

Opinnäytetyö (AMK)

Bio- ja elintarviketekniikka

Laboratoriotekniikka

2016

Henri Kaveniemi

EPÄSPESIFISEN ARRAY- SENSORIN KEHITTÄMINEN ELINTARVIKE JA DIAGNOSTIIKKA- KÄYTTÖÖN

Henri Kaveniemi

EPÄSPESIFISEN ARRAY -SENSORIN KEHITTÄMINEN ELINTARVIKE JA DIAGNOSTIIKKA KÄYTTÖÖN

Tavoitteena oli kehittää uusi sähkökemiallinen menetelmä elintarvike- ja diagnostiikkanäytteille. Menetelmän tarkoituksena on nopeuttaa väärennettyjen tuotteiden erottamista tunnetuista näytteistä esim. erottaa väärennetty oliiviöljytuote oikeasta oliiviöljystä. Nykyiset käytössä olevat menetelmät vievät paljon aikaa ja uudella menetelmällä on tavoitteena olla nopeampi.

Kehitettävä menetelmä koostuu jännitelähteestä, mittauselektrodista ja virtamittarista. Menetelmällä mitataan virran muutosta ajanfunktiona vakiojännitteellä näytteessä. Menetelmä soveltuu runsaasti ioneja sisältävien näytteiden mittaamiseen ja erotteluun toisistaan. Tuloksista saatujen kuvaajien perusteella voidaan mahdollisesti erottaa toisistaan erilaiset näytteet niiden ioniaktiivisuuden perusteella. Näytteiden ioniaktiivisuuteen pyritään vaikuttamaan lisäämällä näytteisiin erilaisia modulaattoreita, joiden oletettaisiin vaikuttavan näytteisiin eri tavalla tuottaen eroavaisuuksia niiden välille. Kehitettävän menetelmän tuloksia verrataan luminesenssi mittauksessa saatuihin tuloksiin. Jos saavutetaan samanlaiset erottuvuudet, kuin luminesenssi mittauksessa, voitaisiin uutta menetelmää käyttää väärennettyjen tuotteiden tunnistamiseen.

Menetelmän kehittäminen ei kuitenkaan onnistunut suunnitelmien mukaisesti vaan mittausten suorittamisen aikana laitteessa ja mittauselektrodeissa havaittiin paljon erilaisia ongelmia. Laitteen häiriökestävyys on erittäin heikko, joka vaikuttaa suoritettuihin mittauksiin paljon. Menetelmällä ei saatu toistettavia tuloksia ja tulokset saattoivat vaihdella päivittäin. Mittauselektrodien kanssa oli myös paljon ongelmia. Niitä jouduttiin korjaamaan ja vaihtamaan useita kertoja ja mittauselektrodien vaihtuessa laitteistoon tehtiin myös muutoksia. Menetelmää verrattaessa luminesenssimittauksiin huomattiin että erot menetelmien erottelukyvyyssä olivat erittäin suuret ja luminesenssi menetelmä toimi huomattavasti paremmin kuin sähkökemiallinen menetelmä.

Lopuksi jouduttiin toteamaan, ettei laitteiston herkkyys riittänyt ruokaöljynäytteiden mittaamiseen luotettavasti. Useiden muutosten ja korjausten jälkeen luovuttiin menetelmäkehityksestä tämän laitteiston kohdalla.

ASIASANAT:

Menetelmäkehitys, ruokaöljyt, erottuvuus, array –sensori, elintarvikeväärennös

BACHELOR'S THESIS | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Biotechnology and Food Technology | Laboratory Technology

Harri Härmä, Kari Haajanen

2016 | 33

Henri Kaveniemi

NONSPECIFIC ARRAYSSENSOR METHOD DEVELOPMENT FOR FOOD TECHNOLOGY AND DIAGNOSTICS

The objective of this thesis was to develop a new method for food technology and diagnostics. This particular method would be used to identify counterfeit products by comparing them to real samples for example to identify adulterate olive oils. Current methods are time consuming and the method proposed in this thesis would reduce the analysis time.

The developed method consists of a power supply, a measuring electrode and an amperometer. The sample was exposed to constant voltage and the change in current was measured as a function of time. The samples are distinguished based on the differences in ionic activity which is achieved by adding different chemical modulators to the samples. The measured differences were compared to results obtained by a luminescence method.

The method development did not succeed as expected. There were many problems in the measurements and electrodes. The interference resistance of the device was fairly poor which affected the measuring procedure. The measuring results often varied each day. The measuring electrodes were constantly replaced or under maintenance and when the measuring electrodes were replaced the system had to be changed as well. A comparison of the different methods showed that with the same samples the luminescence measurement yielded higher was more sensitive than the electrochemical cell. The electrochemical cell did not reach the sensitivity needed to measure olive oils.

After many changes in the system and its measuring electrodes the development had to be abandoned. The method was not reliable enough and the sensitivity of the system in case of the olive oils was insufficient.

KEYWORDS:

method development, olive oils, differentials, array sensor, counterfeit products

SISÄLTÖ

KÄYTETYT LYHENTEET TAI SANASTO	6
1 JOHDANTO	7
2 MENETELMÄT JA NÄYTTEET	8
2.1 Luminesenssi	8
2.1.1 Aikaerotteinen fluoresenssi	10
2.1.2 Luminesenssin muodot	11
2.2 Sähkökemialliset array-sensorit	12
2.2.1 Array-sensoreiden rakenne	12
2.2.2 Erilaiset sensorit	13
2.2.3 Kemometria	14
2.3 Kolajuomat	14
2.4 Ruokaöljyt	15
3 MENETELMÄKEHITYS	16
4 EPÄSPESIFINEN ARRAY-SENSORI	17
4.1 Array-sensori	17
4.1.1 Toimintaperiaate	19
5 VERTAILUMENETELMÄ (LUMINESENSSIMITTAUS)	20
6 TYÖN SUORITUS	21
6.1 Laitteen testaus	21
6.2 Parametrien optimointi	22
6.2.1 Mittausajan optimointi	22
6.2.2 Vakiojännitteen määrittäminen	23
6.3 Erotuskemian määrittäminen	23
6.4 Mittausten suorittaminen	23
6.4.1 Array-sensori mittaus ja tulokset	23
6.4.2 Luminesenssi	27
7 TULOKSET	29
8 POHDINTAA	30

LIITTEET

- Liite 1. Kolajuomien modulaattoritestit
Liite 2. Ruokaöljyjen modulaattoritestit
Liite 3. Luminesenssimittaustulokset

KUVAT

Kuva 1. Jablonskin energiatason kuvaaja, joka kuvaa luminesenssin prosessin ² .	8
Kuva 2. Stokesin siirtymä ³	9
Kuva 3. Fluoresenssin elinikä lantanoidikelaatissa ⁴	10
Kuva 4. Stoken siirtymä europiumissa ⁴	11
Kuva 5. Yksinkertaistettu elektrokemiallinen sensori. ⁵	12
Kuva 6. Elektronisen kielen toiminta ⁹	14
Kuva 7. Mittauslaitteisto	18
Kuva 8. Näyteastiat	18
Kuva 9. Mittauselektrodit	19

KUVAAJAT

Kuvaaja 1. Kivennäisvesinäytteiden erotus toisistaan 1 V jännitteellä	21
Kuvaaja 2. Kivennäisvesinäytteiden erotus toisistaan 3 V jännitteellä	21
Kuvaaja 3. Puhtaiden kolajuomien mittaustulokset (0,1 V)	24
Kuvaaja 4. Puhtaiden kolajuomien mittaustulokset (0,3 V)	24
Kuvaaja 5. Puhtaiden kolajuomien mittaustulokset (1 V)	25
Kuvaaja 6. Puhtaiden kolajuomien mittaustulokset (3 V)	25
Kuvaaja 7. Kolajuomien erottuvuustesti.	29
Kuvaaja 8. Coca-Colan systeemitesti	30
Kuvaaja 9. Puhtaiden ruokaöljyjen mittaus	31
Kuvaaja 10. Esimerkki kuvaaja yhdestä modulaattorista.....	31

KÄYTETYT LYHENTEET TAI SANASTO

DMSO	Dimetyylisulfoksidi
Emissio	Viritystilän energian vapautuminen valona
Epäspesifinen	Mitataan jotakin arvoa näytteessä ja verrataan sitä tunnettuun referenssiin
Kompleksi	Heikoilla, ei-kovalenttisilla sidoksilla toisiinsa liittyneiden molekyylien tai ionien ryhmä
Membraani	Kalvo joka päästää lävitseen esimerkiksi joitain tiettyjä ioneja
Modulaattori	Kemiallinen aine tai aineiden sekoitus, jonka tarkoituksena on vaikuttaa näytteen kemiaan
Spesifinen	Mitataan jotain tiettyä ionia tai yhdistettä näytteessä
Stokesin siirtymä	Viritys- ja emissioaallonpituusmaksimien ero
Tyydyttymätön rasvahap.	Sisältää yhden tai useamman hiilien välisen kaksoissidoksen
Tyydyttynyt rasvahappo	Sisältää yksinkertaisia C-C sidoksia. Ei sisällä kaksoissidoksia hiili-atomien välillä
Viritystila	Elektronin korkeampi energiatila, joka ei ole pysyvä

1 JOHDANTO

Opinnäytetyössä tavoitteena oli kehittää nopea array –menetelmä elintarvike ja diagnostiikan käyttöön. Kehiteltävä menetelmä perustuu sähkökemialliseen kennoon, jossa vakio jännitteellä mitataan virran muutosta ajan funktiona näytteessä. Tavoitteena on erilaisten modulaattorien avulla saada aikaiseksi huomattava ero esim. oliivi- ja rypsiöljy näytteiden välille. Erojen avulla voitaisiin jatkossa erotella esim. väärennetty tuote vertaamalla sitä alkuperäiseen tuotteeseen. Nykyiset määrittymenetelmät samanlaisessa tutkimuksessa saattavat kestää jopa kolme päivää ja kehiteltävän menetelmällä tulokset voidaan huomata jo noin yhden minuutin kestävän mittauksen jälkeen. Menetelmää ei ole kuitenkaan ennen testattu, joten siitä ei löydy merkittävästi julkaistua tietoa.

Testaukset aloitettiin käyttäen korkean mineraalipitoisuuden sisältäviä juomavesiä ja vähämineraalisia juomavesiä, joiden avulla voitaisiin määrittää tuottaako laitteisto sähkönjohtavuuden perustuvia eroja liuoksissa. Testauksen jälkeen menetelmää pyrittiin kehittämään erilaisten kolajuomien erottamiseen ja erilaisten ruokaöljyjen erottamiseen toisistaan. Erotukseen käytettiin erilaisten kemioiden lisäämistä näytteisiin, jonka oletetaan tuottavan eroja näytteiden välille. Kemian muuttamiseen näytteessä käytetään modulaattoreita, jotka voivat olla hyvin yksinkertaisia liuoksia esim. happo- ja emäsluoksia tai rakenteeltaan monimutkaisempia kuten puskuriliuoksia tai detergenttejä. Oletuksena oli, että ongelmia saattaa tuottaa ruokaöljyjen heikko sähkönjohtavuus, jolloin niiden erotteluun toisistaan täytyy löytää sopiva sekoitusliuotin. Ruokaöljyjen kohdalla vesiliukoisten modulaattorien käyttö on hyvin epätodennäköistä heikon liukoisuuden vuoksi.

Menetelmällä saatuja tuloksia vertailtiin menetelmään, joka on kehitelty luminesenssin mittaamiseen. Tuloksien vertailussa kriittisimpänä vertailukohteenä on eri ruokaöljyjen erottuvuus toisistaan eri menetelmillä. Sähkökemiallisen menetelmän toimivuus käytännössä osoittautui työn aikana hyvin vaikeaksi ja luotettavien tulosten saaminen oli erittäin haastavaa. Ruokaöljynäytteiden mittaamisessa luminesenssimenetelmällä onnistuttiin huomattavasti paremmin verrattuna uuteen menetelmään.

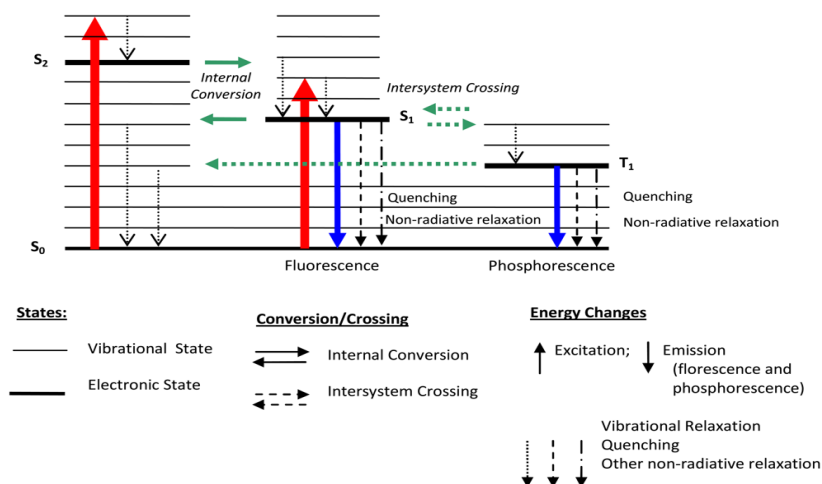
2 MENETELMÄT JA NÄYTTEET

Menetelminä työssä ovat luminesenssin mittausta ja sähkökemiallisen kenno, joka on kehitettävänä menetelmänä. Tässä osiossa käydään läpi menetelmien eri osa-alueita, ennestään kehitettyjä menetelmiä ja niiden toimintaa. Ennestään kehitetyt menetelmät on suunniteltu tiettyjen aineiden tai yhdisteiden löytämiseen ja tunnistamiseen näytteestä. Kehitettävän menetelmän tarkoituksena ei kuitenkaan ole tunnistaa jotakin tiettyä ainetta tai yhdistettä, vaan mitata näytettä kokonaisuutena ja havaita modulaattorien avulla eroja näytteiden välillä.

Näytteet ovat erilaisia kolajuomia ja ruokaöljyjä. Näytteinä käytetään ruokakaupasta ostettuja erilaisia tuotteita. Tässä osiossa perehdytään näytteiden ominaisuuksiin ja niiden sisältämiin aineisiin ja yhdisteisiin sekä yhdisteiden rakenteisiin.

2.1 Luminesenssi

Luminesenssilla tarkoitetaan valoa, joka saadaan aikaiseksi siirtämällä energiaa atomiin jonka seurauksesta atomin elektroni nousee normaalitilasta korkeammalle energia tasolle. Tätä energiatasoa kutsutaan elektronin viritystilaksi. Elektronin palatessa viritystilasta takaisin normaalitasolle se emittoi eli luovuttaa energian takaisin valona, joka voidaan mitata. Yleisesti viritystilan energia on suurempi kuin emittoitua energia.¹ Luminesenssi prosessin kuvaa hyvin Jablonskin energiataason kuvaaja (Kuva 1).

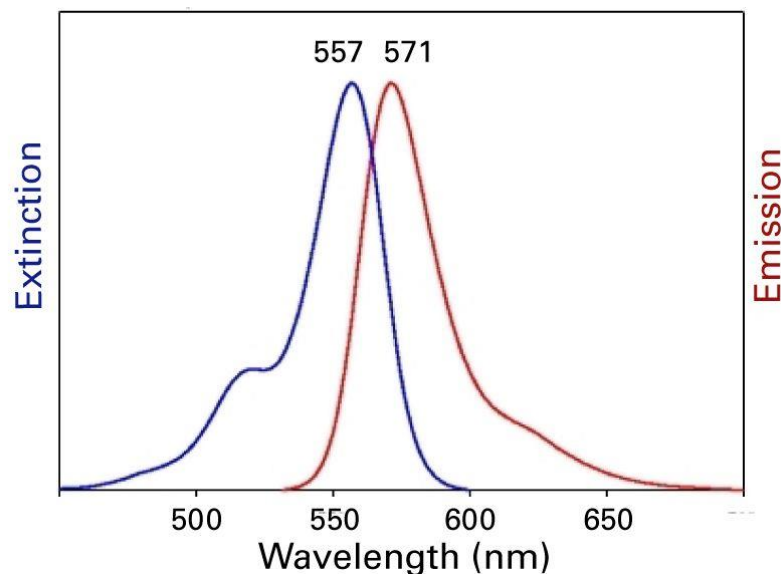


Kuva 1. Jablonskin energiataason kuvaaja, joka kuvaa luminesenssin prosessin².

