

Hanna Moisio

Uppopaistorasvojen laadun tutkiminen sekä
valvontamenetelmien arviointi ja kehittäminen

Metropolia Ammattikorkeakoulu
Insinööri
Bio- ja elintarviketekniikka
Insinöörityö
Päivämäärä 21.4.2011

Tekijä(t) Otsikko	Hanna Moisio Uppopaistorasvojen laadun tutkiminen sekä laadunvalvonta menetelmien arviointi ja kehittäminen
Sivumäärä Aika	32 sivua + 5 liitettä 21.4.2011
Tutkinto	Insinööri
Koulutusohjelma	Bio- ja elintarviketekniikka
Suuntautumisvaihtoehto	Elintarviketekniikka
Ohjaaja(t)	Kemisti Marit Björkstrand Lehtori Timo Laitinen
<p>Opinnäytetyön tarkoituksena oli löytää Porvoon elintarvikelaboratorioon sopiva uppopaistorasvojen laadun määrittämenetelmä ja validoida kyseinen menetelmä laboratorion validointikäytännön mukaisesti. Lisäksi tavoitteena oli kartoittaa Porvoon seudulla käytettävien uppopaistorasvojen laatua.</p> <p>Työ aloitettiin perehtymällä uppopaistorasvan laatuun vaikuttaviin kemiallisiin tekijöihin. Lisäksi otettiin selvää, kuinka rasvan käyttö ja säilytys vaikuttavat sen laatuun. Kartoitettiin erilaisia menetelmiä, joilla voidaan mitata uppopaistorasvojen laatua. Valittiin sopivat menetelmät, joita verrattiin Porvoossa käytössä olleeseen pikalaitteeseen, ja otettiin selvää, riittääkö pikalaitte rasvan laadun analysoimiseksi vai tuleeko laatua analysoida jollakin muulla menetelmällä.</p> <p>Vertailtavat laadunmittaustavat olivat happoluvun määrittäminen, joka tehdään titraamalla, ja fritest, joka on kolorimetrinen pikatesti. Huomattiin, että käytössä oleva pikalaitte ei ole riittävä laadun määrittämenetelmä. Päädyttiin siihen, että happoluvun määrittäminen on parempi ja luotettavampi laadun määrittämenetelmä kuin fritest. Tehtiin happoluvun määrittämiselle käyttöönottovalidointi.</p> <p>Yleisesti ottaen uppopaistorasvojen laatu Porvoon seudulla oli hyvä. Eniten käytetyn uppopaistorasvan laatuun vaikutti rasvan käyttöikä.</p>	
Avainsanat	uppopaistorasva, happoluku, fritest, validointi

Author(s) Title	Hanna Moisio Studying the quality of the deep frying fats and evaluating and evolving of the quality assurance methods.
Number of Pages Date	32 pages + 5 appendices 21 April 2011
Degree	Bachelor of Engineering
Degree Programme	Biotechnology and Food Engineering
Specialisation option	Food engineering
Instructor(s)	Marit Björkstrand, Chemist Timo Laitinen, Title Lecturer
<p>The purpose of this thesis project was to find and validate a quality assurance method for deep frying fats examined in Porvoo The validation was made by the guideline of the laboratory. Food laboratory and to find out the quality of the deep-frying fats used in Porvoo area.</p> <p>Getting acquainted with chemical factors that affect the quality of frying fats started the study. It was also found out how the usage and preservation of fat affect its quality. All the different analysis methods for frying fats were studied. The methods were compared to the quick device that had already been used in Porvoo. It was determined whether the quick device was good enough for the quality analysis or whether the deep-frying fats should be analyzed by some other method.</p> <p>Methods that were compared to the quick device were acid value determination, which is done by titration, and Fritest, which is a colorimetric quick test. It was found that the quick device used in Porvoo was not an adequate method for the quality assurance for deep-frying fats. It was concluded that acid value determination is a better and more reliable method than the Fritest. Acid value analysis was validated.</p> <p>Generally, the quality of the deep frying fats in Porvoo was good. The turnover rate of the fat affects the quality of deep-frying fats the most.</p>	
Keywords	Deep frying fat, fritest, validation

Sisällys

1	Johdanto	1
	Teoriaosa	2
2	Rasvat	2
2.1	Rasvojen koostumus	2
2.2	Rasvahapon hiiliketjun pituus	3
2.3	Rasvojen tyydyttyneisyys	3
2.4	Rasvojen pilaantuminen	4
2.4.1	Hydrolyysi	4
2.4.2	Hapettuminen	5
2.4.3	Polymeroituminen	6
2.5	Pilaantumisen aiheuttamat haitat	7
3	Kasvirasvojen prosessointi	7
3.1	Kasviperäisten rasvojen jaottelu	7
3.2	Kasvirasvojen eristysprosessit	7
3.2.1	Kylmäpuristus	7
3.2.2	Puristus ja liotinuutto	8
3.2.3	Ylikriittinen uutto	8
3.3	Rasvojen puhdistusprosessit	8
3.3.1	Saostus	8
3.3.2	Neutralointi	9
3.3.3	Valkaisu ja suodatus	9
3.3.4	Vesihöyrytislauus alipaineessa	9
3.3.5	Wintterointi	9
3.4	Rasvojen modifiointiprosessit	10
3.4.1	Kovetus vedytyksellä	10
3.4.2	Kovetus vaihtoesteröinnillä	11
3.4.3	Fraktiointi	11
4	Uppopaistaminen	11
5	Uppopaistorasvojen laadun tutkiminen	12
5.1	Uppopaistorasvan laadunvalvontatapoja	12

5.2	Laboratoriossa tehtävät analyysimenetelmät	12
5.2.1	Happoluku	12
5.2.2	Peroksidiluku	12
5.2.3	Anisidiiniluku	13
5.2.4	Jodiluku	13
5.2.5	Savuamispiste	13
5.2.6	Aistinvarainen arviointi	13
5.3	Rasvan laatua mittaavat pikalaitteet	13
5.3.1	Fritest	14
5.3.2	Oxifritest	14
5.3.3	3M:n pikalaite PCT 120	14
	Kokeellinen osa	15
6	Näytteenotto	15
6.1	Näytteenottopaikat	15
6.2	Näytteenottomenetelmä	16
6.3	Näytteenottotekniikka	16
7	Porvoon elintarvikelaboratorioon sopivan menetelmän valinta ja testaus	17
7.1	Menetelmien valinta	17
7.2	Menetelmien toimivuuden testaus	17
7.3	Näytteiden analysointi	18
7.3.1	Happolukuanalyysi	18
7.3.2	Fritest	19
7.3.3	Happoluvun ja Fritestin tulokset	20
8	Valitun menetelmän käyttöönottovalidointi ja modifiointi	21
8.1	Menetelmän toistettavuus	21
8.2	Menetelmän määritys- ja toteamisraja	22
8.3	Satunnaisvirhe ja suhteellinen keskihajonta	22
8.4	Systemaattinen virhe	23
8.5	Epävarmuus	24
8.6	Menetelmän modifiointi	25
8.7	Laboranttien opastus happoluvun analysointiin	27
9	Uppopaistorasvan laatu Porvoon seudulla	27
10	Yhteenveto	29

Liitteet

Liite 1.

Liite 2. Satunnaisvirheen laskeminen

Liite 3. Kahden menetelmän vertaaminen toisiinsa

Liite 4. Menetelmäohje, happoluku

Liite 5. Uppopaistorasvanäytteen lähetelomake

1 Johdanto

Porvoon kaupungin elintarvikelaboratorio on FINAS-akkreditoitu testauslaboratorio nro T107, jonka laatujärjestelmä täyttää kansainvälisen standardin SFS-EN ISO/IEC 17025 vaatimukset.

Porvoon terveydensuojelun vuosittaisen valvontasuunnitelman mukaan uppopaistorasvoja tulisi tutkia joka kolmas vuosi ja niistä tulisi tehdä alustava aistinvarainen arviointi sekä tutkia polaariset yhdisteet.

Uppopaistorasvojen tutkiminen kuuluu Porvoon kaupungin terveydensuojelun suunnitelmallisiin näytteenottoihin (elintarvikelaissa (23/2006) tarkoitettu omavalvonnan toimivuuden valvonta), mutta niitä ei vielä tutkita Porvoon elintarvikelaboratoriossa. Porvoon kaupungin terveystarkastajilla on käytössä uppopaistorasvojen laatua mittaava 3M:n pikalaite PCT 120.

Uppopaistolla tarkoitetaan ruoanvalmistusmenetelmää, jossa ruoka upotetaan kuumaan rasvaan tai öljyyn. Se on nopea ruoan valmistustapa, jossa ruokaan ehtii imeytyä aika paljon rasvaa.

Käytössä olevien uppopaistorasvojen laatua valvotaan elintarviketuotantolaitoksissa, suurtalouksissa, ravintoloissa, grillikioskeissa, myymälöissä ja muissa uppopaistoa suoritettavissa kohteissa. Uppopaistossa voidaan käyttää sekä kasvi- että eläinperäistä rasvaa.

Insinööriyössä selvitettiin, miten rasva pilaantuu ja miten pilaantuminen vaikuttaa uppopaistorasvan laatuun. Työssä pohditaan, millä analyysimenetelmillä uppopaistorasvan laadun heikkenemistä tulisi tutkia ja mitkä menetelmistä soveltuisivat parhaiten käytettäväksi Porvoon elintarvikelaboratoriossa. Lisäksi työssä perehdytään kasvirasvojen prosessointiin.

Työn tarkoituksena oli vertailla muita menetelmiä terveystarkastajilla käytössä olevaan pikalaitteeseen ja pohtia, saadaanko pikalaitteella riittäviä tuloksia vai tulisiko rasvoja

analysoida muilla menetelmillä. Lisäksi työssä tutkittiin uppopaistorasvan laatua Porvoon seudulla.

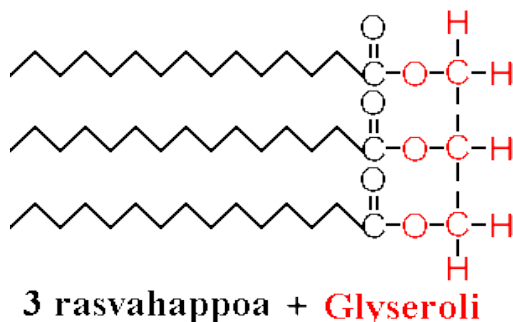
Teoriaosa

2 Rasvat

2.1 Rasvojen koostumus

Lipidit ovat suuri joukko orgaanisia, kemiallisesti monipuolisia yhdisteitä, jotka liukenevat orgaanisiin liuottimiin, mutta vain vähäisessä määrin veteen. Ravinnossa olevia lipidejä kutsutaan rasvoiksi tai öljyiksi riippuen niiden fyysisestä olomuodosta niitä ympäröivässä lämpötilassa: kiinteitä rasvoja sanotaan rasvoiksi ja juoksevia rasvoja sanotaan öljyiksi. Tässä työssä puhuttaessa rasvoista tarkoitetaan ravinnossa olevia rasvoja käsittäen myös öljyt. [2, s. 159, 164; 3, s. 96–97, 110; 4, s. 166.]

99 % kasvi- ja eläinperäisistä rasvoista on glyserolin ja rasvahappojen estereitä. Elävässä solukossa ei ole vapaita rasvahappoja, koska ne ovat eräänlaisia solumyrkkyjä häiriten solukalvon toimintaa. Rasvahapot koostuvat alifaattisesta ketjusta, johon on liittynyt karboksyylihapporyhmä eli ne ovat monokarboksyylihappoja. Rasvahappoja voi sitoutua glyseroliin joko yksi, kaksi tai kolme, jolloin niitä kutsutaan mono-, di- tai triglyserideiksi. Ravinnossa olevat rasvat koostuvat enimmäkseen triglyserideistä (ks. kuva 1), joissa rasvahappoja on 95 % ja glyseridejä 5 %. [2, s. 159, 164; 3, s. 96–97, 110; 4, s. 166.]



Kuva 1. Triglyseridi. [1.]

Mono- ja diglyseridejä voidaan käyttää ravinnossa lisäaineina, esimerkiksi emulgointiaineina. Ravitsemuksellisesti ja toiminnallisesti glyserolirunko on neutraali ja kaikki ravitsemukselliset ja toiminnalliset ominaisuudet riippuvat glyserolirunkoon liittyneistä rasvahapoista. Rasvahapot koostuvat hiiliatomeista sekä niihin sitoutuneista vety- ja happiatomeista. Rasvahappojen rakenteessa on kaksi perusmuuttujaa: rasvahappoketjun pituus sekä ketjussa olevien kaksoissidosten lukumäärä. Erilaisia rasvahappoja on olemassa todella paljon. [2, s. 159, 164; 3, s. 96–97, 110; 4, s. 166.]

