

Maria Kuoppala  
**Keltasipulin fermentointi**  
*Lactobacillus sakei HS-1*

Opinnäytetyö  
Kevät 2013  
Tekniikan yksikkö  
Bio- ja elintarviketekniikan koulutusohjelma



## SEINÄJOEN AMMATTIKORKEAKOULU

### Opinnäytetyön tiivistelmä

Koulutusyksikkö: Tekniikan yksikkö

Koulutusohjelma: Bio- ja elintarviketekniikan koulutusohjelma

Tekijä: Maria Kuoppala

Työn nimi: Keltasipulin fermentointi; *Lactobacillus sakei* HS-1

Ohjaaja: Jarmo Alarinta

Vuosi: 2013

Sivumäärä: 47

Liitteiden lukumäärä: 7

---

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli hankkia tietoa kasvien fermentoinnista ja soveltaa hankittua tietoa keltasipulin fermentointiin. Tavoitteena oli tuottaa tietoa keltasipulin fermentoinnista ja *Lactobacillus sakei* HS-1:n soveltuvuudesta sipulin fermentointiin.

Keltasipulin fermentointikokeissa tutkittiin lämpötilan ja esikäsitteilyjen vaikutusta fermentoinnin lopputulokseen. Osa näytteistä fermentoitiin esikäsittelemättömänä, osa pastöroitiin ja osaan lisättiin suolaa. Aluksi tehtiin esikoe, josta saatujen tulosten perusteella valittiin kaksi esikäsitteilyä eri lämpötiloissa tehtäviin jatkokokeisiin. Eri muuttujien vaikutuksia arvioitiin aistinvaraisella arvioinnilla sekä laboratoriotesteillä.

Pastörointi nopeutti fermentointia, mutta heikensi arominmuodostusta. Matalammalla fermentointilämpötilalla havaittiin tuotteen aistittavien ominaisuuksien olevan parempia, joskin fermentointiaika oli huomattavasti pidempi. Pastörointi ja suolan lisäys kuitenkin paransivat tuotteen väriä, jolloin tuotteen pinnalla ei tapahtunut entsyymaattista tummumista. Hiivojen kasvu näytteissä oli pääosin runsasta. Tämän saattavat kuitenkin selittää ulkoiset tekijät, kuten useat pH-mittaukset fermentoinnin aikana.

Asiasanat: Hapattaminen, sipulit, maitohappobakteerit.

SEINÄJOKI UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

**Thesis abstract**

Faculty: School of Technology

Degree programme: Food processing and biotechnology

Author: Maria Kuoppala

Title of thesis: Fermented onions; *Lactobacillus sakei* HS-1

Supervisor: Jarmo Alarinta

Year: 2013

Number of pages: 47

Number of appendices: 7

---

The purpose of this study was to obtain information on the fermentation of vegetables and to apply the knowledge acquired to the fermentation of yellow onions. The aim of this study was to provide information about the fermentation of yellow onions and the suitability of *Lactobacillus sakei* HS-1 for the fermentation of onions.

Test fermentations were carried out to clarify the effects of different pre-treatments and temperatures to the end product. Some of the samples were pre-treated by pasteurization, some by adding salt and the rest of the samples were fermented without pre-treatment. Preliminary tests were made first to select the best two pre-treatments for additional tests. The fermentation tests were continued at different temperatures. The effects of different variables were evaluated by sensory evaluation and laboratory tests.

Pasteurization accelerated the fermentation, but weakened flavor formation. According to sensory evaluation, lower fermentation temperatures yielded better product, but the fermentation time was considerably longer. Pasteurization and salt improved the colour of the product. The growth of yeasts in the samples was abundant. This could, however, be explained by external factors, such as the numerous pH measurements during the fermentation.

Keywords: fermentation, onion, lactic acid bacteria

## SISÄLLYS

Opinnäytetyön tiivistelmä.....	2
Thesis abstract.....	3
SISÄLLYS .....	4
Käytetyt termit ja lyhenteet .....	6
Kuvio- ja taulukkoluetelo.....	7
1 JOHDANTO .....	9
2 KASVISTEN FERMENTOINTI .....	10
2.1 Maitohappobakteerit.....	10
2.2 Sipuli .....	15
2.2.1 Kasvuolosuhteiden ja käsittelyn vaikutukset .....	16
2.2.2 Koostumus ja ravintoarvot.....	17
2.3 Kasvisten esikäsittely .....	17
2.3.1 Pastörinti .....	18
2.3.2 Suolaus .....	18
3 TUTKIMUSMENETELMÄT .....	19
3.1 Aistinvarainen arviointi .....	19
3.2 pH-mittaus.....	20
3.3 Lämpötila .....	20
3.4 Laboratoriotutkimukset.....	20
4 TYÖN TOTEUTUS.....	22
4.1 Työn rajaaminen .....	22
4.2 Materiaalit .....	22
4.3 Menetelmät .....	23
4.4 Näytteiden valmistus .....	27
4.5 Aistinvarainen arviointi ja raadin koulutus .....	30
5 TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELO .....	32
5.1 pH-muutos eri lämpötiloissa ajan funktiona.....	32
5.2 Lämpötilan vaikutus aromin muodostukseen .....	35

5.3 Esikäsittelyn vaikutus näytteet väriin.....	38
5.4 Näytteiden mikrobiologinen laatu eri fermentointi lämpötiloissa.....	39
6 SUOSITUKSET JA JOHTOPÄÄTÖKSET .....	43
LÄHTEET .....	45
LIITTEET	

## Käytetyt termit ja lyhenteet

<b>Fermentointi</b>	Hapattaminen, tapahtuu esimerkiksi maitohappobakteereiden avulla, jotka käyttävät glukoosia ravinnokseen. Seurauksena tuotteen pH laskee.
<b>Glykolyysi</b>	Glukoosin hajoaminen
<b>Obligatorinen</b>	Välttämätön, fermentointitapa ei voi muuttua
<b>Fakultatiivinen</b>	Vaihtoehtoinen, fermentointitapa voi muuttua
<b>ATP</b>	Adenosiinitrifosfaatti, siirtää ja varastoi energiaa
<b>Pentoosi</b>	Monosakkaridi, jossa on viisi hiiliatomia
<b>Kimchi</b>	Kiinankaalista valmistettu ruokalaji
<b>Flavonoidi</b>	Fenoliyhdiste, joita on kasveissa

## Kuvio- ja taulukkoluetelo

Kuvio 1. Homofermentatiivinen tapa .....	12
Kuvio 2. Heterofermentatiivinen tapa .....	13
Kuvio 3. Kuutioitu sipuli.....	24
Kuvio 4. Sipulin pastörinti.....	25
Kuvio 5. Näytteiden valmistusprosessi.....	26
Kuvio 6. Fermentoiminen lämpökaapissa .....	27
Kuvio 7. Pääarvioinnin koejärjestelyt .....	32
Kuvio 8. pH-arvon muutos ajan funktiona 25 asteessa.....	33
Kuvio 9. pH-arvon muutos ajan funktiona 20 asteessa.....	34
Kuvio 10. pH-arvon muutos ajan funktiona 15 asteessa.....	35
Kuvio 11. Näytteiden ominaisuuksien voimakkuudet .....	36
Kuvio 12. Näytteiden sijoittuminen.....	37
Kuvio 13. Esikäsitellyn vaikutus näytteen väriin.....	38
Taulukko 1. Lactobacillus sakei HS-1:n tiedot.....	15
Taulukko 2. Sipulin hiilihydraatit.....	18

Taulukko 3. Mikrobiologisen arvioinnin raja-arvot .....	22
Taulukko 4. Materiaalit.....	23
Taulukko 5. Alkunäytteet.....	28
Taulukko 6. Fermentointi 20 asteen lämpötilassa .....	29
Taulukko 7. Fermentointi 15 asteen lämpötilassa .....	30
Taulukko 8. Aistittavat ominaisuudet.....	31
Taulukko 9. Näytteiden koodit.....	36
Taulukko 10. Mikrobiologiset lähtöarvot.....	39
Taulukko 11. Mikrobiologiset arvot 25 asteessa .....	40
Taulukko 12. Mikrobiologiset arvot 20 asteessa ja 15 asteessa. ....	41



## 1 JOHDANTO

Tämä opinnäytetyö tehtiin yhteistyössä Elintarvikekehityksen osaamiskeskuksen (OSKE) kanssa. Elintarvikekehityksen osaamiskeskuksessa oltiin kiinnostuneita kasvien fermentoinnista. Sipuli valittiin fermentoitavaksi kasvikseksi, koska Suomessa ja Euroopassa sipulin fermentointia on tutkittu vähän. Aikaisempien kasvien fermentointikokeilujen perusteella tähän työhön hapatteeksi valittiin *Lactobacillus sakei* HS-1.

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli hankkia tietoa kasvien fermentoinnista ja soveltaa hankittua tietoa sipulin fermentointiin. Tavoitteena oli tuottaa tietoa sipulin fermentoinnista ja *Lactobacillus sakei* HS-1:n soveltuvuudesta sipulin fermentointiin.

Sipulin fermentointia tutkittiin kolmessa eri lämpötilassa, joista kaksi valittiin lopulliseen aistinvaraiseen arviointiin. Osa sipulinäytteistä esikäsiteltiin pastöroimalla, osa näytteistä fermentoitiin ilman käsittelyjä ja yhteen näytteeseen lisättiin suolaa 1,5 %. Näytteistä tutkittiin lämpötilan ja esikäsitteilyjen vaikutusta aromin muodotukseen, mikrobiologiseen laatuun ja väriin sekä fermentointiaikaan.

## 2 KASVISTEN FERMENTOINTI

Fermentoitua ruokaa on käytetty maailmanlaajuisesti satoja vuosia. Siihen on voitu yhdistää runsaasti terveysvaikutuksia. Fermentoidun ruuan uskotaan muun muassa alentavan verenpainetta sekä alentavan riskiä sairastua syöpään. Erityisesti Aasiassa fermentoitu ruoka kuuluu päivittäiseen ruokavalioon. Japanissa kasvis-ten fermentointi on yleistä ja fermentoidut soijapavut ovatkin yksi suosituimmista perinneruuista. Japanissa fermentoituja soijapapuja kutsutaan nimellä ”natto”. (Takigawa & Shibuya 2012.)

Kasvikset on perinteisesti fermentoitu maitohappobakteereilla, joita niissä on luonnollisesti. Nykyään fermentointi suoritetaan tunnetun maitohappobakteerin avulla, jota voidaan kutsua muun muassa starteriksi tai hapatteeksi. (Barrangou ym. 2012, 188–189.)

Kimchi on yksi tunnetuimmista fermentoiduista kasvistuotteista, joka valmistetaan fermentoimalla. Kimchiä fermentoidaan yhden viikon ajan 15 asteen lämpötilassa tai kolme päivää 25 asteen lämpötilassa. Matalalla fermentointilämpötilalla hapattaminen tapahtuu hitaammin, jolloin happoja muodostuu vähemmän. Tällä tavalla voidaan ehkäistä tuotteen liiallista hapanta makua, koska aromit ehtivät muodostua paremmin. (Karovičová & Kohajdová 2003, 152.)

### 2.1 Maitohappobakteerit

Maitohappobakteerit ovat Gram-positiivisia bakteereja. Ne ovat liikkumattomia eivätkä sisällä itiöitä. Muodoltaan maitohappobakteerit ovat joko kokkeja tai sauvoja, jotka muodostavat hiilihydraateista fermentaatiossa maitohappoa. (Von Wright & Axelsson 2012, 2.)

