheitä pakastus- ja sulatusnopeuksien sekä lämpötilaprofiilin epätasaisuuden vuoksi, jonka kautta erilaiset kemialliset ja fysikaaliset ilmiöt vaikuttavat laatuun. (Salovaara ym., 2017, s. 134)

Leipomotuote jäätyy suhteellisen nopeasti. Veden sitoessa energiaa lämpötilan aleneminen kuitenkin hidastuu. Pakastumisen nopeus myös hidastuu tuotteen ja ympäristön lämpötilaeron pientyessä. Se on kokonaisuudessaan alle  $0,5 \text{ °C /min}$ . Suuret tuotteet pakastuvat vielä hitaammin. Sokereiden ja suolojen määrä vaikuttaa jäätympisteeseen alenemaan, koska ne ovat sitoutuneet veteen. Tuotteen vesi ei jäädykään nollassa vaan reseptistä riippuen noin  $-2\text{--}6 \text{ °C}$ :ssa.

Usein vesi ei jäädy alemmassakaan lämpötilassa. Hiivasolut eivät jäädy kokonaan, jonka vuoksi ilmiötä voidaan pitää positiivisena. Jääkiteiden muodostuminen riippuu vapaan veden määrästä. Isojen jääkiteiden muodostumista syntyy kuitenkin hitaan jäätymisen seurauksena, mikä taas aiheuttaa vaurioittavia seurauksia tuotteen sitkorakenteelle. Pakkasleivontaan tarkoitettu taikinasta tehdään tämän tähden usein tiiviimpi, jolloin veden osuus on pienempi. Raaka-aineiden laadulla on lisäksi merkittävä osuus pakkasleivonnan onnistumisen kannalta. (Salovaara ym., 2017, ss. 134–136)

Pakkasleivonta alkaa hidastaa tärkkelyksen uudelleen kiteytymistä heti 0 °C:ssa ja lopettaa toimintansa yli -20 °C eli pakastamisen nopeudella on merkitystä kiderakenteiden muodostumiseen. Proteiinin lisäämisellä uskotaan olevan merkitystä toimintaan. Myös monoglyerideillä ja muilla emulgointiaineilla voidaan parantaa sitkon säilymistä ja tilavuuden pienenemistä, jonka lisäksi varastointikestävyys paranee. (Salovaara ym., 2017, s. 136)

### 3.2 Lisäaineet

Lisäaineasetuksen (EY) N:o 1333/2008 mukaan lisäaineita sisältävällä elintarvikkeella täytyy olla teknologinen tarve tietyn lisäaineen käyttöön, sen täytyy hyödyttää kuluttajaa, eikä se saa saattaa kuluttajaa harhaan. (Evira, 2018) Säilöntäaineiden päätarkoituksena on estää tai vähintään hidastaa mikrobiologisen eliöstön, kuten hiivojen ja homeiden syntyminen elintarvikkeeseen. Säilöntäaineet pidentävät tuotteen säilyvyyttä erityisesti tuotteen avaamisen jälkeen. Elintarvikkeiden säilyvyyttä voidaan parantaa myös erilaisilla käsittelymenetelmillä. Oikea käsittelymenetelmä voi jopa ehkäistä elintarvikkeen kemiallisen pilaantumisen, kuten rasvojen härskiintymien tai elintarvikkeen hapettuminen entsyymien vapautuessa. (Rahman, 2007; Ruokavirasto, 2020) Kuvassa 5. on avattu erilaisten säilöntäaineiden merkitystä tarkemmin.

Säilyvyyden lisäksi lisäaineilla parannetaan elintarvikkeen makua ja rakennetta. Elintarvikkeissa käytettävä lisäaine voi olla luontainen, luontaisen kaltainen tai kokonaan keinotekoinen eli synteettinen. Luontainen lisäaine on luonnonmateriaaleista saatu, erotettu tai yhdistetty aine, kuten suola, joka estää mikrobien kasvua. Luontaisen kaltainen lisäaine on kemialliselta

rakenteeltaan samanlainen kuin luontainen lisäaine. Synteettinen lisäaine on kokonaan kemiallisesti valmistettu lisäaine, eikä sitä esiinny luonnossa. (Evira, 2018)

Säilyvyyttä voidaan lisätä myös luonnollisella happamuudella, kuten hapanjuurella. Juurileivonta on ikivanha fermentointiin perustuva leivontateknikka, jossa luonnollisten mikrobien muodostama villihiiva synnyttää leipään rakenteen ja kuohkeuden lisäksi säilyvyyttä. Taikinaan syntyy happoja, kuten etikka- ja maitohappoja. Niiden toiminta vastaa luonnollisia happamuudensäätöaineita. (Leipätiedotus, n.d.)

Kuva 5. Ruoka- ja kahvileivissä sallittavia lisäaineita ja niiden käyttötarkoituksia. (Kehittyvä elintarvike, 2011)

Taulukko 1. Esimerkkejä ruoka- ja kahvileivissä käytetyistä lisä-aineista.			
Lisäaineryhmä	Lisäaineen kemiallinen nimi	E-koodi	Käyttötarkoitus
Emulgointiaineet	lesitiini	E 322	leivän tilavuuden kasvattaminen, sisuksen pehmeänä säilyminen, taikinan paremmat käsittelyominaisuudet
	rasvahappojen mono- ja diglyseridit	E 471	
Makeutusaineet	ksyliitoli	E 967	makeutus
	sakariini	E 954	
	aspartaami	E 951	
	asesulfaami K	E 950	
Jauhonparanteet	askorbiinihappo	E 300	taikinan sitkon vahvistaminen
Hapot ja happamuudensäätöaineet	sitruunahappo	E 330	mikrobiologisen säilyvyyden parantaminen
	maitohappo	E 270	
Nostatusaineet	ammoniumvetykarbonaatti	E 500	tuotteen kemiallinen nostatus
Sakeuttamisaineet	pektiini	E 440	taikinanesteen sidonta, tuotteen kosteuden lisääminen
	guarkumi	E 412	
Hapettumisen estoaineet	pskorbiinihappo	E 300	rasvojen hapettumisen eli härskiintymisen estyminen
	tokoferoliuute	E 306	
Säilöntäaineet	bentsoehappo	E 210	mikrobiologisen säilyvyyden parantaminen
	sorbiinihappo	E 200	
	rikkidioksidi	E 220	
	kaliumnitriitti	E 249	
Pakkauskaasut	hiilidioksidi	E 290	tuotteen säilyvyyden parantaminen
	typpi	E 941	
Värit	klorofyllit	E 140	tuotteen värin parantaminen
	kurkumiini	E 100	

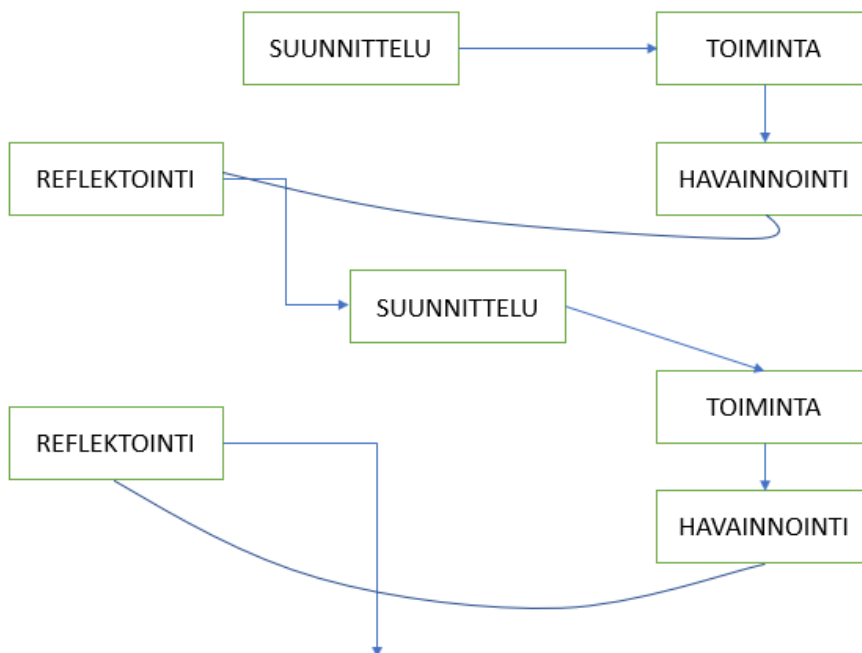
#### 4 Tuotekehitys ja koeleivonta

Tuotekehitystä voidaan jäsentää erilaisilla metodeilla ja malleilla. Gluteenittoman pullan tuotekehitys toteutettiin tuotekehitysmetodin spiraalimallilla. Spiraalimalli muodostaa jatkuvan syklin kehii, joiden tarkoituksena on luoda paras hiottu lopputulos. Kehän perusteluvaiheisiin

kuuluvat organisointi, toteutus- ja arvioiminen. Spiraalin tarkoitus on sisältää useita kehiä peräkkäin. Jokaisen kehän on tarkoitus parantua edeltävästään. Arviointivaihe on tärkeä, koska se valjastaa seuraavien kehien kehityskohdat ja täsmentää perusteluja. Toiminnallisen tuotekehitysprosessin spiraalimallissa korostuvat vuorovaikutukset konkreettisen tekemisen (havainnointi & toteutus) ja sitä käsittelevän diskurssin (suunnittelu & reflektointi) välillä. Spiraalimallin toteuttamisessa korostuu työn pitkäjänteisyys. (Toikko & Rantanen, 2009, s. 67)

Ensimmäisessä kehässä nähdään vasta niin sanotut lähtöasetukset työlle. Tuotekehitysprosessi lähti käyntiin alkuperäisen reseptin pohjalta erinäisillä muutoksilla, kuten ainesosien pitoisuuksien muutoksilla ja hapanjuurta testaten. Spiraalimallin tuotekehitysmetodissa toistetaan suunnittelu- ja toimintavaihetta niin kauan, että kehitetty tuote on valmis. Suunnitteluvaiheessa pohditaan tuotteen epäkohtia ja haluttuja ominaisuuksia, jotka toteutetaan toiminta vaiheessa. Reflektointi vaiheessa pohditaan parannusehdotuksia, joita vältetään tai muokataan opitun perusteella. Spiraalimallin tuotekehitysmetodi sopii hyvin olemassa olevan reseptin muokkaamiseen, jonka vuoksi gluteenittoman pullan kehittämiseen valittiin juuri kyseinen metodi. (Toikko & Rantanen, 2009, s. 68)

Kuva 6. Spiraalimallin tuotekehitysmetodi kaavio. (Toikko & Rantanen, 2009, s. 67)



## 4.1 Tavoitteet

Koeleivonnan tavoitteena oli kokeilla erilaisia lisä- ja apuaineita, entsyymejä, vaihtaa jauholaatuja ja raaka-aineiden suhteita sekä leipoa pulla juureen. Verrokin lisäksi kolme onnistuneimmiksi resepteiksi valittuja taikinoita ja leivottuja tuotteita analysoitiin elintarvikelaboratoriossa ja talletettiin opinnäytetyöhön.

Taikinanäytteistä mitattiin sitkon muodostamiskyky eli venyvyys sekä taikinatarttuvuus. Pehmeysanalyysi mitattiin tuoreesta ja varastoidusta tuotteesta. Tutkimus suoritettiin SMS Texture Analyser -laitteella Hämeenlinnan ammattikorkeakoulun elintarvikelaboratoriossa. Taikinan venyvyyksyvyn ja tarttuvuuden tuloksilla voidaan arvioida pullataikinoiden käsiteltävyyttä, kuten konekestävyyttä ja muotoilua. Tuotteen kehityksen tavoitteena oli tutkia rakenteen muutosta, jonka vuoksi kovuuden määrittäystä voidaan pitää menetelmistä merkityksellisimpänä.

## 4.2 Toteutus

Reseptin muutokset on tehty alkuperäisen reseptin B1 pohjalta kaikkiin uusiin tuotteisiin (B2, B3, B4). Reseptien raaka-ainesuhteita on muutettu erityisesti vesi-kuiva-ainesuhteessa, jonka lisäksi hydrokolloidien, sokerin ja rasvan määrää on säädelty uudelleen. Resepti on salassapitovelvollisuuden vuoksi piilotettu.

## 5 Tutkimusmenetelmät

Tutkimusmenetelmiksi on valittu aistinvarainen arviointi, rakenneanalyysi reometrisesti ja mikrobiologinen tutkimus. Aistinvaraiseen arviointiin osallistui 7-10 henkilöä riippuen tuotteesta. Reometrillä määritettiin taikinan venyvyyttä, sitkoa ja paistetun pullan kovuutta. Mikrobiologisen tutkimuksen teki ulkopuolinen laboratorio. Mikrobiologisella tutkimuksella varmistettiin terveydellinen tuoteturvallisuus. Tutkimusmenetelmillä analysoitiin alkuperäistä pullaa B1,

maltogeenistä alfa-amylaasientsyymipullaa B2, hapanjuuripullaa B3 ja bakteeriperäistä alfa-amylaasipullaa B4.