Jokaisella molekyylillä on useita elektronekehiä. Kuvassa 1 eri energiatasoja kuvataan paksuilla viivoilla ja merkitään S_0 , joka on normaalitila, S_1 ja S_2 ovat eri viritystiloja. Viritystilan (S_1, S_2) saavuttaakseen elektronin täytyy absorboida riittävästi energiaa. Viritystila ei kuitenkaan ole pysyvä vaan se palaa aina normaalitilaan, koska normaalitila (S_1) on elektronin ainoa pysyvä tila. Energian häviämättömyyden lain mukaan absorboidun energian määrä täytyy palauttaa.²

Energian palautuessa elektroni siirtyy alemmalle energiatasolle. Sisäinen muutos (Internal conversion) kuvaa elektronin siirtymistä korkeammasta energiatasosta (S_2) alemmalle energiatasolle (S_1). Sisäinen muutos tapahtuu kun kaksi elektronin energiatasoa ovat tarpeeksi lähellä toisiaan.

Fluoresenssin kohdalla viritystilan muutos tapahtuu fotonin absorboituessa ja edelleen energiailan emittoidessa valoa. Tapahtumaa kutsutaan säteileväksi muutokseksi. Muutoksessa emittoiva energia on heikompaa kuin viritystilaan tarvittava energia, joka voidaan mitata korkeammalla aallonpituudella kuin absorboidun energian (Kuva 2). Tapahtumaa kuvataan myös Stokesin siirtymänä eli viritys- ja emissioaallonpituusmaksimien erona.³

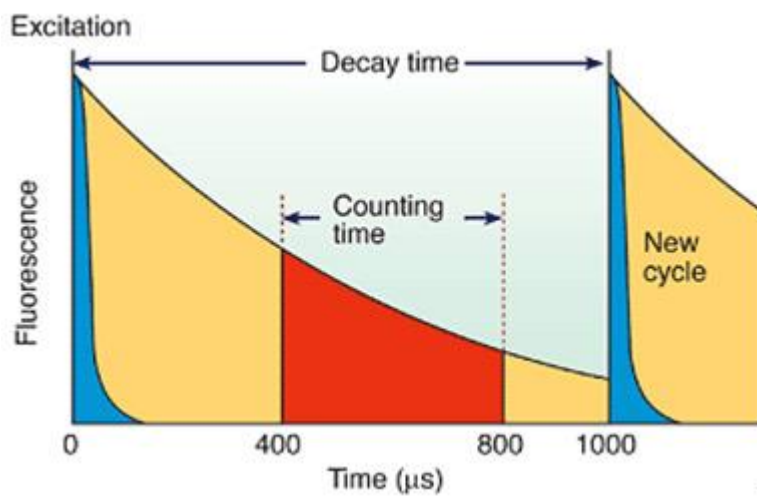


Kuva 2. Stokesin siirtymä³

Viritystilan ja emittoivan spektrien aallonpituudet ovat hyvin lähellä toisiaan, joten stokesin siirtymä on lyhyt. Aikaeroitteisella fluoresenssilla stokesin siirtymä saadaan paremmaksi, kun spektrien välinen mittausaallonpituus kasvaa.

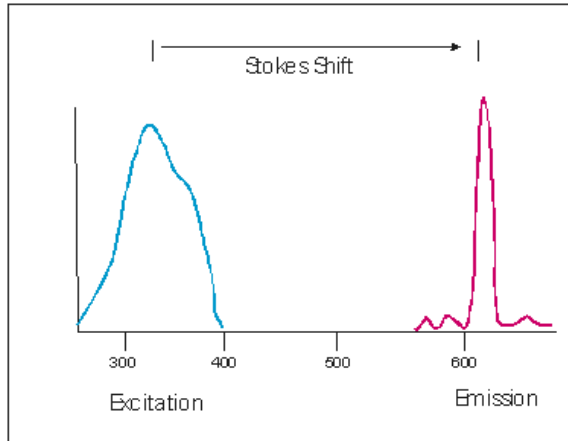
2.1.1 Aikaerotteinen fluoresenssi

Aikaerotteisessa fluoresenssissa käytetään lantanidi -ioneja, kuten terbium ja europium ioneja. Lantanidit absorboivat valoa hyvin heikosti ionina, joten ne kompleksoidaan orgaaniseen kelaattiyhdisteeseen jonka avulla lantanidikelaatit absorboivat valoa tehokkaammin ja saadaan kestävämpi viritystila (Kuva 3). Absorboitu fotonien energia siirretään lantanidille systeemin välisillä siirtymillä ja fotonit emittoituu lantanidi-ionilta. Kuvassa 3 sininen alue osoittaa absorboituvan valon ajan ja punainen alue osoittaa kohdan, jossa viritystilan purkautumisen tuottama signaali mitataan.



Kuva 3. Fluoresenssin elinikä lantanoidikelaatissa⁴

Fluoresenssi mitataan lantanidikelaatissa sykleinä eli suoritetaan useita mittauksia peräkkäin ja yksi mittaus kestää n. 100 - 400 mikrosekuntien ajan.⁴ Lantanidien käyttö tuottaa huomattavasti suurempia Stokesin siirtymiä, kuin konventionaaliset orgaaniset väriaineet (Kuva 4).⁵



Kuva 4. Stokes siirtymä europiumissa⁴

2.1.2 Luminesenssin muodot

Luminesenssia esiintyy erilaisissa tilanteissa eri tavalla. Eri muodot on nimetty energianlähteen tai luminesenssin aktivointitavan mukaan. Alla on lueteltu muutamia luminesenssin muotoja:

Fotoluminesenssi

Fotoluminesenssi koostuu fluoresenssista ja fosforesenssista. Fluoresenssissa energia tuotetaan valonsäteilyn avulla. Fluoresenssia nähdään esim. fluoresenssivaloissa, huvipuistoissa ja elokuvan erikoistehosteissa ja rubiinien punaisessa värissä auringonvalossa. Fotoluminesenssi sekoitetaan usein valon heijastumiseen, taittumiseen ja sirontaan. Fotoluminesenssissa valoa absorboituu molekyyliin ja valoa emittoituu taajuudeltaan joka on alhaisempaa kuin absorboituva valo. Fosforesenssi on pitkäikäisempää luminesenssia tai jälkiheijastusta, jossa elektroni siirtyy triplettiviritystilaan, mutta pysyykin viritystilassa kauemmin.

Kemiluminesenssi, bioluminesenssi ja elektroluminesenssi

Kemiluminesenssi on luminesenssia, jonka tuottaa kemiallinen reaktio. Pimeässä hohtavat putket ovat esimerkki kemiluminesenssista. Bioluminesenssi on elävässä organismissa tapahtuvaa luminesenssia. Se on myös yksi kemiluminesenssin muoto. Elektroluminesenssi on sähkövirran tuottamaa luminesenssia.

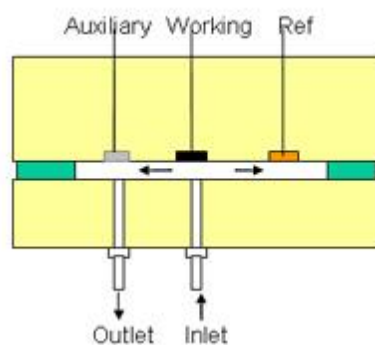
2.2 Sähkökemialliset array-sensorit

Sähkökemialliset sensorit toimivat mittaamalla sähkösignaalia näytteessä. Sensoreiden tarkoituksena on pystyä jatkuvasti mittaamaan näytteen tuottamaa signaalia ja sensorit eivät saa aiheuttaa häiriöitä näytteessä. Signaalin määrittämiseen näytteestä on erilaisia tapoja esim. jännitteen ja virran mittaaminen. Array-sensorit voivat olla spesifisiä, jossa mitataan esim. tietynlaista ioniaktiivisuutta näytteessä verrattuna tunnettuun ioniaktiivisuuteen tai epäspesifiä, jolloin näytteitä verrataan tunnettuun referenssiin ja määritetään näytteen ja referenssin välinen erotus toisistaan.

2.2.1 Array-sensoreiden rakenne

Sähkökemiallisten array-sensoreiden rakenne on suhteellisen lähellä sähkökemiallisen kennon rakennetta. Array-sensoreissa on virralle tai jännitteelle ulostuloelektrodi ja muutoksen mittauselektrodi. Ulostuloelektrodilla voidaan näytteen sisälle asettaa vakiojännite tai -virta. Mittauselektrodilla voidaan näin ollen mitata ajanfunktiona virran tai jännitteen muutosta näytteen sisällä. Sensoreissa voidaan mitata samanaikaisesti näytteen tuottama signaali sekä referenssin tuottama signaali, joka tekee useista array-menetelmistä nopeita määrittystapoja.⁶

Array-sensoreiden tarkoituksena ei yleisesti ole mitata tiettyä yhdistettä, vaan ne mittaavat näytettä kokonaisuutena ja havaitsevat erilaisia muutoksia näytteessä esim. virranmuutosta. Koska array-sensorit ovat usein epäspesifiä, mittausten rinnalle vaaditaan referenssi, johon mitattavan näytteen tuottamaa signaalia verrataan. Sähkökemialliset array-sensorit sisältävät useasti työelektrodit, joka toimii mittarina, ja vaste-elektrodi, joka tuottaa mitattavan signaalin näytteessä aiheuttamalla siellä esim. ioniaktiivisuuden muutoksen.



Kuva 5. Yksinkertaistettu elektrokemiallinen sensori.⁵

2.2.2 Erilaiset sensorit

Virtaan perustuvat sensorit

Virtaa mittaavilla sensoreilla näytteeseen syötetään vakiojännite. Jännitteen syöttäminen näytteessä aiheuttaa elektronien liikkumisen ja niiden tuottama virta voidaan mitata ajan-funktiona. Jännitteen syöttövaiheessa elektronit hajaantuvat joka aiheuttaa suuren piikin mittauksen alkuun ja alkaa sen jälkeen tasaisesti laskemaan jännitteestä riippuen.

Potentiometriset sensorit

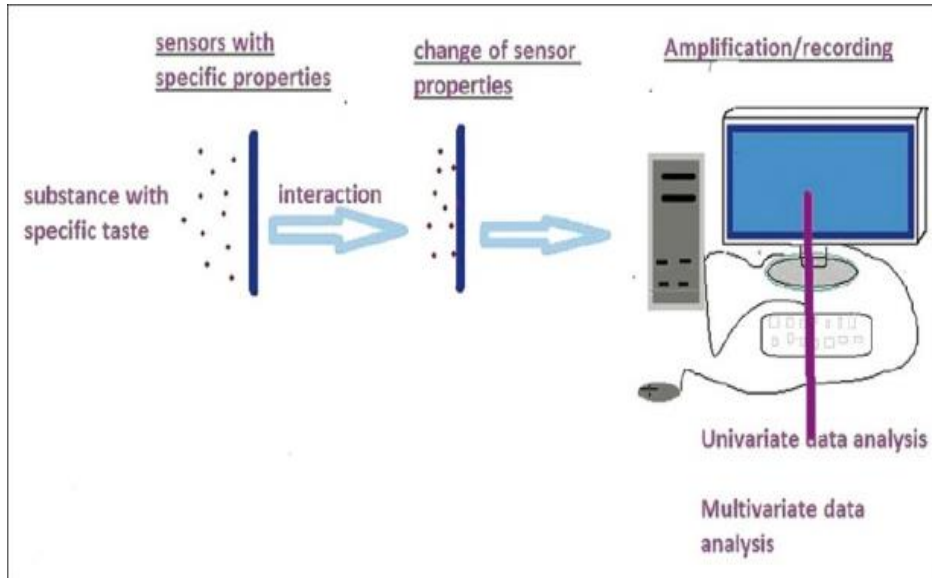
Potentiometriset sensorit perustuvat tietyn ionin tuottaman jännitteen mittaamiseen. Potentiometriset sensorit ovat elektrodeja, jotka saattavat sisältää membraanin mittauspäässä. Membraanin on suunniteltu niin että ne ovat selektiivisiä kohde ioniin.⁷

Elektroninen nenä

Elektronisen nenän tarkoituksena on matkia ihmisen hajuaistia erilaisten kemikaalien tunnistamiseen. Elektroninen nenä sisältää joukon erilaisia kemiallisia sensoreita, jotka tunnistavat kaasuja tai höyryjä. Sensorit eivät tunnista tiettyjä kemikaaleja vaan ne tunnistavat tiettyjä kemikaaliryhmiä esim. alkoholi. Jokainen sensori on näin ollen erilainen ja ne reagoivat kaasuun, joka sisältää erilaisia yhdisteitä, eri tavalla. Mittaus muodostaa signaali-mallin sensoreista joka systeemille voidaan opettaa. Edullisuutensa ja herkkyyden ansiosta elektronista nenää voidaan käyttää tilanteissa, joissa muut testit ovat liian kalliita tai ne eivät ole tarpeeksi herkkiä.⁸

Elektroninen kieli

Elektroninen kieli imitoi erilaisten maku molekyylien reagoimista ihmisen makuaisteissa kielellä. Sen pääkomponentteja ovat useat eri sensorit jotka ovat liitettyinä näytepöytään, vahvistimeen ja tietokoneeseen tiedon keräämistä varten (Kuva 6). Sensoreiden tarkoituksena on toimia makunystyröiden tavalla reagoimalla molekyylien kanssa tuottaen muutoksen potentiaaliin. Kyseisiä signaaleja verrataan psykologiisiin ihmisten reagoiteihin jotka tallennetaan tietokantaan. Tuloksia voidaan vielä verrata aikaisempiin sensoreiden tuloksiin, joita verrataan ihmisten makuaistien avulla saatuihin makujen mittasignaaleihin.^{9 10}



Kuva 6. Elektronisen kielen toiminta⁹

2.2.3 Kemometria

Kemometria on matemaattisten algoritmien avulla ratkaistua kemiallisten analyysien tietoa. Kemometrian ongelmana on matemaattisen kaavan muodostaminen kemiallisesta ongelmasta. Ongelmat johtuvat suurimmaksi osaksi kemiassa esiintyvistä olomuodon ja ympäristön muutoksista, kuten konsentraatiot, lämpötila, paine, molekyylien pintarakenne ja varaukset. Kemiallisissa reaktioissa erilaiset muutokset voivat vaikuttaa erittäin radikaalisti mittaus tuloksiin ja tiedon muuntaminen luotettavaksi muuttuu vaikeammaksi. Kemiallisten reaktioiden muuntaminen matemaattiseen muotoon näissä olosuhteissa on hyvin haastavaa ja siksi kemometria on hyvin tarkasti suunnattu tietynlaiseen muutokseen näytteen kemiassa luotettavan tiedon saamiseksi.¹¹

2.3 Kolajuomat

Erilaisia kolajuomia on markkinoilla tänä päivänä useita erilaisia. Tunnetuimpia näistä juomista ovat Coca-Cola ja Pepsi sekä näiden juomien eri vaihtoehdot kuten vähä sokeriset Coca-Cola light ja Pepsi Max. Tunnettujen merkkien lisäksi on muiden virvoitusjuomien valmistajien tuottamia kolajuomia esimerkiksi Suomessa Pirkka Cola ja Olvi Cola. Kolajuomat sisältävät hyvin paljon sokeria ja niiden valmistukseen käytetään sokerina yleensä sak-

karoosia tai maissisiirappia. Kolajuomat soveltuvat hyvin näytteiksi sähkökemialliseen mittaukseen, koska niiden oletetaan sisältävän runsaasti erilaisia ioneja ja ioniaktiivisuuteen voitaisiin näin ollen helposti vaikuttaa.