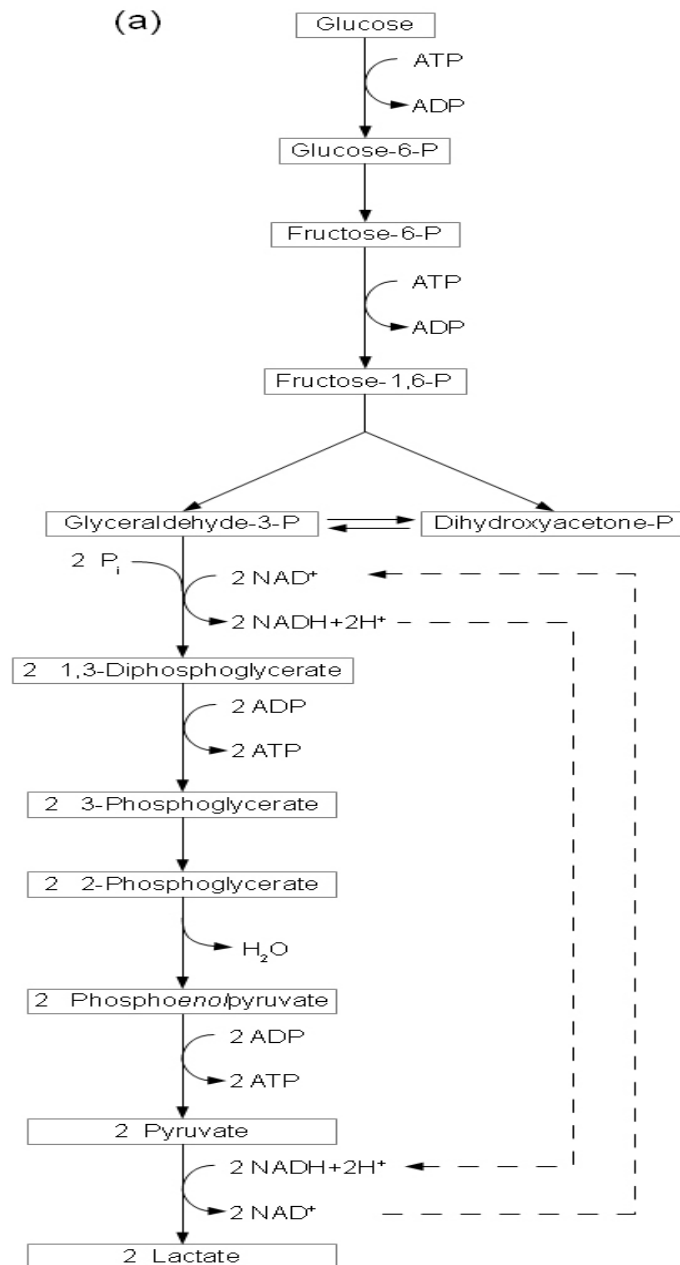
Valtaosa maitohappobakteereista on mesofiilisiä maitohappobakteereita. Tämä tarkoittaa, että maitohappobakteeri voi kasvaa 5–50 asteen välillä. Yleisesti mesofiilisten maitohappobakteereiden optimilämpötilana pidetään kuitenkin 25–40 astetta. (Puhakka 2011, 10.)

Koska maitohappobakteereilla ei ole hengitysjärjestelmää, on niiden saatava tarvitsemansa ravinteet kasvualustastaan. Fermentoitumien voi tapahtua kahdella eri tavalla. Ensimmäinen tapa on homofermentatiivinen, joka perustuu glykolyysiin. Se tunnetaan myös nimellä Embden-Meyerhof-Parnas. Toinen tapa on heterofermentatiivinen. Se tunnetaan myös nimillä pentoosi-fosfaattipolku, heksoosi-monofosfaattishuntti tai 6-fosfoglukonaattipolku. (Von Wright & Axelsson 2012, 2, 4, 6.)

Maitohappobakteerit voidaan jakaa kolmeen ryhmään niiden fermentoitavan mukaan. Ensimmäisen ryhmän muodostavat obligatorisesti homofermentatiiviset *lactobacillukset* esimerkiksi *lactobacillus helveticus*. Homofermentatiiviset *lactobacillukset* eivät voi käyttää pentooseja hyväkseen fermentaatioissa. Toisen ryhmän muodostavat fakultatiivisesti heterofermentatiiviset *lactobacillukset*, esimerkiksi *lactobacillus plantarum* ja *lactobacillus sakei*. Kolmannen ryhmän muodostavat obligatorisesti heterofermentatiiviset *lactobacillukset* esimerkiksi *lactobacillus reuteri*. (Von Wright & Axelsson 2012, 2, 4, 6.)

Fermentointitapa voi kuitenkin muuttua tietyissä olosuhteissa. Esimerkiksi homofermentatiivisesta tavasta fermentointityyppi voi muuttua heterofermentatiiviseksi, koska osa heterofermentatiivisistä *lactobacilluksista* voi käyttää pentoosi-fosfaattipolkua fermentoidessaan tietynlaista kasvualustaa. Tällöin homofermentatiivinen *lactobacillus* luokitellaan fakultatiivisesti heterofermentatiiviseksi. (Barrangou, Laitinen, Ibrahim & Ouwehand 2012, 80.)

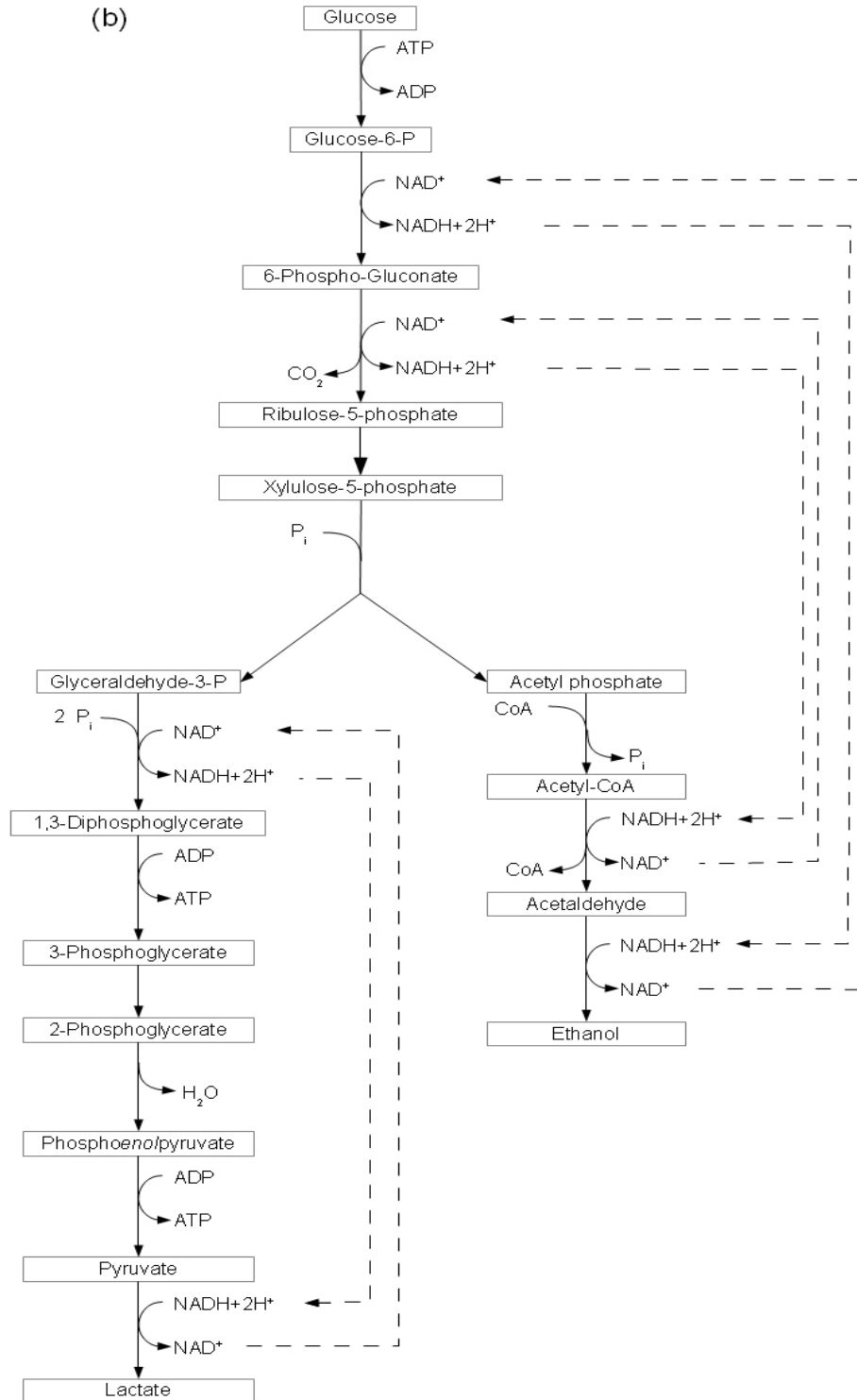
Alla olevassa kuviossa 1 on esitetty homofermentatiivinen fermentointitapa, joka perustuu glykolyysiin.



Kuvio 1. Homofermentatiivinen tapa.

Kuviossa 1 fermentointi tapahtuu homofermentatiivisesti, lopputuotteena syntyy laktaattia eli maitohappoa. Teoreettisesti homofermentatiivisessa tavassa syntyy 2 moolia ATP:tä moolista glukoosia. (Von Wright & Axelsson 2012, 2–5.)

Alla olevassa kuviossa 2 on esitetty heterofermentatiivinen tapa.



Kuvio 2. Heterofermentatiivinen tapa.

Kuviossa 2 fermentointi tapahtuu heterofermentatiivisesti, tuloksena on hiilidioksidia, etanolia ja maitohappoa eli laktaattia (Von Wright & Axelsson 2012, 2–5). Lisäksi syntyy pieniä määriä etikkahappoa (Aittomäki ym. 2002). Teoreettisesti heterofermentatiiviset *lactobacillukset* tuottavat glukoosista yhden moolin hiilidioksidia, yhden moolin maitohappoa ja yhden moolin etikkahappoa tai yhden moolin etanolia (Muck 2010).

Tapa, jolla fermentointi tapahtuu, on tärkeä luokittelukriteeri kun määritellään, mihin ryhmään maitohappobakteeri kuuluu (Von Wright & Axelsson 2012, 2–5).

Fermentoitaessa voi muodostua kahta eri maitohappomolekyyliä. Nämä maitohappomolekyylit ovat D(-)-maitohappo ja L(+)-maitohappo. Ne ovat toistensa isomeerejä. D(-)- ja L(+)-maitohappoa syntyy esimerkiksi hapanmaitotuotteisiin ja hapankaaliin. Se, kumpaa maitohappomolekyyliä syntyy enemmän, riippuu käyte-  
tystä maitohappobakteerista. (Mälkönen 1995, 159–160.)

**Lactobacillus sakei.** Osa *lactobacillus sakei* ryhmään kuuluvista *lactobacilluksista* on eristetty sakesta (Tanasupawat 2009, 1). *Lactobacillus sakei* HS-1 on kasviperäinen *lactobacillus* (Watanabe 2012). Aikaisemmin *lactobacillus sakei* -sukua on kutsuttu nimellä *lactobacillus sake* (Marceau, Zagorec, Chaillou, Méra & Champomier-Vergès 2004).

*Lactobacillus*-lajit ovat tärkeitä elintarviketeollisuudelle. *Lactobacillus sakeita* voidaan käyttää lihan ja kasvien fermentoinnissa. Se pystyy toimimaan haastavissakin olosuhteissa, muun muassa matalassa lämpötilassa ja pH:ssa sekä korkeassa suolapitoisuudessa. (Sørvig, Mathiesen, Naterstad, Eijsink, Axelsson 2005, 2439.)

Von Wrightin & Axelssonin (2012, 2–3) mukaan *lactobacillus sakei* on fakultatiivisesti heterofermentatiivinen, koska useimmat homofermentatiiviset maitohappobakteerit pystyvät käyttämään sokereina vain heksooseja, mutta *lactobacillus sakei* pystyy käyttämään myös pentooseja fermentaatiossa.

*Lactobacillus sake* luokitellaan fakultatiivisesti heterofermentatiiviseksi, mutta yleensä *Lactobacillus sake*n kohdalla puhutaan yleisesti hyväksytysti homofermentatiivisesta maitohappobakteerista. Eniten maitohappobakteereja, joita fermentoiduista kasviksista on löydetty, ovat muun muassa *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus salivarius* ja *Lb. plantarum*. (Barrangou ym. 2012, 189; Tanasupawat 2009, 2.)

Alla olevassa taulukossa 1 on esitetty *Lactobacillus sakei* HS-1:n tärkeimmät tiedot Herra Watanaben kanssa käydyn sähköpostikeskustelun pohjalta.

Taulukko 1. *Lactobacillus sakei* HS-1:n tiedot.

Lactobacillus sakei HS-1		
Annostus	Reaktiolämpö	Fermentointiaika
1 / 1000	15-25 °C	pH 4

Kasvisten täytyy olla hyvin puhdistettuja ja pestyjä. Kasviksia fermentoidaan niin kauan, kunnes pH on tasolla 4, pH-arvo ei kuitenkaan saa olla yli 4,2. Fermentointi tapahtuu 15–25 asteen lämpötilassa ja hapatteen annostus on 1:1000:een. *Lactobacillus sakei* HS-1 on kaupallinen nimi hapatteelle. Jos pH jää yli 4,2, kasvavat pilaajamikrobit helpommin tuotteessa. (Watanabe 2012.)

*Lactobacillus sakei* HS-1:n aineenvaihduntatuotteet mahdollistavat matalasuolaisten tuotteiden valmistamisen. Suolapitoisuus voi olla esim. 1,5 %. *Lactobacillus sakei* HS-1:stä on käytetty fermentoidessa muun muassa kimchiä. Tällöin neljäntenä päivänä fermentoinnista koliformi pitoisuus on ollut negatiivinen. (Ohno, Sato, Saito, Hosoya, Kushida, Fujita, Oshikubo & Kobayashi, [Viitattu 3.12.2012], 45.)