Taulukko 1. Tutkimusmenetelmillä analysoitavat tuotteet.

PULLAT	resepti		
B1	Alkuperäinen		
B2	Maltogeeninen $\alpha$ -amylaasi		
B3	Hapanjuuri		
B4	Bakteeriperäinen $\alpha$ -amylaasi		

## 5.1 Aistinvarainen arviointi

Aistinvarainen arviointi on elintarvikkeiden ominaisuuksien arviointia kaikilla aisteilla. Aisteja ovat kuulo, näkö, haju, maku ja tunto. Aisteilla voidaan analysoida ulkonäköä, aromia, flavoria, rakennetta ja lämpötilaa. Tuloksilla voidaan kehittää tuotetta, parantaa asiakastytyvyyttä ja laatua. (Tuorila & Appelby, 2016, ss. 20-21)

Aistinvaraisen arvioinnin mittaus voi olla erotustesti, jossa tutkitaan näytteiden välisiä eroja ja niiden suuruutta. Aistinvarainen mittaus voi olla myös kvantitatiivinen, jossa mitataan kuluttajien suhteellista mieltymistä voimakkuusasteina. Mittaus voi olla myös kuvaileva kvalitatiivinen menetelmä, joka on yhdistelmä kvalitatiivista ja kvantitatiivista tutkimusta. (Tuorila & Appelby, 2016, s. 56)

Aistinvaraisen arvioinnin arvioijat koostavat raadin. Raati voi olla laboratoriotestiraati, asiantuntijaraati tai kuluttajaraati. Laboratorioraatiin kuuluu yleensä yli kymmenen henkilöä ja asiantuntijaraatiin 3-5 henkilöä. He ovat harjaantuneita ja koulutettuja. Kuluttajaraadilla ei tarvitse olla arviointikokemusta mutta heidän mieltymyksensä on asiakaslähtöisesti hyödyllinen. (Tuorila, 2008)

## 5.2 Mikrobiologinen tutkimus

Mikrobiologia tutkii mm. bakteerien, sienten ja alkueläinten rakennetta, elintoimintoja ja niiden hyödyntämistä. Elintarvikkeiden mikrobiologisessa tutkimuksessa määritetään homeita ja hiivoja, niiden määrää, lisääntymisnopeutta ja terveydelle haitallisten lajien, patogeenien syntymistä. Mikrobiologinen tutkimus pohjautuu näytteenottosuunnitelmaan, jossa on huomioitu toteuttamistekniikka, tutkimuksen osanäytteiden määrä, raja-arvot sekä muu tulosten tulkinta. Usein ohjeistus on johonkin menetelmään tai standardiin pohjautuva. (NMKL 98:2005)

Elintarvikkeen mikrobiologisessa tutkimuksessa painopisteenä on ihmisen terveys. Tutkimuksen tarkoituksen on rajata mahdolliset bakteerit tai virukset, jotka aiheuttavat tautia, ruokamyrkytyksiä tai hengenvaaraa. Yritysten elintarvikemikrobiologiset tutkimukset ovat osa elintarvikevalvontaa ja Ruokaviraston riskinarviointia. (Ruokavirasto, 2020)

Tuotekehityksessä syntyneiden pullanäytteiden mikrobiologinen määrittäminen toteutettiin standardin SFS-EN ISO 4833-1:2014 (mikrobien kokonaislukumäärä 30 °C) ja NMKL 98:2005 (hiivat & homeet) mukaan. Standardi SFS-EN ISO 4833-1:2014 on elintarvikeketjun mikrobiologiaan liittyvä horisontaalinen menetelmä mikro-organismien pesäkemäärän määrittämistä varten. NMKL 98:2005 menetelmällä tutkitaan hiivojen ja homeiden rutiininomaista kvantitatiivista määrittämistä elintarvikkeista ja rehuista. Kyseisen menetelmän pohjalta voidaan myös arvioida kvalitatiivisesti sienikasvuston koostumusta. Menetelmä käsittää tarvittaessa laimennusmenettelyn sekä sijoitusmenettelyn. (SFS-EN ISO 4833-1:2014; NMKL 98:2005). Leipomotuotteille on asetettu viralliset mikrobiologiset raja-arvot (taulukko 2.). Raja-arvoja on kahdenlaisia, joista alemmaa raja-arvoa kuvaa (m) ja ylempää raja-arvoa (M). Alempi raja-arvo on hyvä tulos. Ylempi raja-arvo kuvaa tyydyttävää tulosta. Tutkimuksessa saatu tulos saa olla suurempi kuin alempi raja-arvo m mutta rajoittuu arvoon M. Jos arvo on yli M, tilanne vaatii usein toimenpiteitä esim. valmistusprosessiin tai hygieniaan. Jossain tapauksessa ongelma voidaan ratkaista myös päiväysien lyhentämisellä (parasta ennen/viimeinen käyttöpäivä). (ETL, 2017)

Taulukko 2. Leipomotuotteiden mikrobiologiset raja-arvot. (ETL, 2017)

MIKROBIOLOGISET RAJA-ARVOT	m	M
Aerobiset mikrobit	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^6$
Enterobakteerit	$1 \times 10^2$	$1 \times 10^3$
Hiivat	$1 \times 10^3$	$1 \times 10^4$
Homeet	$1 \times 10^3$	$1 \times 10^4$
<i>Bacillus cereus</i> -ryhmä	$1 \times 10^2$	$1 \times 10^3$
Koag.pos.stafylokokit / <i>S.aureus</i>	$1 \times 10^2$	$1 \times 10^3$
Sulfiittia pelkistävät klostridit (suojakaasu- ja hapettomat pakkaukset)	10	$1 \times 10^2$
<i>Leipomovalmisteista ei tutkita hiivoja eikä sulfiittia pelkistäviä klostrideja.</i>		

### 5.3 Reologia

Reologialla voidaan mitata useita eri ominaisuuksia elintarvikkeista. Pullataikinan ominaisuuksista voidaan mitata mm. tahmeutta ja sitkoa. Reologisten ominaisuuksien kirjo on laaja, jonka vuoksi niiden samankaltaiselta kuulostavat aiheet on hyvä erottaa toisistaan. Opinnäytetyössä tärkeimpänä reologian tutkimuskohtana pidetään pullan kovuutta. Reologia tieteenalana tutkii aineen muodon muuttumista ja virtausta voiman vaikutuksesta. Se on osittain fysiikkaa ja osittain fysikaalista kemiaa, jonka suureita ovat voima, nopeus ja poikkeamat. Reologiassa aineen olomuoto on joko kova kiinteä aine, pehmeä kiinteä aine tai neste. Rakenneanalysilaitteella, reometrillä voidaan mitata nestemäisen ja kiinteän viskositeettisiä ominaisuuksia, kuten leikkausnopeutta. Tuloksien tulkinnalla ja vertaamisella voidaan parantaa rakenteellisia ominaisuuksia. (Metzger, 2006, s. 16) Reologiset ominaisuudet vaikuttavat ruokien hyväksyttävyydelliseen seikkoihin: ulkonäköön, suutuntumaan ja makuun, joista useat voidaan havaita jopa suoraan. Pulla hajoaa suussa leviävän syljen ja pureskelun mukana ja vaikuttaa makujen vapautumiseen ja sen kautta aistilliseen miellyttävyyteen. Ne ovat niitä tärkeitä seikkoja, joita voidaan tutkia reologian avulla. Reologisia ominaisuuksia materiaaleista mitataan pääosin tietokoneelle ohjelmoiduilla rotaatioviskosimetrialla tai -reometrillä. Reometri toimii mm. viskositeetin, kimmoisuuden, elastisuuden, venyvyyden sekä kovuuden mittauksissa. (Bourne, 2002)



### 5.3.1 Viskometria

Reologian osa-alue viskometria käsittelee virtausominaisuuksia nestemäisestä olomuodosta. Molekyylien välinen kitka nesteen sisällä aiheuttaa molekyylien välisiä vetovoimia eri virtausnopeuksilla erityisesti sekoittamisen, levittämisen ja sumuttamisen yhteydessä. Molekyylien sisäistä liikehdintää voidaan nimittää viskositeetiksi. Kitkalla on sama vaikutus, jos nestettä pumpataan putkistoissa tai puristetaan suuttimen läpi tuotantolinjalla. Korkean viskositeetin omaavat aineet vaativat suuremman määrän energiaa virtaukseen kuin matalaviskoosiset aineet. (Metzger, 2006, s. 28) Elintarviketeknologian kannalta liuosten virtauskäyttäytymisen selvittäminen on välttämätöntä. Elintarvike -liuokset tai -seokset voivat sisältää erilaisia hiukkasia tai pisaroita, jonka vuoksi liuoksen viskositeetti laskee sekoitus- tai virtausnopeuden lisääntyessä. Virtaukseen lisääntyvä voima aiheuttaa hiukkasten järjestäytymistä virtauksen suuntaisesti, jonka seurauksena molekyylirakenteet voivat avautua ja hiukkasryhmät hajota. Myös nesteen sisältämät pyöreät pisarat saattavat venyä soikeanmallisiksi. Ilmiötä tapahtuu useissa eri elintarvikkeissa ja sitä voidaan kutsua pseudoplastiseksi käyttäytymiseksi. Tämän kaltainen tapahtuma alentaa viskositeettia, vaikka kuitenkin reaktiota voidaan pitää usein palautuvana. Esimerkkinä valkuaisainepitoiset liuokset käyttäytyvät kyseisellä tavalla. Plastisiksi liuoksiksi voidaan nimittää paikallaan stabilisoituvia aineita, jotka värähtelevät vasta liikkeen aiheutuksesta. Liuokseen pitää kohdistaa tarpeeksi suuri voima (myötöraja), jotta se alkaa virrata. Esimerkiksi löysä taikina voi olla tämän kaltainen plastinen liuos. Se muodostuu liuoksessa olevista partikkeleista ja molekyyleistä, jotka ovat sitoutuneet toisiinsa muodostaen verkoston. Kun tarpeeksi suuri voima tunkeutuu sidoksiin, rakenne alkaa hajota ja seos voi vapautua virtauksellisesti. Sekoitusajalla on yhteys viskositeetin muutokseen, vaikka sekoittamisen nopeutta pidettäisiinkin samana. (Rantamäki, 2005)

### 5.3.2 Kimmoisuus

Suurin osa elintarvikkeista on kimmoisia. Kimmoisuus tarkoittaa aineen alkuperäisen muodon ja siihen aiheutuvan voiman palautumiseen pyrkivää ominaisuutta. Erityisen pienen voiman kohdistaminen, joka ei aiheuta pysyvää muutosta tuotteeseen, on voimaltaan ja sen suhteelliselta muodonmuutokseltaan suoraan verrannollisia keskenään. Ne muokkautuvat mm. venytyksen,

puristuksen ja leikkauksen voimasta. Mitä suurempi kimmoisuus, sitä vähemmän tuotteen muoto muuttuu. Kimmoisuus voidaan laskea kimmokertoimella, joka kuvaa jännityksen ja elastisen venymän suhdetta,  $E = \sigma/\epsilon$  (Hookenlaki). Arkikielisesti kimmoisuutta voidaan nimittää myös pehmeudeksi. (Jokinen, 2019)