2.2 Rasvahapon hiiliketjun pituus

Rasvahapot jaotellaan hiiliketjun pituuden, kaksoissidosten määrän, paikan ja konfiguraation mukaan. Rasvahappoketjussa hiiliatomit ovat sitoutuneet toisiinsa joko yksinkertaisin sidoksin tai kaksoissidoksin [5]. Tavallisesti hiiliatomien lukumäärä rasvahapossa on parillinen ja niiden määrä vaihtelee neljästä hiilestä 22 hiileen. Yleensä rasvahappoketjut ovat suorina. Kasviperäisissä rasvoissa hiiliketjut ovat yleensä pidempiä kuin eläinperäisissä rasvoissa. Kasviperäisissä rasvoissa yleisimpiä ovat 12, 16 ja 18 hiilen pituiset rasvahapot ja eläinperäisissä rasvoissa yleisimpiä ovat 4, 6, 8 ja 10 hiilen pituiset rasvahapot. Rasvahappoketjun pituus vaikuttaa rasvan kovuuteen ja sulamisominaisuuksiin. Lyhyitä rasvahappoja sisältävät rasvat sulavat alhaisemmissa lämpötiloissa. Rasvahappoketjun pituus vaikuttaa rasvahappoketjun hydrolyyttiseen hajoamiseen, jota käsitellään tarkemmin kappaleessa 2.4.1. [4, s. 166–167; 3, s. 110.]

2.3 Rasvojen tyydyttyneisyys

Kaksoissidosten määrän mukaan rasvat jaetaan tyydyttyneisiin, kertatyydyttymättömiin ja monityydyttymättömiin. Tyydyttyneissä rasvahapoissa ei ole lainkaan kaksoissidoksia hiiliatomien välillä, kertatyydyttymättömissä rasvahapoissa on yksi kaksoissidos ja monityydyttymättömissä rasvahapoissa kaksoissidoksia on enemmän kuin yksi. Rasvahapossa voi olla kaksoissidoksia nolasta viiteen kappaletta, mutta yleisimmin niitä on nolasta kolmeen kappaletta. [3, s. 110.] Tyydyttymättömät rasvahapot voivat poiketa toisistaan kolmiulotteiselta avaruusrakenteeltaan. Ne voivat esiintyä sekä cis- että trans-muodossa. Yleensä kaikki luonnonrasvat ovat cis-muodossa. Vain maitorasvassa on hieman trans-muotoisia rasvahappoja, joita muodostuu lehmän pötsikäymisessä. Trans-muotoisia kaksoissidoksia voi muodostua rasvan muokkausprosesseissa, joissa

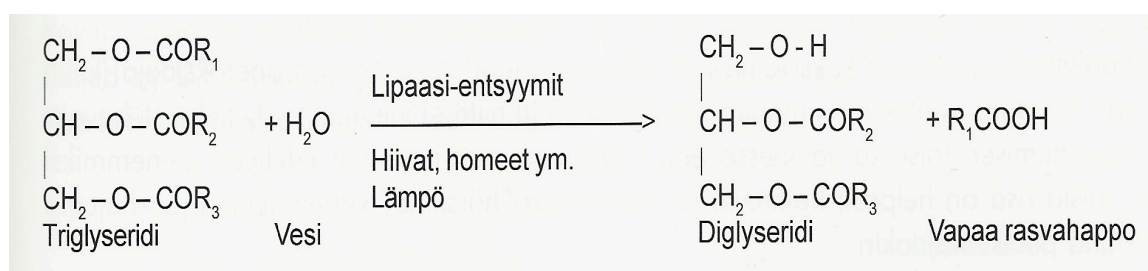
rasvan ominaisuuksia, kuten kovuutta, voidaan muokata optimaaliseksi erilaisten tuotteiden valmistusta varten. [4, s. 166–167, 171.] Tyydyttyneistä rasvahapoista suurimpina pitoisuuksina esiintyvät palmitiini- ja steariinihappo ja tyydyttymättömistä rasvahapoista öljy-, linoli- ja alfa-linoleenihappo [3, s. 110].

2.4 Rasvojen pilaantuminen

Rasvojen pilaantuminen tapahtuu joko rasvahappojen hydrolysoituessa glyseroliksi ja rasvahapoiksi, niiden hapettuessa ilman hapen tai bakteerien vaikutuksesta tai polymeeroituessa. Rasvojen pilaantumisen yhteydessä syntyvät tuotteet muodostavat härskiintyneelle rasvalle tyypillisen voimakkaan hajun ja maun. [4, s. 175; 5.] Triglyseridit ovat erittäin heikosti haihtuvia, mutta hapettumisen yhteydessä ne hajoavat ja muodostavat pieniä, haihtuvia molekyylejä, jotka antavat hapettuneelle rasvalle härskiintyneen maun. Härskiintyneeseen makuun vaikuttaa rasvan koostumus: rasvat, jotka sisältävät paljon omega-6 rasvahappoja, muodostavat hapettuessaan ”ruohomaisia” sekä ”papumaisia” makuja, ja rasvat, jotka sisältävät paljon omega-3 rasvahappoja, muodostavat hapettuessaan kalamaisia aromeja. [2, s. 187, 195]. Rasvojen pilaantuminen on tärkeä elintarvikkeiden pilaantumisen syy sekä niiden hyllyikään vaikuttava tekijä [3, s. 115]. Hydrolyysissä syntyneet vapaat rasvahapot edistävät rasvan hapettumista, aiheuttavat rasvan vaahtoamista ja laskevat sen savuamispistettä [2, s. 186].

2.4.1 Hydrolyysi

Rasvan pilaantuessa hydrolyyttisesti rasvahappo irtoaa esterisidoksistaan muodostaen vapaan rasvahapon (ks. kuva 2) [3, s. 115].

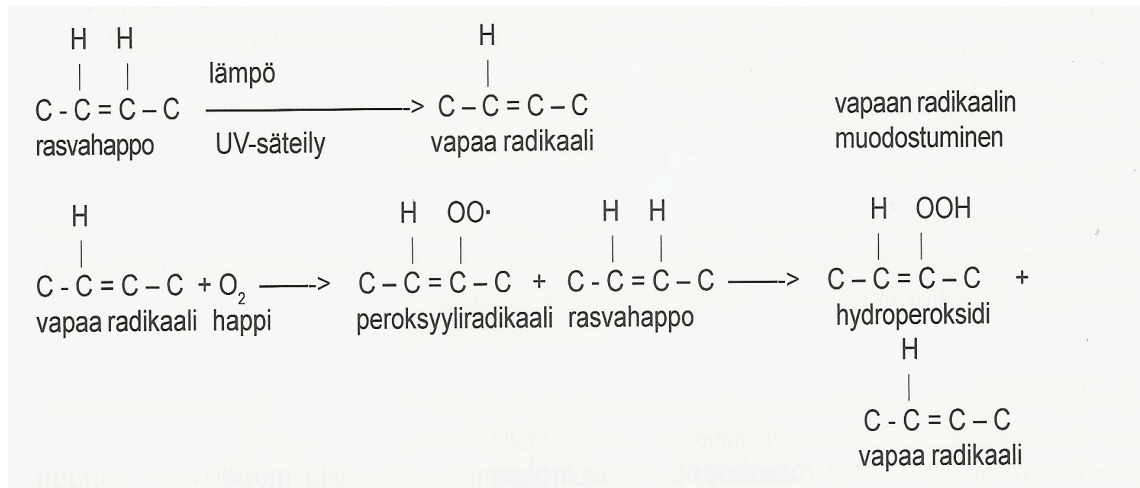


Kuva 2. Vapaan rasvahapon muodostuminen [4, s. 175].

Hydrolyysireaktio vaatii aina vesimolekyylin läsnäoloa. Reaktio nopeutuu korkeissa lämpötiloissa. Uppopaisto-olosuhteet antavat hydrolyysille optimaaliset olosuhteet korkean lämpötilan ja paistettavien tuotteiden sisältämän veden vuoksi. Rasvahappojen tyydyttyneisyydellä ei ole vaikutusta hydrolyysireaktioon, joten tyydyttyneet ja tyydyttymättömät rasvahapot hydrolysoituvat yhtä herkästi, mutta lyhyet rasvahapot hydrolysoituvat herkemmin kuin pitkät, minkä vuoksi ne eivät sovellu käytettäväksi korkeissa lämpötiloissa eli esimerkiksi uppopaisto-olosuhteissa. Hydrolyysireaktio tapahtuu myös äärimmäisissä pH-arvoissa. [4, s. 176, 186.] Hydrolyysin seurauksena vapautuneet rasvahapot voidaan havaita aistinvaraisesti jo pieninä määrinä [3, s. 115].

2.4.2 Hapettuminen

Hapettumiseksi kutsutaan tapahtumaketjua, jossa rasvat reagoivat hapen kanssa [2, s. 186]. Rasvojen hapettuminen perustuu rasvahapossa olevien kaksoissidosten reaktioon. Hapettumisreaktio on kaksivaiheinen: ensimmäisessä vaiheessa muodostuu hydroperoksiedeja, ja toisessa vaiheessa hydroperoksidit hajoavat edelleen pienemmiksi yhdisteiksi, joita ovat esimerkiksi olefiinit, alkoholit, karboksyylihapot ja ketonit (ks. kuva 3). Pienempien yhdisteiden muodostumiseen vaikuttaa rasvahapon koostumus sekä hydroperoksidin sijainti rasvahapossa. Hapettuminen tapahtuu joko rasvahapossa syntyvien vapaiden radikaalien tai valon vaikutuksesta. Hapettumisreaktion aikana syntyy vapaita radikaaleja, jotka vaikuttavat siihen, että reaktio pääsee etenemään ketju-reaktiona.



Kuva 3. Hydroperoksidin muodostumisreaktio hapettumisessa [4, s. 176].

Valon vaikutuksesta tapahtuvassa hapettumisessa happi aktivoituu varattuun tilaan ja reagoi suoraan tyydyttymättömän kaksoissidoksen kanssa muodostaen hydroperoksijohdannaisia. Vapaiden radikaalien vaikutuksesta tapahtuva hapettuminen ei vaadi valoa, joten sitä tapahtuu myös pimeässä, eli sitä ei voida täysin pysäyttää muuten kuin poistamalla happi tuotteesta kokonaan. Valon aikaansaamaa hapettumista voidaan ehkäistä säilyttämällä tuotetta pimeässä.

Rasvan hapettumisnopeuteen vaikuttaa oleellisesti rasvahapossa olevien kaksoissidosten määrä: mitä enemmän rasvassa on kaksoissidoksia, sitä reaktiivisempi se on. Myös lämpötila vaikuttaa hapettumisreaktion nopeuteen. Yli 60 °C lämpötilassa reaktio alkaa nopeutua huomattavasti. [4, s. 176–177, 2, s. 198.] Hapettumista seuraa yleensä polymeroitumisreaktiot [7, s. 9].

Hapettumista voidaan hidastaa yhdisteillä, jotka sitovat vapaita radikaaleja ja muuttavat niitä stabiiliin muotoon. Tällaisia yhdisteitä kutsutaan antioksidanteiksi. Antioksidantti voi toimia estämällä hapen pääsyä kosketuksiin tuotteen kanssa tai suojaamalla tuotetta valon vaikutukselta. [4, s. 177.]

2.4.3 Polymeroituminen

Polymeroitumisessa hapettumisen yhteydessä syntyneet hydroperoksidit johtavat rasvamolekyylien yhteen liittymiseen [9, s. 1]. Polymeroitumisen seurauksena rasvan vis-

kositeetti kasvaa, rasvan väri tummuu, rasva savuaa ja kuohuu. Uppopaistossa polymerisaatiossa syntyvät niukkaliukoiset yhdisteet muodostavat mustan, karstamaisen kerroksen paistokattilan reunoille ja lämpövastuksiin. [8, s. 13.]

2.5 Pilaantumisen aiheuttamat haitat

Monilla polymerisaatioreaktiossa syntyneellä yhdisteellä on todettu olevan toksikologista merkitystä [8, s. 13]. Polymeroitunut rasva on ruskeaa ja paksua eikä sitä voida enää käyttää uppopaistamiseen. Hydrolysoituneessa ja hapettuneessa rasvassa on härskiintyneen rasvan haju ja maku. Sellaista rasvaa ei voi käyttää uppopaistamisessa, koska se aiheuttaa paistettavalle tuotteelle sivumakuja ja -hajuja.

3 Kasvirasvojen prosessointi

3.1 Kasviperaisten rasvojen jaottelu

Kasviperaiset rasvat jaetaan olomuotonsa perusteella joko juokseviin kasviöljyihin tai kiinteisiin kasvirasvoihin. Kiinteät rasvat voivat olla joko luonnostaan kiinteitä, tai ne on voitu prosessoimalla saattaa kiinteään muotoon. Kasvirasvojen eristäminen kasvimateeriaalista ja puhdistus elintarvikekelpoisiksi riippuvat paljon siitä, millaiseen lopputuotteeseen rasva on tarkoitettu. [4, s. 168.] Seuraavaksi käsitellään rasvojen eristys- ja puhdistusprosesseja.