## 2.2 Sipuli

*Allium*-suku on laaja ja tärkeä suku. Arviolta se sisältää 750 eri lajia. Sipuli on alkuperäisesti lähtöisin Keski-Aasiasta, mutta on levinnyt ympäri maailmaa. Sipulista on olemassa neljä erilaista versiota; punainen, violetti, valkoinen, ja vihreä sipuli. Antosyaani mahdollistaa sipulin punaisen ja violetin värin ja flavonoidit antavat värin keltaiselle sipulille. Sipuleista on löydetty ainakin 25:tä eri flavonoidia, joista

kversetiini on yksi tärkeimmistä. Kversetiiniä voi olla sipulissa enemmän kuin 80 % kokonaisflavonoidimäärästä. Eniten kversetiiniä on raportoitu oleva keltaisessa sipulissa. Flavonoideilla on todettu olevan antioksidanttisia vaikutuksia, ne esimerkiksi estävät hapettumista ja vapaiden radikaalien toimintaa. (Handbook of vegetables & vegetable processing 2011, 625, 628, 632–633.)

### **2.2.1 Kasvuolosuhteiden ja käsittelyn vaikutukset**

Monet eri tekijät vaikuttavat sipulin laatuun. Alle on listattu osa tekijöistä, jotka siihen vaikuttavat:

- viljely
- sääolosuhteet viljelyn ja kypsymisen aikana
- sadonkorjuu
- jälkihoito
- kuoren eheys
- varastointi
- prosessointi.

(Handbook of vegetables & vegetable processing 2011, 626.)

Sipulin varastointi vähentää runsaasti sipulin typpipitoisuutta, joka vaikuttaa sipulin makuun. Sadonkorjuun jälkeiseen varastolaatuun vaikuttaa lämpötila. Kuumassa ja kuivassa kasvaneet sipulit ovat parempia kestämään varastointia. Sadonkorjuun jälkeen hellävarainen käsittely on paras keino parantaa sipulin laatua ja varastoinnin kestävyyttä. (Handbook of vegetables & vegetable processing 2011, 636–637.)



## 2.2.2 Koostumus ja ravintoarvot

Tuore sipuli sisältää vettä 80–95 %, kuivapainosta hiilihydraatteja on sipulissa noin 65 %. Taulukossa 2 on kuvattu sipulin sisältämät hiilihydraatit 100 grammaa kohti. Sipuli sisältää lisäksi proteiineja, lipidejä, kalsiumia, kaliumia, magnesiumia, rautaa, piitä, aminohappoja, kuitua, useita vitamiineja, saponiineja, rikkiyhdisteitä ja polyfenoleita. (Handbook of vegetables & vegetable processing 2011, 633.)

Taulukko 2. Sipulin hiilihydraatit (Ruoka-aineiden ravintoainesisältö 1993).

Hiilihydraatti	Sisältö (g/100g)
Tärkkelys	0
Glukoosi	1,6
Fruktoosi	1,5
Laktoosi	0
Maltoosi	0
Sakkaroosi	1,7

Sipulin kokonaishiilihydraattimäärä on tällöin laskennallisesti 4,8 grammaa 100 grammaa kohti. Eniten se sisältää glukoosia, fruktoosia ja sakkaroosia. (Ruoka-aineiden ravintoainesisältö 1993, 103.)

## 2.3 Kasvisten esikäsittely

Kaalin ja oliivin fermentointia on tutkittu runsaasti, mutta sipulin fermentoinnista tiedetään hyvin vähän. Sipulin fermentoinnissa mahdollisesti käytettäviä hapatteita ei ole juurikaan tutkittu, jolloin valmista hapatetietokantaa ei ole. Sipuli voidaan pastöroida tai jättää pastöroimatta. Tilastoja pastöroinnin käytöstä tai käyttämättä jättämisestä kasvisten fermentoinnissa ei ole olemassa kattavasti. (Gardnera, Savarda, Obermeierb, Caldwellb, Champagne 2001, 262.)

### 2.3.1 Pastörinti

Pastörinti on lämpökäsittely, jolla tuhotaan elintarvikkeesta mikrobeja ja inaktivoidaan entsyymitoimintaa. Pastörintiaikaa verrataan *Clostridium botuliniumin* lämmönkesto kykyyn, jota mitataan D-arvona. (Fellows 2000, 40.) *Cl. botuliniumin* kriittisenä pisteenä pidetään 10 minuutin pastörintia 90 asteen lämpötilassa. Pastörinti voidaan suorittaa myös 80 asteen lämpötilassa, jota pidetään kriittisenä pisteenä haittamikrobien tuhoutumiselle. (Elintarviketeollisuuden HACCP-pohjainen omavalvontaohje 2006, 29.)

Kasvisten pastörinti voidaan tehdä jälkipastörintina, mutta tällöin pastörinti tuhoaa myös tuotteessa olevat maitohappobakteerit. Jälkipastörinti tehdään pakkausvaiheessa lämpötilan ollessa 70 astetta ja ajan 5 minuuttia. (Porkkana [Viitattu 26.12.2012].)

Sipuli ei vaadi lämpökäsittelyä entsyymitoimintansa pysäyttämiseksi, mutta lämpökäsittely tuhoaa kuitenkin sipulissa olevia mikrobeja. Lämpökäsittely vähentää kasviksen vitamiinipitoisuutta, vaikuttaa aromeihin ja väriin sekä koostumukseen. (Fellows 2000, 240, 233, 236.)

### 2.3.2 Suolaus

Kasvisten fermentointi suolan kanssa on hyvin perinteinen tapa. Kasvikset yleensä sisältävät Gram-negatiivisia aerobisia bakteereita, hiivoja ja Gram-positiivisia maitohappobakteereita. Kun suola on lisätty, voi maitohappobakteeri kasvaa nopeammin kuin aerobiset bakteerit ja hiivat. Suolalla voidaan hidastaa muiden bakteerien ja hiivojen kasvua fermentoinnin alussa. Maitohappobakteerin kasvunopeus riippuu saatavilla olevista ravinteista, suolakonsentraatiosta, happikonsentraatiosta ja lämpötilasta sekä pH:sta. (Barrangou ym. 2012, 188–189.) Suolauksen kanssa ei käytetä lämpökäsittelyä ja käytetyn suolan suositellaan olevan merisuolaa tai suolaa, johon ei ole lisätty jodia, koska jodi häiritsee aromin muodostumista (Porkkana [Viitattu 26.12.2012]).

## 3 TUTKIMUSMENETELMÄT

### 3.1 Aistinvarainen arviointi

Elintarvikkeiden laadunvarmistukseen aistinvarainen arviointi on tullut 1900-luvulla. Aistinvaraisessa arvioinnissa käytetään kaikkia aisteja. Aisteja ovat näkö-, haju-, maku-, tunto- ja kuuloaisti. Eri aistien tärkeys vaihtelee tutkittavan elintarvikkeen mukaan. Jokaisella ihmisellä on asenteita, odotuksia ja mielikuvia arvioitavaa tuotetta kohtaan. Nämä syntyvät enemmän aistituista kokemuksista. (Elintarvikkeiden aistinvaraiset tutkimusmenetelmät 2006, 19–21.)

Yleisessä kuvailevassa menetelmässä tarvitaan näytteiden riittävän hyvää erottelevyyttä ja kykyä kuvailla näytteitä. Yleisessä kuvailevassa menetelmässä luodaan sanasto, jota opetellaan käyttämään ja ymmärtämään. Sanaston luominen tarkoittaa ominaisuuksien tunnistamista, määrittelyä ja nimeämistä. Tämän vuoksi sanaston ymmärtäminen vaatii opettelua, jotta raadin kaikki jäsenet ymmärtävät ominaisuudet ja sanaston samalla tavalla. Menetelmän tarkoituksena onkin ennen kaikkea ilmaista näytteissä olevia eroja. Valitun sanan tulee kuvata vain yhtä ominaisuuden ulottuvuutta. (Elintarvikkeiden aistinvaraiset tutkimusmenetelmät 2006, 96–97.)

Voimakkuuksien arvioinnin perusteella saadaan selville, miten paljon kutakin mitattavaa ominaisuutta on näytteessä. Yleensä voimakkuus arvioidaan verrattuna arvioinnissa mukana olleisiin toisiin näytteisiin. Näytteet on satunnaistettava. Arvioinnissa voidaan käyttää mukana referenssinäytteitä, joihin raati voi verrata aistittavaa ominaisuutta. Yleisesti käytetään jana-asteikkoa, numeerisia asteikkoja tai näiden yhdistelmiä. Asteikko tehdään siten, että ominaisuuden voimakkuus kasvaa vasemmalta oikealle. Varsinaisessa arvioinnissa arvioijan tulisi arvioida näytteet vähintään kahdesti. Ominaisuuksien voimakkuus lasketaan arvioijien itsenäisistä arvioista keskiarvona, joista saatavat tulokset voidaan esittää esimerkiksi tähtikuviona. (Elintarvikkeiden aistinvaraiset tutkimusmenetelmät 2006, 98–99.)

### 3.2 pH-mittaus

pH-mittaus mittaa nesteen vetyionien määrää. Vetyionien määrä nesteessä kuitenkin on niin pieni, että liuoksen happamuutta tai emäksisyyttä ilmaistaan pH-luvulla. Happaman liuoksen pH on alle 7,0, neutraalin liuoksen pH on 7,0 ja emäksisen liuoksen pH on yli 7,0. (Pihkala 2004, 140–141.) pH-arvolla tarkoitetaan seuraavaa:  $\text{pH} = -\log_{10}[\text{H}^+]$ , jossa  $[\text{H}^+]$  on vetyionikonsentraatio mol/l. pH-asteikko on logaritminen, jolloin pH-arvon laskiessa yhden yksikön vetyionikonsentraatio kymmenkertaistuu. (pH- arvo 17.6.2011.)

### 3.3 Lämpötila

Lämpötilan mittaus on yleisimpiä mitattavia suureita. Melkein kaikki kemialliset ja fysikaaliset prosessit ovat riippuvaisia lämpötilasta. Lämpötila vaikuttaa muunmuassa reaktion nopeuteen ja tuotteiden laatuun. (Pihkala 2004, 35.)

### 3.4 Laboratoriotutkimukset

Elintarvikkeiden mikrobiologiset tutkimukset (2002, 20) suosittelee hapatetuista kasviksista ottamaan seuraavat näytteet laadun varmistamiseksi:

- kokonaispesäkeluku
- maitohappobakteerit
- hiivat ja homeet
- enterobakteerit.

Enterobakteerit kuuluvat ihmisen ja eläinten suolistoflooraan. Ne säilyvät jäteveissä elinkykyisinä pitkiä aikoja. Elintarvikkeisiin niitä pääsee huonon keittiöhygienian vuoksi tai kasteluvesien mukana. (Superbakteeri NDM-1 on todellinen uhka 2011, 2341.)

Homeet lisääntyvät rihmaston kappaleiden ja itiöiden avulla. Ne käyttävät ravinnokseen muunmuassa paperia, puuta ja elintarvikkeita. Happi on ehdoton edelly-

tys homeiden kasvulle. Osa homeista tuottaa lisäksi aineenvaihdunnassaan homeyrkkyjä eli mykotoksiineja. Ne kasvavat myös happamissa elintarvikkeissa. Hiivat ovat yksisoluisia, joskus epämääräisinä soluryhmittyminä esiintyviä mikrobeja. Ne lisääntyvät pääasiassa kuroutumalla. Lisääntyäkseen ne tarvitsevat sokereita ja happea, mutta pystyvät toimimaan myös anaerobisessa ympäristössä. Kokonaispesäkeluku kertoo näytteessä olevien kokonaismikrobien määrän ja maitohappobakteerit maitohappobakteerien määrän. (Yleistä mikrobeista 2012.)

Maitohappobakteerit voivat toimia pilaajamikrobeina, mutta niitä voidaan myös käyttää myös fermentoinnissa. Pilaajamikrobit eivät ole yleensä samoja kuin suussa esiintyvät hyötymikrobit. *Lactobacillus sakeilla* on kuitenkin kaksoisrooli, se voi toimia tietyissä elintarvikkeissa pilaajamikrobina tai sitä voidaan käyttää fermentoinnissa hyötymikrobina, joka aiheuttaa elintarvikkeeseen halutut ominaisuudet. Fermentoinnilla pyritään laskemaan tuotteen pH:ta, joka parantaa tuotteen säilyvyyttä. Tällöin tuotteeseen on lisätty hyödyllisiä mikrobeja. Tässä elintarvikkeiden valmistustavassa mikrobeilla on merkittävä rooli. Mikrobit aiheuttavat elintarvikkeeseen toivotut aistinvaraiset ja säilyvyyttä lisäävät muutokset kasvumetaboliensa kautta. (Björkroth 2009.)