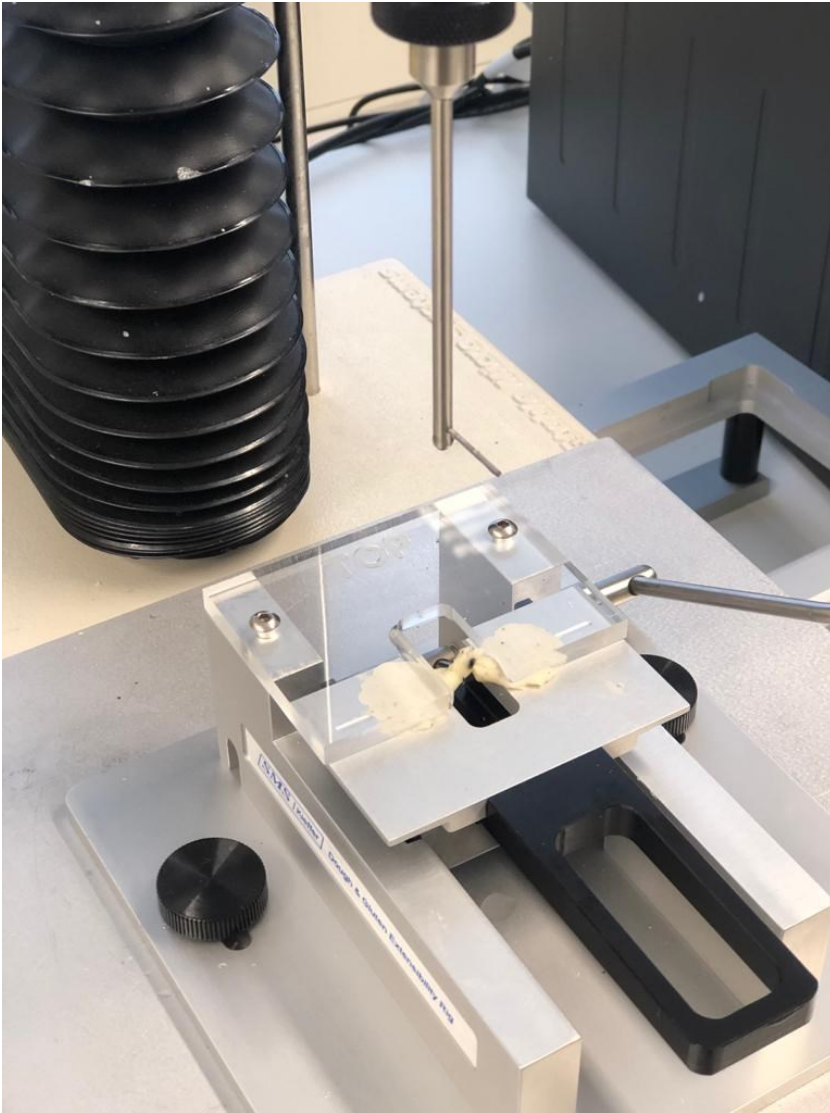
### 5.3.3 Elastisuus

Elastisen ominaisuuden omaava materiaali sitoo siihen kohdistuneen voiman aiheuttavan potentiaalienergian itseensä ja palautuu kooltaan sekä muodoltaan ennalleen heti, kun voima lopettaa kosketuksen. Viskoelastinen muodonmuutos tarkoittaa ajasta riippuvaista pysyvää muodonmuutosta. Taikinat ovat tavallisesti viskoelastisia, viskoplastisia sekä elastioplastisia materiaaleja riippuen prosessin vaiheesta. (Jokinen, 2019) Elastisia ominaisuuksia voidaan määrittää oskillaatiomittarilla. Oskillaatiomittari toimii tutkittavan aineen ja kosketuksissa olevan mitta-anturin liikkeen, taajuuden ja amplitudin säädettävien ominaisuuksien mukaan. (Rantamäki, 2005)

### 5.3.4 Venyvyys

Taikinan venyvyyttä voidaan mitata sitkeyden murtumiskykyyn vaaditun energian määrän avulla. Venyvyyden mittausta voidaan liittää sitkon muodostumiskykyyn, jolla tarkoitetaan pääasiallisesti vehnägluteenin aiheuttamien sidoksien voimia, jonka ansiosta taikina saa venyvän rakenteen. Gluteenittoman taikinan sitkonkykyä voidaan myös mitata venyvyydestillä mutta odotetusti se ei muodosta lähes ollenkaan sitkoista rakennetta eli katkeaa heti kuin voima alkaa vaikuttaa. Tämä johtuu täysin tärkkelyksen hauraasta rakenteesta, jota ei voida verrata gluteeniin ja gliadiinin ainutlaatuisen yhdisteeseen. Yleisesti sitkoanalyysi tukee taikinan käsiteltävyysominaisuuksia määrittämisestä.

Kuva 7. Taikinan venyvyysominaisuuksien mittaaminen gluteenittomasta pullataikinasta oli mahdotonta sitkottomuuden vuoksi.



### 5.3.5 Tahmeus

Tahmeus eli taikinatarttuvuus voidaan määrittää myös reologisesti (Liite 2). Taikinan tarttuminen vaikuttaa moniin teollisen leivonnan osa-alueisiin taikinan vaivaamisesta lopullisen tuotteen laatuun. Ainesosien suhteen yhtenä vaikuttavimpana rakenteeseen korreloivana tekijänä voidaan pitää vapaan veden määrää, mikä tulee suhteuttaa kuiva-ainepitoisuuteen. Lisäksi hiivan ja suolan määrä voi vaikuttaa kriittisesti tarttuvuuteen. Suolaa voidaan pitää taikinan rakenteen muodostumisen kannalta tärkeänä, koska se pehmittää ja sitoo taikinaa yhtenäiseksi, jonka

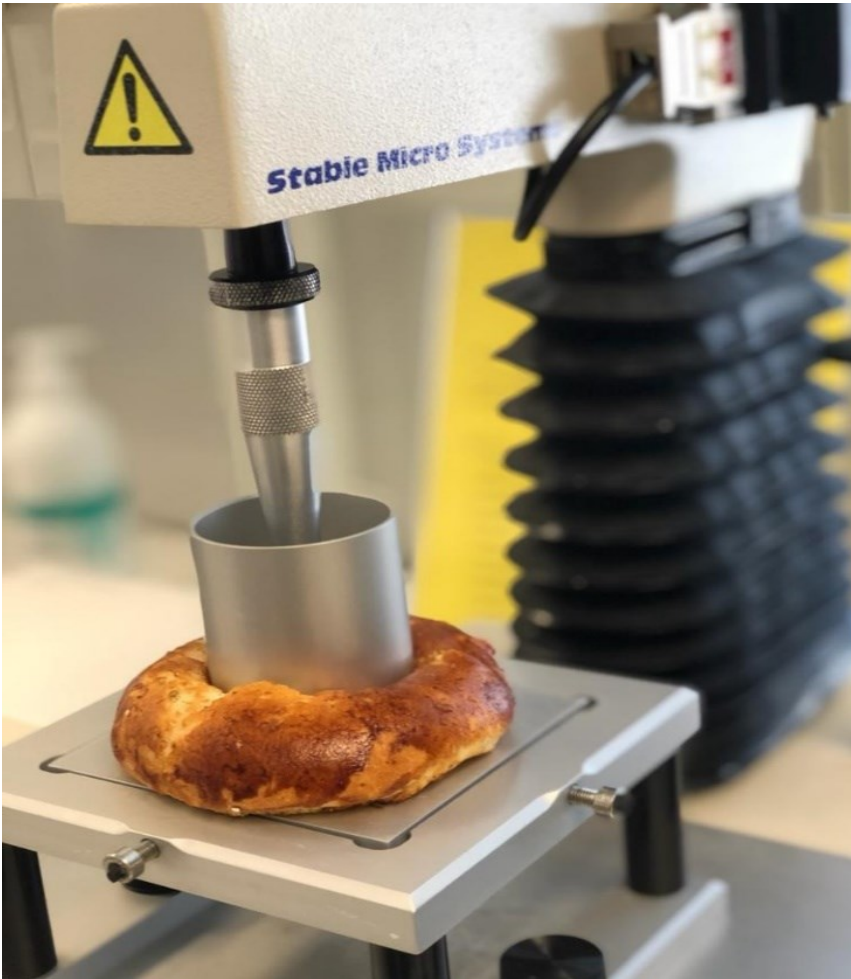
seurauksena myös vähentää tarttuvuutta. Suolan ja hiivan rooli on kuitenkin vähemmän selkeä verrattuna veden vaikutukseen. Lisäksi sekoitus (vaivaaminen) vaikuttaa tarttuvuuden määrään, koska sekä vapaan veden saatavuus että taikinaverkoston rakenteen (tärkkelyksen gelatinointi ja gluteenin verkkoutuminen) tila muuttuvat vaivaamisprosessin aikana. Myös lämpötilan nousu aiheuttaa tarttuvuuden lisääntymistä molekyylien ja atomien liikehdinnän seurauksesta. (Fanari, 2020) Taikinarttuvuudella määritetään pääosin tuotteen muotoilu- ja konekäsiteltävyyssominaisuuksia.

### 5.3.6 Kovuus

Reologialla voidaan määrittää myös materiaalin kiinteys kovuustestin avulla. Testissä koetin painaa näytteen pintaa säädetyllä voimalla ja tietyllä koettimella (erilaisia) haluttuun syvyyteen asti. Testin parametrit on säädetty etukäteen. On tärkeää, että vertailutilanteessa näytteiden parametrisetasetukset ovat samat. (Jokinen, 2019)

Reologisen kovuun mittauksen kuvaajan tulkinta perustuu koettimen liipaisuvoimaan ja käytettyyn aikaan. Kun koetin on saavuttanut näytteen jatkaa koetin painamista näytteeseen, kunnes se on puristanut säädetyin prosentoin tuotteen korkeudesta. Kun koetin vetäytyy näytteestä, tietokoneelle tallentuneen kuvaajan käyrä alkaa pudottautua huipulta alaspäin. Samaan aikaan koetin palaa lähtöasentoonsa. Kiinteysvahvuuden määrittävät voima (g tai kg) ja puristukseen kulunut aika. (Texture Analyser Application)

Kuva 8. Gluteenittoman pullan kiinteyden mittaaminen reologisesti.



## 6 Tulokset

### Koeleivonta

Koeleivonta suoritettiin noin 20 kertaa. Koeleivonnan tuloksena muodostettiin kahdeksan uutta reseptiä, joista osaa muokattiin, kunnes leivontatulos vastasi johonkin tai kaikkiin tutkimuskysymyksiin. Jatkoon reseptejä valittiin kolme: B2, B3 ja B4.

Koeleivonnan haastavuudeksi koituivat pienen testitaikinoiden tekeminen leipomomiljöössä, jonka laitteet mitoitettiin suuremmille taikinoille. Sen vuoksi koeleivonta suoritettiin pienkeittiössä. Eroavaisuudet olivat pääosin taikinakoneessa, kohotuksessa ja hygieniassa. Pullien

kohotus suoritettiin sähköuunissa 50 asteessa. Parhaiten tutkimuskysymyksiin vastaavat koeleivontareseptit päättyivät reologiaan, aistinvaraisiin ja mikrobiologiaan tutkimuksiin.

### Reologia

Kovuutta mittaava kuvaaja näyttäytyy voima-aika käyränä (Liite 6). Kun liipaisuvoima saavutetaan, koetin jatkaa painamista näytteeseen, kunnes tuotteen korkeudesta on saavutettu 40 %. Koetin vetäytyy sen jälkeen näytteestä, jolloin kuvaajassa oleva käyrä alkaa pudottautua huipulta alaspäin. Huipusta alenevan käyrän aika kertoo, kuinka kauan koettimella menee aikaa nousta pullasta ja palata laitteen perusasentoon. Mitä vähemmän näytteen painamiseen on tarvittu voimaa, sitä pehmeämpänä tuotetta voidaan pitää. Kova tuote tarvitsee luonnollisesti enemmän liipaisimen voimaa, jotta saavutetaan 40 % syvyys. Kuvaajan aika-akseli kertoo, kuinka kauan tiettyyn vaiheeseen on kulunut aikaa.

Pullien pehmeiden analyysivertailuun valikoituivat vain pehmeimmät tuotteet B2 ja B4 (Taulukko 3). Nämä tuotteet sisälsivät entsyymejä. B2 sisälsi maltogeenistä alfa-amylaasientsyymiä ja B4 bakteeriperäistä alfa-amylaasiaentsyymiä. Bakteeriperäinen alfa-amylaasientsyymi antoi pehmeimmän lopputuloksen sekä tuoreena että 5 päivää varastoimisen jälkeen. Bakteeriperäistä alfa-amylaasientsyymiä ei voida pitää helpoimpana rakenteen pehmentäjänä, koska entsyymi antaa herkästi taikinamaisen sisustan erityisen tarkan annostelun vuoksi ja leivontavirheiden riski kasvaa. B2 pullan tulokset olivat lähellä B4 tuloksia, jonka vuoksi maltogeenisen alfa-amylaasientsyymien käyttöä voidaan suositeltavampana.

Kuvassa 9. Bakteeriperäinen alfa-amylaasientsyymi on aiheuttanut taikinamaisen sisuksen.



B2 ja B4 pullien vertailussa (Taulukko 3.) nähdään, että B4 pullat ovat pehmeämpiä sekä tuoreena että vanhana verrattuna B2 pulliin.

Taulukko 3. Pullan kovuusanalyysi entsyymiä sisältävistä pullista.

PULLAN KOVUUS g/s	
B2 tuore	4000 < 3500
B2 vanha	5000 < 4500
B4 tuore	1500 < 1250
B4 vanha	1500 < 1250

Liitteestä 6 nähdään kuvaajan tarkempia muotoja. Suurempi pullaan B4 kohdistettu voima johtuu todennäköisesti kuorettumisilmiöstä, mikä varastoidussa B4 pullassa on suurempi kuin tuoreessa B4 pullassa. B2 ja B4 tulokset eroavat suuresti toisistaan, minkä vuoksi tulosta ei voida pitää validina. Tuloksien epävarmuus johtuu lisäksi paistoaajasta ja raaka-aineiden suhteesta, mikä ei tarkalleen ole sama.