3.2 Kasvirasvojen eristysprosessit

Eristysprosessissa rasva pyritään saamaan irti öljykasveista. Rasvojen eristysprosesseja ovat kylmäpuristus, puristus ja liotinuutto sekä ylikriittinen uutto. [4, s. 168.]

3.2.1 Kylmäpuristus

Kylmäpuristuksessa öljy puristetaan ulos öljykasvista ja puhdistetaan puristuksen jälkeen kiinteistä partikkeleista mekaanisesti suodattamalla. Kylmäpuristuksen haittapuoli

on se, että öljyn maku on yleensä erittäin voimakas ja kitkerä. Kylmäpuristettu öljy on voimakkaan väristä ja makuista, minkä vuoksi se ei sovellu kaikkeen ruoanlaittoon. Puristuksen jälkeen puristemassaan jää yleensä vielä niin paljon öljyä, että massa käsitellään usein vielä kuuma- tai korkeapainepuristuksella ja/tai uuttamalla, jotta saadaan loputkin kasvin sisältämästä öljystä talteen. Kylmäpuristusta käytetään yleisimmin oliiveille. [4, s. 168–169.]

3.2.2 Puristus ja liuotinuutto

Suurin osa kasviöljyistä eristetään lämpöpuristuksella ja/tai uuttamalla. Uutossa liuotina käytetään heksaania, mutta toisinaan myös alkoholeja, kuten isopropanolia. Puristamalla tai uuttamalla eristetyt kasviöljyt eivät oleellisesti eroa toisistaan ominaisuuksiltaan. [4, s. 169.]

3.2.3 Ylikriittinen uutto

Ylikriittisessä uutossa ei tarvita lainkaan liuottimia, vaan rasva uutetaan korkean lämpötilan ja paineen yhdistelmässä olevalla aineella, joka on yleensä hiilidioksidi. Hiilidioksidi haihtuu tuotteesta nopeasti normaalipaineessa. Tämän prosessin etuna on liuotin vapaa lopputuote, mutta laitteet ovat kuitenkin erittäin kalliita, joten ylikriittistä uuttoa ei käytetä massaprosesseissa. [4, s. 169.]

3.3 Rasvojen puhdistusprosessit

Puristuksen ja uuton jäljiltä raakaöljy on vielä erittäin värikästä ja voimakkaan makuis- ta, joten se pitää puhdistaa puhdistusprosessissa. Puhdistuksen jälkeen rasva on ma- tonta, hajutonta ja hyvin säilyvää. [4, s. 169.]

3.3.1 Saostus

Saostuksella pyritään poistamaan neutraalin rasvan joukosta polaariset yhdisteet, joita ovat fosfo- ja glykolipidit sekä näiden muodostamat kalsium- ja magnesiumsuolat. Saostettavien yhdisteiden määrä öljyissä vaihtelee yhden ja viiden prosentin välillä öljy- laadusta riippuen. Vesisaostuksessa saostetaan ensin suoraan vesiliukoiset hydratoitu-

vat lipidit. Tarvittaessa saostukseen käytetään happoa, joka on yleensä sitruuna- tai fosforihappoa. Hapolla saostetaan ei-hydratoituvat kalsium- ja magnesiumsuolat. Saostuksessa voidaan käyttää apuna entsyymejä, jolloin pelkkä vesisaostus riittää. [4, s. 169.]

3.3.2 Neutralointi

Neutraloinnin tarkoituksena on poistaa rasvasta vapaat rasvahapot. Neutraloinnissa käytetään kalium- tai natriumhydroksidia, joilla vapaat rasvahapot saadaan muunneltua saippuamuotoon. Saippuoidut rasvahapot poistetaan seoksesta vesipesulla ja separoinnilla. [4, s. 170.]

3.3.3 Valkaisu ja suodatus

Valkaisu- ja suodatusprosessissa rasvoista poistetaan väriyhdisteitä, yleisimmin karotenoideja ja klorofyllejä, sekä aikaisemmissa vaiheissa muodostuneita hydroperoksiedeja ja niiden hapettumistuotteita sekä edellisissä prosesseissa mahdollisesti jääneitä fosfolipidejä, saippuota ja raskasmetalleja. Valkaisussa öljyn sekaan sekoitetaan savipohjaista valkaisumaa-ainesta 80–100 asteen lämpötilassa 30–100 mbar alipaineessa, minkä jälkeen niiden annetaan reagoida 30 minuuttia. Valkaisumaa erotetaan öljystä suodattamalla piimaasuodattimen ja kangassuodattimen läpi. [4, s. 170.]

3.3.4 Vesihöyrytislau alipaineessa

Raakasvan kitkerä maku saadaan poistettua vesihöyrytislauksella. Tislauksella suoritetaan korkeassa lämpötilassa (250–300 °C) ja alhaisessa paineessa (1-5 mbar). Tislauksen aikana rasvasta poistuu myös siinä mahdollisesti vielä olevat vapaat rasvahapot, hapettumistuotteet sekä väriyhdisteet. [4, s. 170.]

3.3.5 Wintterointi

Wintteroinnilla tarkoitetaan vahojen poistoa, joka on tarpeen suorittaa joillekin öljyille, esimerkiksi auringonkukkaöljyille. Vahojen ja muiden isomolekyylisten yhdisteiden poistamisella voidaan vaikuttaa siihen, että öljy säilyy kirkkaana koko säilyvyysajan. Wintte-

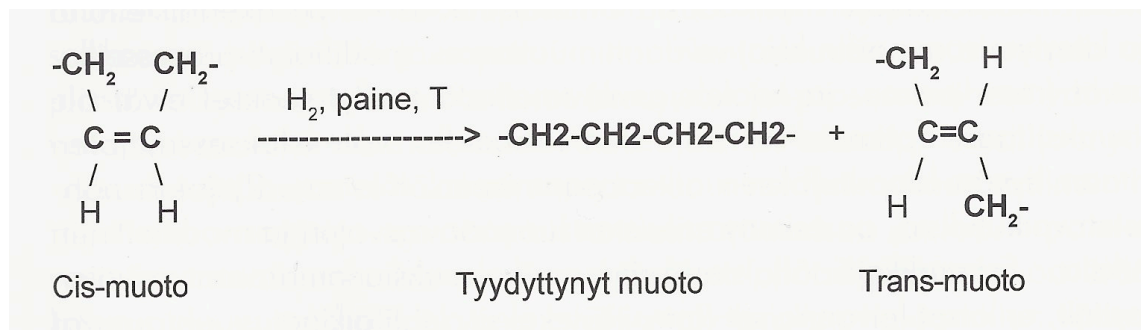
rintiprosessissa öljy jäädytetään hitaasti ja muodostuneet kiteet suodatetaan pois. Wintterointiprosessin läpikäyneeseen öljyyn ei ala säilytyksen aikana muodostua vaha-kiteitä. [4, s. 170–171.]

3.4 Rasvojen modifiointiprosessit

Modifiointiprosesseilla voidaan muuttaa rasvojen fysikaalisia ominaisuuksia kuten esimerkiksi rasvan kovuutta vaikuttamalla rasvan sulamis- ja kiteytymisominaisuuksiin [4, s. 171].

3.4.1 Kovetus vedytyksellä

Rasvoja voidaan kovettaa vedytyksellä, jossa rasvahappojen kaksoissidoksia tyydytetään vedyllä, jolloin rasva muuttuu kovempaan muotoon. Kovetusta voidaan säädellä lämpötilan, vedytyspaineen, sekoitusvoimakkuuden ja reaktioajan avulla. Kovetus voidaan suorittaa joko osittain, jolloin kaikkia rasvassa olevia kaksoissidoksia ei koveteta, tai kokonaan, jolloin kaikki kaksoissidokset kovetetaan.



Kuva 4. Trans-rasvahapon syntyminen [4, s. 172].

Kuvasta 4 nähdään, että osittaisessa kovetuksessa syntyy tyydyttyneen rasvan lisäksi trans-rasvahappoja, jotka ovat molekyylikaavaltaan identtisiä cis-muodossa olevien rasvahappojen kanssa, mutta joilla on enemmän kovan rasvan ominaisuuksia kuten korkeampi sulamispiste. [4, s. 172.]

3.4.2 Kovetus vaihtoesteröinnillä

Vaihtoesteröinti on eniten käytetty modifiointiprosessi, jolla vaikutetaan rasvan kovuuteen. Vaihtoesteröinnissä rasvahapot eivät muutu rakenteeltaan vaan ne järjestellään uudestaan. Prosessissa sekoitetaan keskenään useampaa erilaista rasvaa, triglyseridit puretaan osiin eli rasvahapot irrotetaan glyseridirungostaan. Tämän jälkeen rasvahapot muodostetaan uudestaan täysin sattumanvaraisesti todennäköisyysperiaatteen mukaisesti. Prosessia ei yleensä pystytä säätelemään, vaan se tapahtuu täydellisesti loppuun asti. Lopputulokseen vaikuttaa lähtöaineina käytettyjen rasvojen koostumus. Vaihtoesteröinti voidaan suorittaa käyttäen joko kemiallista tai biologista katalyyttia. Katalyyttinä käytetään yleensä natriumetylaattia tai natriummetylaattia. Entsymaattinen prosessi poikkeaa katalyyttisesti prosessista niin, että siinä ainoastaan kaksi uloimpana olevaa rasvahappoa vaihtaa paikkaa ja keskimäinen rasvahappo jää paikoilleen. [4, s. 172–173.]

3.4.3 Fraktiointi

Fraktioinnissa rasvasta erotetaan lämpötilan avulla erikovuisia fraktioita. Fraktioinnilla voidaan vaikuttaa rasvan kovuuteen. Juokseva talteen otettu fraktio on oleiinifraktio ja kiteisenä suodattimelle jäävä fraktio on steariinifraktio. Fraktiointeja voidaan suorittaa useampia peräkkäin, jolloin lähtörasva jaetaan aina pienempiin osiin, joilla voidaan hakea tiettyjä erityisominaisuuksia omaavaa rasvaa. Fraktiointi voidaan suorittaa kuivafraktiointina, jolloin rasva fraktioidaan sellaisenaan, tai märkäfraktiointina, jolloin rasva liuotetaan ensin liuottimeen. [4, s. 173.]

4 Uppopaistaminen

Uppopaisto on ruoanvalmistusmenetelmä, jossa ruoka kypsennetään upottamalla se kuumaan rasvaan. Se on kotioloissa harvemmin käytetty menetelmä, mutta suurkeittimissä sitä käytetään paljon. Uppopaistaminen on erittäin nopea tapa valmistaa ruokaa. Sekä kasvirasvat että eläinrasvat sopivat käytettäväksi uppopaistoon. Uppopaistossa rasvan optimilämpötila on noin 180 °C. Oikein suoritettu uppopaisto ei tee ruoasta rasvaista, koska ruoassa oleva kosteus hylkii rasvaa. Kuuma rasva lämmittää ruoassa ole-

vaa vettä, ja jos rasva on liian kuumaa tai ruokaa pidetään rasvassa liian kauan, vesi haihtuu höyrynä ruoasta, ja rasva alkaa päästä ruoan sisään. Jos rasva on liian kylmää, ruoka ei kypsy kunnolla, ennen kuin rasva alkaa päästä sen sisään. [9]

5 Uppopaistorasvojen laadun tutkiminen

5.1 Uppopaistorasvan laadunvalvontatapoja

Uppopaistorasvojen laatua voidaan valvoa erilaisilla analyysimenetelmillä sekä laitteilla. Analyysimenetelmät ovat usein laboratoriossa tehtäviä kemiallisia menetelmiä, kun taas laitteet ovat usein pikalaitteita, joilla rasvan laatua voidaan tutkia jo näytteenottokoh- teessa.

5.2 Laboratoriossa tehtävät analyysimenetelmät

Laboratoriossa tehtäviä analyysimenetelmiä ovat happoluku, peroksidiluku, anisidiinilu- ku, jodiluku, savuamispiste ja aistinvarainen arviointi. Näitä menetelmiä käsitellään seuraavaksi.

5.2.1 Happoluku

Happoluvun määrittämisellä voidaan seurata rasvan hydrolyyttistä pilaantumista. Hap- poluku kertoo vapaiden rasvahappojen määrän. Se määritellään milligrammoina ka- liumhydroksidia, joka tarvitaan neutraloimaan yhdessä grammassa rasvaa olevat va- paat rasvahapot. [3, s. 115; 8, s. 1.] Vielä käyttökelpoisen kasvirasvan happoluku saa olla enintään 2,0, ja eläinrasvassa se saa olla enintään 2,5 [10, s. 3].

5.2.2 Peroksidiluku

Peroksidiluku kuvaa hapettumisen alkuvaihetta eli primääristen hapettumistuotteiden määrää [3, s. 116]. Peroksidiluvun määritelmän mukaan se on niiden rasvassa olevien aineiden pitoisuus, ilmoitettuna milliekvivalentteina aktiivista happea per kilogramma, jotka hapettavat kaliumjodidia kuvatuissa olosuhteissa. Peroksidiluvun määrittämisen

onnistumisen kannalta on tärkeää, että näyte säilytetään pimeässä ja kylmässä ja että näytepullo otetaan mieluummin kokonaan täyteen, jolloin sinne ei jää lainkaan happea. [11, s. 1,3.]