Alla olevassa taulukossa 3 on esitetty raakasalaattien mikrobiologiseen arviointiin käytetyt raja-arvot.

Taulukko 3. Mikrobiologisen arvioinnin raja-arvot (Seilab 2013).

Tutkittu	Raja-arvo (teollisuus)	Raja-arvo (tarjoilupaikat)
Kokonaisbakteerit	$1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7 - 10^8$
Enterobakteerit	Ei määritelty	$1,0 \times 10^4 - 5,0 \times 10^4$
Hiivat	$1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$
Homeet	Ei määritelty	$1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^4$

Ensimmäinen arvo tai sen alle on hyvä, arvojen väliltä välttävä ja korkein arvo tai sen yli on huono (Seilab 2013). Seilab on käyttänyt näytteiden mikrobiologisen laadun määrittämiseen näitä arvoja.

## 4 TYÖN TOTEUTUS

### 4.1 Työn rajaaminen

Työ rajattiin koskemaan keltasipulin fermentointia. Työssä tutkittiin *Lactobacillus sakei* HS-1:n soveltuvuutta sipulin fermentointiin eri lämpötiloissa. Tuloksia tutkittiin pH-mittauksilla ja aistinvaraisella arvioinnilla. Mikrobiologisen laadun varmistamiseksi otettiin laboratorionäytteitä. Työstä ei tehty pidempiaikaisia säilyvyystestejä.

### 4.2 Materiaalit

Alla olevassa taulukossa 4 on esitetty työssä käytetyt materiaalit.

Taulukko 4. Materiaalit.

<b>Materiaali</b>	<b>Hankintapaikka</b>
Keltasipuli, Suomi	K- citymarket
<i>Lactobacillus sakei</i> HS-1	Japani
Hieno merisuola, Meira	K- citymarket

Työssä fermentoitiin keltasipulia *Lactobacillus sakei* HS-1:stä käyttäen. Ensimmäisessä vaiheessa yhteen näytteeseen lisätään merisuolaa.

### 4.3 Menetelmät

Keltasipulia fermentoitiin yhdessä näytteessä 250 grammaa. Kaikki näytteet kuuti-  
oitiin kasvisleikkurilla käyttäen 10 mm x 10 mm terää. Alla olevassa kuviossa 3 on  
kuvattu kuutioitua sipulia.



Kuvio 3. Kuutioitu sipuli.

Näytteiden valmistus suoritettiin aseptisesti, kaikki käytössä oleva työvälineet pes-  
tiin pesukoneessa, jonka jälkeen välineet desinfioitiin Eta 700 -puhdistusaineella.  
Fermentoinnissa käytetyt 800 ml:n dekanterilasit desinfioitiin kiehuvalle vedelle.  
Osa näytteistä pastöroitiin.

Alla olevassa kuviossa 4 on esitetty pastöroinnin koejärjestelyt.

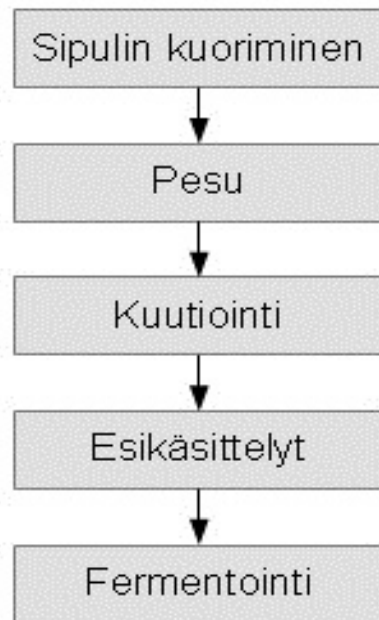


Kuvio 4. Sipulin pastörinti.

Näytteet pastöroitiin kattilassa siivilää apuna käyttäen. Lämpötilat mitattiin siivilässä olevasta sipulikuutiomassasta pastöroinnin aikana. Pastöroitaessa 90 asteen näytettä 10 minuuttia lämpötilat olivat 89–93 astetta ja 80 asteen pastöroinnissa lämpötila vaihteli välillä 79–83 astetta. Pastöroinnin jälkeen keltasipulikuutiot jäähdytettiin kylmässä vesikulhossa kypsymisprosessin pysäyttämiseksi. Lämpötilat mitattiin kuvassa näkyvällä lämpömittarilla.



Alla olevassa kuviossa 5 on esitetty näytteiden valmistusprosessi.



Kuvio 5. Näytteiden valmistusprosessi.

Aluksi sipulit kuorittiin, pestiin, kuutioitiin ja lämpökäsiteltiin tai lisättiin suola. Esikäsittelemättömiä sipulikuutioita sullottiin tylpällä esineellä solun rikkomiseksi, jolloin sokerit vapautuvat solusta. Lopuksi lisättiin hapate. Painona käytettiin väärinpäin käännettyä 2 litran minigrip-pussia, jonne kaadettiin suolavettä sisälle. Näyte ei ollut kosketuksissa suolaveteen. Näytteet siirrettiin fermentoitumaan lämpökaappiin.

Alla olevassa kuviossa 6 on kuvattu näytteet lämpökaapissa.



Kuvio 6. Fermentoiminen lämpökaapissa.

Näytteitä valmistettiin 3 erää. Muuttujana käytettiin kolmea erilaista fermentointilämpötilaa.

#### 4.4 Näytteiden valmistus

**Sipulin fermentointi 25 asteen lämpötilassa.** Esinäytteenä keltasipulista valmistettiin neljä erilaista fermentoitavaa näytettä. Alla olevassa taulukossa 5 on esitetty fermentoitavat alkunäytteet, niiden painot, suolan määrä ja hapatteen määrä. Fermentointi tapahtui 25 asteen lämpötilassa lämpökaapissa.

Taulukko 5. Alkunäytteet

Näyte	Prosessointi	Paino (g)	Suola (g)	Hapatteen määrä (g)
Sipuli kuutio	Suola	249,9	3,83	0,257
Sipuli kuutio		250,1		0,263
Sipuli kuutio	Pastörointi 90 astetta, 10 minuuttia	250,3		0,258
Sipuli kuutio	Pastörointi 80 astetta, 2 minuuttia	250		0,215

Ensimmäiseen näytteeseen lisättiin suolaa 1,5 %. Suolan määrä laskettiin kaavalla:

$$Pitoisuus\ massaprosentteina = \frac{\text{liuotetun aineen massa}}{\text{liuoksen koko massa}} \times 100\% , \quad (1)$$

josta ratkaistiin liuotetun aineen massa. Suola lisättiin kuutioiden joukkoon ja sekoitettiin hyvin. Massaa hieman sullottiin tylpällä esineellä, jotta nestettä saataisiin irtoamaan paremmin. Sipulikuutioihin lisätty suola irrotti nestettä hyvin, jolloin sullominen oli helpompaa ja nopeampaa.

Toinen näyte fermentoitiin ilman esikäsitteilyä. Ennen hapatteen lisäämistä keltasipulikuutioita sullottiin, jotta sipulin solua saadaan hajotettua. Sullominen suoritettiin tylpällä, puhtaalla esineellä.

Kolmas näyte pastöroitiin 90 asteen lämpötilassa 10 minuuttia ja neljäs näyte pastöroitiin 80 asteessa 2 minuuttia. Hapatteen laskemisessa ei huomioitu lämpökäsittelyn aiheuttamaa hävikkiä tai laboratorioon menneitä näytteitä. Näytteistä valittiin kaksi aistinvaraisesti parasta, joiden fermentointia jatkettiin eri lämpötiloissa. Näytteiden pH mitattiin säännöllisesti.

**Laboratorionäytteet.** Näytteestä, joka pastöroitiin 90 asteen lämpötilassa 10 minuuttia, vietiin laboratorioon näytettä 31,6 grammaa ja näytteestä, joka pastöroitiin 80 astetta 2 minuuttia, vietiin laboratorioon näytettä 37,1 grammaa. Tuoretta sipulikuutiota vietiin myös laboratorioon tutkittavaksi, jotta voitiin määrittää mikrobiologisia lähtöarvoja. Näytteet otettiin ennen hapatteen lisäystä tuoreesta sipulikuutiosta ja lämpökäsitellyistä kuutioista sekä valmiista, fermentoidusta tuotteesta. Näytteet toimitettiin laboratorioon minigrip-pusseissa. Tuoreesta sipulimurskasta ja pastöroidusta murskasta tutkittiin kokonaisbakteerit ja fermentoiduista näytteistä tutkittiin kokonaisbakteerit, enterobakteerit, maitohappobakteerit sekä hiivat ja homeet.

Näytteet arvioitiin aistinvaraisesti asiantuntijaraadin kanssa. Samalla luotiin sanastoja pääarviointia varten. Arvioinnissa käytetty lomake on liitteenä 1. Aistinvaraisesti parhaiksi valittiin tuoreet, käsittelemättömät sipulikuutiot, sekä 80 asteessa 2 minuuttia pastöroidut näytteet. Näiden kahden näytteen tutkimista jatkettiin eri lämpötiloissa. Näytteiden makuprofiilit ovat liitteenä 2.

**Sipulin fermentointi 20 asteen lämpötilassa.** Näytteet valmistettiin kuvion 5 mukaisesti. Pastörointi suoritettiin, kuten kuviossa 4 on esitetty. Alla olevassa taulukossa 6 on esitetty fermentoitavat näytteet, niiden painot ja hapatteen määrät.

Taulukko 6. Fermentointi 20 asteen lämpötilassa

Näyte	Prosessointi	Paino (g)	Hapatteen määrä (g)
Sipuli kuutio		250,9	0,255
Sipuli kuutio	Pastörointi 80 asteen lämpötilassa	250	0,249

Valmistetut näytteet laitettiin lämpökaappiin hapattumaan. Näytteistä määritettiin säännöllisesti pH-arvot. Hapatteen lisäyksessä ei huomioitu pastöroidun sipulikuutioon painohävikkiä. Makuprofiili näytteistä on liitteenä 2.

**Laboratorionäytteet.** Näytteistä otettiin hapatettuina näytteet laboratoriota varten. Koska näytteet olivat valmiita, ei laboratorioon toimitettujen näytteiden painoja punnittu. Näytteet toimitettiin minigrip-pusseissa laboratorioon. Fermentoiduista

näytteistä tutkittiin kokonaisbakteerit, enterobakteerit, maitohappobakteerit sekä hiivat ja homeet.

**Sipulin fermentointi 15 asteen lämpötilassa.** Näytteet valmistettiin kuvion 5 mukaisesti. Pastörointi suoritettiin, kuten kuviossa 4 on esitetty. Alla olevassa taulukossa 7 on esitetty fermentoitavat näytteet, niiden painot ja hapatteen määrät.

Taulukko 7. Fermentointi 15 asteen lämpötilassa

Näyte	Prosessointi	Paino (g)	Hapatteen määrä (g)
Sipuli kuutio		250,02	0,248
Sipuli kuutio	Pastörointi 80 asteen lämpötilassa	250,4	0,249

Valmistetut näytteet laitettiin lämpökaappiin hapattumaan. Näytteistä määritettiin pH- arvot säännöllisesti. Makuprofiili on liitteenä 2.

**Laboratorionäytteet.** Näytteistä otettiin hapatettuina näytteet laboratoriota varten. Koska näytteet olivat valmiita, ei laboratorioon toimitettujen näytteiden painoja punnittu. Näytteet toimitettiin minigrip-pusseissa laboratorioon. Fermentoiduista näytteistä tutkittiin kokonaisbakteerit, enterobakteerit, maitohappobakteerit sekä hiivat ja homeet.

#### 4.5 Aistinvarainen arviointi ja raadin koulutus

Loppuarviointiin osallistui 5 arvioijaa, jotka arvioivat tuotteet kahdesti eri päivinä. Tällöin tuotteelle saatiin 10 arviointia. Loppuarvioinnissa käytettiin 20 asteessa ja 15 asteessa fermentoituja näytteitä. Oletuksena oli kirjallisuustiedon pohjalta, että matalammassa lämpötilassa saadaan aikaan parempi tuote, joten haluttiin tutkia viiden asteen lämpötilaeron vaikutusta tuotteisiin.