Pullan reologisista ominaisuuksista määritettiin myös pinta-ala (liite 1) voima-aika-akselien koordinaattipisteiden  $X_0$ ,  $X$  ja  $XY$ -huipun väliltä. Liite 1 kuvaa satunnaisesti valitun pullan tiiveyden pinta-alaa. Kuvaa voidaan pitää verrannollisena esimerkkinä muihin tuotekehityksen tuotteisiin. Kyseisen näytteen pinta-alaksi saatiin 5083,520 F-T (voima/aika).

Tahmeus/tarttuvuusominaisuuksista (Liite 2. & Liite 3.) huomataan, että kaikilla B1, B2, B3, B4 taikinoilla on lähes samankaltainen tarttuvuus. Tarttuvuusominaisuudet voisivat olla vieläkin lähempänä toisiaan, jos reseptit olisivat entsyymejä lukuun ottamatta identtiset. Mm. nestepitoisuudessa on pieniä eroja reseptien välillä. Kuvaajan mukaan verrokkitaikina B1 on muita tarttuvampi. Hapanjuuritaikina on helpoiten käsiteltävä, mikä johtuu hapanjuuren ja hydrokolloidien aiheuttamista kalvoja muodostavasta rakenteesta pitkän lepoajan mahdollistamana. Tarttuvuutta voidaan pitää verrannollisena venyvyyteen eli sitko-ominaisuuksiin.

Taulukko 4. Reologinen analyysi taikinatarrtuvuudesta.

TAIKINAN VENYVYYS g/s	
B1	45 < 40
B1	45 < 40
B1	45 < 40
B2	30 < 25
B2	30 < 25
B2	20 < 15
B3	30 < 25
B3	20 < 15
B3	25 < 20
B4	20 < 15
B4	30 < 25
B4	20 < 15

Tarttuvuusanalyysissä otettiin kolme rinnakkaisnäytettä, joista keskimmäistä voidaan pitää keskiarvona. Taulukosta 3. huomataan, että B3 tarvitsee vähiten voimaa liipaisimen noustessa tahmeasta taikinasta. Tästä voidaan todeta, että hapanjuuripullataikina on helpoiten käsiteltävä. Tarttuvimmaksi todetaan B1 eli alkuperäinen pullataikina.

### Aistinvarainen arviointi

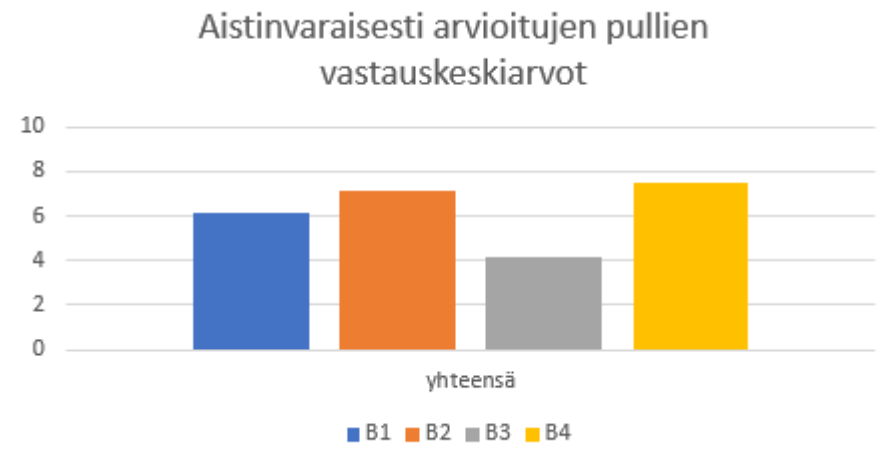
Aistinvarainen arviointi järjestettiin leipomon henkilökunnalle. Arvioijina eli raatina tilaisuudessa toimi leipomon eri tehtävissä olevat ihmiset. Osaa raatilaisista voidaan pitää asiantuntijoina kyseiselle tuotteelle. Arviointimenetelmänä käytettiin mieltymysasteikkoon perustuvaa aistinvaraista arviointia (Liite 9), jossa mieltymysasteikolla (1-10) vastattavia kysymyksiä oli 10 ja kaksi kyllä/ei -kysymystä sekä yksi avoin kysymys. Kyllä/ei -kysymyksillä kartoitettiin gluteenitonta ruokavaliota käyttävät vastaajat ja toisessa kysyttiin ostohalukkuutta tuotteelle. Avoin kysymys antoi vapauden kommentoida tuotetta sanallisesti.

Tulokset osoittavat tuotteiden eroavan toisistaan paljon. Tuloksien analysointiin käytettiin ANOVA yksisuuntaista analyysia. P-arvon suuruus vahvisti tuotteiden suuret eroavaisuudet ja vastaus skaalan (Liite 8). Suurimman suosion sai B4 ja lähelle ylsi B2 eli entsyymejä sisältäviä pullia pidettiin miellyttävimpinä. Tuloksia analysoitiin myös diagrammeilla keskiarvallisesti. Keskiarvo perustuu arvioijien mieltymyksiin asteikolla 1-10. Kuva 10. perustuu eri tuotteiden B1, B2, B3 ja B4



keskiarvoon, jossa kaikki kyseistä tuotetta koskevat tulokset on laskettu yhteen ja jaettu vastaajien määrällä. Keskiarvollisesti B4 on arvioitu miellyttävimmäksi tuotteeksi. Hapanjuureen leivottu pulla on arvioijien mielestä vähiten miellyttävä. Kuvaajat on piirretty Excell -sovelluksella.

Kuva 10. Aistinvarainen arviointi osoitti pullan B4 olevan miellyttävin.



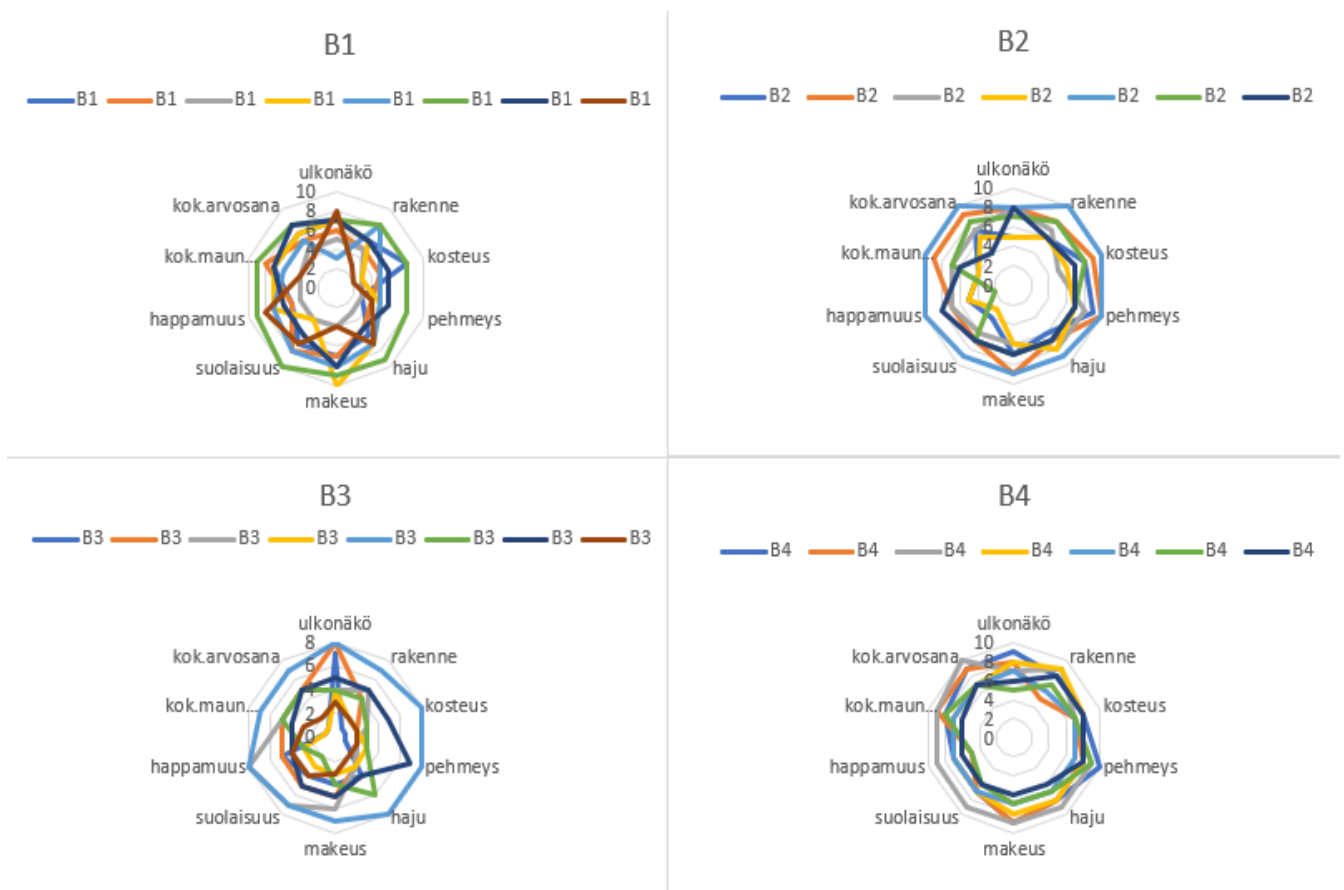
Taulukko 5. Aistinvaraisen arvioinnin tulokset keskiarvoina B1, B2, B3 ja B4 tuotteille.

PULLA	yhteensä	ulkonäkö	rakenne	kosteus	pehmeys	haju	makeus	suolaisuus	happamuus	kok.maunv	kok.arvosana
B1	6,1125	6,25	5,875	5	4,75	6,125	7,125	6,75	6,375	6,5	6,375
B2	7,128571	7	7,285714	7,571429	8,285714	7,428571	7,2857143	6,1428571	6,2857143	6,7142857	7,2857143
B3	4,2	5,375	3,75	3,25	3,5	4,125	4,625	4,625	5	3,875	3,875
B4	7,514286	7,142857	7,428571	7,428571	8,428571	7,571429	7,8571429	7	6,5714286	7,7142857	8

Taulukossa 4. nähdään eriteltynä kyselyn mieltymystä kuvaavat aiheet, kuten ulkonäkö, rakenne, kosteus, jne. Jokaista mieltymystä vastaa sille yhteenlaskettu keskiarvo. Keskiarvo koostuu vastaajien antamista arvosanoista eri tuotteille. Esimerkiksi tuote B1 on saanut ulkonäölliseksi keskiarvoksi 6,25. Sarake ”yhteensä” kuvaa kaikkien mieltymysten yhteenlaskettua kokonaiskeskiarvoa kullekin tuotteelle. Pulla B4 on saanut kokonaiskeskiarvoksi 7.514, mitä voidaan pitää mieltymysasteikon suurimpana keskiarvona. Se tarkoittaa, että tuote B4 on miellyttänyt vastaajia eniten.

Pullien (B1, B2, B3, B4) aistinvaraisia ominaisuuksia voidaan selvittää myös säteittäisellä kaaviolla (spider web) (kuva 11.). Jokaiselle tuotteelle on laskettu kutakin mieltymysominaisuutta vastaava keskiarvo, minkä jälkeen tulokset on yhdistetty kuvaajiksi. Taulukon ominaisuuksista kosteus ja pehmeys arvioitiin lähes viiden mieltymysasteen suuruisella skaalalla (1 epämiellyttävä, 10 miellyttävä). Hajontaa oli jonkin verran myös mieltymysten kokonaisarvosanoissa. Suuresta arviointiskaalasta huolimatta sädekuvaajasta nähdään, että pullien happamuus oli arvioitu melko lähelle toisia (ka 5-6.57 skaala). Hapanjuuripulla on saanut keskiarvollisesti epämiellyttävimmät aistinvaraisen arvioinnin tulokset. Tästä voidaan tulkita, ettei ainakaan hapanjuuripullan happamuudella ole ollut merkitystä miellyttävyyden kanssa, vaikka pH sillä onkin suurin. Syynä pidetään ainakin kosteutta, pehmeyttä ja rakennetta (Taulukko 4).

Kuva 11. Säteittäinen kaavio B1, B2, B3 ja B4 tuotteista. Värit kuvaavat arvioinnin raatilaisia.