5.2.3 Anisidiiniluku

Anisidiiniluku kuvaa aldehydien, erityisesti 2-alkenaalien ja 2,4-dienaalien, määrää [3, s. 118]. Se täydentää peroksidilukumäärittystä, koska se mittaa peroksidien hajoamistuotteita [4, s. 174].

5.2.4 Jodiluku

Jodiluku kuvaa rasvan tyydyttymättömyysastetta. Jodi reagoi rasvahappojen kanssa liittymällä kaksoissidoksiin. Jodiluku ilmoittaa, kuinka monta grammaa jodiksi laskettua halogeenia 100 g tutkittavaa rasvaa kuluttaa. [3, s. 114.]

5.2.5 Savuamispiste

Rasvaa kuumennettaessa se alkaa tietyssä lämpötilassa savuta. Savuaminen on merkki siitä, että rasva pilkkoutuu pienimolekyylisten aineiden haihtuessa. Mitä kauemmin rasvaa käytetään, sitä alempi on sen savuamispiste. Käyttämättömän rasvan savuamispiste on noin 250 °C. [12, s. 42–43.] Pitkään käytetyn uppopaistorasvan savuamispiste saattaa olla vain noin 150 °C [13, s. 1].

5.2.6 Aistinvarainen arviointi

Aistinvaraisessa arvioinnissa arvioidaan uppopaiston aiheuttamia haju- ja värimuutoksia rasvassa. Pitkään käytössä ollut rasva on tummaa ja haisee härskiintyneelle. [8, s. 2.]

5.3 Rasvan laatua mittaavat pikalaitteet

Pikalaitteilla rasvan laatu voidaan määrittää nopeasti. Analysointi tapahtuu ilman esivalmisteluja, ja se voidaan suorittaa jo näytteenottoaikalla.

5.3.1 Fritest

Fritest on valmispakkauksena oleva pikamenetelmä uppopaistorasvan laadun määrittämiseksi. Rasvahappoperoksidit dehydrotuvat ketoneiksi, jotka polymeroituvat alkalien vaikutuksesta muodostaen polyhydrofuraaneja, jotka ovat väriltään ruskeita. Fritest on kolorimetrinen eli värin muutokseen perustuva menetelmä, joka perustuu alkalien vaikutuksesta muodostuneisiin erivahvuisiin ruskean sävyihin, joita verrataan pakkauksessa olevaan asteikkoon. Asteikko on 1-4, jossa 1 = hyvä, 2 = vielä ok, 3 = vaihdettava ja 4 = käyttökelvoton. [14.]

5.3.2 Oxifritest

Oxifritest on myös valmispakkauksena oleva pikamenetelmä, joka mittaa hapettuneiden rasvahappojen suhteellista määrää. Siinä verrataan indikaattoriaineen ja hapettuneiden rasvahappojen muodostaman värillisen yhdisteen määrää pakkauksessa olevaan asteikkoon. [15.]

5.3.3 3M:n pikalaite PCT 120

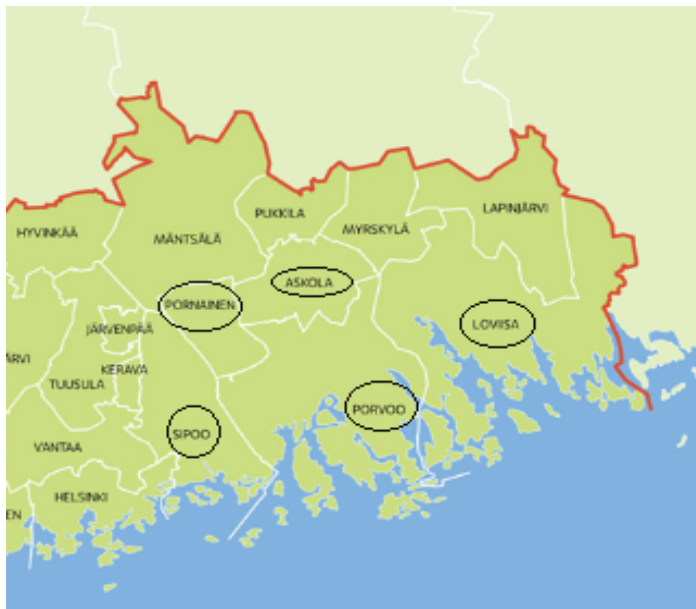
Uppopaistorasvan laadun määrittämiseen tarkoitettulla 3M:n pikalaitteella voidaan määrittää rasvassa olevia polaarisia yhdisteitä, joita ovat rasvojen laadun heikkenemisen johdosta muodostuneet vapaat rasvahapot, hapettumistuotteet sekä polymeroituneet rasvahapot. [16.]

Kokeellinen osa

6 Näytteenotto

6.1 Näytteenottopaikat

Porvoon elintarvikelaboratorio suorittaa elintarvikelaissa (23/2006) tarkoitettuun oma-valvonnan toimivuuden valvontaan liittyvät näytteenotot sekä terveydensuojelulain 6 §:n mukaiset ilmoitusvelvollisten huoneistojen suunnitelmalliset näytteenotot Lapinjärvellä, Loviisassa, Porvoossa, Askolassa, Pornaisissa ja Sipoossa. Uppopaistorasvanäytteet haettiin Loviisan, Porvoon, Askolan, Sipoon ja Pornaisten alueelta (kuva 5).



Kuva 5. Näytteenottopaikat [19].

Näytteenottopaikkojen tuli olla sellaisia, joissa oli jo käyty vuonna 2010, jotta tutkittavista näytteistä ei tulisi toiminnanharjoittajille uutta näytteenottomaksua. Lapinjärvellä sellaisia paikkoja ei ollut lainkaan, joten Lapinjärveltä ei haettu näytteitä.

Näytteenottosuunnitelman mukaan näytteenottopaikkoja tuli olla vähintään 20 kappaletta. Näytteitä saatiin yhteensä 22 paikasta, joista 10 oli ravintolaa, 5 leipomoa, 3 grilliä ja 4 pizzeriaa, ja joista 9 sijaitsi Porvoossa, 5 Sipoossa, 2 Askolassa, 1 Pornaisissa ja 4 Loviisassa.

6.2 Näytteenottomenetelmä

Näytteenotto suoritettiin laboratorion menettelytapaohjeen M-14 mukaan. Menettelytapaohje perustuu standardiin SFS-EN ISO 19458:2007, Pohjoismaisen elintarvikkeiden metodiikkakomitean (NMKL) ohjeeseen NMKL 91:2002, sosiaali- ja terveysministeriön asetuksiin 461/2000, 354/2008 ja 177/2008, maa- ja metsätalousministeriön asetuksiin 3/EEO/2000 ja 9/EEO/2003 sekä pintahygieniaoppaaseen (Pintahygieniaopas 2006).

6.3 Näytteenottotekniikka

Näytteenotossa aseptiikalla ei ollut suurta merkitystä rasvoista tutkittavien ominaisuuksien kannalta. Koska näytteenotto paikat olivat keittiöitä ja leipomoita, tuli puhtaudesta kuitenkin huolehtia; näytteenotossa tuli käyttää sitä varten olevaa puhdasta laboratoriotakkia ja kengät tuli suojata kertakäyttöisillä suojuksilla. Näytteenotossa käytettiin kertakäyttökäsineitä, jotka vaihdettiin puhtaisiin aina ennen uuden näytteen ottamista. Jokainen näyte otettiin puhtaalla metallikauhalla ja laitettiin suoraan erittäin hyvin kuumuutta kestävään pulloon. Koska osa näytteistä oli näytteenottohetkellä erittäin kuumia, laitettiin pullot turvallisuuden vuoksi kuljetuksen ajaksi kylmälaukkuun, joka oli mahdollisimman täynnä kylmävaraajia. Näytteiden lämpötila mitattiin ennen näytteenottoa. Lämpömittari desinfioitiin jokaisen mittauksen jälkeen. Kädet tuli suojata pitkillä, kuumuutta kestäväillä hanskoilla. Jokaisen näytteen osalta täytettiin laboratorion lähetelomake sekä uppopaistorasvoja koskeva lähetelomake. Kaikkia näytteitä otettiin kaksi kappaletta, ja mahdollisuuksien mukaan otettiin vertailunäytteeksi käyttämätöntä vastaavaa rasvaa.

7 Porvoon elintarvikelaboratorioon sopivan menetelmän valinta ja testaus

7.1 Menetelmien valinta

Työn tarkoituksena oli selvittää, riittääkö 3M PCT 120 -pikalaitte uppopaistossa käytettävien rasvojen laadun määrittämiseen. Asian selvittämiseksi pikalaitetta verrattiin muihin menetelmiin. Koska kaikkia yllämainittuja analyysejä ei olisi voitu suorittaa, valittiin vertailumenetelmiksi kaksi menetelmää. Elintarviketurvallisuusviraston (Evira) mukaan rasvoista tulisi tutkia ainakin happoluku ja peroksidiluku. Kummallekaan menetelmälle ei ole olemassa lakisääteisiä raja-arvoja, joiden ylittyessä rasva olisi haitallista terveydelle. [17.] Raisio Oyj teettää rasvojen analysoinnin Eurofins-laboratoriossa, jossa rasvoista tutkitaan happoluku, peroksidiluku, vesipitoisuus, anisidiiniluku ja fritest. Eurofinsin mukaan peroksidiluku ei ole uppopaistorasvoille paras laatua kuvaava tunnusluku, koska sillä saadaan selville vain primääriset hapettumistuotteet, ja jos nämä primääriset hapettumistuotteet ovat jo ehtineet muuttua aldehydeiksi ja ketoneiksi, saattaa rasvan laatu näyttää peroksidiluvun mukaan vielä hyvältä, vaikka se on jo pilaantunut. [18.] Eviran ja Eurofinsin suositusten mukaan valittiin vertailumenetelmiksi happoluku, jonka määrittäminen suoritetaan melko yksinkertaisella titrauksella, ja fritest, jonka avulla rasvan laatu saadaan määritettyä nopeasti ja helposti.

7.2 Menetelmien toimivuuden testaus

Määritettiin sekä jo huonoksi menneistä rasvoista että tuoreista vastaavista rasvoista happoluku ja tutkittiin rasvat 3M:n pikalaitteella sekä tehtiin niille Fritest. Määritetyt happoluvut sekä Fritestillä saadut tulokset sekä rinnakkaistulokset vastasivat hyvin toisiaan, mutta pikalaitteella saadut tulokset poikkesivat muiden menetelmien tuloksista. Vaikka tutkittavat rasvat olivat vertailtavien menetelmien mukaan jo erittäin huonoja, pikalaitteen testaustuloksen mukaan ne olivat edelleen hyvälaatuisia (ks. taulukko 1).

Taulukko 1. Happoluvun ja fritestin vertaus 3M-pikalaitteeseen. Asteikko: happoluku: < 2 → rasva on hyvälaatuista, > 2 → rasva on käyttökeltontona; fritest: 1 = hyvä, 2 = vielä ok, 3 = vaihdettava, 4 = käyttökeltontona; pikalaite: ok (rasvaa voidaan vielä käyttää), stop (rasvan käyttö on lopetettava välittömästi)

Näyte	Happoluku	Fritest	Pikalaite
1	0,2	1	ok
4	2,2	3	ok
6	2,1	3	ok

Laitteesta saatiin lisätietoja ja kunnolliset käyttöohjeet valmistajalta (3M), ja laitetta testattiin useita kertoja. Pikalaitteen mukaan kaikki rasvat olivat jokaisella mittauskerralla erittäin hyvälaatuisia. Todettiin, että laite ei toimi, ja se päätettiin jättää kokonaan pois menetelmien vertailusta. Uudeksi tavoitteeksi asetettiin happoluvun määrittämisen ja Fritestin vertailu sekä paremmaksi osoittautuneen menetelmän validointi laboratorion validointikäytännön mukaisesti (liite 1). Koska Fritest on värireaktion perustuva pikatesti, aiheutuu sen tuloksiin suurin virhe testin tekijästä. Happoluvun määrittämisellä saatuja tuloksia pidettiin luotettavampina, joten päätettiin valita se varsinaiseksi analyysiksi ja vertailla Fritestin tuloksia siihen.

7.3 Näytteiden analysointi

Näytteet analysoitiin vertailtavilla menetelmillä näytteenottopäivänä. Analysointi suoritettiin satunnaisessa järjestyksessä. Analyysiin tarvittavat liuokset valmistettiin kaikki kerralla, jotta pienikään konsentraatioero ei pääsisi vaikuttamaan tuloksiin.