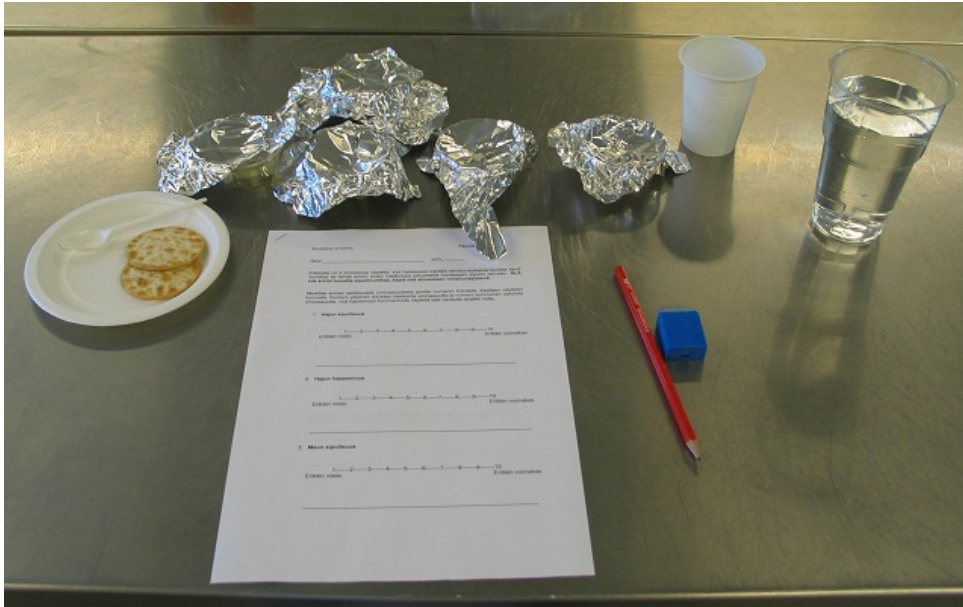
Viidentoista asteen lämpötilassa fermentoitua sipulia käytettiin myös pääarvioinnissa. Kahdessakymmenessä asteessa fermentoitu näyte valmistettiin uudelleen samalla tavalla kuin edellä on mainittu. Arvioinnissa käytetty lomake on liitteenä 3. Alla olevassa taulukossa 8 on esitetty näytteistä aistittavat ominaisuudet.

Taulukko 8. Aistittavat ominaisuudet

Aistittavat ominaisuudet
Hajun sipulisuus
Hajun happamuus
Maun sipulisuus
Maun happamuus
Suutuntuman rapeus

Ominaisuudet pisteytettiin pisteiden yksi ja kymmenen välillä, jossa ykkönen oli miedoin ominaisuus ja kymmenen vahvin ominaisuus. Raati koulutettiin siten, että ominaisuuksia ja sanoja käytiin läpi, jotta arvioinnissa jokainen arvioija ymmärtää ja tunnistaa näytteissä olevat ominaisuudet. Koulutuksen tarkoitus ei siis ollut yhdenmukaistaa arviointeja, vaan selkeyttää näytteiden ominaisuuksia kuvaavia sanoja. Arvioinnit suoritettiin koulutuksen jälkeen itsenäisinä arviointeina, joihin arvioinninjärjestäjä ei vaikuttanut.

Alla olevassa kuviossa 7 on esitetty pääarvioinnin koejärjestelyt.



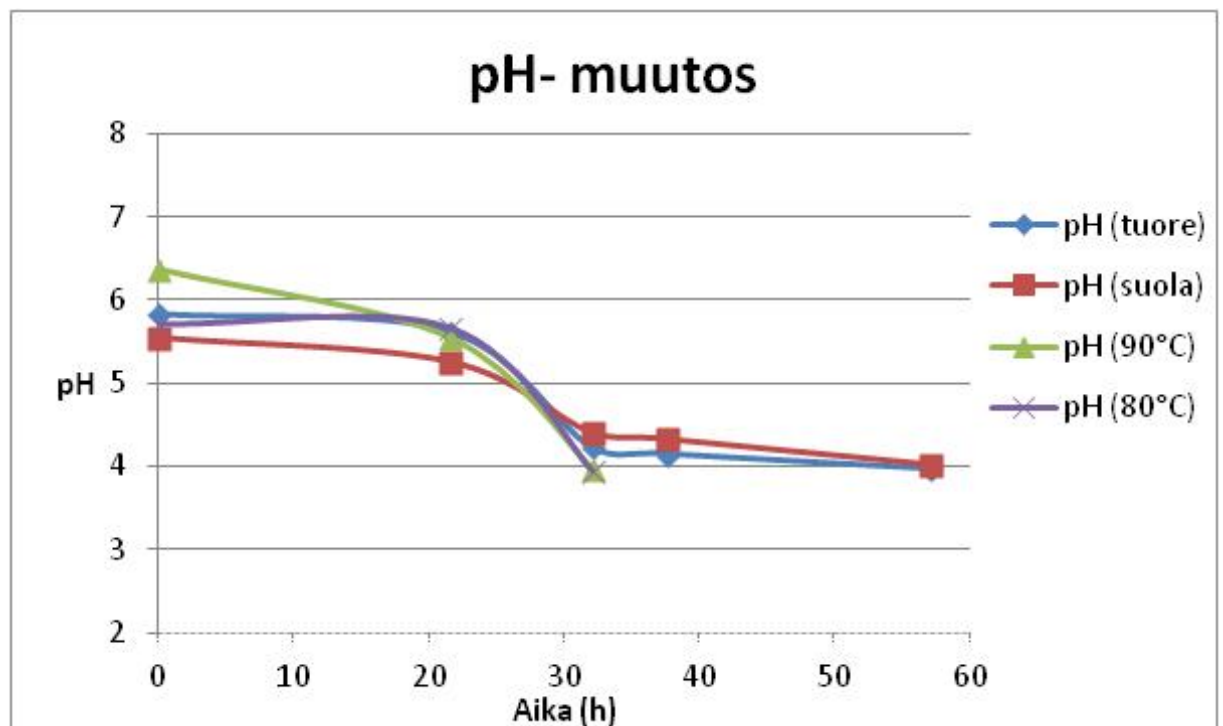
Kuvio 7. Pääarvioinnin koejärjestelyt.

Näytekupit peitettiin sipulin vahvan tuoksun vuoksi. Tällä pyrittiin helpottamaan arvioijan toimintaa aistinvaraisessa arvioinnissa. Ylimpänä näytteenä on tuoretta sipulikuutiota, jota arvioija käytti vertailukohtana arvioidessaan näytteiden hajun sipulisuutta. Muita ominaisuuksia arvioitaessa näytteitä verrattiin toisiinsa. Näytteet annettiin arvioijille satunnaistetussa järjestyksessä. Käytetyt satunnaistukset ovat liitteenä 4.

## 5 TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELO

### 5.1 pH-muutos eri lämpötiloissa ajan funktiona

Näytteiden pH:ta seurattiin säännöllisesti. Jokaisella mittauskerralla pH mitattiin kolmesta kohtaa, joista laskettiin keskiarvo. Tarkemmat pH-arvot, joista keskiarvo laskettiin, ovat liitteenä 5. Alla olevassa kuviossa 8 on esitetty 25 asteessa fermentoitujen keltasipulien pH:n muutos.



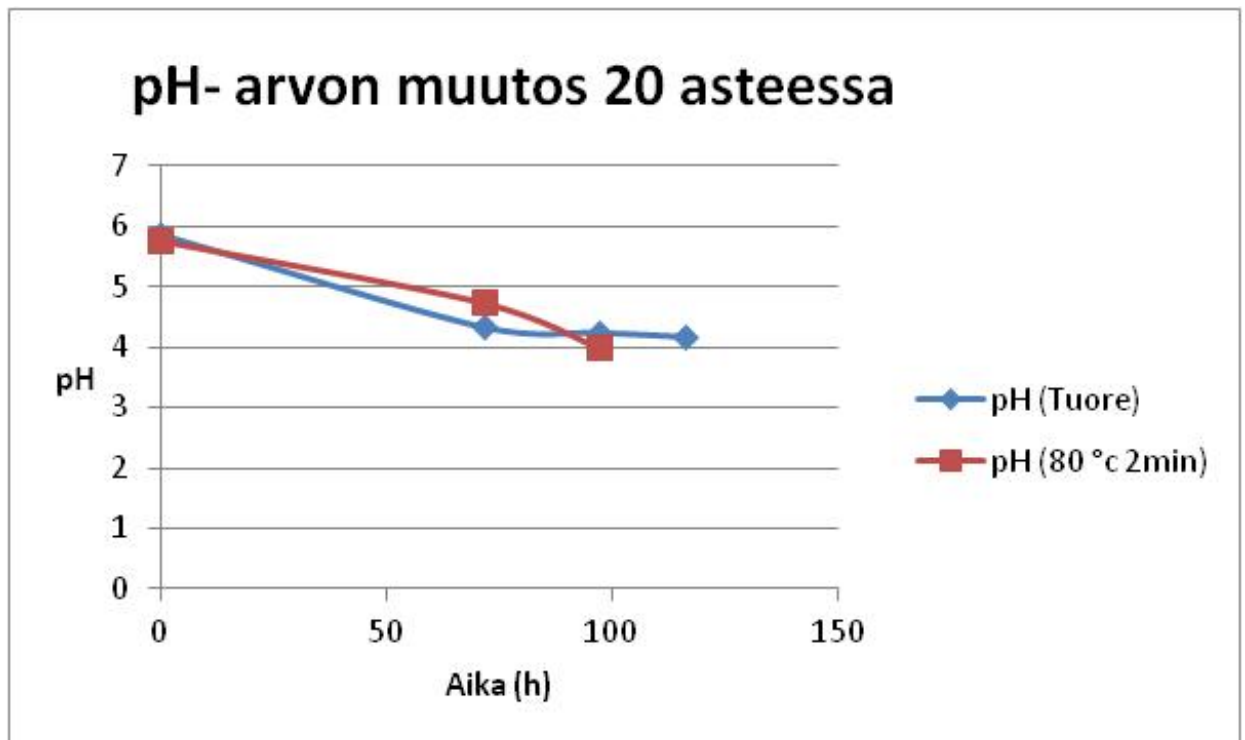
Kuvio 8. pH- arvon muutos ajan funktiona 25 asteessa.

Kuviosta on nähtävissä, että tuoreen ja 80 asteessa pastöroidun sipulin pH:n muutos ajanfunktiona on alussa lähes identtinen, mutta esikäsitellyn sipulin fermentointi tapahtuu nopeammin. Kun sipuli on lämpökäsitelty 90 asteessa, on pH:n muutos kuitenkin vielä nopeampi kuin 80 asteessa esikäsitellyn, koska lähtö-pH:kin on suhteessa korkeampi. Suolaa sisältävässä näytteessä hapattaminen on ollut alus-



sa hieman nopeampaa kuin tuoreessa kuutiassa. Tarkempi pH-muutos eri näytteissä on liitteenä 6.

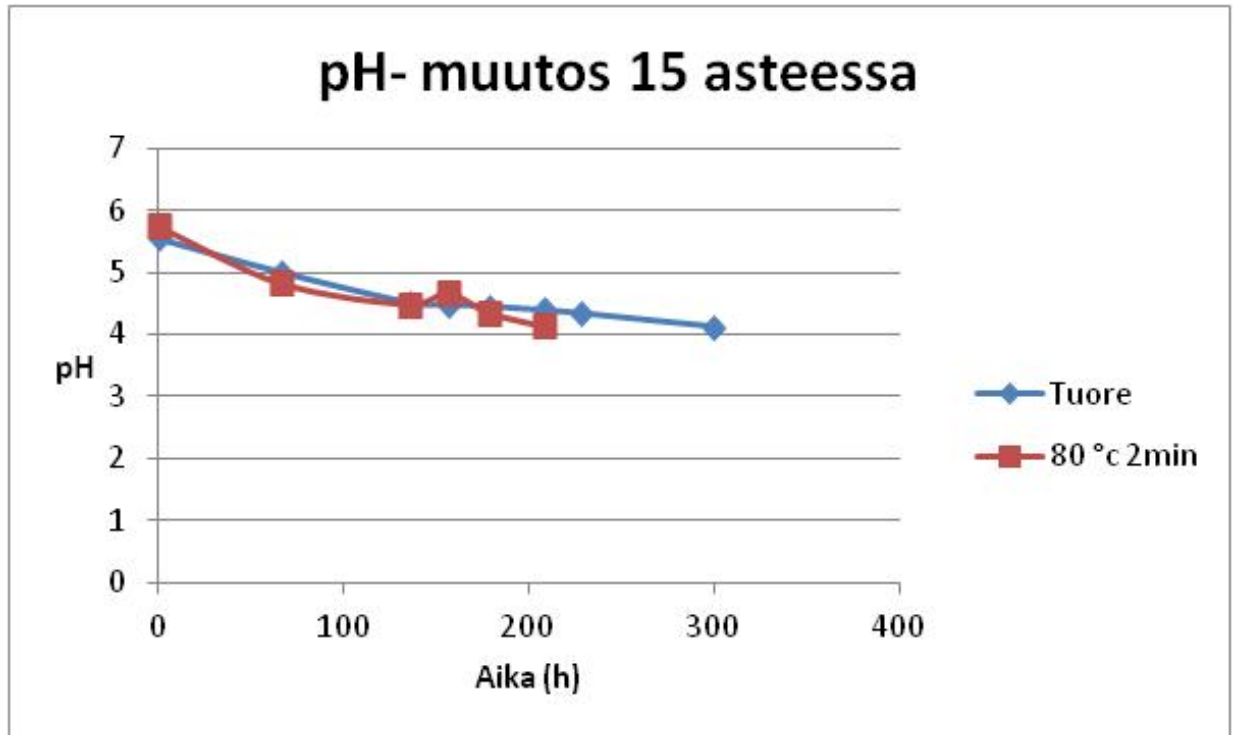
Alla olevassa kuviossa 9 on kuvattu 20 asteessa fermentoidun keltasipulin pH-muutos ajan funktiona.