2.4 Ruokaöljyt

Ruokaöljyt koostuvat pitkistä hiiliketjuista ja ne ovat joko tyydyttyneitä tai tyydyttymättömiä rasvahappoja. Erilaisia ruokaöljyjä tuotetaan erikasveista ja hedelmistä kuten oliiviöljyt ja kasviöljyt. Ruokaöljyjen mittaukseen ei ole kehitetty nopeaa mittaussuomenetelmää ja kehitettävän menetelmän avulla voitaisiin siinä onnistua. Ruokaöljyjen ioniaktiivisuus on erittäin heikko pitkien hiiliketjujen vuoksi, mutta siihen pyritään vaikuttamaan modulaattorien avulla. Modulaattorien lisäyksellä ioniaktiivisuus saattaisi kasvaa, jonka oletetaan vaikuttavat saatavaan virran mittasignaalin huomattavasti.

Oliiviöljy

Erilaiset oliiviöljyt eristetään murskaamalla oliivit viileässä lämpötilassa ja prosessin aikana tuotetaan erilaisia oliiviöljyjä. Erotusprosessin jälkeen öljy suodatetaan ja puhdistetaan. Oliiviöljyjäkin on erilaisia kuten neitsytoliiviöljy ja puhdas oliiviöljy. Ero näiden kahden oliiviöljyn välillä on niiden ravintosisällössä. Neitsytoliiviöljyt sisältävät enemmän ravintoaineita kuin puhtaat oliiviöljyt. Neitsytoliiviöljyt poistetaan prosessissa aikaisemmin, kuin puhtaat oliiviöljyt. Neitsytoliiviöljyjen eristäminen prosessissa aikaisemmin tuottaa niissä runsaamman ravintosisällön. Prosessin jatkuessa vielä puhtaiden oliiviöljyjen kohdalla niiden ravintosisältö heikkenee, mitä kauemmin prosessi kestää.

Rypsiöljy

Rypsiöljyt eristetään rapsin siemenistä ja valmis öljy puhdistetaan epäpuhtauksista ja vesiliukoisista aineista. Rypsiöljyt eroavat oliiviöljyistä raaka-aineesta valmistusprosessiin Rypsiöljy eristetään korkeassa lämpötilassa mekaanisen prosessin avulla. Korkeat lämpötilat voivat vaikuttaa esim. rypsiöljyn omega-3 -pitoisuuteen¹². Rypsiöljy kuuluu kasviöljyihin.

3 MENETELMÄKEHITYS

Kehitettävän menetelmän pääasiallisena tarkoituksena on nopeuttaa ruokaöljyjen erottamista toisistaan. Oliiviöljyjen erottaminen väärennöksistä kestää tämän hetkisillä menetelmillä muutamana päivän ja väärennösten tunnistamista halutaan nopeuttaa huomattavasti. Jos kehitettävällä menetelmällä onnistutaan mahdollisimman yksinkertaisesti ja nopeasti erottamaan väärennetyt tuotteet oliiviöljystä, sillä olisi suuri käyttö elintarviketeollisuudessa väärennettyjen tuotteiden tunnistamisessa.

Menetelmällä halutaan ensin erottaa kaupasta saatavia tuotteita toisistaan kuten oliiviöljyt, rypsiöljyt ja auringonkukkaöljyt. Pääasiallisena vertailukohteena käytetään oliiviöljyjä ja eri oliiviöljyjen välille ei tietenkään toivota eroavaisuuksia tuloksissa vaan niiden tulisi olla suhteellisen samanlaisia. Näytteet mitataan puhtaina jo valmiiden eroavaisuuksien löytämiseksi, mutta jos näytteiden välille, esim. oliiviöljy ja rypsiöljy, ei löydy valmiiksi minkäänlaista signaalieroä lähdetään muokkaamaan näytteiden kemiaa erilaisten kemiallisten modulaattorien avulla. Modulaattorien tarkoitus on vaikuttaa näytteiden kemiaan tuottaen signaalieroä näytteiden välille. Modulaattoreita lisätään saman määrä molempiin näytteisiin ja mittauksista seurataan miten modulaattorit vaikuttavat näytteisiin. Tuloksista katsotaan muuttuvatko näytteiden mittasignaaliin samaan suuntaan vai vaikuttaako modulaattori esimerkiksi vain toisen näytteen mittasignaaliin. Lopullisena tuloksena toimii näytteiden mittasignaalien suhde tietystä ajankohdasta mittausta. Luminesenssissa toimii mittauksessa saatujen signaalien suhde eli verrataan muiden ruokaöljyjen mittaustuloksia oliiviöljynäytteisiin.

4 EPÄSPESIFINEN ARRAY-SENSORI

Tässä osiossa käydään läpi laitteen toimintaa ja sensorien rakennetta sekä niiden toimintaa. Laite on suhteellisen yksinkertainen sähkönjohtavuuden mittaukseen tarkoitettu systeemi. Mittaukseen kuuluu vakiojännite ja virran muutoksen mittaus näytteessä ajanfunktiona. Systeemin tarkoituksena on saada sähkökemian avulla eroja elintarvikenäytteiden välille.

4.1 Array-sensori

Ensimmäisen systeemin laitteisiin kuuluu jännitelähde, kultaelektrodit, jotka olivat juotosten avulla yhdistetty virtamittariin ja tietokone, jossa on mittausten suoritusta varten tarvittava ohjelma. Jännitelähde toimi vakiojännitteen jännitelähteenä sekä virtamittarina. Tietokone ohjelman avulla määritetään jännite, mittauksen kesto ja sen piirtämästä kuvaajasta voidaan seurata virran mittausta. Laitteen tekemää kuvaajaa ei voida kuitenkaan tallentaa, koska ohjelman tarkoituksena on kerätä mittausravot, joka mahdollistaa kuvaajan laatimisen mittausten jälkeen. Mittausanturi sisältää kaksi ohutta kultaelektrodia, jotka on suunniteltu mahtumaan pieneen eppendorf-putkeen. Systeemiin kuuluu myös yksi näyteastia, johon mahtuu n. 1,5 – 2 ml:n eppendorf-putki. Laite on rakennettu Åbo Akademiä Fredrik Petterssonin ja Ronald Österbackan johdolla

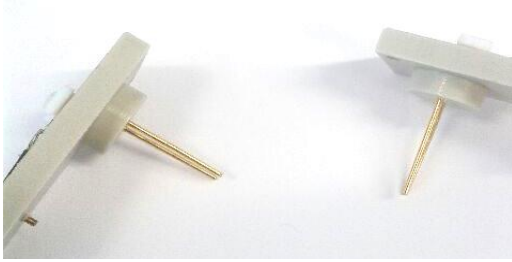
Laitteen rakennetta muutettiin menetelmäkehityksen aikana ja uuteen systeemiin (Kuva 7) lisättiin erillinen jännitelähde sekä kaksi näyteastiaa (Kuva 8) ja kaksi mittauselektrodia (Kuva 9). Uusi laitteisto pystyi näin ollen mittamaan toisiinsa verrattavat näytteet samaan aikaan ja tekemään uudella ohjelmalla molemmista näytteistä kuvaajan. Laitteen muutoksen tarkoituksena oli siis nopeuttaa mittausten kulkua ja sopivan modulaattorin löytämistä. Mittausten kanssa ilmeni kuitenkin ongelmia, kun selvisi että mittareiden mittausalue ei riittänyt öljynäytteille. Liitteen 2 lopussa olevissa kuvaajissa huomataan mittaustulosten suuri hajonta sekä kuvaajan epäselvyys. Oletettiin muiden sähkölaitteiden aiheuttavan liian suuria häiriötä mittausten aikana ja häiriöt vaikuttivat myös mittausalueen laajenemiseen.



Kuva 7. Mittauslaitteisto



Kuva 8. Näyteastiat



Kuva 9. Mittauselektrodit

4.1.1 Toimintaperiaate

Laitteiston periaate on sähkökemiallisen muutoksen mittaus näytteessä. Jännitelähteen avulla näyteastiaan lähetetään vakiojännite (0,1 – 40 V) näytteestä riippuen. Paljon ioneja sisältävien näytteiden mittaamiseen riittää pienempi jännite (1 -3 V) esim. kivennäisvedet ja kolajuomat, joissa vakiojännitteen vaikutuksesta ionit lähtevät liikkeelle liuoksessa ja kerääntyvät mittausantureihin. Öljynäytteiden kohdalla ionien liikkuvuus näytteessä on hyvin heikkoa, joten ionien liikkeen aikaan saamiseksi tarvitaan huomattavasti korkeampi jännite (20 – 40 V). Vakiojännitteen aikana näytteessä mitataan virran muutosta tietyn ajan. Mittauksen jälkeen saadusta tiedosta tehdään excelillä kuvaaja, jonka avulla voidaan määrittää näytteiden väliset erot toisistaan. Kuvaajan keskikohdilta valitaan tietty aika, jonka kohdalta lasketaan näytteiden välinen suhde.

5 VERTAILUMENETELMÄ (LUMINESENSSIMITTAUS)

Luminesenssi mittauksessa näytteen ja modulaattorien sekoittamiseen käytetään 1 –propanolia tai 1 –butanolia. Liuotin sekoitetaan ensin näytteen kanssa ja seosta pipetoidaan 100 µl kuoppalevyille. Näytteen lisäyksen jälkeen kuoppalevyille pipetoidaan erilaisia modulaattoreita näytettä sisältäviin kaivoihin. Modulaattoreiden tarkoituksena on vaikuttaa näytteiden kemiaan tuottaen huomattavia mittasignaali eroja erilaisten näytteiden välille. Mittauksissa jokaisesta näytteestä tehdään vähintään kaksi rinnakkaista, joiden keskiarvoja verrataan oliiviöljystä saattuihin luminesenssimittauksen tuloksiin. Näytteistä valmistetaan myös erilaisia sekoituksia lisäämällä oliiviöljyyn jotakin muuta ruokaöljyä tietty prosenttiosuus. Näin voidaan todeta systeemin toimivuus ja todistaa, että menetelmällä pystytään erottamaan näytteestä sinne kuulumattomia valmistusmateriaaleja.

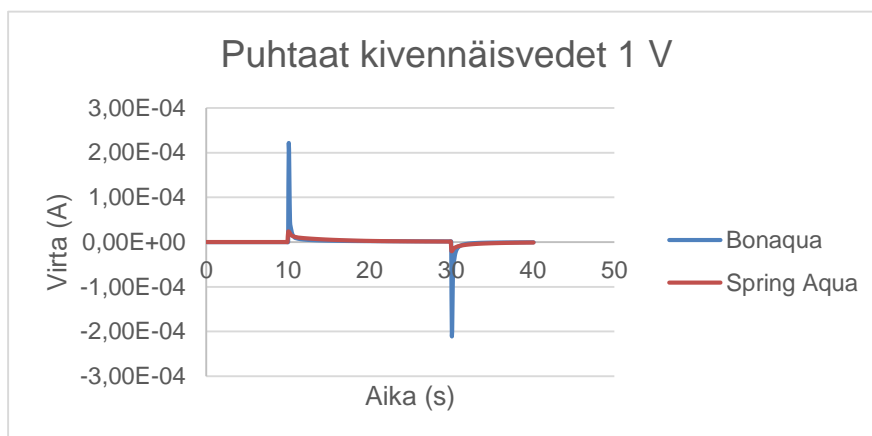
Menetelmällä saatuja tuloksia verrataan sähkökemiallisen kennon mittaustuloksiin. Tulosten vertailussa kiinnitetään huomiota erilaisten ruokaöljyjen erottuvuuteen oliiviöljyn mittaustuloksista. Tarkoituksena on molempien menetelmien avulla saada samankaltaisia erottuvuuksia oliiviöljyn ja muiden ruokaöljyjen välille. Luminesenssi menetelmän kehittäjinä ovat olleet Turun yliopistolta Harri Härmä ja Ranskasta saapunut harjoittelija Axel Sochon. Opinnäytetyön vertailumateriaalina käytetään heidän työnsä tuloksia. Menetelmässä käytetään samantapaisia modulaattoreita, kuin aikaisemmassa tutkimuksessa.¹³ Toimeksiantajan pyynnöstä työssä käytettävien modulaattorien kemiaa ei opinnäytetyössä kerrota.

6 TYÖN SUORITUS

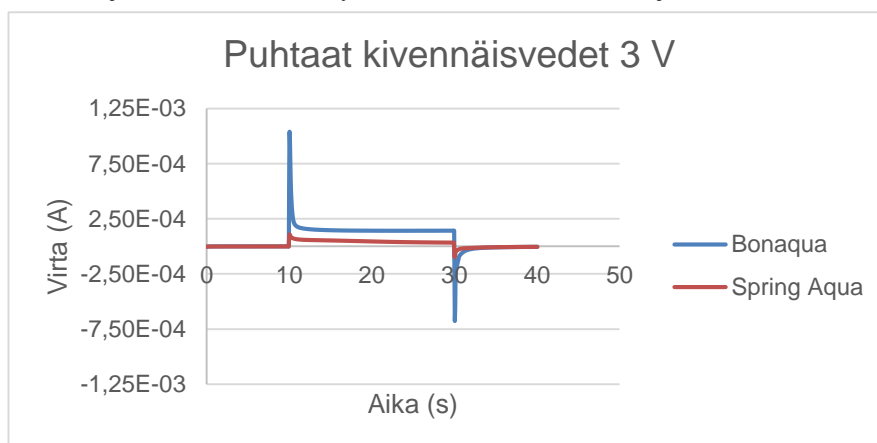
Laite valmistettiin Turun yliopistolle Åbo Akademin fysiikan osastolla. Toimivuuden testaamisen ja laitteeseen perehdytyksen jälkeen aloitettiin systeemin testaaminen.

6.1 Laitteen testaus

Laitteen testaus aloitettiin kaupallisilla mineraalivesillä. Mitattiin näytteet vakiojännitteellä, joka vesien kohdalla oli 1 V ja 3 V, ja tehtiin kuvaajat virran muutoksesta ajanfunktiona. Huomattiin kuitenkin että 1 V jännite ei tuottanut vesinäytteissä suurempia eroja ja 3 V jännite tuotti parempia erotuksia näytteiden välille (Kuvaajat 1 ja 2).



Kuvaaja 1. Kivennäisvesinäytteiden erotus toisistaan 1 V jännitteellä



Kuvaaja 2. Kivennäisvesinäytteiden erotus toisistaan 3 V jännitteellä

Kuvaajien tarkoituksena oli selvittää millä jännitteen arvolla saadaan eroa aikaiseksi. 3 V jännite osoittautui huomattavasti paremmaksi kuin 1 V jännite, jossa eroja ei ole näytteiden välillä kovinkaan paljon.

6.2 Parametrien optimointi

Parametreja mittauksessa ei kovinkaan montaa määritettävänä ole tärkeimpiä mittaukseen liittyviä parametreja ovat vakiojännitteen määrittäminen ja mittausajan määrittäminen. Alussa mittauksiin käytettiin yksinkertaista laitetta, jolla pystyttiin mittaamaan yksi näyte kerrallaan.