7.3.1 Happolukuanalyysi

Happoluvun määrittäminen rasvoista perustuu Pohjoismaisen elintarvikkeiden metodiikkakomitean (NMKL) ohjeeseen numero 38 (4. painos 2001). Rasva liuotetaan 96-prosenttisen etanolin ja dietyylieetterin 1:1 seokseen ja titrataan 0,1 mol/l kaliumhydroksidiliuoksella päätepisteeseen käyttäen fenoliftaleiinia indikaattorina. Happoluku laskettiin titraustuloksen perusteella kaavalla 1:

$$\text{Happoluku} = \frac{56,1 * M * V}{m}, \text{ jossa} \quad (1)$$

56,1 = kaliumhydroksidin moolimassa [g/mol]

M = kaliumhydroksidin molaarisuus [mol/l]

V = kaliumhydroksidiliuoksen kulutus titrauksessa [ml]

m = näytteen massa [g] [10.]

Koska tälle menetelmälle ei ole olemassa valmista standardia, käytettiin jokaisessa määrittäyksessä vertailustandardina Raision Keiju-rypsiöljyä, jonka happoluvun tulisi olla < 0,1 [18].

7.3.2 Fritest

Kuten jo aiemmin on todettu, Fritest on kolorimetrinen menetelmä, joka perustuu alkaalin vaikutuksesta muodostuneisiin erivahvuisiin ruskean sävyihin, joita verrataan pakkauksessa olevaan asteikkoon. Pakkauksen mukana tulee reagenssi, koeputket sekä ruisku, jolla reagenssia annostellaan. Rasva kuumennetaan 180 °C:ksi, jonka jälkeen kuumaa rasvaa laitetaan koeputkeen. Koeputkeen lisätään ruiskulla Fritest-reagenssia. Koeputkea sekoitetaan, minkä jälkeen odotetaan yksi minuutti, ennen kuin koeputkea verrataan pakkauksen mukana tulleeseen asteikkoon. Asteikossa värit ovat kirkkaasta tummaan, ja asteikko on 1-4, jossa 1 = hyvä, 2 = vielä ok, 3 = vaihdettava, 4 = käytökelvoton.

7.3.3 Happoluvun ja Fritestin tulokset

Happoluvun määrittämisen ja Fritestin tulokset ovat taulukossa 2. Rasva on käyttökelpoista happoluvun ollessa yli kaksi. Fritestin asteikko on 1-4.

Taulukko 2. Happoluvun ja Fritestin tulokset

Näyte	happoluku	fritest
6	2,0	3
7	0,3	2
8	1,4	4
9	4,4	3
10	0,5	2
11	1,9	3
12	0,7	3
13	0,2	1
14	0,3	1
15	1,6	2
16	2,4	2
17	0,5	1
18	3,6	4
19	1,3	3
20	0,6	2
21	2,2	4
22	0,3	1
23	0,3	1
24	0,9	3
25	4,1	4
26	1,6	3
27	0,6	2

Happoluvun mukaan rasvoista 16 eli 73 % oli hyviä ja Fritestin perusteella rasvoista 11 eli 50 % oli hyviä. Happoluvun tuloksista 3 ylitti raja-arvon 2,0 vain hieman ja tuloksista 3 ylitti raja-arvon reippaasti. Toisinaan rasvat, jotka olivat happoluvun mukaan vielä ihan hyviä, saivat Fritestissä arvon 3 (vaihde) tai 4 (käyttökelpoton). Tämä johtuu siitä, että happoluvun asteikko on < 2 ja > 2 , jolloin rasvat luokiteltiin joko huonoiksi tai hyväiksi, ja rasvan happoluvun lähestyessä kahta, saattaa rasva saada Fritestillä arvon 3 tai 4. Todettiin, että happoluvun analysointi on Porvoon elintarvikelaboratorioon paras uppoaistorasvan laatua mittaava menetelmä.

8 Valitun menetelmän käyttöönottovalidointi ja modifiointi

8.1 Menetelmän toistettavuus

Menetelmän toistettavuus testattiin määrittämällä happoluku kymmenen kertaa menetelmässä käytettävästä sisäisestä standardista eli Keiju-rypsiöljystä sekä näytteestä numero 6. Tulokset ovat taulukoissa 3 ja 4. Menetelmän toistettavuus on laskettu liitteen 1 ohjeiden mukaan.

Taulukko 3. Toistettavuuden epävarmuuden (RSD %) laskeminen Keiju-rypsiöljyn avulla.

Keiju-rypsiöljy

Näyte (g)	KOH-kulutus (ml)	happoluku
20,8948	0,2	0,054
27,5834	0,38	0,077
20,7508	0,22	0,059
25,0519	0,23	0,052
25,4923	0,26	0,057
25,1636	0,24	0,054
26,5895	0,3	0,063
25,7899	0,26	0,057
26,7008	0,3	0,063
27,0759	0,28	0,058

Keskiarvo	0,059508125
Keskihajonta	0,007398
RSD %	12,43230859

Keiju-rypsiöljyn toistettavuuden epävarmuus oli 12 %.

Taulukko 4. Toistettavuuden epävarmuuden laskeminen näytteen numero 6 avulla.

Näyte 6

Näyte (g)	KOH-kulutus (ml)	happoluku
10,5641	3,6	1,912
15,4434	4,92	1,787
7,2013	2,6	2,025
5,9662	2,23	2,097
9,2031	3,29	2,006
7,5959	2,98	2,201
8,0713	2,96	2,057
8,8442	3,11	1,973
9,7459	3,54	2,038
13,4314	4,7	1,963

Keskiarvo	2,0106
Keskihajonta	0,1161
RSD %	5,7765

Näytteen toistettavuuden epävarmuus oli 6 %. Koska toistettavuuden epävarmuus oli pieni, todettiin, että menetelmän toistettavuus on hyvä.

8.2 Menetelmän määrittämis- ja toteamisraja

Määrittämis- ja toteamisraja määritettiin puhtaan, tuoreen rypsiöljyn avulla (Keiju-rypsiöljy, Raisio), koska sen happoluku on alhainen, alle 0,1 [18]. Tehtiin kymmenen rinnakkaismäärittystä ja laskettiin happolukujen keskihajonta. Toteamisraja määritettiin kertomalla keskihajonta kolmella, ja siitä määritettiin edelleen määrittämisraja kertomalla toteamisraja kahdella (ks. taulukko 5).

Taulukko 5. Määrittämis- ja toteamisraja.

Keiju	Happoluku
Keskiarvo	0,0704
Keskihajonta	0,0176
Toteamisraja	0,0528
Määrittämisraja	0,1056

Menetelmän määrittämisrajaksi saatiin 0,1 ja toteamisrajaksi 0,05.

8.3 Satunnaisvirhe ja suhteellinen keskihajonta

Menetelmän satunnaisvirhe laskettiin kaikkien näytteiden ja niiden rinnakkaisten tulosten perusteella. Satunnaisvirhe laskettiin kaavan 2 avulla. Satunnaisvirheeksi (RSD_r) saatiin 0,3 %.

$$RSD_r = \sqrt{\frac{\sum d_i^2}{2 \times n}}, \text{ jossa} \quad (2)$$

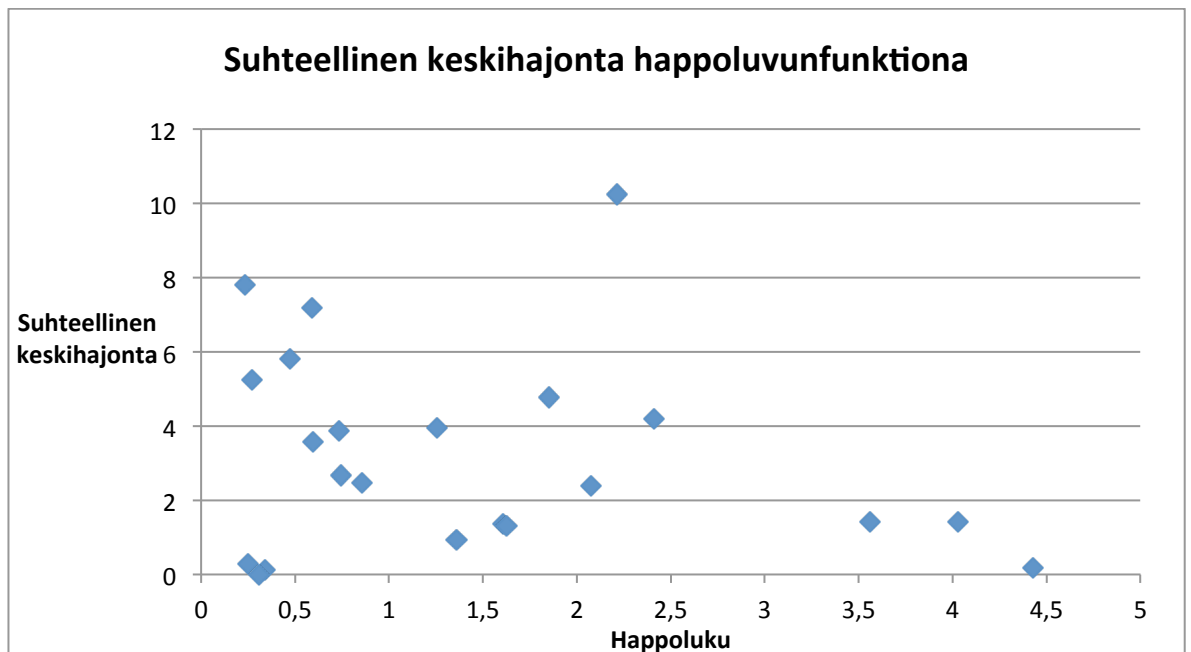
$$d_i = \frac{(a_i - b_i)}{x_i} \times 100$$

a ja b = rinnakkaistulokset

x = rinnakkaistulosten keskiarvo

n = näytteiden lukumäärä

Kuvasta 6 nähdään, että mitä suuremmaksi happoluku kasvaa, sitä pienempi on rinnakkaismäärittysten suhteellinen keskihajonta.



Kuva 6. Suhteellinen keskihajonta pitoisuuden funktiona.

Satunnaisvirheen ja suhteellisen keskihajonnan laskemisessa käytetyt kaavat ja taulukot ovat liitteessä 2. Menetelmän satunnaisvirhe ja suhteellinen keskihajonta on laskettu liitteen 1 ohjeiden mukaan.

8.4 Systemaattinen virhe

Systemaattinen virhe lasketaan vähentämällä määrittämällä saadusta tuloksesta todellinen arvo (kaava 3). Koska happoluvulla ei ole varsinaisesti todellista arvoa, käytettiin tässä todellisena arvona ulkoisen tarkastuksen tuloksia.

$$\text{Systemaattinen virhe} = x - \mu, \text{ jossa} \quad (3)$$

x = määrittämällä saatu tulos eli Porvoon tulos

μ = todellinen arvo eli Riihimäen tulos

Ulkoisen tarkistus suoritettiin lähettämällä näytteet 7 ja 8 analysoitavaksi myös Riihimäen elintarvikelaboratorioon. Ulkoisen tarkistuksen tulokset ovat taulukossa 6.

Taulukko 6. Ulkoisen tarkistuksen tulokset.

	Näyte 7	Näyte 8
Porvoon tulos	1,8024	0,2501
Rinnakkainen	1,715	0,2465
Ka. Porvoo	1,759	0,248
Riihimäen tulos	1,77	0,211
Rinnakkainen	1,76	0,204
Ka. Riihimäki	1,765	0,2075
Porvoon ja Riihimäen tulosten keskiarvo	1,762	0,228
Porvoon ja Riihimäen tulosten keskihajonta	0,036	0,024

Systemaattinen virhe ja tarkkuusprosentti laskettiin Riihimäen ja Porvoon elintarvikelaboratorioiden tulosten perusteella kaavalla 3. Tarkkuusprosentti laskettiin kaavalla 4. Tulokset ovat taulukossa 7.

$$\text{Tarkkuusprosentti} = \frac{x - \mu}{\mu} \times 100\% \times 100 \%, \text{ jossa} \quad (4)$$

x = määrittämällä saatu tulos

μ = todellinen arvo

Taulukko 7. Systemaattinen virhe.

Näyte	Systemaattinen virhe	Tarkkuusprosentti
7	-0,006	-0,3569
8	0,041	19,6593

Systemaattiseksi virheeksi saatiin pienellä pitoisuudella (näyte 8) 0,041 ja suuremmalla pitoisuudella (näyte 7) -0,006. Menetelmän systemaattinen virhe on laskettu liitteen 1 ohjeiden mukaan.

8.5 Epävarmuus

Systemaattisen virheen, satunnaisvirheen ja toistokyvyn epävarmuuden avulla laskettiin menetelmän kokonaisepävarmuus. Koska ulkoisen tarkistus tehtiin kahdella näyt-

teellä, laskettiin systemaattinen virhe kahdella eri pitoisuudella. Tämän vuoksi myös menetelmän epävarmuus laskettiin kahdella eri pitoisuudella (ks. taulukko 8).

Taulukko 8. Menetelmän epävarmuus.