Kuvio 9. pH-arvon muutos ajan funktiona 20 asteessa.

Kuviosta on nähtävissä, että pH laskee esikäsitellyllä näytteellä nopeammin. Aikaa fermentoimiseen on kulunut huomattavasti enemmän kuin 25 asteessa suoritettu fermentointi. Esikäsitellyssä näytteessä pH-lasku on alussa hidasta, loppua kohti nopeutuen, tuoreessa sipulikuutiassa pH laskee alussa nopeasti loppua kohti tasaantuen.

Alla olevassa kuviossa 10 on esitetty pH:n muutos 15 asteessa.



Kuvio 10. pH-arvon muutos ajan funktiona 15 asteessa.

Kuviosta on nähtävissä, että pH laskee tasaisen hitaasti. Esikäsitellyn näytteen pH on noussut noin 150 tunnin kohdalla fermentoinnin aloittamisesta. pH:n nousu on havaittavissa jokaisessa kolmessa mittauksessa, jotka otettiin jokaisella pH-mittauksella. Todennäköisesti lämpötila ei ole otollinen *Lactobacillus sakei* HS-1:n kasvulle, silloin kun sipuli on lämpökäsitelty. Tällöin jokin muu mikrobi, todennäköisesti hiiva on vallannut alaa ja nostanut pH:ta.

Nopea pH-muutos lämpökäsitellyissä näytteissä johtuu todennäköisesti siitä, että sipulin solu on paremmin rikki, jolloin sokerit ovat hapatteelle heti käytettävissä. Hitaampi muutos käsittelemättömissä näytteissä johtuu todennäköisesti siitä, että sipulin solu ei ole rikkoutunut kunnolla, jolloin sokerien vapautuminen solusta on hitaampaa.

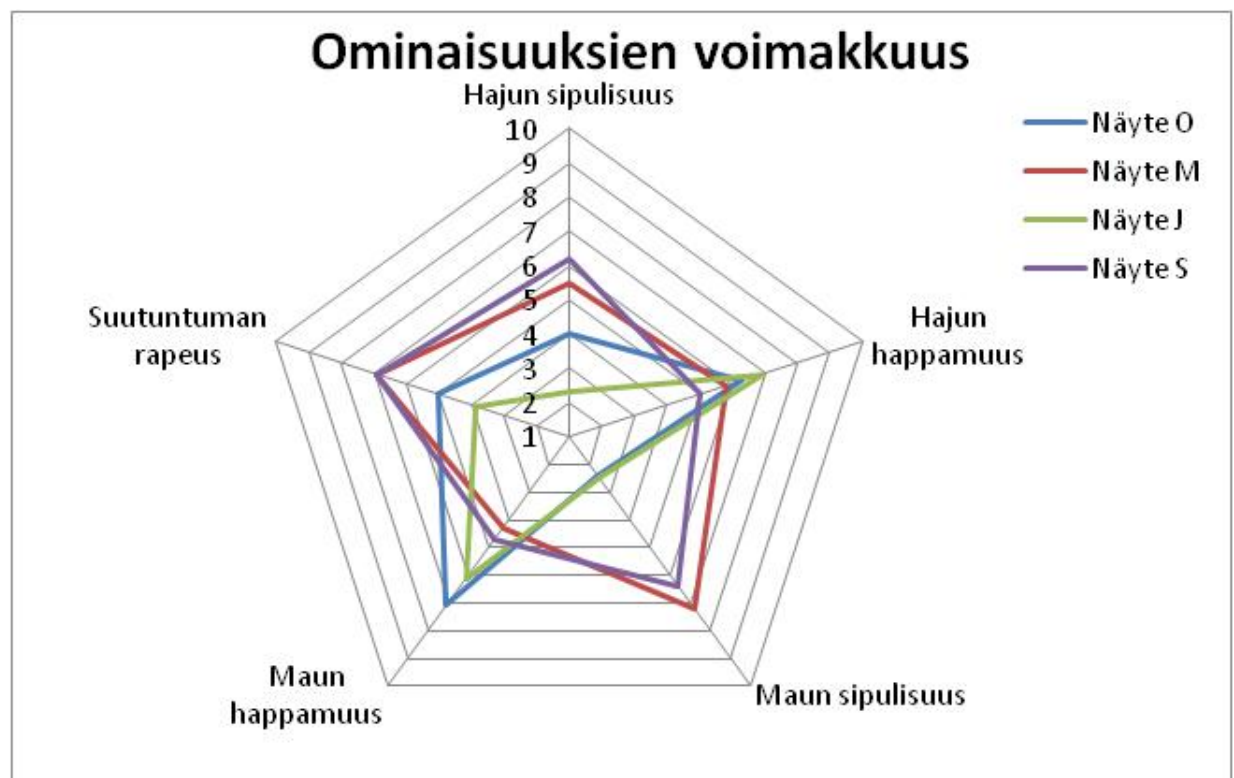
## 5.2 Lämpötilan vaikutus aromin muodostukseen

Lämpötilan havaittiin vaikuttavan aromin muodostukseen erityisesti lämpökäsittelyssä sipulikuutiassa. Alla olevassa taulukossa 9 on avattu näytteiden koodit.

Taulukko 9. Näytteiden koodit.

Koodi	Näyte
Näyte O	Esikäsittely 2 min 80 °C, fermentointi 15°C
Näyte M	Tuore, fermentointi 15°C
Näyte J	Esikäsittely 2 min 80 °C, fermentointi 20°C
Näyte S	Tuore, fermentointi 20°C

Taulukosta on luettavissa, mikä näyte on kyseessä. Alla olevassa kuviossa 11 on esitetty näytteiden ominaisuuksien voimakkuudet.



Kuvio 11. Näytteiden ominaisuuksien voimakkuudet

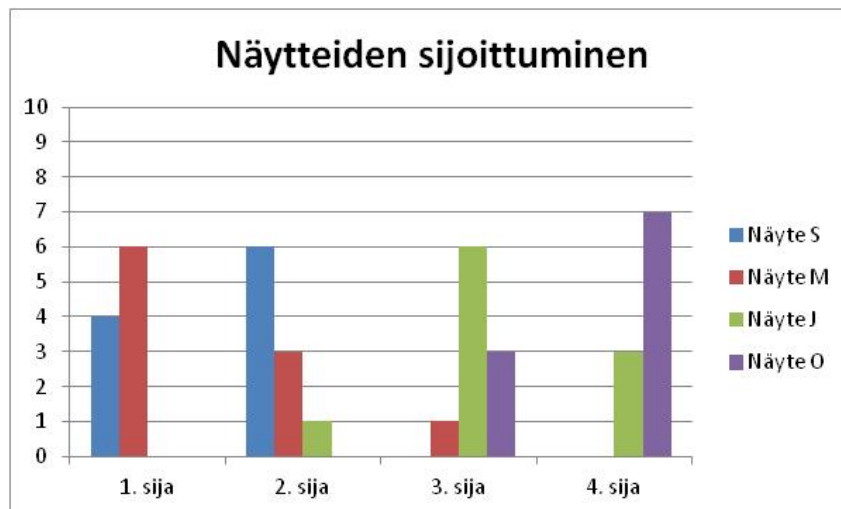
Kuviosta on nähtävissä, että fermentointilämpötila vaikuttaa esikäsittelyissä näytteissä lähinnä hajun sipulisuuteen ja suutuntuman rapeuteen sekä maun happa-

muuteen, joiden arvioitiin olevan voimakkaammat matalammassa fermentointilämpötilassa. Hajun happamuus ja maun sipulisuus arvioitiin yhtä voimakkaiksi.

Tuoreen sipulikuution fermentoinnissa eroja ominaisuuksien voimakkuuksissa havaittiin maun happamuudessa, maun sipulisuudessa ja hajun happamuudessa sekä hajun sipulisuudessa. Maun sipulisuuden ja hajun happamuuden havaittiin olevan miedompia korkeammassa fermentointilämpötilassa, mutta hajun sipulisuuden ja maun happamuuden vahvempia. Suutuntuman rapeus arvioitiin voimakkuudeltaan samankaltaiseksi molemmissa esikäsittelemättömänä fermentoiduissa näytteissä.

Maun ja hajun happamuutta arvioitiin voimakkaammiksi esikäsitellyissä näytteissä. Hajun ja maun sipulisuus on arvioitu miedoksi esikäsitellyillä näytteillä. Fermentointilämpötila siis vaikuttaa aromin muodostukseen sekä tuoreena fermentoiduissa näytteissä, että esikäsitellyissä näytteissä. Näytteiden arviointi ja ominaisuuksien kuvailu on liitteessä 7. Liitteestä on luettavissa myös arvioijien antamat arviot ja keskiarvot, joiden perusteella kuvio 10 on piirretty.

Arvioijia pyydettiin laittamaan arvioimansa näytteet omasta mielestään paremmuus järjestykseen. Alla olevassa kuviossa 12 on esitetty arvioinnin tulokset.



Kuvio 12. Näytteiden sijoittuminen.

Kokonaisuudessaan parhaimmaksi näytteeksi arvioitiin näyte M ja toiseksi parhaimmaksi arvioitiin näyte S. Huonoimmaksi arvioitiin näyte O ja toiseksi huonoimmaksi arvioitiin näyte J. Voidaankin todeta, että arvioijat pitivät 15 asteessa fermentoitua tuoretta sipulikuutiota kokonaisuudessaan parhaana. Toiseksi sijoittui 20 asteessa fermentoitu sipulikuutio.

### 5.3 Esikäsittelyn vaikutus näytteet väriin

Esikäsitellyllä havaittiin olevan vaikutusta näytteen väriin fermentoinnin aikana. Alla olevassa kuviossa 13 on esitetty tyypilliset värimuutokset fermentoinnin aikana esikäsitteystä riippuen.



Kuvio 13. Esikäsitteelyn vaikutus näytteen väriin.

Kuviosta on havaittavissa, että tuore sipulikuutio on värjäytynyt fermentoinnin aikana kaikkein eniten. Suolan lisääminen näytteeseen parantaa näytteen väriä, jolloin tummentumista fermentoinnin aikana ei tapahdu niin voimakkaasti kuin tuoreessa sipulikuutiosta. Lämpökäsitellyissä kuutioissa ei havaittu värjäytymistä fermentoinnin aikana missään lämpötilassa. Värjäytymistä tapahtui kaikissa käytyissä lämpötiloissa, mutta vähäisintä se oli 20 asteessa fermentoidussa sipulissa. Tummentuminen tuoreena fermentoidun näytteen pinnalla johtuu todennäköisesti sipulin entsyymitoiminnasta.

#### 5.4 Näytteiden mikrobiologinen laatu eri fermentointi lämpötiloissa

Alla olevassa taulukossa 10 on fermentoidun sipulin laboratoriotulokset. Aluksi on esitetty mikrobiologiset lähtöarvot fermentoimattomista sipulinäytteistä.

Taulukko 10. Mikrobiologiset lähtöarvot

Laboratoriotulokset			
Tutkimus	Näyte	Tulos	Kommentti
Aerobiset mikro-organismit	Tuore sipuli kuutio	2800	hyvä *
	Pastöroitu sipuli kuutio 80 °C	< 100	hyvä *
	Pastöroitu sipuli kuutio 90 °C	<100	hyvä *

Mikrobiologisia lähtötasoja voidaan pitää hyvinä. Kommentit on lausuttu laboratorion antamien lähtöarvojen mukaan.

Alla olevassa taulukossa 11 on esitetty mikrobiologiset arvot, kun fermentointi on tapahtunut 25 asteessa. Kommentit on lausuttu laboratorion antamien lähtöarvojen mukaan.