## Mikrobiologinen

Mikrobiologisen määrittelyn aluksi taikinasta, tuoreesta- ja varastoidusta pullanäytteestä mitattiin pH. Sen avulla voitiin arvioida pilaantumisriskejä. Tauluosta 5. huomataan, että suurimman happamuuden omaa hapanjuureen leivottu pulla B3. Happamuuslukema pysyttelee pH 4:n pinnassa (yli/ali) taikinasta varastoituun tuotteeseen asti. Happamuus kertoo tuotteen säilyvyydestä sen, että homeiden ja hiivojen kasvaminen on työläämpää. Kuitenkin vapaan veden määrä ( $a_w$ ) on korkea, mikä taas tarkoittaa ravinteikasta kasvuympäristöä. B1 pullan pH on keskiarvillisesti toiseksi pienin (4.84). Myös sen veden aktiivisuus on toiseksi pieni, josta voidaan päätellä tuotteen pitkä säilyvyysaika.

Taulukko 6. Happamuuden (pH) ja vedenaktiivisuuden ( $a_w$ ) määrittely pullanäytteistä.

pH	B1	B2	B3	B4
taikina	4.71	5.14	4.06	5.02
tuore	4.81	5.58	4.16	5.39
varasto	5.00	4.98	3.98	5.51
$a_w$ tuore	0.841	0.891	0.891	0.814

Kuva 12. Mikrobin, homeiden ja hiivojen mikrobiologiset tulokset pullanäytteistä.

NÄYTTEET					
Lab.nro	Näytteen kuvaus				
28770	Hapanjuuripulla B3 (maito) 3vrk				
28771	Hapanjuuripulla B3 (vesi) 3vrk				
28772	Bakteeriperäinen alfa-amylaasientsyymi B4 3vrk				
28773	Maltogeeninen alfa-amylaasientsyymi B2				
28774	Hapanjuuripulla B3 (maito) 6vrk				
28775	Hapanjuuripulla B3 (vesi) 6vrk				
28776	Bakteeriperäinen alfa-amylaasientsyymi B4 6vrk				
28777	Maltogeeninen alfa-amylaasientsyymi B2				
MÄÄRITYSTULOKSET / NÄYTTEET		B3	B3	B4	B2
Määrittely	Yksikkö	28770	28771	28772	28773
*Mikrobin kok. lukumäärä 30°C	pmy/g	<1000	~1000	~1000	<1000
*Homeet	pmy/g	<100	<100	<100	<100
*Hiivat	pmy/g	<100	<100	<100	<100
Määrittely	Yksikkö	28774	28775	28776	28777
*Mikrobin kok. lukumäärä 30°C	pmy/g	63000	24000	74000	170000
*Homeet	pmy/g	<100	<100	<100	<100
*Hiivat	pmy/g	<100	<100	<100	<100

Merkintöjen selityksiä: P = määrittely kesken, E = ei tehty, ~ = noin, < = pienempi kuin, ≤ = pienempi tai yhtäsuuri kuin, > = suurempi kuin, ≥ = suurempi tai yhtäsuuri kuin.

Verrokki pullan B1 mikrobiologisia tulokset otettiin muita aikaisemmin, joten näytetiedot erikseen liitteessä 10, muut kuvassa 12. Pitkän aikavälin säännöllisillä tutkimuksilla osoitettiin, että tuotteessa B1 ei ole raja-arvoja ylittäviä mikrobeja, hiivoja tai homeita. Kuvasta 12 nähdään, että B3 tuotteesta on kaksi eri tulosta. Syynä voidaan pitää reseptin neste-eroja. B3 tuotekoodi 28770 on leivottu maitoon. Muut tuotteet on leivottu veteen.

B2, B3 ja B4 mikrobien kokonaislukumäärä 30°C:ssa osoittaa, että arvot ylittävät suositukset kaikissa paitsi tuoreissa B3 hapanjuuripullassa (maito) sekä B2 maltogeenisessä alfa-amylaasientsyymipullassa. Tulosepävarmuus ei aiheuta vielä välttämättömiä toimenpiteitä, koska kyseessä ei ole patogeenisia mikrobeja. Mikrobiologisen määrityksen tärkeimpänä tuloksena voidaan kuitenkin pitää homeiden pitoisuutta, missä raja-arvot eivät ylity missään vaiheessa. Määritys vastaa odotettuja tavoitteita, josta voidaan todeta, että kaikki näytteet pysyvät homeettomina ainakin kuusi päivää. Hiivojen syntyminen varmistettiin myös mikrobiologisella tutkimuksella ja tulokset vastaavat odotusarvoja eli jäävät alle määritysrajan. Mikrobiologiset raja-arvot löytyvät taulukosta 1.

## 7 Johtopäätökset

Opinnäytetyön tutkimuskysymyksiin saatiin kattavat vastaukset reologian ja aistinvaraisen arvioinnin avulla. Gluteenittoman leivonnan haasteisiin eli käsiteltävyyssominaisuuksiin ja rakenteen säilymiseen haettiin vastauksia reseptien muutoksilla. Tuloksena kehitettiin kolme uutta reseptiä (B2, B3 ja B4) B1 reseptin pohjalta. Jokainen resepti takasi vähintään jonkun tavoiteltavan asian. Hapanjuuripullaresepti B3 takasi parhaat taikinan käsiteltävyyssominaisuudet todennäköisesti hapanjuuren ja pitkän lepoajan yhteisvaikutuksesta. Resepteistä kosteimman lopputuloksen antoi bakteeriperäistä alfa-amylaasientsyymiä sisältävä tuote B4. Maltogeenistä alfa-amylaasientsyymiä sisältävä pulla B2 voitti käytännön mahdollisuuksissa. Maltogeenisen alfa-amylaasientsyymillä lisäyksellä saavutetaan pitkäaikainen pehmeys ilman annostusongelmia. Annosteluongelmaa voidaan pitää tärkeänä huomiona leivontavirheiden välttämisen kannalta. Jos entsyymi aiheuttaa herkästi leivontavirheitä, kuten taikinamaisen sisuksen (B4) tuotteen valmistaminen ei ole resurssitehokasta.

Aistinvaraisen arvioinnin suosikkituotteeksi nousi B4. B2 ylsi hyvin lähelle suosituinta tuotetta. ANOVA yksisuuntaista analyysia voidaan pitää luotettavana, vaikka arvioijajoukko on melko pieni. Näytteiden otanta oli hyvä, koska esillä oli kymmeniä näytepalasia, joista sai valita arvioitavansa. Reseptejä B2 ja B4 voidaan pitää jo nyt käyttökelpoisina. Kehityskelpoisena voidaan pitää hapanjuuripullareseptiä. Rajallisen aikataulun puitteissa B3 reseptin kehittämiseen jäi parannettavaa.

Reologisen tutkimuksen tärkeimpänä tuloksena voidaan pitää pehmeiden määrityksen tulosta. Sen kautta valikoituivat parhaat reseptit gluteeniton leipomo ILONA käyttöön ja mahdollisiin jatkotoimenpiteisiin. Parhaat reseptit B2 ja B4 vastasivat tutkimuskysymykseen ”Miten valmistaa viisi päivää pehmeänä säilyvä gluteeniton pulla?”. Oikeastaan tutkimuskysymyksen tavoiteaika saatiin jopa kaksinkertaistettua oikean pehmeyttä lisäävän entsyymien löytyttyä, vaikka kokeellista tutkimusta tehtiin maksimissaan vain kuusi päivää vanhoista tuotteista. Tutkimusta olisi voinut jatkaa jopa yli 10 päivää, koska rakenteessa ei havaittu aistittavien muutoksia vielä siihen mennessä. Reologisella menetelmällä saatiin tuloksia pehmeiden lisäksi taikinan sitkon muodostuskykyyn eli venyvyyteen sekä taikinarttuvuuteen, jotka vastaavat kysymykseen ”Voidaanko reseptimuutoksilla parantaa taikinan käsiteltävyyttä?”.

Todetaan, että validimpaan tulokseen päästäisiin, jos reseptit olisivat entsyymeitä lukuun ottamatta identtiset. Taulukosta 2. ja liitteestä 6. nähdään, että tuore B2 oli laadultaan kovempi kuin vanha B4. Eroavaisuudesta kertoo bakteeriperäisen alfa-amylaasin tärkkelyksen pilkkomistapa. B4 tuotteen maltogeeninen entsyymi aiheuttaa tärkkelyksen pilkkoutumisen ketjun päistä, mikä aiheuttaa erityisen pehmeän lopputuloksen. Kuitenkin kyseinen tulos on helposti liian kostea, epämiellyttävä ja taikinamainen. Maltogeenistä alfa-amylaasia sisältävä pulla B2 oli kovuuden mittauksessa B4:ää kovempi mutta sitä pidettiin aistinvaraisesti lähes yhtä miellyttävänä. (Taulukko 2.).

Aistinvaraisen arvioinnin tuloksista voidaan päätellä, että arviointi oli kokemattomalle vastausraadille vaikea. Arvioinnissa kysyttiin mieltymystä eri ominaisuuksille asteikolla 1-10, kun kysymys on saatettu ymmärtää myös ominaisuuksien voimakkuuden mittaamisena. Esimerkiksi

rakenne, maku ja pehmeys on määritetty B4:ssä miellyttävimmiksi, vaikka bakteeriperäisen entsyymin aiheuttamat ominaisuudet ovat yleisesti ajateltuna kyseisissä ominaisuuksissa nimenomaa epämiellyttäviä.

Raakapakastepullien pehmeiden mittaamista ei voida pitää luotettavana (Liite 5), koska mittaus tehtiin noin tunnin sisällä jäähdytyksestä. Jäähdytyksestä mittaukseen ajan olisi pitänyt olla sama, kuin muissa analysoitavissa tuotteissa. Siksi tulos ei ole validi ja sitä ei voida verrata muihin pehmeyttä mittaaviin kuvaajiin. Kuitenkin raakapakastepullia voidaan verrata keskenään ja huomataan, että pehmeimmän tuloksen antaa bakteeriperäinen alfa-amylaasipulla B4. Toiseksi tulee verrokki B1 ja sitten maltogeeninen entsyymipulla B2. Hapanjuuriversiot ovat testin vähiten pehmeitä.

Tarttuvuuskokeen järjestely aiheutti tuloksissa epävarmuutta, kun analyysit suoritettiin eripäivinä ja tulokset ovat dokumentoitu eri kuvaajiin. Sen lisäksi Texture Analyser:n laiteparametrit erosivat hieman toisistaan, mikä voi vaikuttaa tarttuvuuseroihin. Verrokista B1 tehtiin ensimmäinen analyysi (1kpl), sitten hapanjuuritaikinasta B3 (3kpl), jonka jälkeen verrokista B1 loput 2 kpl. Aikaa ensimmäisen verrokin (B1) tarttuvuuteen kului vähemmän (noin 5 s), kuin muihin B1 verrokkeihin (noin 8 s). Tämä johtuu analysointijärjestyksestä. Koeastia on pesty eri taikinoiden välillä, jonka vuoksi puhdas astia aiheuttaa liukkautta taikinan pintaan ja tarttuvuus vähenee. Myös mahdollinen tuulen vire (ikkuna auki), ilmankosteus sekä lämpötila voi vaikuttaa tarttuvuuden muutoksiin.

Sitko-ominaisuuksien syntyminen vaatii voimakkaiden sidoksien syntymisen, kuten vehnäleivonnassa gluteeniyhdisteen eli gliadiinin ja gluteniinin kiertyminen toisiinsa. Huomioitavaa on, ettei sitkoa muodostu gluteenittomaan pullataikinaan kemiallisilta ominaisuuksiltaan. Kuitenkin hapanjuuripullataikina antoi pientä viitettä, että taikinassa olisi venyvyydellisiä kykyjä. Tulokset olivat kuitenkin huomattavan pieniä ja vaikeasti tulkittavia, jonka vuoksi niitä ei julkaistu tulososiossa. Tästä voidaan kuitenkin todeta, että pitkä taikinan lepoaika hapanjuuripullassa lisäsi elastisuutta suuremman hydrokolloidikalvojen lisääntymisen vuoksi ja käsiteltävyys on siten myös parempi kuin muilla taikinoilla. Erilaisista tuotteen rakennetta aistittavista ominaisuuksista, kuten

taikinan muotoiluun vaikuttavista tekijöistä ja pehmeystä taulukoitiin vielä yhteenveto (Taulukko 7.)

Taulukko 7. Johtopäätökset pullien eri ominaisuuksista.