Mittauslaitetta kuitenkin muutettiin opinnäytetyön aikana siten, että sillä pystyttäisiin mittaamaan kaksi näytettä samanaikaisesti. Erot huomattaisiin heti tietokoneohjelman piirtämisestä kuvaajista, ja jos eroja ei muodostuisi, voidaan modulaattorin lisääminen näytteeseen lopettaa. Uudessa laitteistossa huomattiin kuitenkin ongelmana näytteiden suuri hajonta mittauksissa. Ongelmaa tutkittaessa huomattiin, että laitteen herkkyys ei ollut riittävä öljynäytteiden kohdalla.

6.2.1 Mittausajan optimointi

Kriittiset mittausajat systeemillä olivat 10 s tasoitus alkuun, 20 s mittaus vakiojännitteellä ja 10 s tasoitus loppuun.

Mittauslaitetta kuitenkin muutettiin opinnäytetyön aikana siten että sillä pystyttäisiin mittaamaan kaksi näytettä samanaikaisesti, jolloin erot huomattaisiin heti tietokoneohjelman piirtämisestä kuvaajista. Kyseisen systeemin muutos vähentää tutkimukseen menevää aikaa, koska erilaisten modulaattorien vaikutukset huomataan heti toisiinsa verrattavissa näytteissä. Päivityksen myötä mittaukset muuttuivat sykleihin. Yhden syklin kesto on n. 8,2 s. Sykleinä saadut mittaukset koostuivat mittausajasta (8,2 s), jossa mittaustuloksia kerättiin useita ja hyvin nopeaan tahtiin, ja mittausten välisestä ajasta, jossa mittaustuloksia ei kerätty yhtä runsaasti.

6.2.2 Vakiojännitteen määrittäminen

Jännitteen määrittäminen tehtiin eri näytteille yksilöllisesti. Kolajuomien kohdalla luotettavimmat tulokset saatiin 3 V jännitteellä ja ruokaöljyjen kohdalla luotettavimmat tulokset saatiin 10 – 30 V jännitteellä. Öljynäytteiden kohdalla vakiojännitteen määrittäminen oli erittäin haastavaa, koska puhtaiden öljyjen sähkönjohtavuus on lähellä nollaa.

6.3 Erotuskemian määrittäminen

Olosuhteiden määrittämisen jälkeen aloitettiin erotuskemian suunnitteleminen. Erotuskemian testaaminen aloitettiin kolajuomilla, joihin lisättiin erilaisia happamia ja emäksisiä liuoksia sekä puskuriliuoksia. Kolajuomilla ja ruokaöljyillä testattiin myös yhtä detergenttiä, mutta se ei tuottanut näytteiden välille eroja.

Luminesenssi mittauksessa käytetään erilaisia modulaattoreita, kuin sähkökemiallisessa kennonossa. Modulaattoreina käytetään aktivoivia modulaattoreita, jotka parantavat näytteen luminesenssi mittauksessa saatavia signaaleja. Modulaattorien koostumusta ei kuitenkaan opinnäytetyössä kerrota toimeksiantajan pyynnöstä.

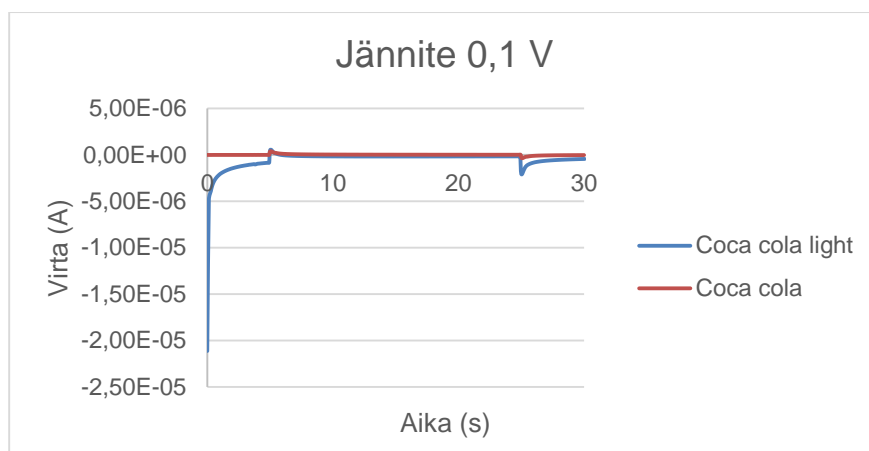
6.4 Mittausten suorittaminen

Sähkökemialliset mittaukset suoritettiin samassa laboratoriossa, kuin luminesenssimittaukset. Prosessien kulku oli kuitenkin hyvin erilainen. Sähkökemialliset mittaukset olivat huomattavasti nopeampia, kuin luminesenssi mittaukset. Luminesenssimittauksessa käytettävät tulokset ovat toisen harjoittelijan tekemiä, mutta mittausperiaatteeseen ja mittausten suorittamiseen on perehdytty.

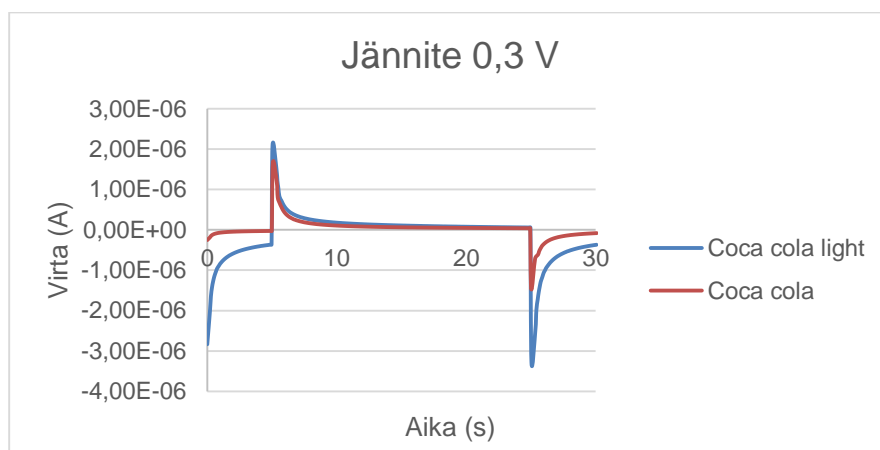
6.4.1 Array-sensori mittaus ja tulokset

Mittaukset aloitettiin mittaamalla kolajuomia. Näytteinä käytettiin kaupasta ostettuja kolajuomia. Ensimmäisinä näytteinä käytettiin Coca-Colaa ja Coca-Cola Light virvoitusjuomia. Näytteitä pipetoitiin 1,5 – 2 ml eppendorf-putkiin 1 ml. Mitattiin alussa puhtaat

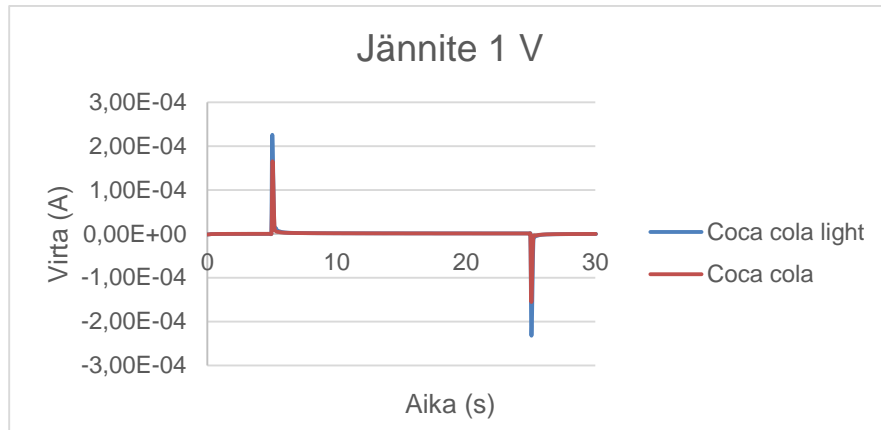
kolajuomat eri jännitteillä, jonka avulla määritettiin paras mahdollinen erotus näytteiden välille. Mittaukset suoritettiin jännitteillä 0,1 V, 0,3 V, 1 V ja 3 V (Kuvaajat 3 – 6). Mittauksissa käytettiin 10 s tasausta alussa, 20 s jännitteellä ja 10 s tasaus loppuun, mutta testeissä käytettiin lyhyempiä mittausaikoja, koska tavoitteena oli ainoastaan sopivan jännitteen löytäminen. Mittausten kuvaajat näkyvät alla. Testien perusteella päätettiin mittauksissa käyttää 3 V jännitettä. Kuvaajista huomattiin että 3 V jännitteellä (Kuvaaja 6) saatiin hyvänlaatuinen kuvaaja, josta näytteiden väliset erot olisi helppo havaita modulaattoria lisäämällä. Ensimmäisinä modulaattoreina käytettiin suolaliuosta sekä happo- ja emäsluoksia, joita lisättiin näytteisiin asteittain eri tilavuuksia.



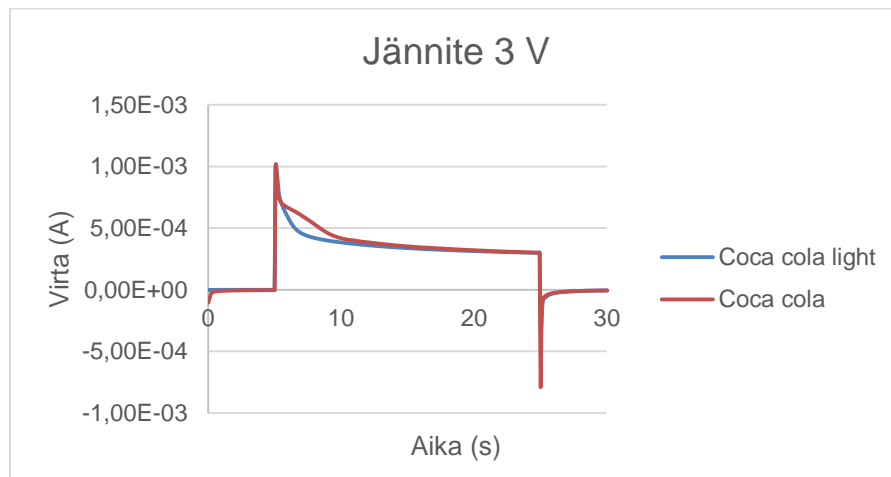
Kuvaaja 3. Puhtaiden kolajuomien mittaustulokset (0,1 V)



Kuvaaja 4. Puhtaiden kolajuomien mittaustulokset (0,3 V)



Kuvaaja 5. Puhtaiden kolajuomien mittaustulokset (1 V)



Kuvaaja 6. Puhtaiden kolajuomien mittaustulokset (3 V)

Modulaattoreina käytettiin alussa suolaliuosta, jota lisättiin näytteisiin eri pitoisuuksia. Suolaliuksella ei kuitenkaan saatu aikaiseksi toivottuja eroavaisuuksia näytteiden välille, joten näytteisiin aloitettiin lisäämään useita erilaisia liuoksia. Lisättyjä liuoksia olivat suolahappo, natriumhydroksidi, kalsiumkloridi ja mangaanikloridi.

Happoa lisättäessä näytteeseen erot vaikuttivat erittäin hyviltä, mutta systeemitesti osoitti, että tulokset eivät olleet toistettavia. Hapon lisäämistä testattiin jokaisella näytteellä ja erot eivät olleet riittävät näytteiden välillä. Näytteiden sekoitukseen käytettiin alussa pipetointia

ottamalla liuosta pipetinkärkeen pipetillä ja pipetoimalla se takasin. Pipetointisekoitusmenetelmä ei kuitenkaan toiminut. Mittaustulosten toistettavuus tällä sekoitusmenetelmällä oli huono. Tämän kokeilun jälkeen siirryttiin vortex-sekoitukseen kaikilla näytteillä.

Natriumhydroksidi ei tuottanut kovinkaan suuria eroja kolajuomien välille ja kalsiumkloridi tai mangaanikloridi aiheutti saostumaa kultaelektrodien pinnalle. Saostuma saatiin kuitenkin poistettua elektrodeista mittaamalla puhdasta suolahappoa. Poistossa käytetyn suolahapon pitoisuus oli 5 M.

Kolajuomien toisistaan erottaminen sähkökemiallisella kennolla lopetettiin useiden eri testien ja modulaattorien jälkeen. Suurimpina syinä olivat huono erottuvuus näytteiden välillä sekä systeemin heikko toistettavuus. Testit suoritettiin vanhemmalla systeemillä, jolla pystyttiin mittaamaan yksi näyte kerrallaan. Testien tulokset ovat liitteessä 1.

Oliiviöljyjen mittaukset aloitettiin sekoittamalla näytteet 1-propanoliin. Laimennoksen suhde oli 50:50 eli eppendorffputkeen lisättiin 500 µl öljynäytettä ja 500 µl 1-propanolia. Näytteet sekoitettiin vortexilla ja mitattiin 40 V jännitteellä. Näytteissä huomattiin tässä vaiheessa jo pientä erotusta, joten näytteisiin lisättiin modulaattoreina kahta väriainetta, jotka olivat quencher 14 ja 16, ja detergenttiä (CTAB). Modulaattorien avulla saatiin hyvin pieniä erotuksia, mutta mitattaessa täysin puhtaita öljyjä ilman 1-propanolia huomattiin, että näytteiden välille ei muodostunut mitään erotusta. Tästä pääteltiin että 1-propanolin lisääminen saattoi muokata eroa näytteiden välille, joten liuotin jätettiin kokonaan pois ja aloitettiin työskentelemään puhtaiden öljyjen kanssa ja lisäämään modulaattorit suoraan öljyihin.

Puhtaiden ruokaöljyjen kohdalla osoittautui ongelmalliseksi modulaattorien lisääminen niin että ne sekoittuisivat näytteiden kanssa. Modulaattoreina käytettiin erilaisia väriaineita ja niiden liukeneminen 1-propanoliin oli hyvin heikkoa. Modulaattorien testauksen alussa liuottimena käytettiin dimetyylisulfoksidia (DMSO), mutta lisättäessä modulaattorit näytteeseen huomattiin että ne eivät sekoittuneet näytteen kanssa. Modulaattoreita muokattiin sekoittamalla DMSO:n liuotettu väriaine 1-butanoliin sekoitussuhteella 1:5 eli yksi osa väriainetta ja loput 1-butanolia. Väriaineet eivät vaikuttaneet näytteisiin toivotulla tavalla vaan erotukset pysyivät edelleen hyvin heikkoina tai niitä ei esiintynyt laisinkaan. Testit suoritettiin päivitetyllä laitteistolla, jolla pystyttiin mittaamaan molemmat näytteet samaan aikaan. Ruokaöljynäytteiden tulokset ovat liitteessä 2.

Uudessa laitteistossa, johon kuului kaksi mittaustastia ja elektrodiä sekä erillinen jännitelähde, alkoi hyvin nopeasti esiintyä suuria ongelmia. Mittauspisteiden välinen hajonta oli

erittäin suuri ja toinen mittauselektrodi alkoi antamaan negatiivisia tuloksia. Ongelmien lähteeksi oletettiin mittauselektrodien juotokset johtoihin ja ne lähtivät korjattavaksi Åbo Akademin tiloihin. Negatiiviset tulokset saatiin poistettua uusilla juotoksilla, mutta suuri hajonta mittauspisteiden välillä säilyi. Hajonnan syyksi todettiin mittareiden riittämätön herkkyys sekä ympärillä olevien sähkölaitteiden aiheuttama häiriö.

Useiden eri muutosten, modulaattorien ja laitteen ongelmien vuoksi päätettiin lopettaa mitausten suorittaminen laitteella. Syyt olivat selvät. Laitteen mittausalue ja herkkyys eivät riittäneet ruokaöljynäytteille ja kolajuomien välille ei saatu riittävän suuria eroja tai mitaukset eivät olleet toistettavia.