Epävarmuus, kun pitoisuus on 0,2

Kokonaisepävarmuus $U_c = \sqrt{\sum U_i^2}$	$U_c = 20,40348$
U1 = RSDr	0,295407
U2 = RSD(%)	5,45221
U3 = systemaattinen virhe (ulkoinen tarkistus)	19,6593
Laajennettu epävarmuus $U = \pm 2 * U_c$	40,807 \approx 40 %

Epävarmuus, kun pitoisuus on 1,9

Kokonaisepävarmuus $U_c = \sqrt{\sum U_i^2}$	$U_c = 5,471859$
U1 = RSDr	0,295407
U2 = RSD(%)	5,45221
U3 = systemaattinen virhe (ulkoinen tarkistus)	-0,3569
Laajennettu epävarmuus $U = \pm 2 * U_c$	10,943 \approx 10 %

Pitoisuuden ollessa pieni menetelmän epävarmuus on 40 %. Kun pitoisuus kasvaa, epävarmuus pienenee. Pitoisuuden ollessa 1,9 on epävarmuus 10 %. Menetelmän epävarmuus on laskettu liitteen 1 ohjeiden mukaan.

8.6 Menetelmän modifiointi

Happoluvun analyysimenetelmä validoitiin ensin NMKL:n menetelmän mukaan. Yhden näytteen analysoimiseen tarvittiin 50 ml 96 % etanolin ja dietyylieetterin 1:1 (v/v) seosta. Analyysin kustannukset tulivat liian korkeiksi, joten liuottimen määrää haluttiin pienentää. Analysoitiin neljä näytettä sekä standardina käytettävä Keiju-rypsiöljy rinnakkaisineen sekä alkuperäisellä menetelmällä että uudella menetelmällä, jossa liuottimen määrä oli pudotettu 40 prosenttiin alkuperäisestä. Jotta KOH:n kulutus saatiin pysymään menetelmän vaatimalla minimitasolla, laimennettiin käytettävä emäs viidesosaan alkuperäisestä. Sekä alkuperäisen menetelmän että uuden menetelmän tulokset ovat taulukossa 9.

Taulukko 9. Liuottimen määrän vähentäminen.

		KOH (mol/l)	
		0,1	0,02
Näyte	Liuotin	50 ml	20 ml
		Happoluku	Happoluku
11		1,911	2,404
11		1,787	2,144
12		1,823	1,802
12		1,870	1,715
13		0,249	0,372
13		0,223	0,412
15		1,591	1,532
15		1,622	1,678
	Keiju	0,054	0,096

Laskettiin tulosten erotukset sekä erotusten neliöt, joiden avulla laskettiin varianssi kaavalla 5.

$$sd^2 = \frac{\sum d_i^2 - (\sum d_i)^2 \div n}{n - 1} \quad (5)$$

Vertailu tehtiin tilastollisella t-testillä, jolla saadaan selville, onko kahden ryhmän keskiarvojen välillä eroa. Laskettiin, poikkeavatko menetelmät toisistaan viiden prosentin merkitsevyytasolla. T-testin tulokseksi saatiin -0,5. Taulukosta saatu teorettinen arvo on $t_{0,05(8)} = 2,306$ (5 % merkitsevyytasolla). Koska laskettu t-arvo on pienempi kuin teorettinen arvo, menetelmillä ei voida katsoa olevan eroa 5 %:n merkitsevyytasolla.

Menetelmässä käytettävän liuottimen määrää voitiin vähentää 40 %:iin alkuperäisestä määrästä. Kaliumhydroksidi tuli laimentaa viidesosaan alkuperäisestä, jotta sen kulutus saatiin pysymään menetelmän vaatimalla minimitasolla, joka on 0,2 ml.

Kahden menetelmän vertaamisessa käytetyt taulukot ja kaavat ovat liitteessä 3 ja uuden menetelmän menetelmäohje on liitteessä 4.

8.7 Laboranttien opastus happoluvun analysointiin

Neljä laboranttia analysoivat sekä kontrollinäytteenä käytetyn Keijun että yhden näytteen happoluvun. Analyysien tulokset ovat taulukossa 10.

Taulukko 10. Laboranttien analysoimat happoluvut.

Näyte 1		
Laborantti	Happoluku	Pyöristetty tulos
1	0,2465	0,2
2	0,224	0,2
3	0,292	0,3
4	0,25	0,3
Keskiarvo	0,253	0,25
Keskihajonta	0,028	0,058
Kontrollinäyte		
Laborantti	Happoluku	Pyöristetty tulos
1	0,0448	0,0
2	0,075	0,1
3	0,056	0,1
4	0,068	0,1
Keskiarvo	0,061	0,075
Keskihajonta	0,013	0,05

Tulosten keskihajonnat olivat pieniä eli tulokset eivät poikenneet merkittävästi toisistaan. Laboratorio osaa käyttää menetelmää, ja sillä saadaan oikeita tuloksia, joten menetelmä voidaan ottaa käyttöön.

9 Uppopaisorasvan laatu Porvoon seudulla

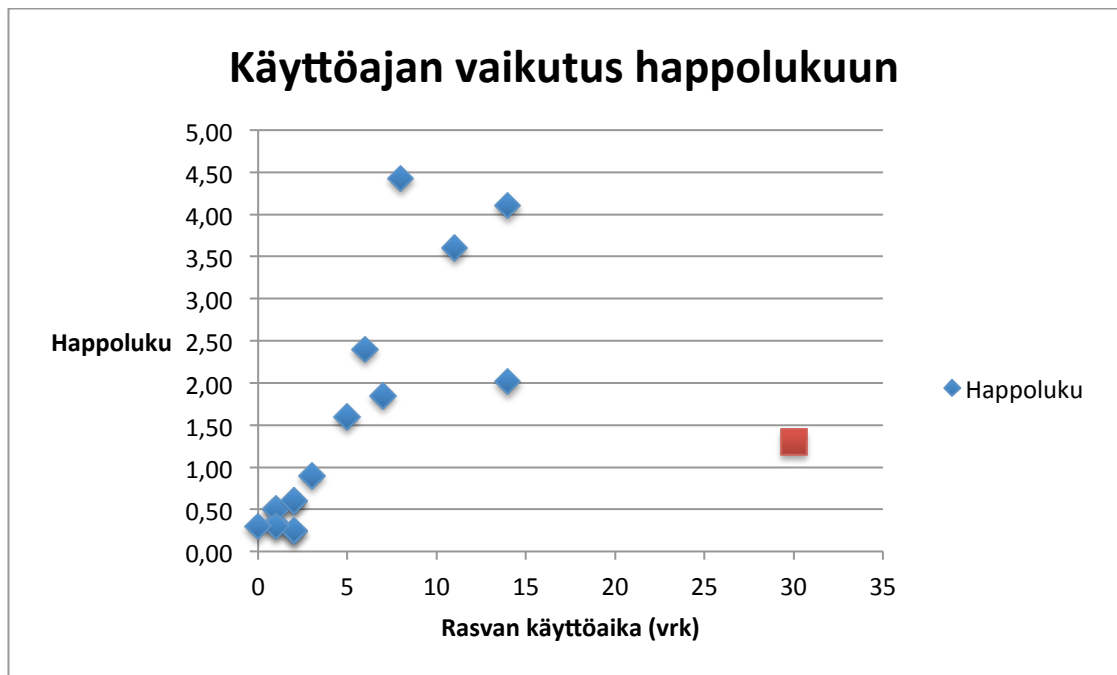
Näytteenoton yhteydessä täytettiin laboratorion lähetelomakkeen lisäksi vain uppopaisorasvaa koskeva lähetelomake (ks. liite 5). Lomakkeeseen kirjattiin käytettävä rasva, sen määrä uppopaistoaltaassa ja rasvan vaihtoväli. Rasvan lämpötila katsottiin rasvakeittimestä sekä mitattiin kalibroidulla lämpömittarilla. Lomakkeeseen kirjattiin keskimääräinen aika, jona rasva pidetään kuumana, sekä se, kuinka kauan rasvaa oli kuumennettu ennen näytteenottoa. Lomakkeeseen kirjattiin myös, mitä tuotteita rasvakeittimessä paistetaan sekä mitä siinä paistettiin näytteenoton aikana. Näytteenottoaikan siisteys, rasvan aiheuttama käry sekä tuuletus arvioitiin asteikolla 0-5, jossa 0 tarkoitti todella epäsiistiä ja 5 siistiä. Lisäksi arvioitiin uppopaisorasvan aistinvaraista laatua

näytteenottoaikalla. Rasvasta arvioitiin haju ja ulkonäkö, ja tulokset kirjattiin lähete-lomakkeeseen asteikolla 0-5, jossa 0 tarkoitti erittäin sameaa ja 5 erittäin kirkasta rasvaa. Taulukosta 11 nähdään, että aistinvaraisen arvioinnin perusteella rasvoista oli hyviä 36 % ja huonoja 14 %. Arvosanan 3 sekä ulkonäöstä että hajusta sai 50 % rasvoista. Päällä olleiden keittimien mittareista toimi 10 ja kaksi oli rikki. 10 paikassa keitin ei ollut päällä näytteenottohetkellä. Päällä olleista keittimistä 67 prosentissa lämpötila oli asetettu uppoaistamisen optimialueelle, joka on 160–180 °C. Kahdessa paikassa keittimet olivat päällä, mutta lämpötila oli asetettu lepotilaan eli noin sataan asteeseen. Molemmissa keittimissä rasva oli kuitenkin huomattavasti kuumempaa kuin mitä mittari näytti. Kahdessa näytteenottoaikassa keittimen mittari oli rikki. Rasvan käyttölämpötilalla ei kuitenkaan ollut vaikutusta happolukuun.

Taulukko 11. Käytön ja säilytyksen vaikutus rasvan laatuun.

Näyte	Rasvaa käytetty (vrk)	Haju	Ulkonäkö	Lämpötila, °C mitattu	Lämpötila, °C ilmoitettu	Mitattu - ilmoitettu °C	Happoluku
6	14	2	1	190,4	mittari rikki		2,02
7	1	4	4	26,2	ei päällä		0,34
8	-	2	2	22,8	ei päällä		1,36
9	8	3	3	177,8	180	-2,2	4,43
10	1	4	4	169,8	mittari rikki		0,51
11	7	3	3	22	ei päällä		1,85
12	-	4	3	57,8	ei päällä		0,74
13	2	4	4	63,3	ei päällä		0,24
14	2	4	4	163,5	170	-6,5	0,25
15	5	3	3	186,7	175	11,7	1,6
16	6	3	3	155,6	160	-4,4	2,4
17	1	4	4	181,3	170	11,3	0,5
18	11	3	2	82,4	ei päällä		3,6
19	n. 30	3	3	135,2	100	35,2	1,3
20	2	4	3	185,4	180	5,4	0,6
21	-	3	3	62,8	ei päällä		2,2
22	1	4	3	165,5	180	-14,5	0,3
23	0	4	4	180,6	180	0,6	0,3
24	3	4	4	52,6	ei päällä		0,9
25	14	3	3	124,4	100	24,4	4,1
26	-	3	3	60,2	ei päällä		1,6
27	2	4	4	56,6	ei päällä		0,6

Paikoissa, joissa rasva oli ollut käytössä yli viisi päivää, oli rasvan laatu käyttökelvotonta. Yhdessä paikassa rasva oli ollut käytössä noin kuukauden ajan, mutta keitin ei ollut jokapäiväisessä käytössä (kuvassa 7 merkitty punaisella pisteellä).



Kuva 7. Rasvan käyttöajan vaikutus happolukuun.

Kuvasta 7 nähdään, että mitä pidempään rasvaa oli käytetty, sitä korkeampi sen happoluku oli. Yleisesti ottaen uppopaistorasvojen laatu Porvoon seudulla oli hyvä.

10 Yhteenveto

Työn tavoitteena oli löytää Porvoon elintarvikelaboratorioon sopiva uppopaistorasvan laadunvarmistusmenetelmä. Porvoon alueella oli käytössä uppopaistorasvan laatua mittaava pikalaite. Työssä selvitettiin, onko pikalaite riittävä mittari laadunvalvontaan vai tuleeko uppopaistorasvoja tutkia muilla menetelmillä. Samalla työssä tutkittiin uppopaistorasvojen laatua Porvoon, Sipoon, Askolan, Pornaisten ja Loviisan alueella.

Työssä tutustuttiin menetelmiin, joilla uppopaistorasvojen laatua voidaan mitata, sekä siihen, mitkä tekijät vaikuttavat uppopaistorasvan laatuun. Erilaisia rasvan analysointimenetelmiä on monia, mutta Eviran ja Eurofins scientific Finlandin suositusten mukaan

valittiin vertailtaviksi menetelmiksi rasvan happoluku sekä Fritest. Happoluvun analyysi perustuu Pohjoismaisen elintarvikkeiden metodiikkakomitean eli NMKL:n menetelmään 38:01.