PULLA	TAIKINAKÄSITELTÄVYYS	TAIKINAN VENYVYYS	PEHMEYS TUORE PULLA	PEHMEYS 5 PV. VANHA PULLA
B1	huono	huono	hyvä	huono
B2	huono	huono	hyvä	hyvä
B3	melko hyvä	melko hyvä	melko hyvä	huono
B4	huono	huono	erinomainen	erinomainen

Mikrobiologiset tulokset osoittivat kaikkien opinnäytetyössä kehitettyjen reseptien pysyvän homeettomana ainakin kuuden päivän ajan. Hiivattomuutta ei ilmentynyt missään tuotteista. Mikrobien kokonaislukumäärä aiheuttaa tulos epävarmuutta +/- 35 % lähes kaikissa uusissa tuotteissa (B2, B3 ja B4). Epävarmuus johtuu todennäköisesti tuotteiden valmistusolosuhteista. Valmistamisen ja säilyttämisen aseptisuutta ei voida pitää samalla tasolla kuin leipomoympäristöä. Mikrobiologiseen tutkimukseen päätyneitä tuotteita on käsitelty kotikeittiössä ilman tarkkaa hygieniaa. Kosteus voi aiheuttaa myös mikrobien kasvamisen kyseisellä tavalla. Korkea vapaan veden ( $a_w$ ) määrää optimoi mikrobien kasvulle alttiita olosuhteita.  $A_w$ -pitoisuus erityisesti B2 ja B3 tuotteissa oli korkea, mikä on osa syy mikrobien kasvun nopeutumisessa. Kuitenkin B1 tuotteen kosteus on melko lähellä muitten tuotteiden kosteutta, minkä vuoksi  $a_w$ :ta ei voida pitää ainoana syyllisenä kokonaismikrobipitoisuudelle. Tulosepävarmuudesta +/- 35 % ei olla huolissaan niiden viitatessa mikrobien kokonaislukumäärään 30°C. Kosteudesta aiheutuvia pilaantumisriskejä voidaan kontrolloida esim. natriumkarbonaatin avulla. Homeiden ja hiivojen määrät pysyivät määritysrajojen alapuolella, jonka vuoksi kaikkia tuotteita voidaan pitää yli viisi päivää säilyvinä. Jotta mikrobien kokonaislukumäärää esittävät tulokset olisivat vertailukelpoisia keskenään, tarkempia tuloksia tavoiteltaessa tulosotanta pitäisi olla suurempi sekä tuotteiden valmistaminen pitäisi tapahtua verrokin kanssa samassa ympäristössä.

Jatkon kannalta potentiaalisina kehityskohtina voidaan pitää pullan pakkaskestävyyttä, taikinan käsiteltävyyssominaisuuksia ja hapanjuuripullan rakenteellista säilyvyyttä. Tärkkelyspitoisen

tuotteen, kuten gluteenittoman pullan pakastamisesta aiheutuvia muutoksia, kuten tilavuuden pientymistä voidaan pitää laadun kannalta kehitystä kaipaavana asiana. Tehokkaan toiminnan ylläpitämiseksi tuotteita on kannattavaa pakastaa raakana mutta laadun kannalta tuote kärsii. Resurssien mahdollistaessa pakastamisen aiheuttamien ongelmiin voitaisiin tehdä jatkossa tuotekehitystä. Gluteenitonta pullataikinaa voidaan pitää erityisen haastavana muotoilun kannalta mutta sen kehittäminen vapauttaisi myös resursseja. Taikinan parannetut käsiteltävyyssominaisuudet voisivat mahdollistaa jopa tuotteen valmistamisen koneellisesti. Hapanjuuripullan reseptiä voitaisiin kehittää lisää, jotta voitaisiin taata pidempi rakenteellinen pehmeys. Muutoksilla voitaisiin vastata luonnonmukaisten hiiva-allergisten asiakkaiden tarpeisiin.



## Lähteet

Arendt, E. D. B., Arendt, E. & Dal Bello, F. (2008). *Gluten-free cereal products and beverages*. Academic Press.

Boned. (2019). *Johanneksenleipäpuu - mitä se on ja mitä syödään? Eksoottinen tuote Kyprokselta johanneksenleipähkinä - mitkä ovat tuotteen edut ja haitat ja missä sitä käytetään.*

<https://boned.ru/fi/cakes/kerob---chto-eto-takoe-i-s-chem-ego-edyat-ekzoticheskii-produkt-iz-kipra.html>

Bourne, M. (2002). *Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement*. Academic Press.

Damodaran, S., Parkin, K. L., & Fennema, O. R. (Eds.). (2007). *Fennema's food chemistry*. CRC press.

ETL. (2017). *Elintarvikkeiden mikrobiologisia ohjausarvojiimmeisenä käyttöpäivänä.*

<https://www.etl.fi/media/aineistot/suosituksset-ja-ohjeet/elintarvikkeiden-mikrobiologisia-ohjausarvoja-viimeisena-kayttopaivana-2017-suositus.pdf>

Evira (2018). *Elintarvikkeiden lisäaineet – riskiprofiili.*

[https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/237026/eviran\\_tutkimuksia\\_2\\_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/237026/eviran_tutkimuksia_2_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Fanari, F. (2020). *Thermal properties of semolina doughs with different relative amount of ingredients*. Chemical and Materials Engineering. University of Cagliari, Italy.

<https://www.mdpi.com/2071-1050/12/6/2235/htm>

FAO: n yritysassiakirjojen arkisto: *Ruokavalion hiilihydraattikoostumus Retrogradation (täkkelys)*

Haettu verkkolähteestä 19.04.2021. <http://www.fao.org/3/W8079E/w8079e0h.htm>

Finell (n.d). *Jauho, perunajauho tai -suurimo, perunatäkkelys Solanum tuberosum.*

<https://fineli.fi/fineli/fi/elintarvikkeet/162>

Gould, G. W. (2012). *New methods of food preservation*. Springer Science & Business Media.

- Hammes & Gänzle (1998). *Sourdough breads and related products*. Teoksessa: Woods BJB, toim. Microbiology of Fermented Foods. Lontoo: Blackie Academic/Professional.
- Inkinen, P. ja Tuohi, J. (2006). *Momentti 1*. Insinöörifysiikka. 4. painos. Otava.
- Jokinen, V. (2019). *CHEM-A1410 Materiaalitieteen perusteet*.  
[https://mycourses.aalto.fi/pluginfile.php/1116571/mod\\_resource/content/2/3%20Mekaaniset%20ominaisuudet%20v2.pdf](https://mycourses.aalto.fi/pluginfile.php/1116571/mod_resource/content/2/3%20Mekaaniset%20ominaisuudet%20v2.pdf)
- Katina, K. & Manner, H. (2011). *Ensyymeillä ja raskituksella lisäaineettomia leipomotuotteita*. Kehittyvä elintarvike, 42-45. [5/2011]. <http://kehittyvaelintarvike.fi/teemajutut/ensyymeilla-ja-raskituksella-lisaaineettomia-leipomotuotteita>
- Kuddus, M. (Ed.). (2018). *Enzymes in food biotechnology: Production, applications, and future prospects*. ProQuest Ebook Central <https://ebookcentral-proquest-com.ezproxy.hamk.fi>
- Leipätiedotus. *Leivän vanhenemiseen vaikuttaminen*. <https://www.leipatiedotus.fi/tietoa-leivasta/leipa-elintarvikkeena/leivan-sailytys/leivan-vanhenemiseen-vaikuttaminen.html>
- Meira. (2020). *Raaka-aineet ja niiden merkitys*. <https://meira.fi/raaka-aineet-ja-niiden-merkitys/>
- Metzger, Thomas G. (2006). *The Rheology Handbook*. 2nd revised edition. Vincentz Network.  
[https://books.google.fi/books?id=N9Fdn0MEIDIC&printsec=frontcover&dq=editions:s-3KnZmldCYC&hl=fi&sa=X&ved=2ahUKEwiYzsG4qlzWAhXL\\_CoKHSIsCVsQ6AEwAXoECAAQAg#v=onepage&q&f=false](https://books.google.fi/books?id=N9Fdn0MEIDIC&printsec=frontcover&dq=editions:s-3KnZmldCYC&hl=fi&sa=X&ved=2ahUKEwiYzsG4qlzWAhXL_CoKHSIsCVsQ6AEwAXoECAAQAg#v=onepage&q&f=false)
- Peda.net. (n.d). *Mikä on ATP?* <https://peda.net/muhos/muhoksen-lukio/oppiaineet2/biologia/beje/sa/mik%C3%A4-on-atp>
- Pohjoismaiden elintarvikkeiden metodiikkakomitea. (2005). *NMKL 98-2005 menetelmä*.
- Poutanen, K., Katina, K., & Heiniö, R-L. (2014). Rye. teoksessa W. Zhou, & Y. H. Hui (Toimittajat), *Bakery Products; Science and Technology* (2. toim., Sivut 75-87). John Wiley & Sons Ltd.  
<https://doi.org/10.1002/9781118792001.ch4>

Rahman, M. S. (Ed.). (2007). *Handbook of food preservation*. CRC press.

Rantamäki, P. (2005) *Reologia on elintarviketutkijan apuneuvo*. MTT.

<https://core.ac.uk/download/pdf/52228683.pdf>

Ruokavirasto, (1), (2019). *Yleistä mikrobeista*.

<https://www.ruokavirasto.fi/henkiloasiakkaat/tietoa-elintarvikkeista/elintarvikkeiden-turvallisen-kayton-ohjeet/ruokamyrkytykset/yleista-mikrobeista/>

Ruokavirasto, (2), (2020). *Elintarvikkeiden säilyvyyden parantaminen*.

<https://www.ruokavirasto.fi/henkiloasiakkaat/tietoa-elintarvikkeista/kasittely-ja-sailyttaminen/sailyvyyden-parantaminen/>

Ruokavirasto. (3) (2020) *Mikrobiologiset tutkimukset*.

<https://www.ruokavirasto.fi/laboratoriopalvelut/elintarviketutkimukset/mikrobiologiset-tutkimukset/>

Ryhänen, E. MTT. (2006). *Pellavasiemenen musiini tekee terveydelle hyvää*.

<https://jukuri.luke.fi/bitstream/handle/10024/462064/mtt-kjak-v63n02s10a.pdf?sequence=1>

Salovaara, H., Jussila, A., Ignatius, A. & Hurri-Martikainen, M. 2017. *Leivonnan teknologia*.

Ruokaleipä. Helsinki: Suomen leipuriliitto.

Semper (n.d.). *Gluteeniton ruokavalio ja ärtyvän suolen hoito*.

<https://www.sempergluteeniton.fi/ideoita-tietoa-%C3%A4rtyv%C3%A4n-suolen-oireyhtym%C3%A4-ibs/gluteeniton-ruokavalio-ja-%C3%A4rtyv%C3%A4n-suolen-hoito>

Sinnott, M.L. (2007). *Carbohydrate Chemistry and Biochemistry. Structure and Mechanism*. 2.

painos. Cambridge: The Royal Society of Chemistry.

[https://books.google.fi/books?hl=fi&lr=&id=FngVFTvSbQoC&oi=fnd&pg=PA1&dq=Carbohydrate+Chemistry+and+Biochemistry.+Structure+and+Mechanism.+2.+painos.+Cambridge:+The+Royal+Society+of+Chemistry&ots=6OIUL-YhK7&sig=lyUyG4sSoRK1POCMXbpX2T-1jvo&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.fi/books?hl=fi&lr=&id=FngVFTvSbQoC&oi=fnd&pg=PA1&dq=Carbohydrate+Chemistry+and+Biochemistry.+Structure+and+Mechanism.+2.+painos.+Cambridge:+The+Royal+Society+of+Chemistry&ots=6OIUL-YhK7&sig=lyUyG4sSoRK1POCMXbpX2T-1jvo&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)

Suomen standardisoimisliitto. (2014). *Standardi SFS-EN ISO 4833-1*.

The Pennsylvania State University. (2016). *Structure of Starches*.

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19476337.2018.1518343>

The Universal Protein Resource. (n.d.). *UniProtKB -P19531 (AMYM\_GEOSE)*. <http://www.uniprot.org/uniprot/P19531>

Tunturi, S. (2020). *Terveyskirjasto. Keliakia*.

[https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=dlk00026](https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00026)

Tuorila, H. & Ulla Appelbye. (2016). *Elintarvikkeiden aistinvaraiset tutkimusmenetelmät*.

Tuorila, H., Parkkinen, K. & Tolonen, K. (2008). *Aistit ammattikäyttöön*. WSOY:

Gaudeamus Helsinki university press.

Valjakka, T., Katina, K., & Kerijoki, H. (2003). *Sourdough bread in Finland and Eastern Europe*.

Teoksessa K. Kulp, & Lorenz (Toimittajat), *Handbook of Dough Fermentations* Marcel Dekker.

Vehmaanperä, J. 2013. *Teollisuusentsyymit –modernia bioprosessitekniikkaa*. [PDF].