Kolajuomien kohdalla todettiin, että näytteistä saatavat tulokset vaihtelivat päivittäin ja saman päivän aikana tehdyt mitaukset saattoivat myös erota toisistaan huomattavasti. Ruokaöljyjen kohdalla todettiin että niiden rakenteen vuoksi erojen aikaan saaminen olisi vienyt liikaa aikaa ja monimutkaisia toimenpiteitä yksinkertaista ja nopeaa menetelmää kehitettäessä.

6.4.2 Luminesenssi

Mittauksissa näytteenä käytettiin kaupasta ostettuja ruokaöljyjä. Ruokaöljyistä löytyi näytteinä oliiviöljyjä, rypsiöljyjä ja auringonkukkaöljyjä. Näytteistä testattiin ensimmäisenä sekoittuvuus erilaisten liuottimien kanssa. Liuottimina testattiin 1 –propanolia, 1 –butanolia ja 2 –propanolia. 2 –propanoli oli heikoin liuotin, koska se muodosti samean liuoksen ruokaöljyjen kanssa hetken odotuksen jälkeen. Testauksissa käytettiin näin ollen 1 -propanolia ja 1 -butanolia liuotinta.

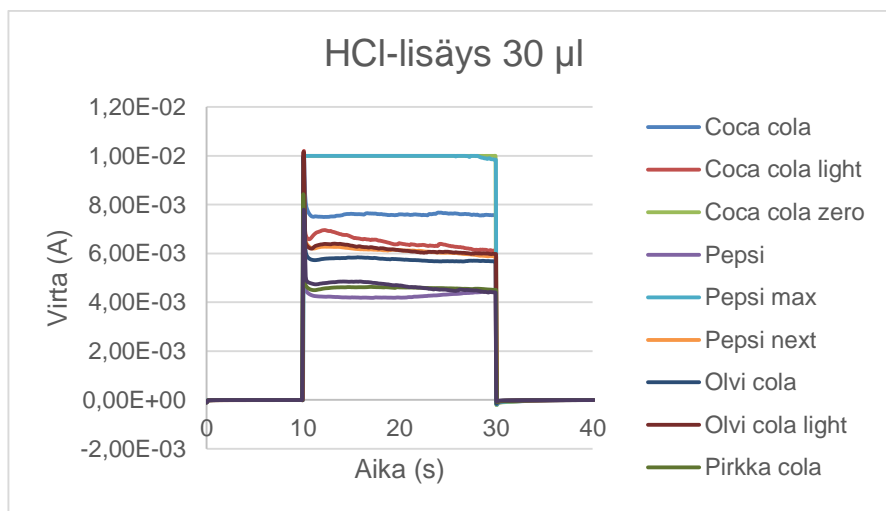
Näytteiden ja liuottimien sekoitussuhde oli suurimmassa osassa mittauksista 75 % ruokaöljyä ja loput liuotinta. Näytteet sekoitettiin liuottimen kanssa käyttäen vortexia. Sekoituksen jälkeen näytettä pipetoitiin kuoppalevylle 100 µl. Näytteiden pipetoinnin jälkeen valmistettiin modulaattorit, joita pipetoitiin näytettä sisältäviin kuoppalevyn kaivoihin vaihtelevasti 3,3 – 10 µl. Alussa erilaisia modulaattoreita testattiin useita ja niistä valittiin parhaimman erottuvuuden tuottajat. Toimivien modulaattorien löydyttyä niiden kemioita muokattiin parhaimman mahdollisen erottuvuuden löytämiseksi. Oikeanlaisten modulaattorien ja liuottimien määrän löytäminen osoittautui vaikeaksi joidenkin näytteiden kohdalla. Suurimpia haasteita tuottivat auringonkukkaöljyt. Rypsiöljyjen kohdalla erotuskemian löytämisessä onnistuttiin suhteellisen hyvin.

Liitteessä 3 olevista tuloksista huomataan, että modulaattorit 4 F ja 1 G tuottavat hyviä erottuvuuksia (S/B) rypsiöljyjen (canola) ja oliiviöljy näytteen 5 välille. Sekoittaessa näytteitä keskenään suurin osa eroavaisuudesta kuitenkin häviää. Menetelmän avulla saavutettiin huomattavasti paremmat eroavaisuudet kuin sähkökemiallisella kennolla. Liitteessä 3 olevista taulukoista kuitenkin nähdään, että modulaattorit eivät toimi kaikkien ruokaöljyjen kanssa. Kahden rinnakkaisen mittauksen toistettavuus ei myöskään kaikkien näytteiden kohdalla ole kovinkaan hyvä.

Auringonkukkaöljyjen kohdalla erottuvuudet jäivät suhteellisen heikoiksi eri modulaattoreilla (Liite 3). Erilaisten modulaattori testien jälkeen ei vielä ole onnistuttu löytämään sopivia modulaattoreita oliiviöljyjen ja auringonkukkaöljyjen välille. Mittauksissa on myös suuria eroja rinnakkaisten mittausten välillä eri näytteiden kohdalla.

7 TULOKSET

Näytteiden väliset erot olivat erittäin heikkoja ja menetelmän avulla ei saavutettu toivottuja tuloksia. Laitteiston erilaisten ongelmien ja vikojen vuoksi mittauksissa ei päästy eteenpäin kolajuomien ja oliiviöljyjen kanssa. Kuvaajasta 7 kuitenkin huomataan, että kolajuomat ryhmittäytyvät tietyllä tavalla sokeria sisältäviin ja sokerittomiin virvoitusjuomiin. Saadut erot eivät kuitenkaan ole riittäviä ja mittausten hajonta on erittäin suuri (Kuvaaja 8).

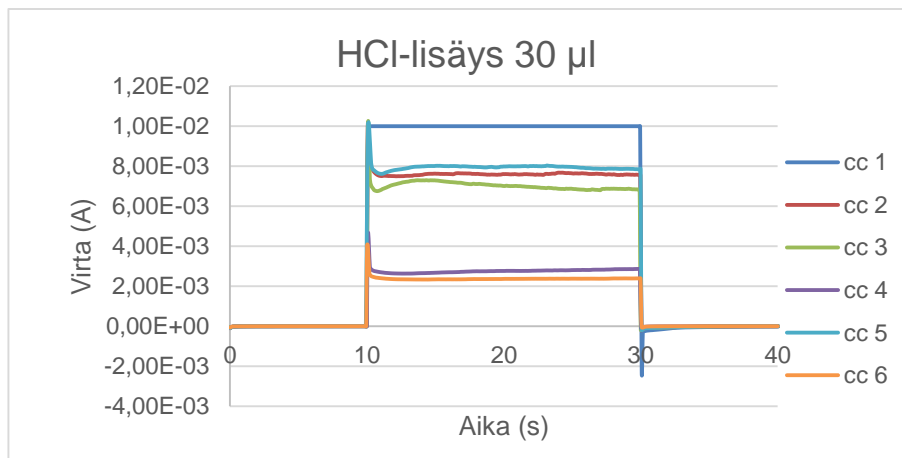


Kuvaaja 7. Kolajuomien erottuvuudesta.

Menetelmän ongelmista ja häiriötekijöistä kerrotaan enemmän pohdinta osiossa. Modulaattoritestien tulokset kolajuomille liitteessä 1, ruokaöljyille liitteessä 2 ja luminesenssimittaus tuloksia liitteessä 3.

8 POHDINTAA

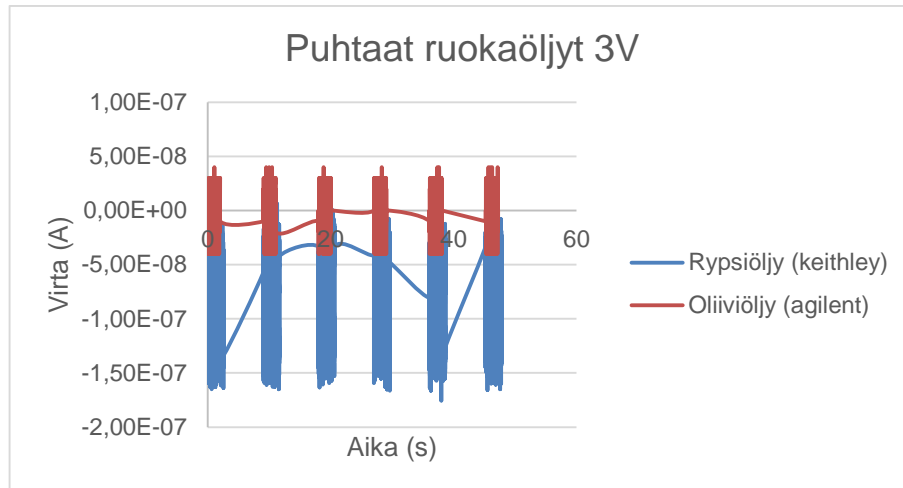
Menetelmällä ei saavutettu sille asetettuja tavoitteita. Menetelmän ongelmien ja useiden korjausten sekä muunnosten vuoksi kehiteltävällä menetelmällä ei saavutettu riittävää luotettavuustasoa. Menetelmä on itsessään hyvin suunniteltu nopeaksi määrittymenetelmäksi, mutta häiriötekijöiden ja riittämättömän mittausalueen vuoksi menetelmä ei pysty saavuttamaan sille asetettuja tavoitteita ja tuloksia. Erilaisten modulaattorien ja liuottimien avulla ei päästy toivottuihin eroavaisuuksiin näytteiden välille.



Kuvaaja 8. Coca-Colan systeemitesti

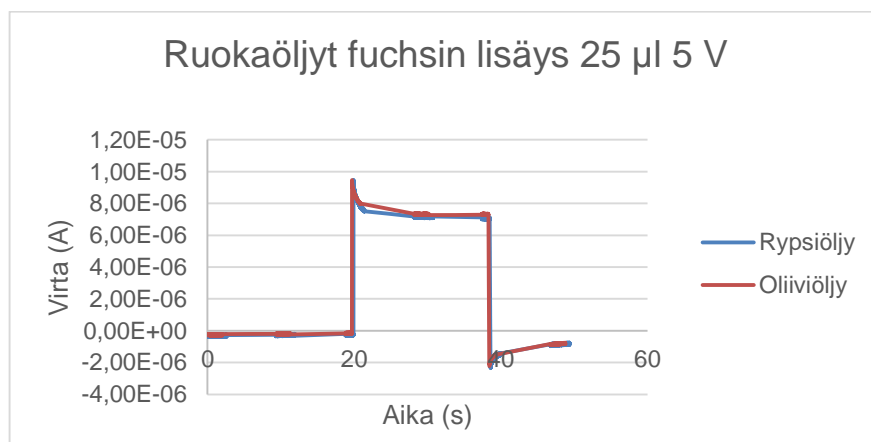
Systeemitestistä huomataan että hajonta samaa näytettä mitattaessa on suuri. Laitteiston yhtenä heikkoutena osoittautui toistettavuus. Kolajuomien kohdalla saavutettiin kuitenkin parempia erotuksia kuin öljynäytteiden kohdalla.

Öljynäytteiden kanssa ongelmaksi osoittautui riittämätön mittausalue. Öljynäytteiden heikko sähkönjohtavuus tuotti erittäin pienen, virtasignaalin ja tulokset pysyivät hyvin lähellä nollalukemia mittausten aikana (Kuvaaja 9).



Kuvaaja 9. Puhtaiden ruokaöljyjen mittaus

Puhtaiden ruokaöljyjen mittauksissa saatujen mittaussignaalien ja kuvaajan muoto heikkenivät huomattavasti verrattuna kolajuomiin. Eroavaisuudet näytteiden välillä ovat olemattomia ja erilaisten modulaattorienkaan lisäämisellä ei kuvaajien perusteella tuntunut olevan vaikutusta näytteiden eroavaisuuteen (Kuvaaja 10 ja liite 3).



Kuvaaja 10. Esimerkki kuvaaja yhdestä modulaattorista.

Kuvaajasta 10 nähdään modulaattorin vaikutus näytteisiin. Mittasignaali paranee, mutta erotuvuudet pysyvät olemattomina näytteiden välillä. Erilaisten modulaattorien vaikutuksia on lisää liitteessä 2.

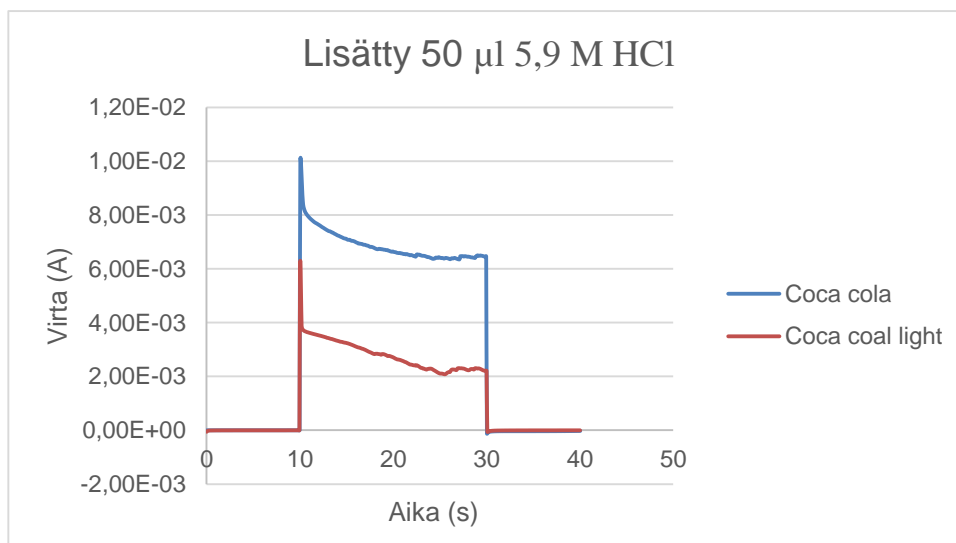
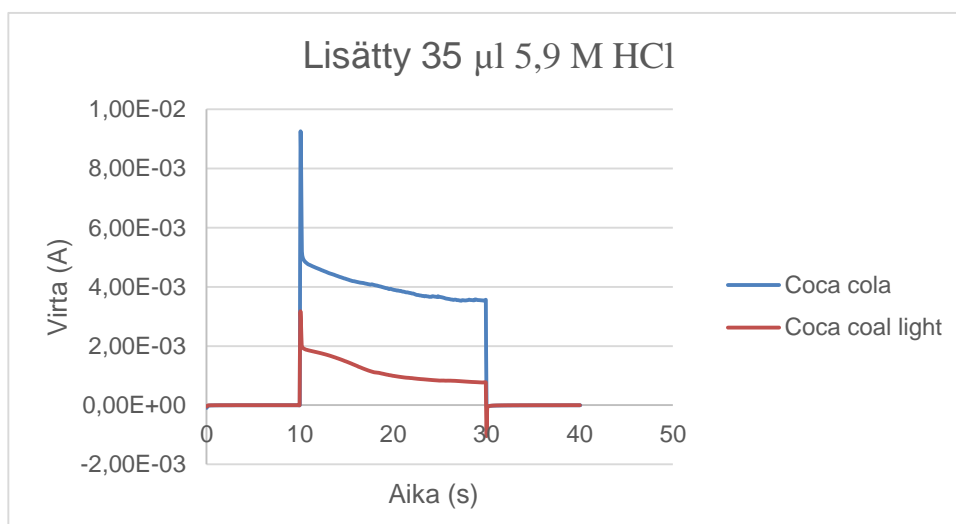
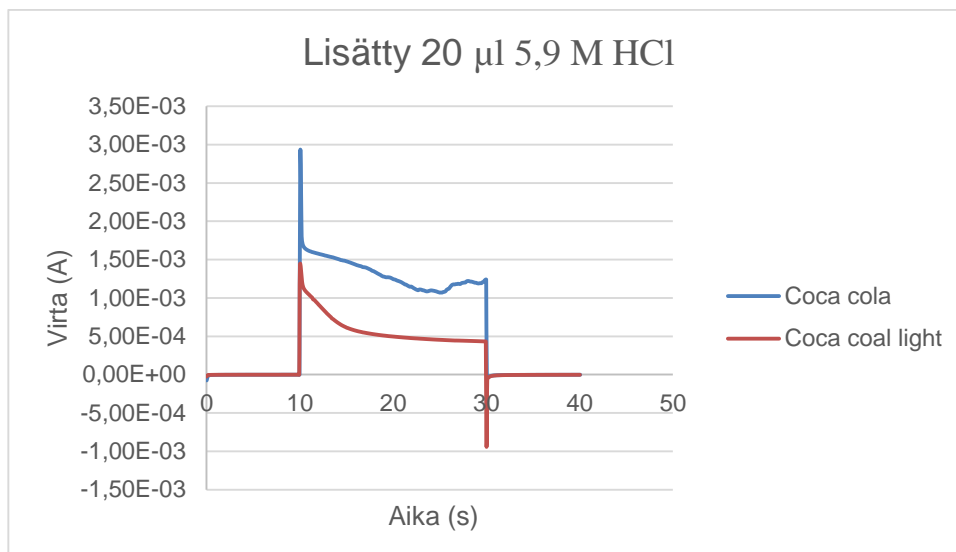
Menetelmällä saatuja tuloksia verrattaessa luminesenssimittaukseen (Liite 3) voidaan todeta, että sähkökemiallisella kennolla ei saavuteta riittävän suuria eroavaisuuksia ja luminesenssimenetelmän saavuttamat eroavaisuudet ovat huomattavasti suurempia. Jatkotutkimuksen ja