Taulukko 11. Mikrobiologiset arvot 25 asteessa

Näyte	Tutkimus	Tulos	Kommentti
Fermentoitu sipuli 25 ° C, pastöroitu 2 min 80 ° C	Aerobiset mikro-organismit	$> 5,7 \times 10^7$	Hyvä, huom korkea maitohappobakteeri määrä, joka nostaa aerobisten mikro-organismien määrää
	Enterobacteriaceae	< 10	Hyvä
	Maitohappobakteerit	$> 5,7 \times 10^7$	Korkea
	Hiivat	<100	Hyvä
	Homeet	<100	Hyvä
Fermentoitu tuore sipuli 25 ° C	Aerobiset mikro-organismit	$3,5 \times 10^8$	Hyvä, huom korkea maitohappobakteeri määrä, joka nostaa aerobisten mikro-organismien määrää
	Enterobacteriaceae	<10	Hyvä
	Maitohappobakteerit	$> 5,7 \times 10^7$	Korkea
	Hiivat	$5,7 \times 10^5$	Välttävä tarjoilupakkojen mukaan, huono teollisuuden mukaan
	Homeet	<100	Hyvä
Tuore sipuli + suola 1,5 %	Aerobiset mikro-organismit	$3,0 \times 10^8$	Hyvä
	Enterobacteriaceae	$1,2 \times 10^5$	Huono
	Maitohappobakteerit	$> 5,7 \times 10^7$	Korkea
	Hiivat	2200	hyvä
	Homeet	<100	hyvä
Fermentoitu sipuli 25 ° C, pastöroitu 10 min 90 ° C	Aerobiset mikro-organismit	$> 5,7 \times 10^7$	Hyvä, huom korkea maitohappobakteeri määrä, joka nostaa aerobisten mikro-organismien määrää
	Enterobacteriaceae	<10	hyvä
	Maitohappobakteerit	$> 5,7 \times 10^7$	korkea
	Hiivat	<100	hyvä
	Homeet	100	hyvä

Ensimmäisessä erässä fermentoitiin sipulikuutioita, joille oli tehty eri lämpökäsittelyt. Toinen näyte pastöroitiin 80 asteessa 2 minuuttia ja toinen näyte 90 asteessa 10 minuuttia. Molemmat lämpökäsittelyt sipulit saavat hyvän arvosanan, kun fermentointi on tapahtunut 25 asteessa. Tuoreena fermentoidussa sipulikuutiosta hiivojen määrä on korkea. Suolan kanssa fermentoidussa sipulissa enterobakteeri määrä on korkea, mutta suolan voidaan todeta hidastaneen hiivojen kasvua.



Alla olevassa taulukossa 12 on esitetty mikrobiologiset arvot, kun fermentointi on tapahtunut 20 asteessa ja 15 asteessa. Kommentit on lausuttu laboratorion antamien lähtöarvojen mukaan.

Taulukko 12. Mikrobiologiset arvot 20 asteessa ja 15 asteessa.

Näyte	Tutkimus	Tulos	Kommentti
Fermentoitu sipuli 20° C, pastöroitu 80° C 2min	Aerobiset mikro-organismit	$1,8 \times 10^8$	Hyvä, huom korkea maitohappobakteeri pitoisuus, joka nostaa aerobisten mikro-organismien määrää
	Enterobacteriaceae	<10	hyvä
	Maitohappobakteerit	$2,4 \times 10^8$	Korkea
	Hiivat	100	hyvä
	Homeet	<100	hyvä
Fermentoitu tuore sipuli 20° C	Aerobiset mikro-organismit	$3,1 \times 10^8$	Hyvä, huom korkea maitohappobakteeri pitoisuus, joka nostaa aerobisten mikro-organismien määrää
	Enterobacteriaceae	<10	hyvä
	Maitohappobakteerit	$2,1 \times 10^8$	korkea
	Hiivat	$6,4 \times 10^5$	Huono
	Homeet	100	hyvä
Fermentoitu tuore sipuli 15° C	Aerobiset mikro-organismit	$2,4 \times 10^8$	Hyvä, huom korkea maitohappobakteeri pitoisuus, joka nostaa aerobisten mikro-organismien määrää
	Enterobacteriaceae	<10	hyvä
	Maitohappobakteerit	$2,6 \times 10^8$	korkea
	Hiivat	$1,7 \times 10^5$	Teollisuus huono, tarjoilupaiikat välttävä
	Homeet	n. 200	hyvä
Fermentoitu sipuli 15° C, pastöroitu 80° C 2min	Aerobiset mikro-organismit	$8,6 \times 10^7$	Hyvä, huom korkea maitohappobakteeri pitoisuus, joka nostaa aerobisten mikro-organismien määrää
	Enterobacteriaceae	<10	hyvä
	Maitohappobakteerit	$5,6 \times 10^7$	korkea
	Hiivat	$2,5 \times 10^7$	Huono
	Homeet	n.500	Hyvä

Fermentoinnin tapahtuessa 20 °C saa 80 asteessa 2 minuuttia pastöroitu sipulikuutio mikrobiologisissa tutkimuksissa arvosanan hyvä. Tuoreena fermentoidussa sipulissa hiivojen määrä on korkea. Fermentoinnin tapahtuessa 15 °C hiivamäärä saa teollisuuden raja-arvojen mukaan arvosanan huono, tarjoilupaiikkojen raja-arvojen mukaan välttävän. Pastöroidun sipulikuution hiivamäärä on korkea, kun fermentointi tapahtuu 15 °C:ssa.

Korkea hiivamäärä näytteissä saattaa johtua jatkuvasta pH-mittauksesta, jolloin näyte ei saanut rauhassa olla anaerobisissa olosuhteissa. Tiloissa, joissa näytteet

valmistettiin, valmistetaan myös tuotteita, jotka sisältävät hiivaa, jolloin hiivan joutuminen näytteeseen on aseptisestä toiminnasta huolimatta mahdollista. Ulkoinen tekijä selittäisi myös esikäsiteltyjen näytteiden hiivojen kasvun.

## 6 SUOSITUKSET JA JOHTOPÄÄTÖKSET

Sipulia fermentoidessa suurin ongelma on hiivojen kasvu. Todennäköisin syy hiivojen voimakkaalle kasvulle on kontaminaatio muun muassa pH-mittausten yhteydessä. Kun tiedossa on sipulin fermentointiaika kullakin lämpötilalla, kannattaisi ensimmäiseksi fermentoida näytteet uudelleen ilman jatkuvaa pH-mittausta ja tutkituttaa hiivat uudelleen. Hiivojen määrä on sitä korkeampi, mitä kauemman fermentointi on kestänyt ja mitä pidempään on fermentoitu, sitä useammin pH:ta on mitattu. Fermentointi on hitaampaa alhaisemmissa lämpötiloissa, jolloin alhainen pH ei suojaa näytettä kontaminaatiolta. Suurimmassa osassa lämpökäsitellyistä näytteissä ei havaittu hiivojen kasvua, poikkeukseksi muodostui 15 asteessa tapahtunut fermentoituminen, joka kesti pitkään ja josta pH:ta mitattiin useammin.

Arvioijat arvioivat parhaaksi näytteeksi 15 asteessa fermentoidun tuoreen sipulikuution. Näytteen fermentointiaika on kuitenkin suhteellisen pitkä *Lactobacillus sakei* HS-1:llä suoritettuna kyseisessä lämpötilassa. Tämän vuoksi kannattaisikin tutkia lämpötiloja 16–19 asteen välillä ja niiden vaikutusta arominmuodostukseen, sekä fermentointi aikaan. Fermentointiaika on kuitenkin paljon lyhempi lähempänä 20 astetta, joka olisi teollisesti kannattavampaa.

Aikaisempien tutkimusten perusteella oli oletuksena, että suolan lisäys parantaa aromin muodostusta ja lisää säilyvyyttä. Tämän tutkimuksen perusteella asia oli kuitenkin päinvastoin. Näyte, jossa oli suolaa, sisälsi enterobakteereita kaikista eniten. Todennäköisesti *Lactobacillus sakei* HS-1:nen kasvaa sipulia fermentoidessa suolan kanssa aluksi niin hitaasti, että enterobakteerien kasvu on mahdollinen. Asian varmistamiseksi suositellaan fermentaation toistamista. Fermentointia voisi tutkia myös eri suolapitoisuuksissa, koska suolan havaittiin vaikuttavan näytteen väriin parantavasti ja irrottavan nestettä sipulin solusta paremmin.

Tässä työssä käytetyt lämpökäsittelyt ovat liian kovia sipulia fermentoidessa. Lämpökäsittely vaikuttaa liian paljon ja häiritsevästi aromin muodostukseen. Tä-

män vuoksi suositellaankin kokeiluja kevyemmällä lämpökäsittelyillä. Lämpökäsittely hajottaa sipulin solun, jolloin hapate saa sokereita heti käyttöönsä. Kevyemmän lämpökäsittelyn löytäminen, joka ei vaikuta aromin muodostukseen jättäisi sullomisen väliin, joka ilman lämpökäsittelyä on välttämätön toimenpide solun hajottamiseksi. Pastöroinnin suorittamistapa vaatii myös kehittämistä.

Tämän opinnäytetyön tuloksia voidaan hyödyntää keltasipulin fermentoinnin kehittämiseen. Tuloksia voidaan myös hyödyntää kun halutaan fermentoida muita kasviksia *Lactobacillus sakei* HS-1:llä. Työn toteutusosiota voidaan käyttää apuna koejärjestelyjä suunniteltaessa ja teoriaosiota voidaan hyödyntää kun mietitään *Lactobacillus sakei* HS-1:n soveltumista tietyn kasviksen fermentointiin.

## LÄHTEET

- Aittomäki, E., Eerikäinen, T., Leisola, M., Ojamo, H., Suominen, I., Von Weymarn, N. Bioprosessitekniikka 2002. 1. painos. Helsinki: WSOY
- Barrangou, R., Lahtinen, S J., Ibrahim, F. & Ouwehand, A C. 2012 Lactid acid bacteria, microbiological and functional aspects. Toim. Lahtinen, M., Ouwehand, A.C., Salminen, S., Von Wright, A. 4. painos. Roca raton: CRC press
- Björkroth, J. 2009. Elintarvikkeille ominaiset pilaajamikrobit. [www-dokumentti] Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim 125 Vol. 6, 659-66. [ Viitattu 7.4.2013] Saatavissa: [http://www.duodecimlehti.fi/web/guest/uusinnumero?p\\_p\\_id=dlehtiha-ku\\_view\\_article\\_WAR\\_dlehtihaku&p\\_p\\_action=1&p\\_p\\_state=maximized&p\\_p\\_mode=view&\\_dlehtihaku\\_view\\_article\\_WAR\\_dlehtihaku\\_\\_spage=%2Fportlet\\_action%2Fdlehtihakuartikkeli%2Fviewarticle%2Faction&\\_dlehtihaku\\_view\\_article\\_WAR\\_dlehtihaku\\_tunnus=duo97940&\\_dlehtihaku\\_view\\_article\\_WAR\\_dlehtihaku\\_p\\_frompage=usinnumero](http://www.duodecimlehti.fi/web/guest/uusinnumero?p_p_id=dlehtiha-ku_view_article_WAR_dlehtihaku&p_p_action=1&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&_dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku__spage=%2Fportlet_action%2Fdlehtihakuartikkeli%2Fviewarticle%2Faction&_dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku_tunnus=duo97940&_dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku_p_frompage=usinnumero)
- Elintarvikkeiden aistinvaraiset tutkimusmenetelmät 2006. Toim. Tuori-la, H., Appelbye, U. Helsinki: Yliopistopaino.
- Elintarvikkeiden mikrobiologiset tutkimukset. 2002. Valvontaopas-sarja (4).Helsinki. Elintarvikevirasto.
- Elintarviketeollisuuden HACCP-pohjainen omavalvontaohje 2006. Kasvis- ja marjateollisuus. Evira. [viitattu 14.1.2013] [www-dokumentti] (5) Saatavissa: <http://www.etl.fi/www/fi/julkaisut/Julkaisut/HACCP-kasvis1.pdf>
- Fellows, P. 2000. Food processing technology. 2. painos. [www-dokumentti] Woodhead publishing Ltd. [viitattu: 26.12.2012] Saata-vissa: <http://www.filecrop.com/50396713/index.html>
- Gardnera, N J., Savarda, T., Obermeierb, P., Caldwellb, G., Cham-pagne, C P. 2001. Selection and characterization of mixed starter cultures for lacticacid fermentation of carrot, cabbage, beet and on-ion vegetable mixtures. [www-dokumentti] International Journal of Food Microbiology 64 261–275. [viitattu: 26.12.2012] Saatavissa: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11294348>

Handbook of vegetables & vegetable processing 2011. Toim. Sinha, N K., Hui Y.H. Iowa: Wiley- Blackwell.