[http://www.finbio.net/download/biotech-week\\_2013/jari-vehmaanpera.pdf](http://www.finbio.net/download/biotech-week_2013/jari-vehmaanpera.pdf)

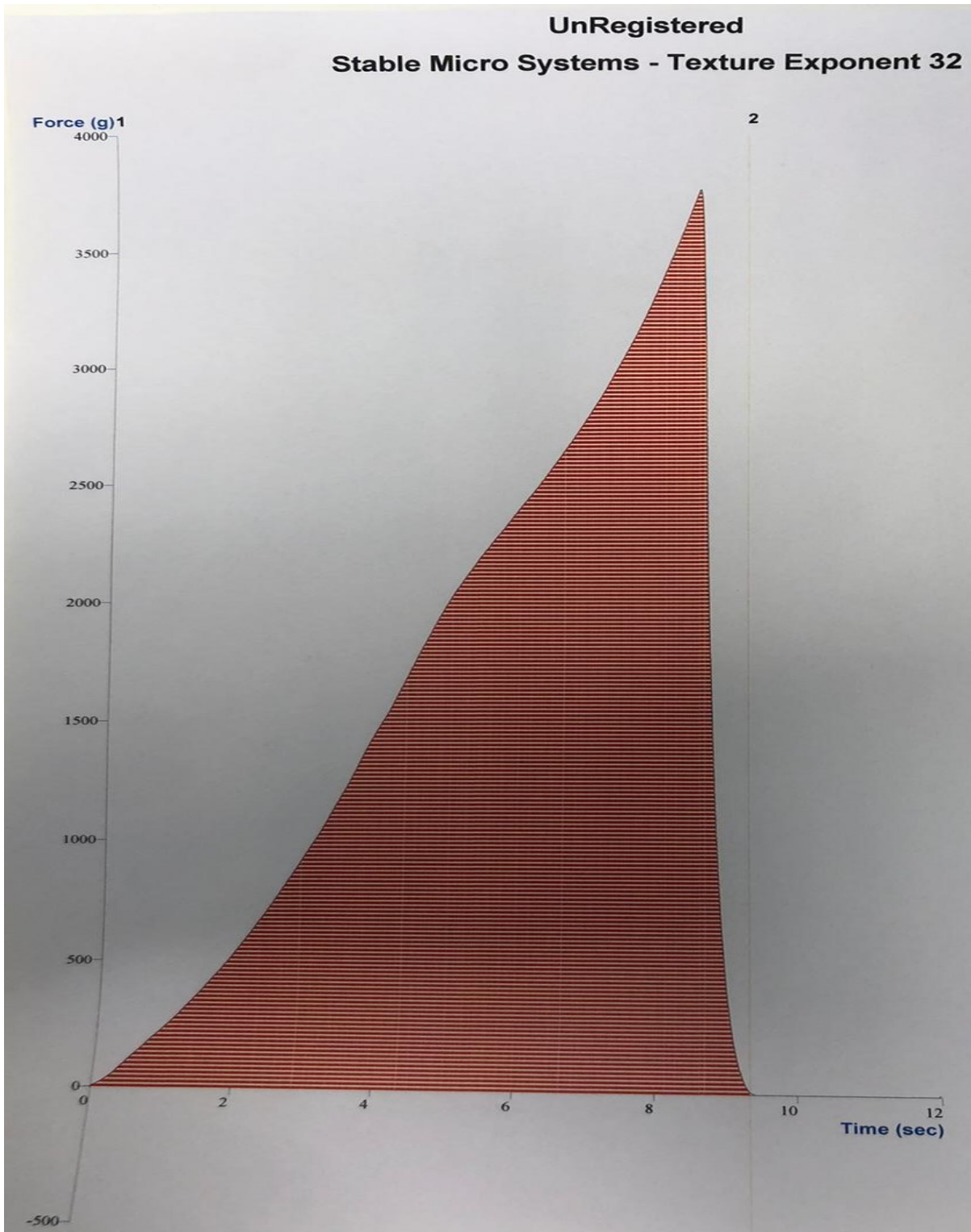
VRN. (2015) *Valtion ravitsemusneuvottelukunta suosittelee seuraavia toimenpiteitä jodin saannin*

*parantamiseksi*. [https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/teemat/terveytta-edistava-](https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/teemat/terveytta-edistava-ruokavalio/ravitsemus--ja-ruokasuositukset/erityisohjeet-ja-rajotukset/vrn_jodi_toimenpidesuositus_10.2.2015_suomi.pdf)

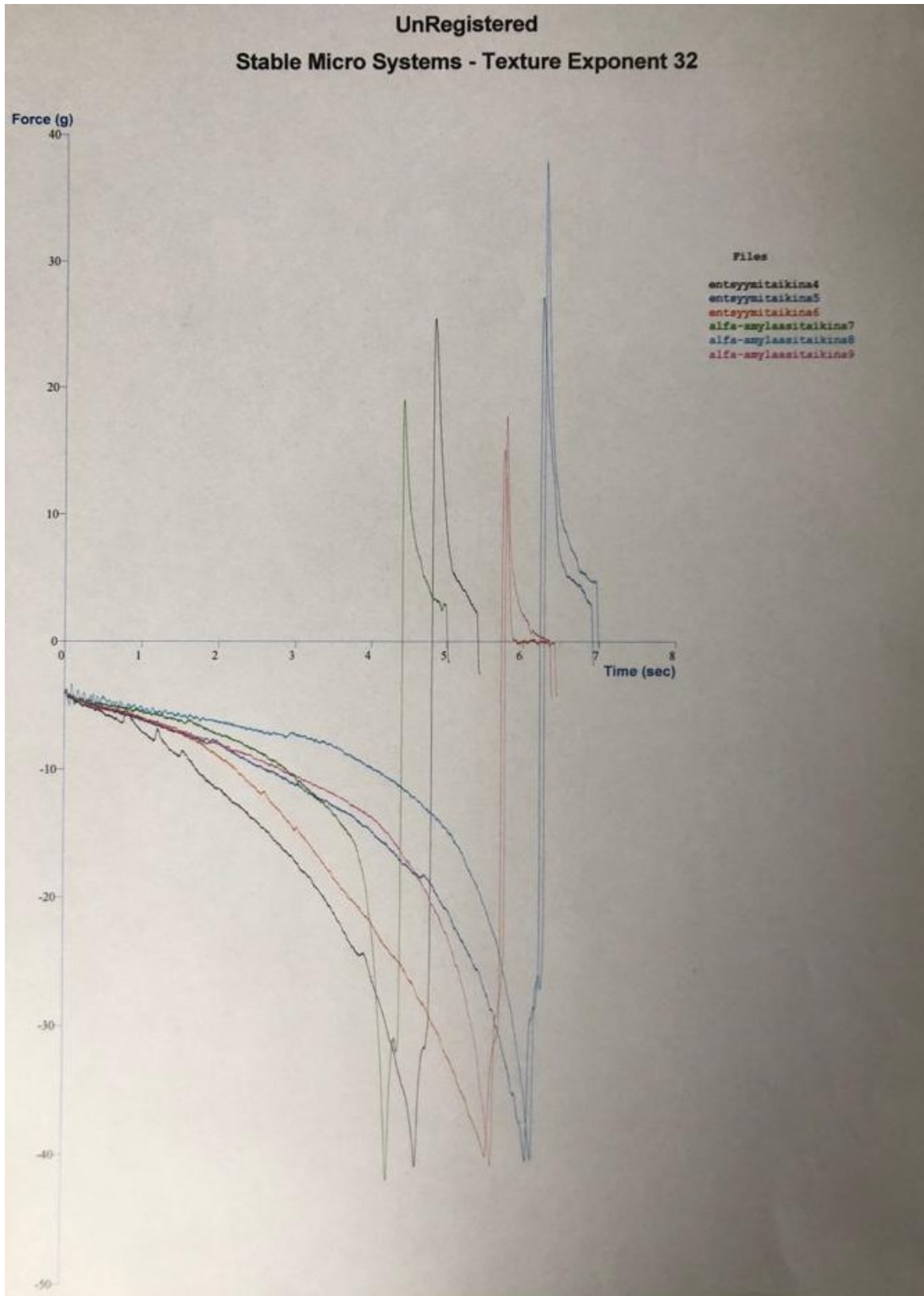
[ruokavalio/ravitsemus--ja-ruokasuositukset/erityisohjeet-ja-](https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/teemat/terveytta-edistava-ruokavalio/ravitsemus--ja-ruokasuositukset/erityisohjeet-ja-rajotukset/vrn_jodi_toimenpidesuositus_10.2.2015_suomi.pdf)

[rajotukset/vrn\\_jodi\\_toimenpidesuositus\\_10.2.2015\\_suomi.pdf](https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/teemat/terveytta-edistava-ruokavalio/ravitsemus--ja-ruokasuositukset/erityisohjeet-ja-rajotukset/vrn_jodi_toimenpidesuositus_10.2.2015_suomi.pdf)

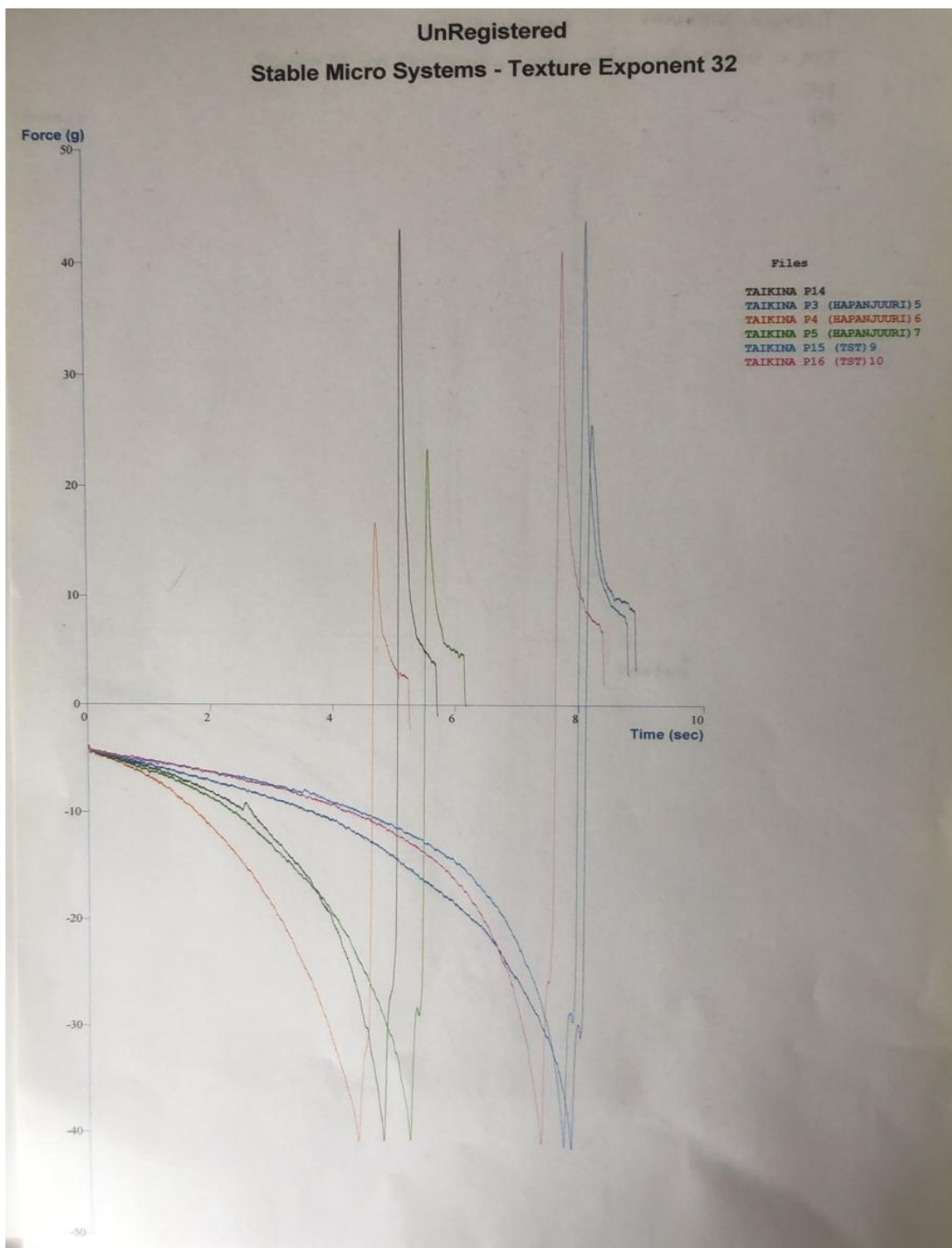
Liite 1. Pullan kovuus pinta-alakuvaaja



Liite 2. Taikinatarttuvuus B2 & B4.