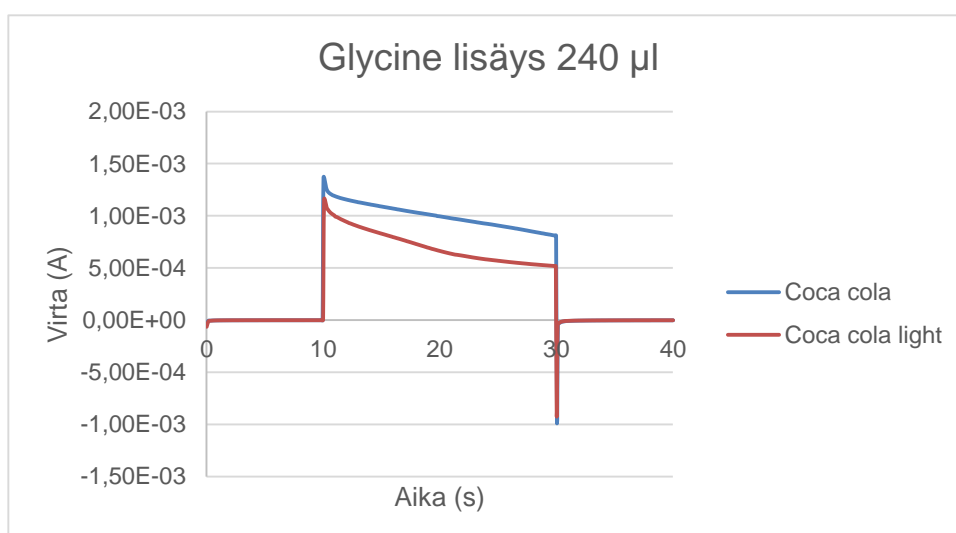
perehtymisen avulla sähkökemiallisella kennollakin voitaisiin saavuttaa riittävä luotettavuus-taso erilaisten näytteiden erotteluun kyseisellä menetelmällä. Tällä hetkellä menetelmässä on paljon muokattavaa. Mittasignaalien parantamiseksi häiriötä aiheuttavat tekijät tulisi selvittää.

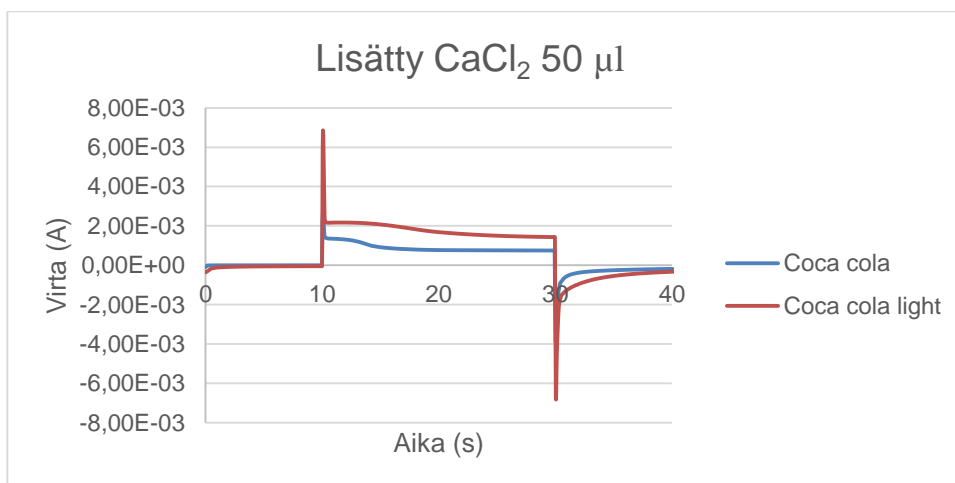
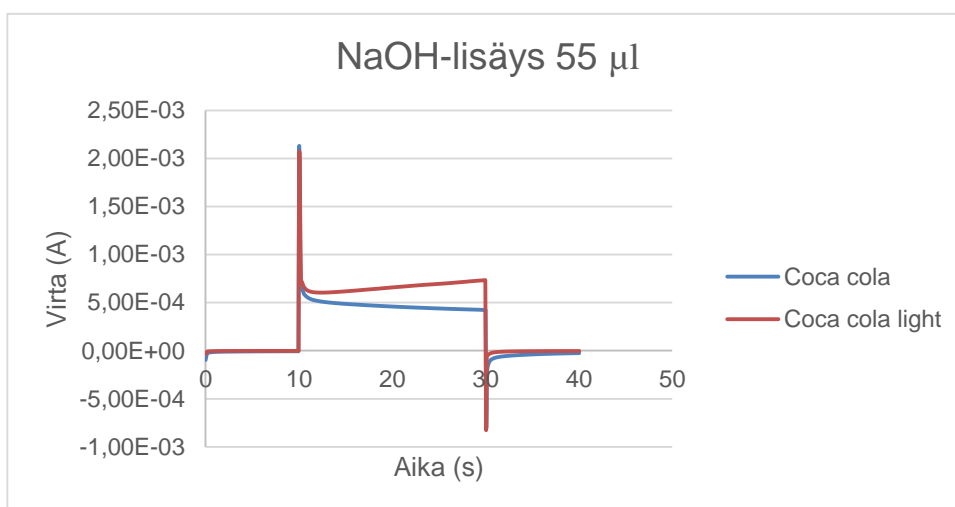
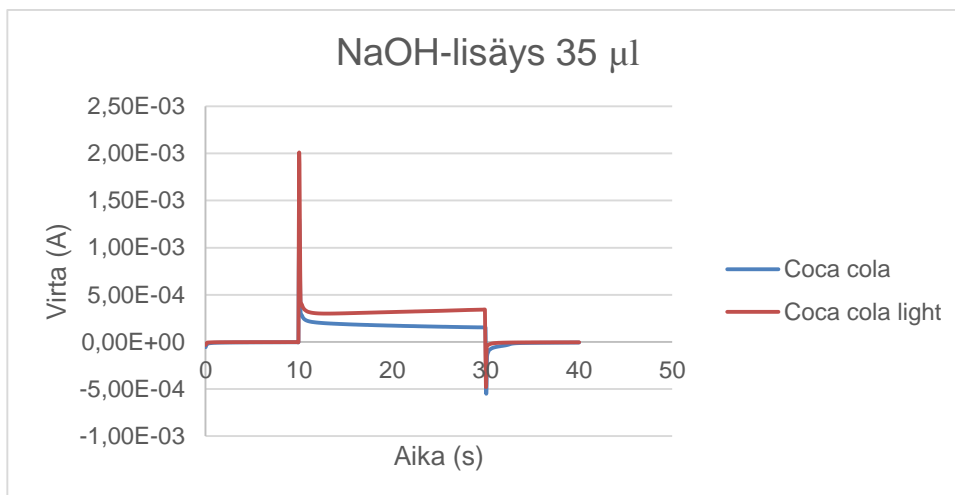
LÄHTEET

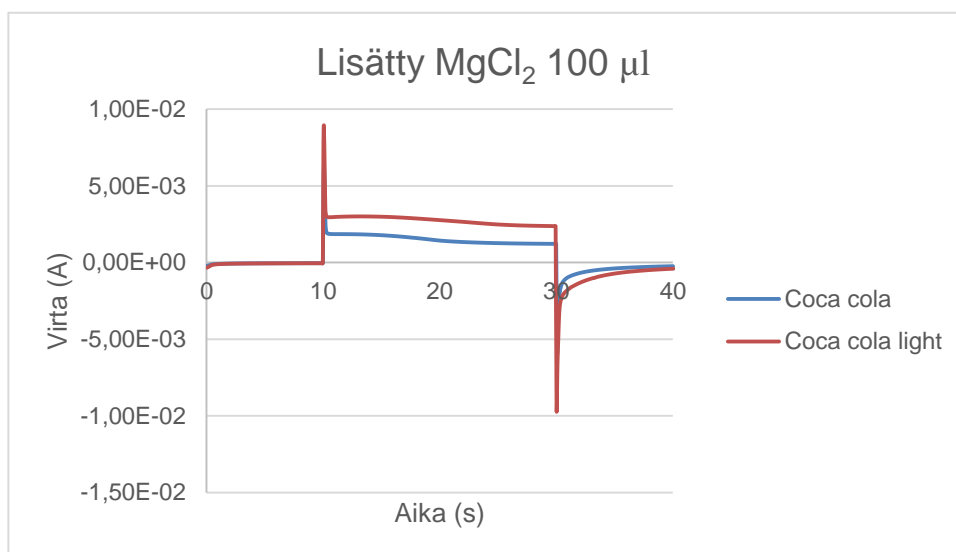
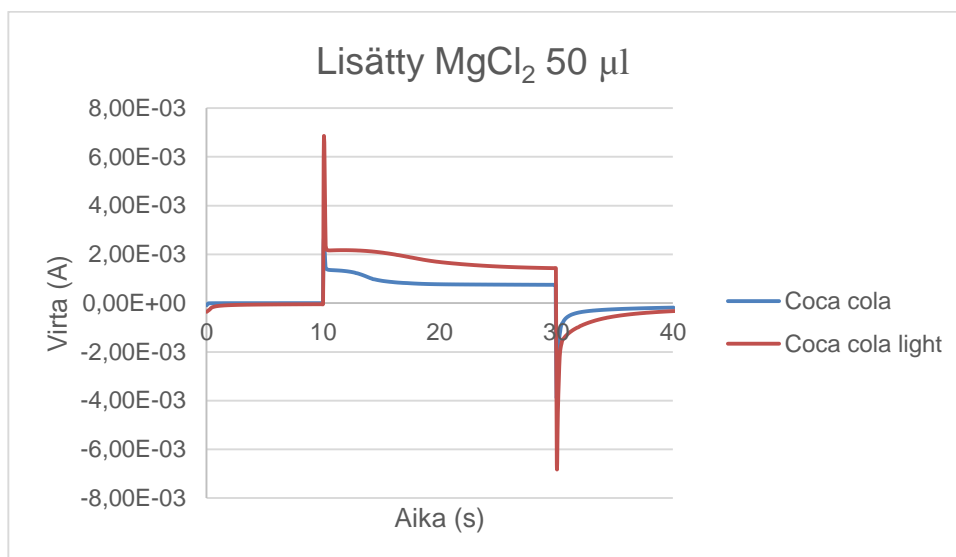
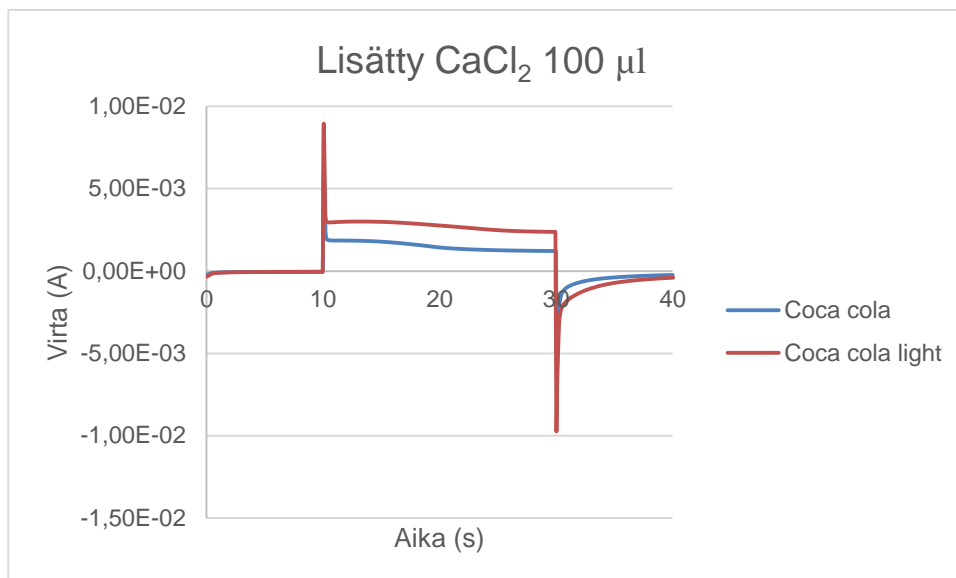
-
- ¹ <http://uvminerals.org/fms/luminescence>
 - ² <http://www.mdpi.com/1424-8220/8/9/5673/htm>
 - ³ https://en.wikipedia.org/wiki/Stokes_shift
 - ⁴ <http://www.sym-bio.com.cn/en/prosj.php>
 - ⁵ <http://www.biotek.com/resources/articles/time-resolved-fluorescent-compounds.html>
 - ⁶ <http://www.technet.pnnl.gov/sensors/chemical/projects/ES4EC-SnsrCell.stm>
 - ⁷ https://clu-in.org/download/char/sensr_ec.pdf
 - ⁸ <https://www.theguardian.com/science/2014/apr/02/electronic-noses-explainer-sniffing-disease>
 - ⁹ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3312724/>
 - ¹⁰ <http://www.japtr.org/article.asp?issn=22314040;year=2012;volume=3;issue=1;spage=3;epage=8;aulast=Latha>
 - ¹¹ http://www.udel.edu/chemo/Images/Wold_Chemometrics_history.pdf
 - ¹² <http://www.fitday.com/fitness-articles/nutrition/healthy-eating/olive-oil-vs-canola-oil.html>
 - ¹³ Härmä, H.; Peltomaa, R. & Pihlasalo, S., 2015. Lanthanide Label Array Method for Identification and adulteration of Honey and Cacao. Turku: University of Turku