Valittuihin menetelmiin tutustuttiin analysoimalla Raision Keiju-rypsiöljyä, josta tiedettiin, että sen happoluvun tulee olla 0,1 tai alle 0,1. Lisäksi saatiin läheisestä ravintolasta sekä käyttämätöntä että käytettyä uppopaistorasvaa, jotka analysoitiin valituilla menetelmillä. Analysoitiin myös laboratoriossa lämpömittarien kalibroinnissa käytettävää rypsiöljyä. Näiden analyysien perusteella todettiin, että Porvoossa käytössä ollut pika-laite oli epäkunnossa. Uudeksi tavoitteeksi asetettiin uuden menetelmän löytäminen. Tehtyjen analyysien perusteella todettiin, että happoluku sopii paremmin varsinaiseksi analyysiksi, mutta validoinnin yhteydessä analysoitiin kaikki rasvat myös Fritestillä. Happoluvun analyysillä saadut tulokset tarkastettiin lähettämällä kaksi näytettä toiseen laboratorioon analysoitavaksi. Tulosten perusteella voitiin todeta, että Porvoossa saadut tulokset olivat oikeita. Tutkittiin 22 uppopaistorasvanäytettä kummallakin menetelmällä. Fritestin tulokset poikkesivat hieman happoluvun tuloksista, mikä johtunee siitä, että happoluvun asteikko (<2, >2) on suppeampi kuin Fritestin asteikko (1-4), jolloin rasva, jonka happoluku lähenee kahta eli käyttökeltotonta, saattaa olla Fritestin perusteella vielä käyttökelpoista. Lisäksi Fritestin tulokset perustuvat värin muutokseen, jolloin sen tuloksiin tulee suurempi virhe tekijästä johtuen.

Uppopaistorasvojen laatu Porvoon seudulla osoittautui keskimäärin hyväksi. Rasvan laatuun vaikutti eniten se, miten rasvoja käytettiin näytteenottopaikoissa; mitä pidempään rasva oli ollut käytössä, sitä heikkolaatuisempaa se oli. Työssä selvitettiin rasvan käytön ja säilytyksen vaikutusta rasvan laatuun.

Lopuksi todettiin, että laboratorio osaa käyttää menetelmää ja sillä saadaan oikeita tuloksia, joten menetelmä voitiin ottaa käyttöön.

Lähteet

1. Triglyseridi. Verkkodokumentti. Prometheus instituutti. <http://www.google.fi/imgres?imgurl=http://www.prometheus.fi/terveys/acids.gif&imgrefurl=http://www.prometheus.fi/terveys/kole.htm&usg=__GOeYxbP5rE8y95WBJOo6hLiC_mg=&h=200&w=300&sz=4&hl=fi&start=0&zoom=1&tbnid=BO8peik8f_gFM:&tbnh=141&tbnw=211&ei=fVqTdy7EMO1tAaFmdz4BQ&prev=/search%3Fq%3Dtriglyseridi%26hl%3Dfi%26sa%3DX%26biw%3D1258%26bih%3D635%26tbm%3Disch%26prmd%3Divns&itbs=1&iact=rc&dur=312&page=1&ndsp=15&ved=1t:429,r:0,s:0&tx=95&ty=102> Luettu 28.12.2010.
2. Srinivasan Damodaran, Kirk Parkin ja Owen R. Fennema. 2007. Fennema's Food Chemistry. Lontoo, New York: CRC Press.
3. Pirjo Mattila, Vieno Piironen ja Velimatti Ollilainen. 2001. Elintarvikekemian ja –analytiikka. Helsinki: Yliopistopaino.
4. Anna-Maria Saarela, Paula Hyvönen, Sinikka Määttä ja Atte von Wright. 2010. Elintarvikeprosessit. Kuopio: Savonia-ammattikorkeakoulu.
5. Rasvojen koostumukset. 2007. Verkkodokumentti. Margariinitiedotus. <http://www.margariinitiedotus.fi/index.php?option=com_content&task=view&id=17&Itemid=28> Luettu 28.12.2010.
6. Rasvojen pilaantumien. 2010. Verkkodokumentti. Jyväskylän yliopisto. <<http://www.peda.net/veraja/projekti/centraali/verkkokurssit/kemia/lipidit/rasvat/rakenne>> Luettu 28.12.2010.
7. Käytettyjen uppopaistorasvojen laatu vuonna 1999. 2000. Oulun kaupunki, ympäristövirasto. Raportti 6/2000.
8. Koponen, Auli. 1990. Kuumennettujen rasvojen haitat. Helsinki: Valtion painatuskeskus.
9. Wikipedia
10. Happoluku, NMKL 38/2001. 2001. Pohjoismainen elintarvikkeiden metodiikkakomitea.
11. Peroksidiluku, NMKL 158/1997. 1997. Pohjoismainen elintarvikkeiden metodiikkakomitea.
12. Skrökki, Anneli. Uppopaistorasvojen tutkiminen. 1976. Kajaanin kaupungin elintarvikkeiden ja veden tutkimuslaitos.
13. Käytetyt uppopaistorasvat, savuamispisteen määrittäminen (VTT-4242-92). 1992. Valtion teknillinen tutkimuskeskus, elintarvikelaboratorio.

14. Fritest-käyttöohje. Merck, 1.10652.0001.
15. Oxifritest-käyttöohje. Merck, 1.10653.0001.
16. 3M PCT 120 polar compound tester. Technical data. 3M.
17. Ritvanen, Tiina. 2010. Tutkija, elintarviketurvallisuusvirasto EVIRA, Helsinki. Puhelinkeskustelu 10.6.2010.
18. Laakso, Päivi. 2010. Laboratoriopäällikkö, Eurofins Scientific Finland Oy, Raisio. Puhelinkeskustelu 10.6.2010.
19. Uudenmaan kartta. 2011. Verkkodokumentti. Uudenmaan liitto. <<http://www.uudenmaanliitto.fi/index.phtml?s=49>> Luettu 11.3.2011.

KEMIALLISEN ANALYYSITYÖN LAADUNVARMISTUS JA MENETELMIEN VALIDOINTI

Menettelytapaohje M-13

Porvoon elintarvikelaboratorio

KEMIALLISEN ANALYYSITYÖN LAADUNVARMISTUS JA MENETELMIEN VALIDOINTI

Muutos edelliseen versioon:

- *Tarkennus menetelmien epävarmuuden laskentaan, kappale 1.3*

Kemiallisten menetelmien ulkoista ja sisäistä laadunvarmistusta toteutetaan tämän ohjeen mukaisesti. Ilmoitetut testauskerrat ovat minimivaatimuksia ja testauksia voidaan tarpeen mukaan tehdä useammin. Menetelmien epävarmuus ja validointi on myös kuvattu tässä ohjeessa.

1. SISÄINEN LAADUNVARMISTUS

Analyysien sisäinen laadunvarmistus huolehditaan standardi- ja rinnakkaisnäytteiden avulla. Alhaalla (1.1 ja 1.2) on kerrottu miten usein standardi- ja rinnakkaisnäytteet tutkitaan ja miten reagoidaan tuloksiin.

Pääsääntö: ensimmäinen näyte = standardi ja joka 10. näyte joko rinnakkaisnäyte tai standardi.

Jos kerrallaan tutkitaan enemmän kuin 10 näytettä, kontrollinäytteet ryhmitetään seuraavasti:

standardi 1 – 9 näytettä – **rinnakkaisnäyte** – 9 näytettä – **standardi 2** – 9 näytettä – **rinnakkaisnäyte** jne.

1.1 Standardinäytteet / joka kerta

Kemiallisissa analyyseissä analysoidaan joka kerta myös standardinäyte. Tulos kirjataan valvontakorttiin, jossa on kyseisen analyysin hälytys- ja toimenpiderajat. Yksittäinen tulos hälytysrajojen ulkopuolella ei aiheuta toimenpidettä mutta seuraavat ilmiöt aiheuttavat toimenpiteitä (uusi näyte tai yhteys kemistiin):

- tulos sijoittuu toimenpiderajojen ulkopuolelle
- kaksi peräkkäistä tulosta ovat hälytysrajojen ulkopuolella
- seitsemän peräkkäistä tulosta ovat keskiarvolinjan samalla puolella
- seitsemän peräkkäistä tulosta muodostavat selvästi nousevan tai laskevan suoran linjan

Kemisti laskee vuosittain standardinäytteiden tuloksista analyysien systemaattisen virheen.

1.2 Rinnakkaismääritykset / sama henkilö

Joka analyysistä analysoidaan rinnakkaisnäytteitä. Lasketaan rinnakkaismääritysten erotus prosentteina ja kirjataan tulos rinnakkaismäärityksen valvontakorttiin. Valvontakortissa on kyseisen analyysin hälytys- ja toimenpiderajat sekä maininta miten usein rinnakkaismääritykset tehdään. Toimenpideraja on sama kuin analyysin epävarmuus. Yksittäinen tulos hälytysrajojen ulkopuolella ei aiheuta toimenpidettä mutta jos kolme peräkkäistä tulosta on hälytysrajojen ulkopuolella otetaan yhteys kemistiin. Jos tulos on toimenpiderajojen ulkopuolella rinnakkaismääritys uusitaan, jos näyte riittää. Muuten analysoidaan toinenkin näyte rinnakkain. Mikäli tulos on edelleen toimenpiderajan ulkopuolella otetaan yhteys kemistiin.

Kemisti laskee vuosittain rinnakkaismäärityksien tuloksista analyysien satunnaisvirheen.

1.3 Mittausepävarmuus

Kemisti tarkistaa joka vuosi menetelmien epävarmuuden. Mittausepävarmuus on testaustulokseen liittyvä arvio, joka ilmoittaa rajat, joiden välissä todellisen arvon voidaan tietyllä todennäköisyydellä katsoa olevan. Menetelmän mittausepävarmuus on riippuvainen analysoitavasta matriisista ja pitoisuustasosta.

Mittausepävarmuutta arvioitaessa tulisi ottaa huomioon kaikki mahdolliset mittaukseen vaikuttavat epävarmuustekijät kuten esim. näytteen esikäsittely (pipetointi, punnitseminen, laimentaminen, matriisi) ja näytteen mittaaminen (laitteiden omat epävarmuudet, kalibrointitapa, pitoisuus jne.).

Mittausepävarmuus koostuu yksittäisistä epävarmuustekijöistä u_i . Kun eri vaiheiden epävarmuustekijät yhdistetään, voidaan lakea laajennettu epävarmuus U . Siitä saadaan kokonaisepävarmuus kertomalla se kertoimella k , joka on 2 (vastaa 95 prosentin luotettavuusväliä). Mittausepävarmuus (U_{tot}) lasketaan menetelmän satunnaisvirheen ja systemaattisen virheen avulla.

$$U_{\text{tot}} = 2 * \sqrt{\sum u_1^2 + u_2^2}$$

Satunnaisvirheen (u_1) osuus arvioidaan näytteiden rinnakkaismääritysten hajonnan avulla.

$$u_1 = \text{RSD}_r \% = \sqrt{\frac{\sum d_i^2}{2n}} \quad \text{jossa } d_i = \frac{(a_i - b_i)}{x_i} * 100;$$

a_i ja b_i = rinnakkaistuloskia

x_i = rinnakkaistulosten keskiarvo

n = rinnakkaistulosten määrä

Satunnaisvirheeseen vaikuttaa monet erilaiset tekijät kuten esim. henkilöt, näytteen esikäsittely ja näytteiden pitoisuudet. Jos virhe on pitoisuudesta riippuvainen lasketaan kokonaisepävarmuudet eri pitoisuusalueille.

Systemaattinen virheen (u_2) osuus arvioidaan kontrollinäytteiden (esim. varmennettujen vertailumateriaalien) avulla. Tarkistetaan vuoden aikana tehtyjen kontrollinäytteiden keskiarvo ja hajonta verrattuna vertailumateriaalin sertifikaattiin.

$$u_2 = \beta \% + \text{RSD} \%$$

Systemaattinen virhe $\beta = X - \mu$. t-testin avulla tarkistetaan mikäli virhe on merkitsevä.

X = määrittämällä saatu tulos

μ = sertifikaatin tulos

$$\text{RSD} \% = \frac{s}{x} * 100$$

s = tulosten keskihajonta

x = tulosten keskiarvo

Menetelmien mittausepävarmuudet ilmoitetaan kokonaislukuna, kun mittausepävarmuus on esitetty %-lukuna. Mikäli laskennallisia arvoja joudutaan pyöristämään, pyöristäminen tehdään yleisesti noudatettujen periaatteiden mukaisesti. Poikkeuksena on pH, jonka mittausepävarmuus ilmoitetaan yhdellä desimaalilla, esim. ± 0.1 pH-yksikköä.

1.4 Muita sisäisiä tarkastuksia

Spektrofotometriset menetelmät: vähintään kerran vuodessa tarkistetaan käyrän lineaarisuus ja määrittysraja. Määrittysraja tarkistetaan mittaamalla näytteitä, joiden pitoisuus on lähellä laskeutua määrittysrajaa.

Esim. titrausliuosten ja reagenssien tarkistukset on ohjeistettu menetelmäohjeissa. Tarvittaessa tehdään myös muita tarkistuksia, katso kap 3. kemiallisten menetelmien validointi.