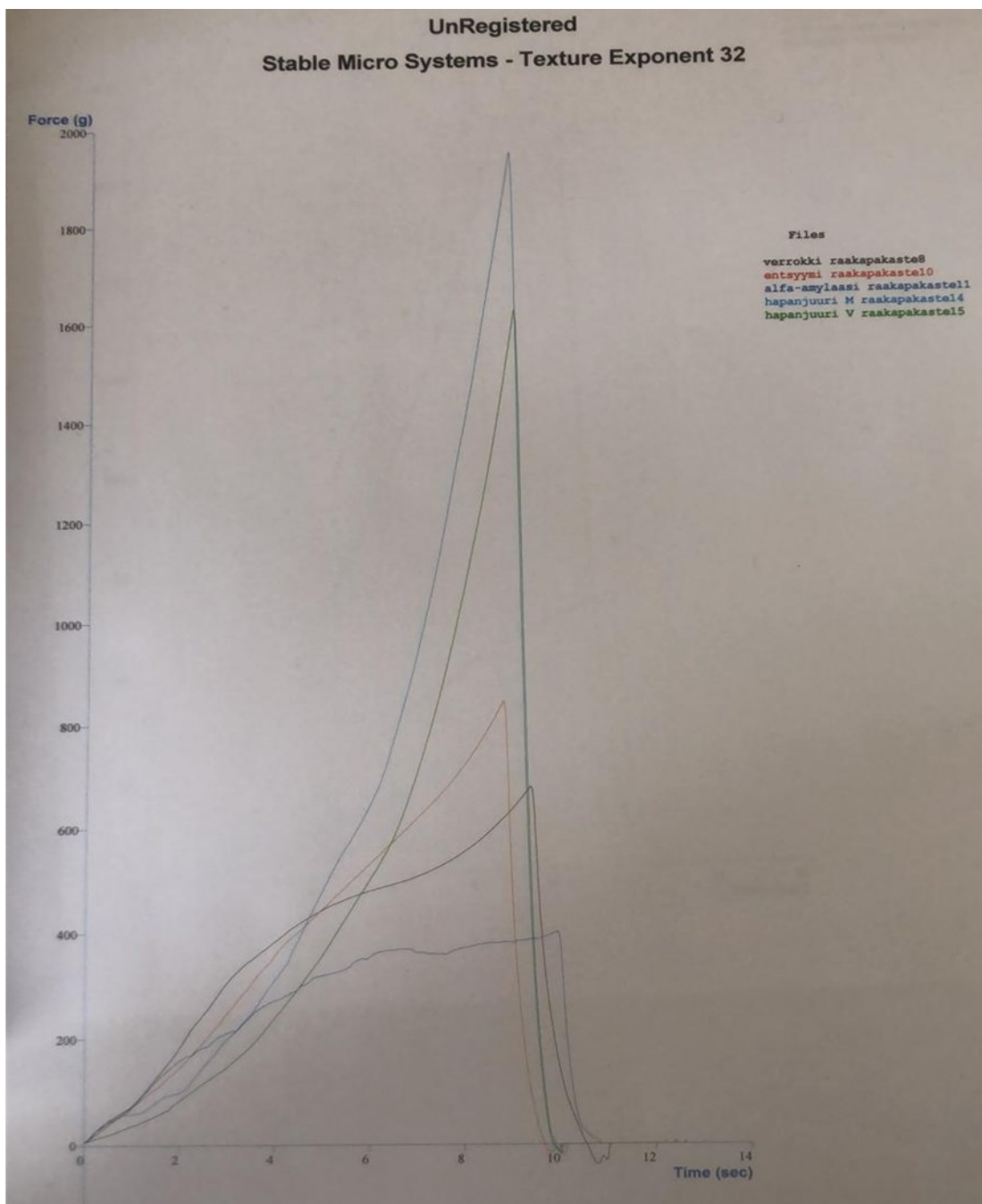


Liite 3. Taikinatarttuvuus B1 ja B3.



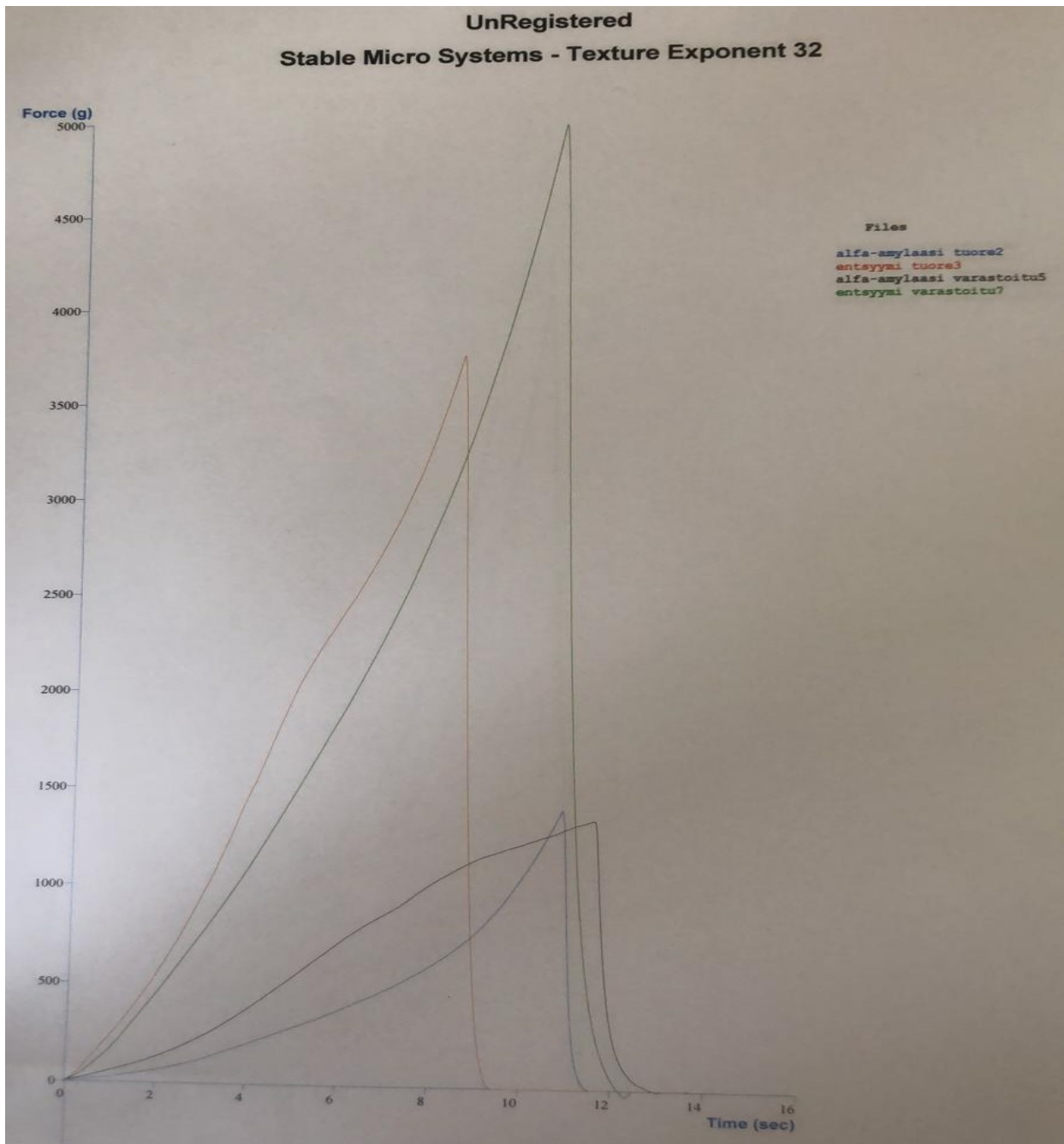


## Liite 4. Kovuuden mittaus, paistettu raakapakastepulla B1, B2, B3, B4.





## Liite 5. Kovuuden mittaus tuore &amp; vanha B2 ja B4.



## Liite 6. Mikrobiologia, mittausepävarmuus tutkituista tuotteista.

## MITTAUSEPÄVARMUUSTIEDOT

Määrittäminen	Näyte	Tuloksen epävarmuus	Määrittämisspvm.
*Mikrobien kok.lukumäärä 30°C	2021/28770	Määrittämissrajan alitus	9.4.2021
	2021/28771	±35%	9.4.2021
	2021/28772	±35%	9.4.2021
	2021/28773	Määrittämissrajan alitus	9.4.2021
	2021/28774	±35%	12.4.2021
	2021/28775	±35%	12.4.2021
	2021/28776	±35%	12.4.2021
	2021/28777	±35%	12.4.2021
*Homeet	2021/28770	Määrittämissrajan alitus	9.4.2021
	2021/28771	Määrittämissrajan alitus	9.4.2021
	2021/28772	Määrittämissrajan alitus	9.4.2021
	2021/28773	Määrittämissrajan alitus	9.4.2021
	2021/28774	Määrittämissrajan alitus	12.4.2021
	2021/28775	Määrittämissrajan alitus	12.4.2021
	2021/28776	Määrittämissrajan alitus	12.4.2021
	2021/28777	Määrittämissrajan alitus	12.4.2021
*Hiivat	2021/28770	Määrittämissrajan alitus	9.4.2021
	2021/28771	Määrittämissrajan alitus	9.4.2021
	2021/28772	Määrittämissrajan alitus	9.4.2021
	2021/28773	Määrittämissrajan alitus	9.4.2021
	2021/28774	Määrittämissrajan alitus	12.4.2021
	2021/28775	Määrittämissrajan alitus	12.4.2021
	2021/28776	Määrittämissrajan alitus	12.4.2021
	2021/28777	Määrittämissrajan alitus	12.4.2021

## Liite 7. Aistinvaraisen arvioinnin ANOVA yksisuuntainen analyysi, B1, B2, B3 ja B4 tuotteista.

Anova: yksisuuntainen						
YHTEENVETO						
<i>Ryhmät</i>	<i>lukumäärä</i>	<i>Summa</i>	<i>Keskiarvo</i>	<i>Varianssi</i>		
B1	11	67,2375	6,1125	0,488906		
B2	11	78,41429	7,128571	0,356939		
B3	11	46,2	4,2	0,419375		
B4	11	82,65714	7,514286	0,253878		
ANOVA						
<i>ihTELUN läh</i>	<i>NS</i>	<i>va</i>	<i>KN</i>	<i>F</i>	<i>P-arvo</i>	<i>F-kriittinen</i>
Luokkien	72,50336	3	24,16779	63,63722	2,78E-15	2,838745
Ryhmissä	15,19098	40	0,379774			
Yhteensä	87,69433	43				

## Liite 8. Aistinvarainen arviointi -lomake.

### AISTINVARAINEN ARVIOINTI

TUOTE \_\_\_\_\_

Aistinvarainen arviointi on suunnattu sinulle, joka maistat juuri kehiteltyjä gluteenittomia koepullia. Pullat ovat tuotekehitysprosessin seurauksena syntyneitä tuoteversioita, joista arvioit mm. makua, hajua ja rakennetta mieltymysasteikolla 1-10. Tee arviointi yksin ja vältä keskustelua vastaamisen aikana.

1. Pidän todella epämiellyttävänä
2. Pidän hieman epämiellyttävänä
3. Pidän epämiellyttävänä
4. Enemmän epämiellyttävä kuin miellyttävä
5. En pidä tuotetta erityisen miellyttävänä tai epämiellyttävänä
6. Enemmän miellyttävä kuin epämiellyttävä
7. Pidän miellyttävänä
8. Pidän melko miellyttävänä
9. Pidän todella miellyttävänä
10. Pidän onnistuneena

Sytkö yleensä gluteenitonta ruokaa?

KYLLÄ \_\_\_\_\_ EI \_\_\_\_\_

1. Kuinka houkutteleva tuote on ulkonäöltään \_\_\_\_\_
2. Miltä tuotteen rakenne tuntuu maisteltaessa \_\_\_\_\_
3. Pullan kosteus \_\_\_\_\_
4. Pullan pehmeys \_\_\_\_\_
5. Pullan haju \_\_\_\_\_
6. Pullan makeus \_\_\_\_\_
7. Pullan suolaisuus \_\_\_\_\_
8. Pullan happamuus \_\_\_\_\_
9. Pullan kokonaismaun voimakkuus \_\_\_\_\_
10. Pullan miellyttävyyden kokonaisarvosana \_\_\_\_\_
11. Ostaisitko tuotteen? (Laita rasti)

KYLLÄ \_\_\_\_\_ EHKÄ \_\_\_\_\_ | EN \_\_\_\_\_

Kommentteja, ajatuksia, kehitysideoita ym. voi kirjoittaa paperin kääntöpuolelle!

KIITOS!

## Liite 9. Mikrobiologinen määrittäminen verrokista B1 (näytteistä 10785 ja 10786).

---

<b>MÄÄRITYSTULOKSET / NÄYTTEET</b>			
Määrittäminen	Yksikkö	10785	10786
*Mikrobien kok.lukumäärä 30°C	pmy/g	<1000	<1000
*Homeet	pmy/g	<100	<100
*Hiivat	pmy/g	<100	<100

---