Kolajuomien modulaattoritestit

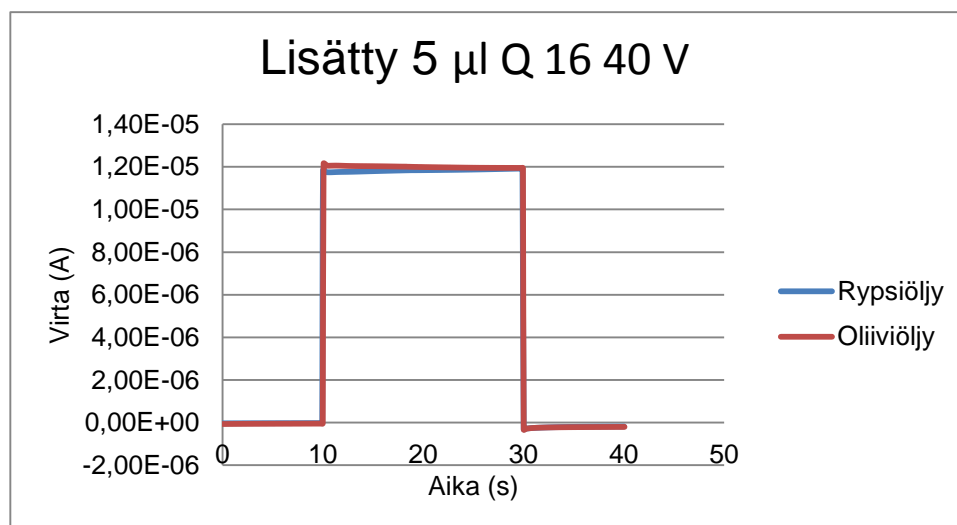
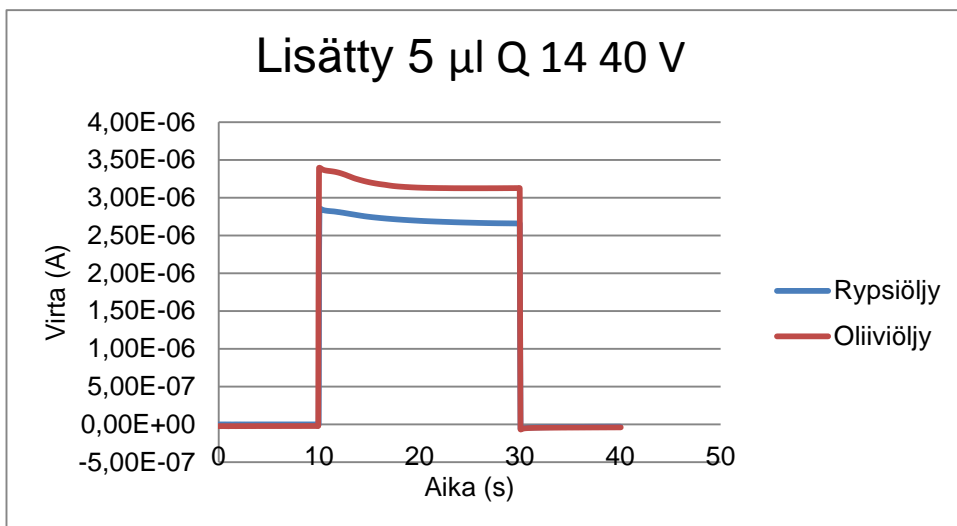
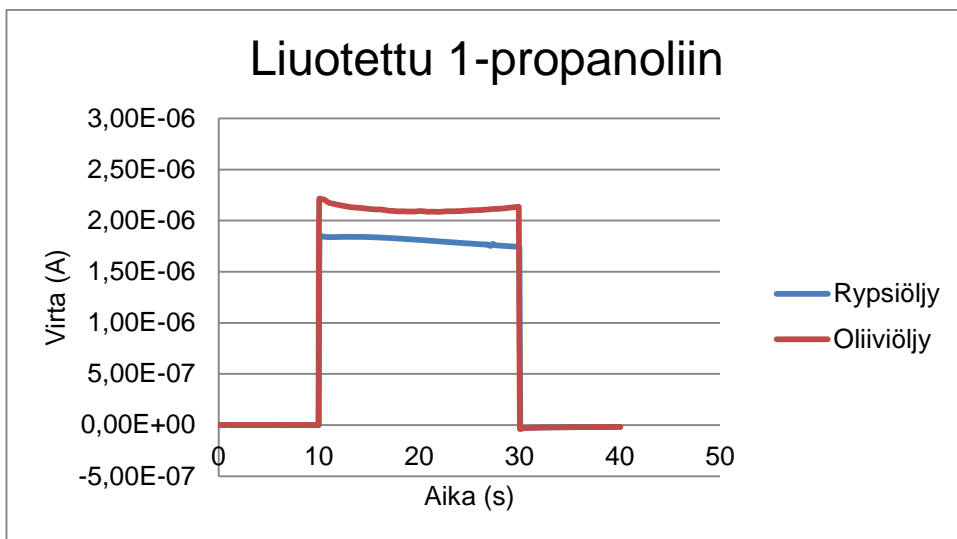


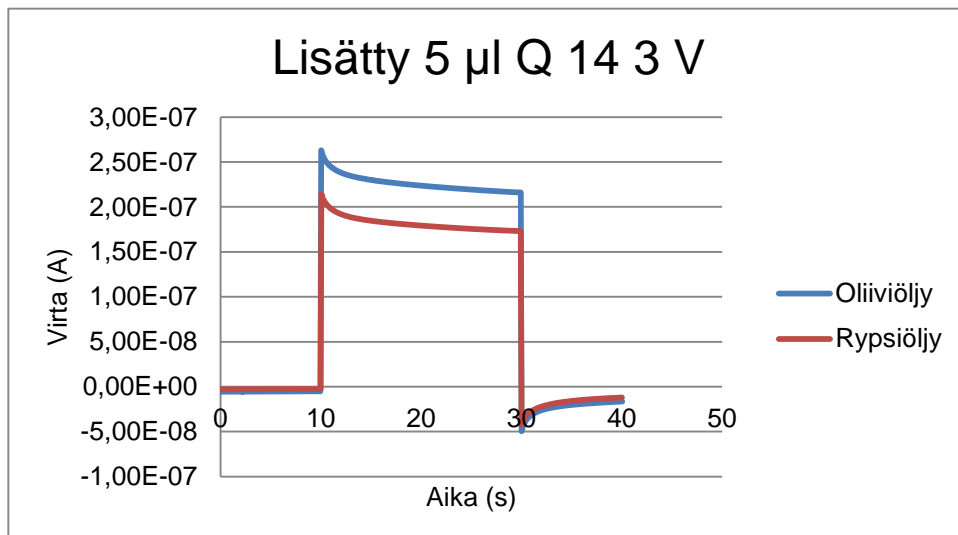
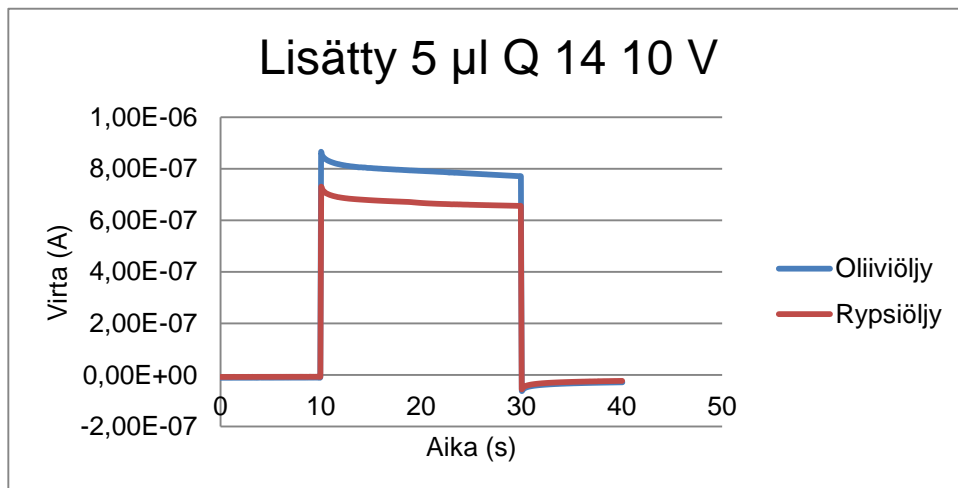
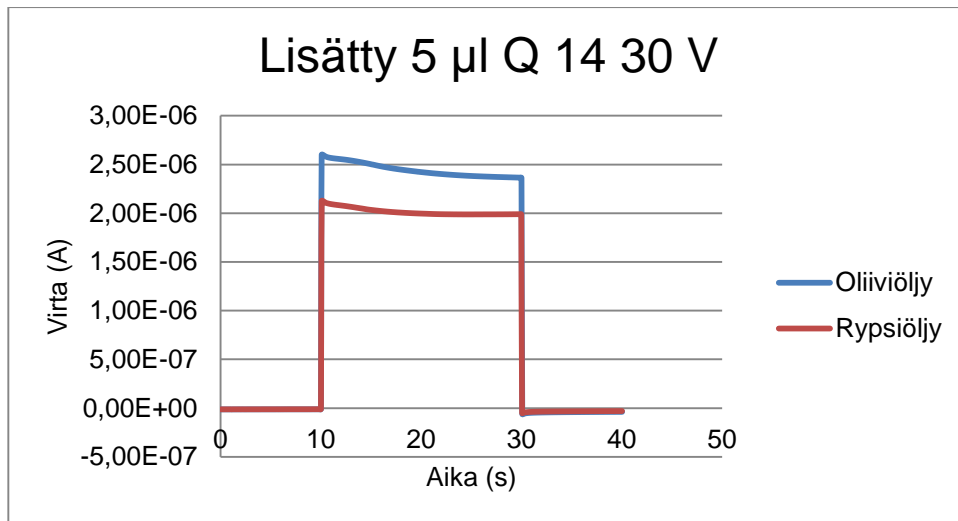


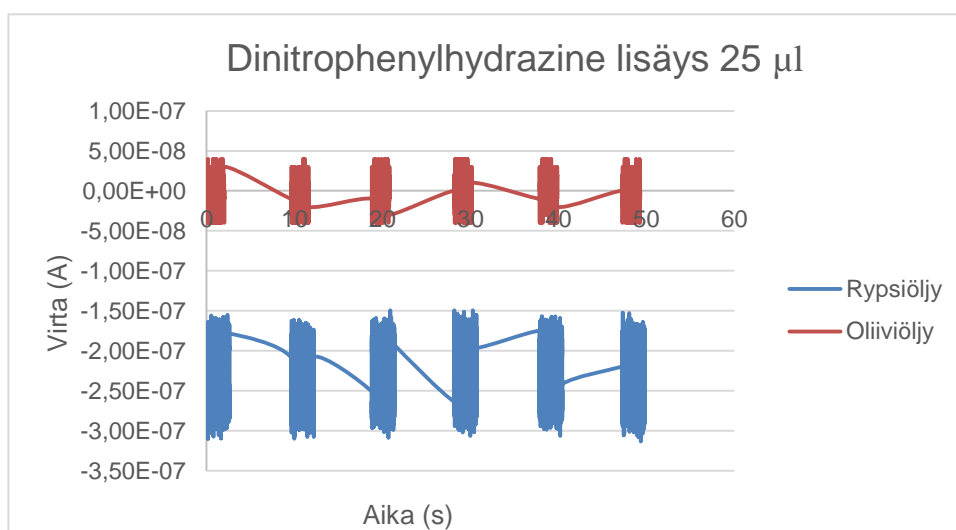
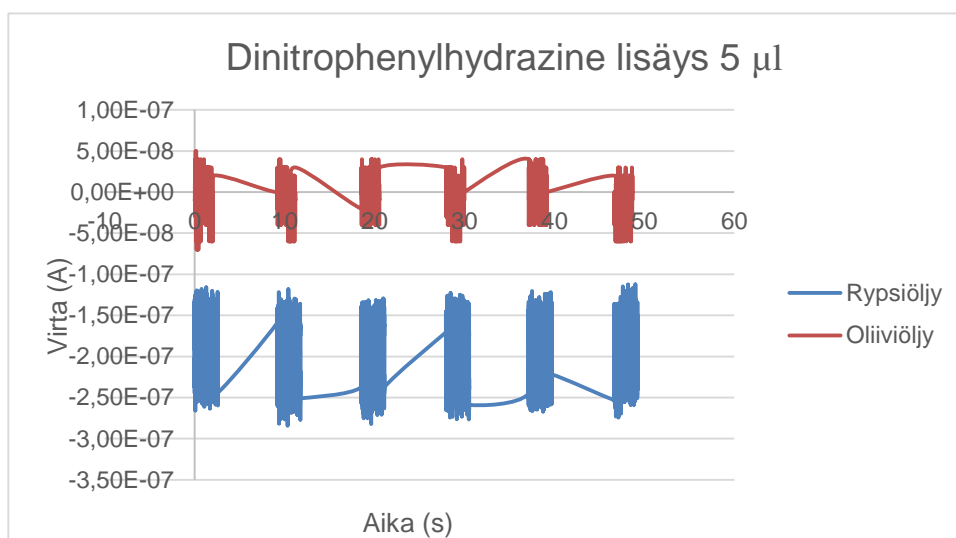
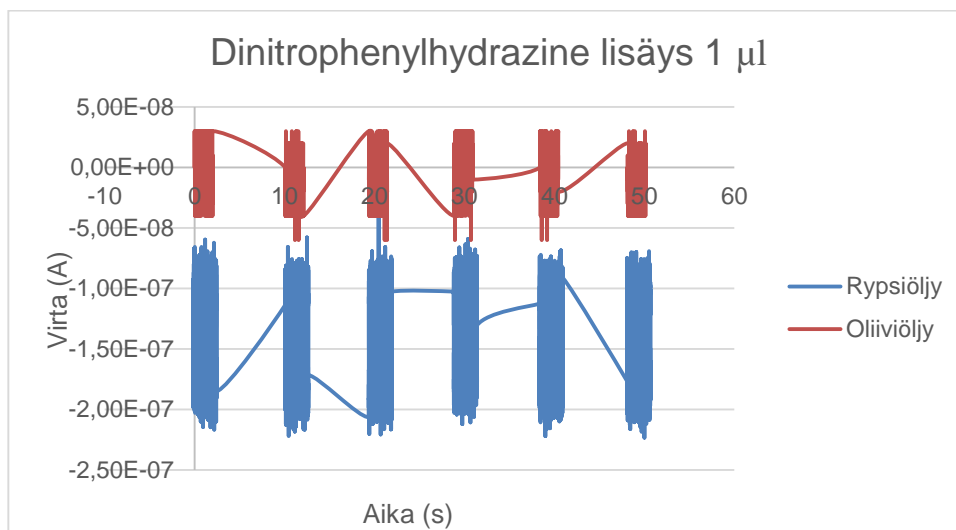