2. ULKOINEN LAADUNVARMISTUS

Rinnakkaismääritykset interkalibroinneista / kaksi eri henkilöä

Ulkoinen laadunvarmistus tapahtuu osallistumalla laboratorioden välisiin interkalibrointeihin. Interkalibrointeja järjestävät mm. Ramboll Analytics, SYKE, STUK ja VTT. Interkalibrointi-näytteet kirjataan LIMSiin, samoin näytteistä saadut tulokset. Pyrimme osallistumaan yhteen interkalibrointikierrrokseen/ analyysi joka vuosi. Interkalibrointikierrroksia koskien veden radonin ja elintarvikkeen säteily järjestetään kuitenkin ainoastaan joka toinen vuosi.

Kaksi eri henkilöä analysoi itsenäisesti interkalibrointinäytteet. Kemisti käsittelee tulokset. Interkalibrointitulokset hyödynnetään menetelmien systemaattisen virheen ja epävarmuuden arvioinnissa. Interkalibrointinäytteiden Z-arvoja seurataan graafisesti.

Z-arvoista laaditaan kuvaaja (valvontakortti), jossa x-akselilla on näytteen tunnus ja y-akselilla z-arvo. Uudet interkalibrointitulokset lisätään kuvaajaan, kun interkalibrointiraportti on saapunut. Hälytysrajana voidaan pitää z-arvoa ± 2 ja toimenpiderajana z-arvoa ± 3 .

Valvontakortteja on kahdenlaisia:

- 1) Jokaisesta interkalibrointikierrroksen Z-arvoista tehdään yhteenveto, joka sisältää kaikki kyseisen kierroksen analyysit.
- 2) Lisäksi pidetään yllä analyysikohtaisia kuvaajia, joihin kerätään interkalibrointituloksia pitkällä aikavälillä.

Analyysikohtaisissa Z-kuvaajissa seuraavat ilmiöt on käsiteltävä poikkeamana:

- tulos sijoittuu toimenpiderajojen ulkopuolelle
- kaksi peräkkäistä tulosta ovat hälytysrajojen ulkopuolella
- seitsemän peräkkäistä tulosta ovat keskiarvolinjan samalla puolella
- seitsemän peräkkäistä tulosta muodostavat selvästi nousevan tai laskevan suoran linjan

Valvontakortista määritetään myös

- tulosten oikeellisuus, RSZ (rescaled sum of Z = $\Sigma Z / \sqrt{n}$) (tulisi olla välillä -3....+3, tavoite -2....+2)
- tulosten tarkkuus, Sdz (z-arvojen keskihajonta), (tulisi olla $< 1,5$, tavoite $< 0,5$)

3. *KEMIALLISTEN MENETELMIEN VALIDOINTI*

Validointi on analyysimenetelmän luotettavuuden ja pätevyysominaisuuksien testaamista. Validoinnin avulla pyritään varmistamaan ja osoittamaan että menetelmä soveltuu siihen, mihin se on tarkoitettu. Validoinnin laajuus riippuu tarkistettavasta menetelmästä, esim standardimenetelmä vai ei. Jokainen validointi suunnitellaan erikseen ja tehdään validointisuunnitelma. Kaikki työvaiheet dokumentoidaan mahdollisemman hyvin. Validointisuunnitelma tarkistetaan ja päivitetään validoinnin edeteässä. Validointi on jatkuvaa prosessia ja sen pätevyyttä seurataan menetelmän käytön yhteydessä.

Validoinnissa tarkistetaan seuraavat parametrit, jotka valitaan validointitarpeesta riippuen:

- spesifisyys
- selektiivisyys
- mittausalue
- lineaarisuus
- herkkyys
- toteamisraja
- määrittäysraja

- tarkkuus
- täsmällisyys
- toistettavuus
- uusittavuus
- häiriöalttius
- mittausepävarmuus

Satunnaisvirheen laskeminen

a	b	x	si	si %		
Happoluku 1	Happoluku 2	Keskiarvo	Keskihajonta	Suhteellinen keskihajonta	(a-b)^2	di=((a-b)/x*100)
2,11	2,04	2,075	0,049497475	2,385420467	0,0049	3,373493976
0,3399	0,3393	0,3396	0,000424264	0,124930527	3,6E-07	0,176678445
1,349	1,367	1,358	0,012727922	0,937254938	0,000324	-1,325478645
4,436	4,424	4,43	0,008485281	0,19154134	0,000144	0,270880361
0,711	0,751	0,731	0,028284271	3,869257353	0,0016	-5,471956224
1,912	1,787	1,8495	0,088388348	4,779040154	0,015625	6,758583401
0,758	0,73	0,744	0,01979899	2,661154553	0,000784	3,76344086
0,249	0,223	0,236	0,018384776	7,790159454	0,000676	11,01694915
0,25	0,249	0,2495	0,000707107	0,283409532	0,000001	0,400801603
1,591	1,622	1,6065	0,02192031	1,364476204	0,000961	-1,929660753
2,481	2,338	2,4095	0,10111627	4,196566496	0,020449	5,934841253
0,494	0,455	0,4745	0,027577164	5,811836558	0,001521	8,219178082
3,598	3,526	3,562	0,050911688	1,429300625	0,005184	2,021336328
1,29	1,22	1,255	0,049497475	3,944021887	0,0049	5,577689243
0,58	0,61	0,595	0,021213203	3,565244275	0,0009	-5,042016807
2,05	2,37	2,21	0,22627417	10,23865023	0,1024	-14,47963801
0,31	0,31	0,31	0	0	0	0
0,26	0,28	0,27	0,014142136	5,237828009	0,0004	-7,407407407
0,84	0,87	0,855	0,021213203	2,481076425	0,0009	-3,50877193
3,99	4,07	4,03	0,056568542	1,403685918	0,0064	-1,985111663
1,64	1,61	1,625	0,021213203	1,305427904	0,0009	1,846153846
0,56	0,62	0,59	0,042426407	7,190916419	0,0036	-10,169

n= 22

$$RSD_r = \sqrt{\frac{\sum di^2}{2 \times n}}$$

$$di = \frac{(a_i - b_i)}{x_i} \times 100$$

RSDr (%)	0,295407
----------	----------

$$Sr = \sqrt{(\sum (a_i - b_i)^2) / 2 * n}$$

Sr	0,062626
----	----------

RSD_r = Rinnakkaismääritysten suhteellinen poikkeavuus (%)

Sr = kuinka paljon rinnakkaiset keskimäärin poikkeavat toisistaan

Kahden menetelmän vertaaminen toisiinsa

Näyte	KOH (mol/l)	
	0,1	0,02
	50 ml	20 ml
	Happoluku	Happoluku
1636	1,911	2,404
1636	1,787	2,144
1662	1,823	1,802
1662	1,870	1,715
1663	0,249	0,372
1663	0,223	0,412
1676	1,591	1,532
1676	1,622	1,678
Keiju	0,054	0,096

50 ja 20 ml			
Tulosten erotukset, d _i	d _i ²	n=9	
-0,493	0,242885		
-0,357	0,127428	neliöjuuri n	3
0,021	0,000423		
0,155	0,023916		
-0,124	0,015277		
-0,189	0,035563		
0,060	0,003561	Erotusten keskiarvo, d	
-0,056	0,003171	-0,11399	
-0,043	0,001806		
summa	-1,026	0,454	
summa ²	1,053		

varianssi, sd ²	0,439412458	Varianssin neliö, sd =0,6628819
t-testi	-0,51588648	

$$\text{Varianssi, } S_d^2 = \frac{\sum d_i^2 - (\sum d_i)^2 \div n}{n-1}$$

$$t = \frac{d \times \sqrt{n}}{S_d}$$

Menetelmäohje

1. YLEISTÄ

Tämä menetelmä perustuu NMKL:n menetelmään 38:01. Tämä menetelmä poikkeaa NMKL:n menetelmästä KOH:n molaarisuuden ja liuottimen määrän osalta. Menetelmä on tarkoitettu uppoaistorasvojen laadun määrittämiseen. Se sopii kiinteille rasvoille (eläinrasvat ja kovetetut kasvirasvat), kasviöljylle sekä niiden seoksille. Happoluku on rasvassa olevien vapaiden happojen määrän mitta. Se määritellään milligrammoina kaliumhydroksidia joka tarvitaan neutraloimaan 1 g rasvaa.

1.1 PERIAATE

Rasva liuotetaan neutraloituun etanolin ja dietyylieetterin seokseen (1:1, v/v) ja titrataan 0,02 mol/l kaliumhydroksidiliuoksella päätepisteeseen käyttäen indikaattorina fenoliftaleiinia.

2. LAITTEET JA REAGENSIT

2.1 KOH-liuos, 0,1 mol/l, josta laimennetaan käyttöpäivänä tarvittava määrä 0,02 mol/l KOH-liuosta.

Esimerkiksi 20 ml KOH:ta ja 80 ml tislattua vettä.

2.2 Dietyylieetteri

2.3 Etanoli, 96, % v/v

2.4 Fenoliftaleiiniliuos etanolissa 1 %

2.5 Etanoli-dietyylieetteri – seos. Lisää 1 ml fenoliftaleiiniliuosta etanolin ja dietyylieetterin seokseen (1:1, v/v). Neutraloi juuri ennen käyttöä heikon vaaleanpunaiseksi 0,02 ml/l KOH-liuoksella. Valmista etanoli-dietyylieetteri – seos käyttöpäivänä.

2.6 10 ml pipetti, jonka jakoväli on 0,1 ml tai 2 ml pipetti, jonka jakoväli on 0,01 ml.

2.7 Erlenmeyer-pullo (n. 250 ml)

2.8 Suodatinpaperia

3. TYÖN SUORITUS

3.1 Näytteen valmistus

Puhtailla ruokaöljyillä jatka kohdasta 3.2. Jos rasvan joukossa on kiinteitä partikkeleita, voi rasvan suodattaa ennen titrausta. Mikäli rasva on kiinteää, täytyy sitä lämmittää hieman ennen suodatusta.

3.2 Kontrollinäyte

Tee joka kerta myös kontrollinäyte. Kontrollina käytetään Raision Keiju rypsiöljyä. Kontrollia tulee punnita noin 10 g (3.3).

3.3 Punnitus

Punnitse rasvaa mg:n tarkkuudella niin paljon, että tarvittava KOH-liuoksen määrä on vähintään 1 ml. Tämä vastaa käyttämätöntä rasvaa suunnilleen 10 g. Härskiintynyttä rasvaa tulee punnita pienempi määrä (n. 1-3 g).

3.4 Määrittäminen

Lisää 20 ml juuri neutraloitua etanoli-dietyylieetteri – seosta (2.5). Titraa 0,02 mol/l KOH-liuoksella ensimmäisenä havaittavaan päätepisteeseen käyttäen fenoliftaleiinia indikaattorina (heikko vaaleanpunainen väri havaitaan n. 10 s ajan).

Huom! Mikäli rasva kiteytyy ennen titrausta tai sen aikana, lämmitä näyteliuosta vesihauteessa 30 – 35 °C:ssa (tai 60 °C:ssa mikäli tarpeellista), tai mikroaaltouunissa muutaman sekunnin ajan tai lisää neutralisoitua etanoli-dietyylieetteri – seosta.

4. TULOSTEN ILMOITTAMINEN

Laske rasvan happoluku seuraavan yhtälön mukaisesti:

$$56,1 * M * \frac{V}{m}$$

Jossa,

56,1 = KOH:n molekyylimassa

M = KOH-liuoksen molaarisuus (0,02)

V = KOH-liuoksen kulutus (ml)

m = punnitun rasvan määrä (g)

Ilmoita tulos yhden desimaalin tarkkuudella.

Uppopaistorasvanäytteen lähetelomake

Uppopaistorasvanäytteen lähetelomake

Näyte: _____

Paikka: _____

Rasva (valmistaja, parasta ennen päivämäärä): _____

Rasvan määrä altaassa: _____

Päivittäin altaaseen lisätään rasvaa: _____

Rasva vaihdettu kokonaan viimeksi: _____

Miten usein rasva vaihdetaan kokonaan: _____

Rasvan muut vaihtoperusteet kuin aika: _____

Rasvan keskimääräinen kuumanapitoaika näytteenottohetkellä:

Rasvan kokonaiskuumennusaika näytteenottohetkellä:

Rasvan lämpötila: ilmoitettu: _____ mitattu: _____

Rasvan suodatus ja säilytys:

Rasva säilytetään: _____

Suodatettu viimeksi:

Mitä paistetaan näytteenottohetkellä:

Mitä muuta paistetaan:

Olosuhteet tarkastuskohteessa, asteikko 0-5:

Siiste-

ys: _____

Käry: _____

Tuuletus: _____

Uppopaistorasvan aistinvarainen arviointi näytteenotto paikalla, asteikko 0-5:

Haju: _____

Ulkonäkö: _____

Happoluku: _____

Tekijä, pvm: _____