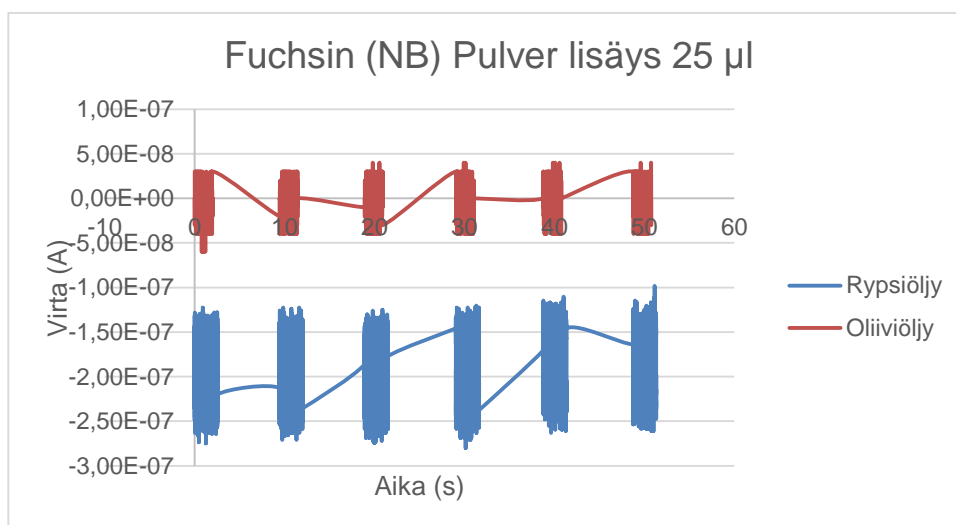
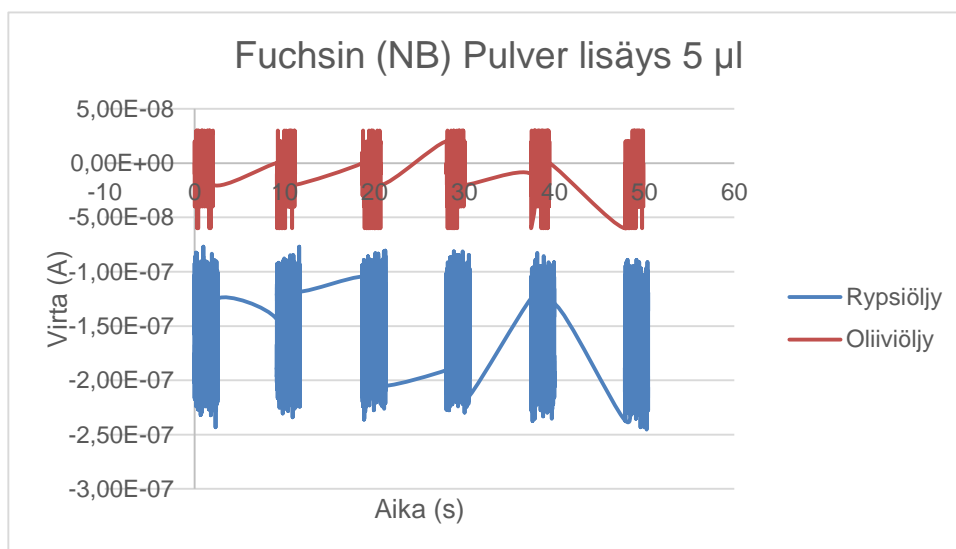
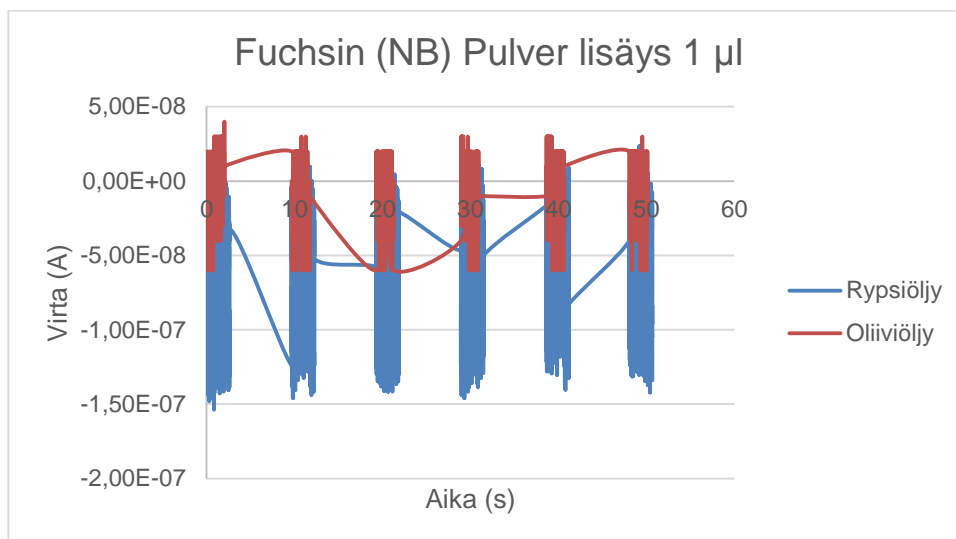


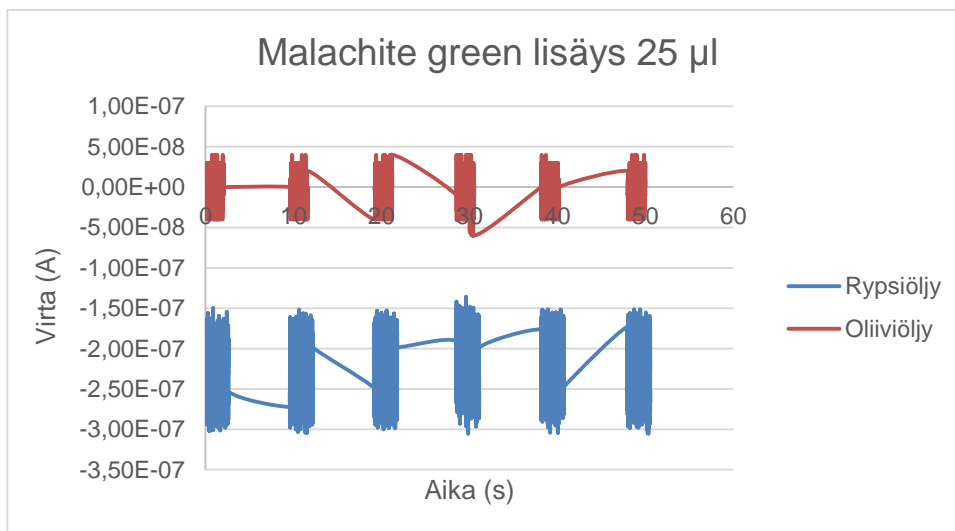
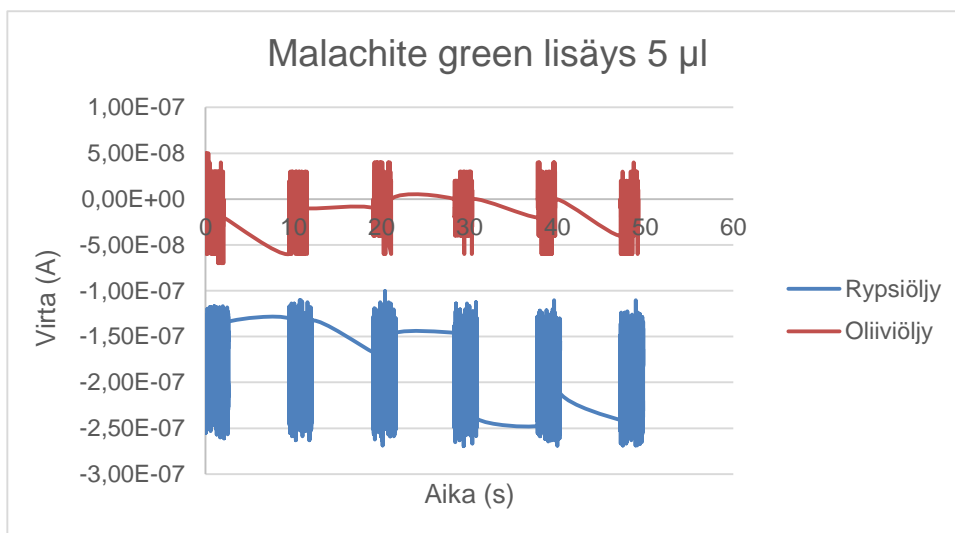
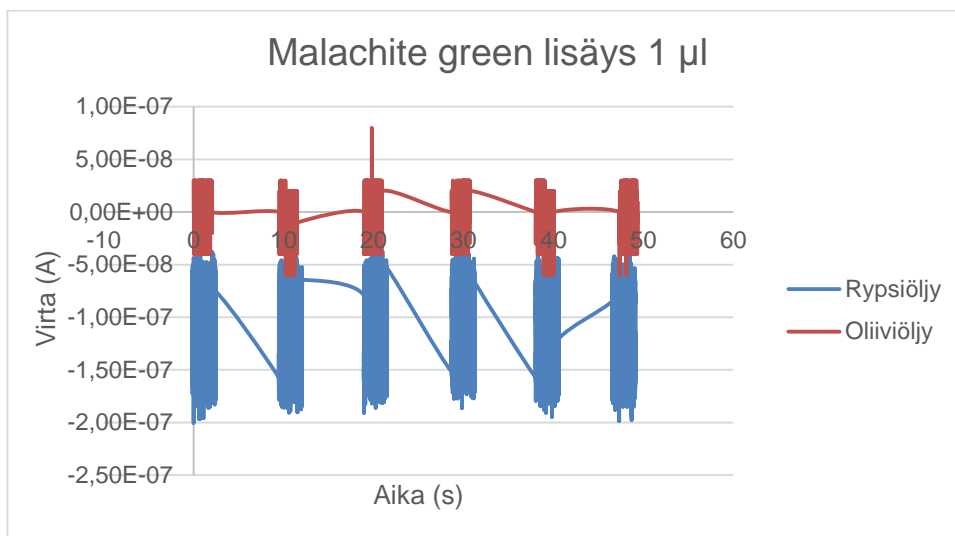
Ruokaöljyjen modulaattoritestit











Luminesenssimittaustulokset

		Modulator 4 F					Modulator 1 G				
Sample	Oil	Well	11.50.48	Average	CV/%	S/B	Well	11.50.48	Average	CV/%	S/B
1	Olive	A1	866581	841104	4,3	0,7	A3	105743	118476	15,2	0,6
		A2	815626				A4	131209			
2	Olive	B1	522853	546151	6,0	1,1	B3	66918	67416	1,0	1,1
		B2	569448				B4	67913			
3	Olive	C1	634047	645422	2,5	0,9	C3	77416	79011	2,9	1,0
		C2	656797				C4	80606			
4	80 % Canola	D1	223232	202446	14,5	2,8	D3	5416	4659	23,0	16,3
		D2	181659				D4	3902			
5	Olive	E1	580448	573877	1,6	1,0	E3	76004	75917	0,2	1,0
		E2	567305				E4	75829			
7	Olive	F1	519537	519417	0,0	1,1	F3	74175	73715	0,9	1,0
		F2	519297				F4	73254			
8	Olive	G1	267302	260288	3,8	2,2	G3	13111	13261	1,6	5,7
		G2	253273				G4	13410			
Sample	Oil	Well	11.50.48	Average	CV/%	S/B	Well	11.50.48	Average	CV/%	S/B
9	Sun flower	H1	6456	7178	14,2	79,9	H3	4232	3535	27,9	21,5
		H2	7900				H4	2837			
10	Sun flower	A5	657006	607142	11,6	0,9	A7	12844	12853	0,1	5,9
		A6	557278				A8	12862			
11	Sun flower	B5	549323	554965	1,4	1,0	B7	27775	28611	4,1	2,7
		B6	560607				B8	29446			
6	Canola	C5	2205	2391	11,0	240,1	C7	2437	2281	9,7	33,3
		C6	2576				C8	2124			
12	Canola	D5	8917	8336	9,9	68,8	D7	2674	2679	0,2	28,3
		D6	7755				D8	2683			
13	Canola	E5	23710	23972	1,5	23,9	E7	4656	5123	12,9	14,8
		E6	24233				E8	5590			
14	Sesame	F5	4040	4169	4,4	137,7	F7	3054	2882	8,4	26,3
		F6	4297				F8	2710			
15	Sesame	G5	943849	957513	2,0	0,6	G7	93036	93819	1,2	0,8
		G6	971176				G8	94602			
Sample	Oil	Well	11.50.48	Average	CV/%	S/B	Well	11.50.48	Average	CV/%	S/B
5-9	Mixture	H5	176551	161969	12,7	3,5	H7	8480	7970	9,1	9,5
		H6	147387				H8	7459			
5-10	Mixture	A9	616799	587287	7,1	1,0	A11	55107	52112	8,1	1,5
		A10	557775				A12	49116			
5-11	Mixture	B9	576980	554943	5,6	1,0	B11	56941	52961	10,6	1,4
		B10	532906				B12	48981			
5-6	Mixture	C9	13087	10834	29,4	53,0	C11	2468	2657	10,1	28,6
		C10	8581				C12	2846			
5-12	Mixture	D9	250399	233254	10,4	2,5	D11	8875	7949	16,5	9,6
		D10	216108				D12	7022			
5-13	Mixture	E9	497007	472227	7,4	1,2	E11	40581	34183	26,5	2,2
		E10	447447				E12	27784			
5-14	Mixture	F9	6250	5984	6,3	95,9	F11	2821	3019	9,3	25,2
		F10	5717				F12	3216			
5-15	Mixture	G9	590438	570487	4,9	1,0	G11	64090	57409	16,5	1,3
		G10	550535				G12	50728			

	Modulator 10.1					Modulator 10.2					Modulator 10.3				
Sample	Well	15.30.14	Average	CV/%	S/B	Well	15.30.14	Average	CV/%	S/B	Well	15.30.14	Average	CV/%	S/B
8	A1	26494	14231	121,9	1,1	A3	14509	12576	21,7	0,4	A5	1295	1604	27,2	0,2
	A2	1968				A4	10642				A6	1913			
5	B1	6946	13224	67,1	1,0	B3	37143	27991	46,2	1,0	B5	8346	8813	7,5	1,0
	B2	19501				B4	18839				B6	9280			
10	C1	29079	18462	81,3	0,7	C3	108660	164899	48,2	0,2	C5	3943	3555	15,5	2,5
	C2	7845				C4	221138				C6	3166			
11	D1	4704	4567	4,2	2,9	D3	6002	6344	7,6	4,4	D5	3083	3553	18,7	2,5
	D2	4430				D4	6686				D6	4023			
8 - 10	E1	3914	3884	1,1	3,4	E3	19548	20548	6,9	1,4	E5	3487	3622	5,3	2,4
	E2	3854				E4	21548				E6	3757			
8 - 11	F1	4015	4119	3,6	3,2	F3	7706	7506	3,8	3,7	F5	3341	3311	1,3	2,7
	F2	4223				F4	7305				F6	3280			
5 - 10	G1	4960	10039	71,5	1,3	G3	13733	20802	48,1	1,3	G5	8164	8250	1,5	1,1
	G2	15118				G4	27870				G6	8336			
5 - 11	H1	40323	22291	114,4	0,6	H3	5967	6698	15,4	4,2	H5	4596	4936	9,7	1,8
	H2	4258				H4	7428				H6	5275			
	Modulator 10.4					Modulator 10.5					Modulator 10.6				
Sample	Well	15.30.14	Average	CV/%	S/B	Well	15.30.14	Average	CV/%	S/B	Well	15.30.14	Average	CV/%	S/B
8	A7	7927	6115	41,9	0,9	A9	10758	12128	16,0	0,1	A11	17667	11213	81,4	0,9
	A8	4302				A10	13498				A12	4759			
5	B7	6480	7158	13,4	1,0	B9	92247	92003	0,4	1,0	B11	18748	12696	67,4	1,0
	B8	7835				B10	91758				B12	6644			
10	C7	49572	57989	20,5	0,1	C9	145733	138614	7,3	0,7	C11	164910	185946	16,0	0,1
	C8	66405				C10	131494				C12	206982			
11	D7	3254	3536	11,3	2,0	D9	8492	8191	5,2	11,2	D11	10412	9486	13,8	1,3
	D8	3818				D10	7889				D12	8559			
8 - 10	E7	7452	6672	16,5	1,1	E9	18189	17776	3,3	5,2	E11	29762	20434	64,6	0,6
	E8	5891				E10	17362				E12	11106			
8 - 11	F7	4104	4207	3,4	1,7	F9	7887	7466	8,0	12,3	F11	14858	10678	55,4	1,2
	F8	4309				F10	7044				F12	6497			
5 - 10	G7	5002	5659	16,4	1,3	G9	94288	87923	10,2	1,0	G11	9235	8079	20,2	1,6
	G8	6316				G10	81558				G12	6923			
5 - 11	H7	5130	4919	6,1	1,5	H9	10355	9288	16,2	9,9	H11	5581	5800	5,3	2,2
	H8	4707				H10	8221				H12	6019			