Karovičová, J., Kohajdová, Z. 2003. Lactic acid fermented vegetable juices. Hort. sci. (prague), 30, 2003 (4): 152–158. [www-dokumentti] [Viitattu 12.12.2012] Saatavissa: <http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/51936.pdf>

Marceau, A., Zagorec, M., Chaillou, S., Méra, T., Champomier-Vergès, M-C. Evidence for Involvement of at Least Six Proteins in Adaptation of *Lactobacillus sakei* to Cold Temperatures and Addition of NaCl. Applied Environmental Microbiology. 2004 December; 70(12): 7260. [www-lähde] [Viitattu 15.10.2012] Saatavissa: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC535173/>

Muck, R. E. 2010. Silage microbiology and its control through additives. Revista Brasileira de Zootecnia vol 39: 183-191. [www-lähde] [viitattu 15.4.2013] Saatavissa: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982010001300021&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982010001300021&script=sci_arttext)

Mälkönen, P. Orgaaninen kemia 1989. 5. painos. Helsinki: Otava

Ohno, N., Sato, Y., Saito, M., Hosoya, Y., Kushida, K., Fujita, S., Oshikubo, Y., F, Kobayashi. Application and benefits of Plant Origin *Lactobacillus sakei* on Fermented Vegetables. *Lactobacillus sakei*. [Rajoitettu saatavuus, artikkeli käännetty japanista englanniksi]. [Viitattu 3.12.2012]

pH-arvo 17.6.2011. [Viitattu 7.4.2013] [www-lähde] Saatavissa: <http://www.ymparisto.fi/default.asp?node=12875&lan=fi>

Pihkala, J. 2004. Prosessisuureiden mittaustekniikka. 2. painos. Vantaa: Dark Oy

Porkkana. [viitattu 26.12.2012] [www-lähde] Saatavissa: <http://www.pyhajarvi-instituutti.fi/porkkanatiedosto/porkkana/jalostus/index.html>

Puhakka, L. 2011. Eri maitohappobakteerien ja niiden annostason vaikutus säilörehun käymislaatuun ja aerobiseen stabiilisuuteen. Helsingin yliopisto: maisterin tutkielma. Teoksessa: Pahlow, G., Muck, R. E., Driehuis, F., Oude Elferink, S. J. W. H. & Spoelstra, S. F. 2003 Microbiology of ensiling. In: Buxton, D. R. (Ed.). Silage Science and Technology. American Society of Agronomy Inc. Madison, USA. pp. 31-94.

Ruoka- aineiden ravintoainesisältö 1993. Kansaneläkelaitos. 4. painos. Vammala.

Seilab 2013. Raakasalaattien mikrobiologinen laatu. Sähköpostikeskustelu. [viitattu 12.2.2013]

Sørvig, E., Mathiesen, G., Naterstad, K., V.G.H Eijsink., L, Axelsson. 2005. High-level, inducible gene expression in *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus plantarum* using versatile expression vectors. *Microbiology* [www-dokumentti] Vol. 151, 2439-2449. [Viitattu 4.10.2012] Saatavissa: file:///D:/ONT/lactobacillus%20sakei%20k%C3%A4ytt%C3%B6.htm

Superbakteeri NDM-1 on todellinen uhka 2011. [www-lähde] Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim vol. 127. [viitattu 14.1.2013] Saatavissa: [http://www.duodecimlehti.fi/web/guest/uusinnumero?p\\_p\\_id=dlehtihaku\\_view\\_article\\_WAR\\_dlehtihaku&p\\_p\\_action=1&p\\_p\\_state=maximized&p\\_p\\_mode=view&\\_dlehtihaku\\_view\\_article\\_WAR\\_dlehtihaku\\_\\_spage=%2Fportlet\\_action%2Fdlehtihakuartikkeli%2Fviewarticle%2Faction&\\_dlehtihaku\\_view\\_article\\_WAR\\_dlehtihaku\\_tunnus=duo99896&\\_dlehtihaku\\_view\\_article\\_WAR\\_dlehtihaku\\_p\\_frompage=usinnumero](http://www.duodecimlehti.fi/web/guest/uusinnumero?p_p_id=dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku&p_p_action=1&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&_dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku__spage=%2Fportlet_action%2Fdlehtihakuartikkeli%2Fviewarticle%2Faction&_dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku_tunnus=duo99896&_dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku_p_frompage=usinnumero)

Tkigawa, H., Shibuya, Y. 2012. [www- dokumentti] The metabolites of food microorganisms. *Biological laboratories*. [Viitattu 4.10.2012] Saatavissa: <http://www.docstoc.com/docs/122765094/The-metabolites-of-food-microorganisms#>

Tanasupawat, S. 2009. Thai Lactic Acid Bacteria: Diversity and Applications. *SWU sci. J.* Vol 25, No. 1. [www-lähde] [Viitattu 15.10.2012.] Saatavissa: <http://scholar.google.fi/scholar?hl=fi&q=Thai+Lactic+Acid+Bacteria%3A+Diversity+and+Applications&btnG=>

Von Wright, A., Axelsson, L. 2012. Lactid acid bacteria, microbiological and functional aspects. Toim. Lahtinen, M., Ouweland, A.C., Salminen, S., Von Wright, A. 4. painos. Roca raton: CRC press

Watanabe, K. 2012. Sähköpostikeskustelu. [viitattu 3.12.2012]

Yleistä mikrobeista 2012. Evira. [www- lähde] [viitattu 14.1.2013] Saatavissa: [http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/hygieniaosaaminen/tietopaketti/elintarvikkeiden\\_riski-\\_ja\\_vaaratekijat/mikrobiologiset\\_vaaratekijat/yleista\\_mikrobeista](http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/hygieniaosaaminen/tietopaketti/elintarvikkeiden_riski-_ja_vaaratekijat/mikrobiologiset_vaaratekijat/yleista_mikrobeista)

Foodwest Oy

**AISTITTAVIEN OMINAISUUKSIEN KUVAILU**

Tuote: \_\_\_\_\_ Arvioija: \_\_\_\_\_

Päivämäärä: \_\_\_\_\_

Kuvaille sanallisesti mahdollisimman tarkasti näyteiden ulkonäköä, hajua, rakennetta, makua ja suutuntumaa. Kirjoita muistiin kaikki tuotteita kuvaavat ominaisuudet – Millainen tuote on?

NÄYTE	ULKONÄKÖ	HAJU	RAKENNE	MAKU	SUUTUNTUMA



## LIITE 2. Makuprofiilit

Aistittavien ominaisuuksien kuvailu						
Fermentoidun sipulin aistittavat ominaisuudet eri fermentoitilämpötiloissa						
Lämpötila °C	Näyte	Ulkonäkö	Haju	Rakenne	Maku	Suutuntuma
25	Pastörointi 90 °C, 10 minuuttia	Vaalea, läpikuultava, läpinäkyvä, hillospulimainen, opaakki	Etikkainen tuoksu, pistävä, tunkkainen	pehmeä, vetinen	Vetinen, ei muistuta sipulia. kurkkumaisen vetinen. Jälkimaku hapan.	Ei rouskuva, pehmeä rakenne
25	Pastörointi 80 °C, 2 minuuttia	vaalean kellertävä	piimämäinen, kaikista happamin	kostea	sipulin maku, hapan.	hieman rouskuva, tunnistettavissa sipuliksi
25	Tuore	Vihertävän kellertävä	Sipuli, mieto hapan tuoksu	pikkukuutio, napakka, selkeä rakenne	mieto, raikas maku, voimakas sipulin jälkimaku	napakka, hieman rouskuva
25	Suola	Vihertävän kellertävä, kostea	vahvasti hapan, maitomainen, piimämäinen tuoksu	selkeä pikkukuutio	suolainen, mieto sipulin jälkimaku. Hapan.	rouskuva, suolainen
20	Tuore	Vihertävän kellertävä	raikas sipuli, ei voimakkaan hapan.	kostea, kuutiot erottuvat hyvin, napakka	sipulinen, ei liian voimakas, odotusarvo sipulisempi, hapan, makeahko	rapea, napakka
20	Pastöroitu 80 °C 2min	vaalea, läpikuultava, lähellä opaakkaa	hapan tuoksu, piimämäinen	kostea, pehmeä	vetinen, hapattettu kasvis, ei vahva sipuli, jälkimakuna maitotuote	rapea, mutta ei napakka
15	Tuore	kellertävän rusehtava	piimämäinen, kaikista happamin	selkeä, kuivahko	makea ja sipulinen	rapea
15	Pastöroitu 80 °C 2min	Vaalea, hieman kellertävä	Hiivainen, vieno sipulisuus	vetinen	mieto, hieman sipulinen	ei hirveän rapea.

## LIITE 3. Pääarvioinnin lomake, kuvaileva arviointi

Nimi: \_\_\_\_\_ pvm \_\_\_\_\_

Edessäsi on 4 arvioitavaa näytettä. Voit halutessasi käyttää vertailunäytteenä tuoretta sipuli murskaa tai tehdä arvion oman mielikuvasi perusteella tuoreeseen sipuliin verraten. **ÄLÄ siis arvioi tuoretta sipulimurskaa, käytä sitä ainoastaan vertailunäytteenä.**

Merkitse arviosi aistittavasta ominaisuudesta janalle numeron kohdalle, käyttäen näytteen tunnusta. Numero ykkönen edustaa miedointa ominaisuutta ja numero kymmenen vahvinta ominaisuutta. Voit halutessasi kommentoida näytettä sille varatulle tyhjälle riville.

**1. Hajun sipulisuus**

1-----2-----3-----4-----5-----6-----7-----8-----9-----10  
Erittäin mieto Erittäin voimakas

---

**2. Hajun happamuus**

1-----2-----3-----4-----5-----6-----7-----8-----9-----10  
Erittäin mieto Erittäin voimakas

---

**3. Maun sipulisuus**

1-----2-----3-----4-----5-----6-----7-----8-----9-----10  
Erittäin mieto Erittäin voimakas

---

## LIITE 3. Pääarvioinnin lomake, kuvaileva arviointi

## 4. Maun happamuus

1-----2-----3-----4-----5-----6-----7-----8-----9-----10  
Erittäin mieto Erittäin voimakas

---

## 5. Suutuntuman rapeus

1-----2-----3-----4-----5-----6-----7-----8-----9-----10  
Ei lainkaan rapea Erittäin rapea

---

**Merkitse lopuksi arvioimasi näytteet paremmuusjärjestykseen siten, että mielestäsi paras näyte on ensimmäisenä ja huonoin viimeisenä.**

\_\_\_\_\_

Kiitos arvioinnista!

## LIITE 4. Satunnaistukset

Alla on listattu työssä käytettyjen näytteiden koodit ja käytetyt satunnaistukset

Näyte J = Pastörinti 2min 80 astetta, fermentointi 20 asteessa

Näyte S = Tuore, fermentointi 20 asteessa

Näyte O = Pastörinti 2min 80 astetta, fermentointi 15 asteessa

Näyte M = Tuore, fermentointi 15 asteessa

### Satunnaistukset

Sat 1. JSOM

Sat 2. SJMO

Sat3. MOJS

Sat 4. OMSJ

Sat 5. JMOS

## LIITE 5. pH- arvojen keskiarvo

pH- muutos 25 astetta ajan funktiona, pH arvojen keskirvot.				
Mittaus	pH (tuore)	pH (suola)	pH (90°C)	pH (80°C)
1 (0h)	5,85	5,59	6,46	5,81
	5,85	5,54	6,32	5,74
	5,81	5,57	6,33	5,58
<b>KA</b>	<b>5,83666667</b>	<b>5,56666667</b>	<b>6,37</b>	<b>5,71</b>
Mittaus 2 (21,5h)	5,71	5,28	5,58	5,74
	5,5	5,28	5,5	5,65
	5,67	5,25	5,57	5,62
<b>KA</b>	<b>5,62</b>	<b>5,27</b>	<b>5,55</b>	<b>5,67</b>
Mittaus 3 (32 h)	4,25	4,4	3,97	3,97
	4,22	4,37	4	3,92
	4,24	4,48	3,99	3,99
<b>KA</b>	<b>4,23666667</b>	<b>4,41666667</b>	<b>3,986667</b>	<b>3,96</b>
Mittaus 4 (37,5)	4,15	4,48		
	4,17	4,24		
	4,14	4,28		
<b>KA</b>	<b>4,15333333</b>	<b>4,33333333</b>		
Mittaus 5 (57h)	4	4,01		
	3,94	4,04		
	3,97	4,02		
<b>KA</b>	<b>3,97</b>	<b>4,02333333</b>		

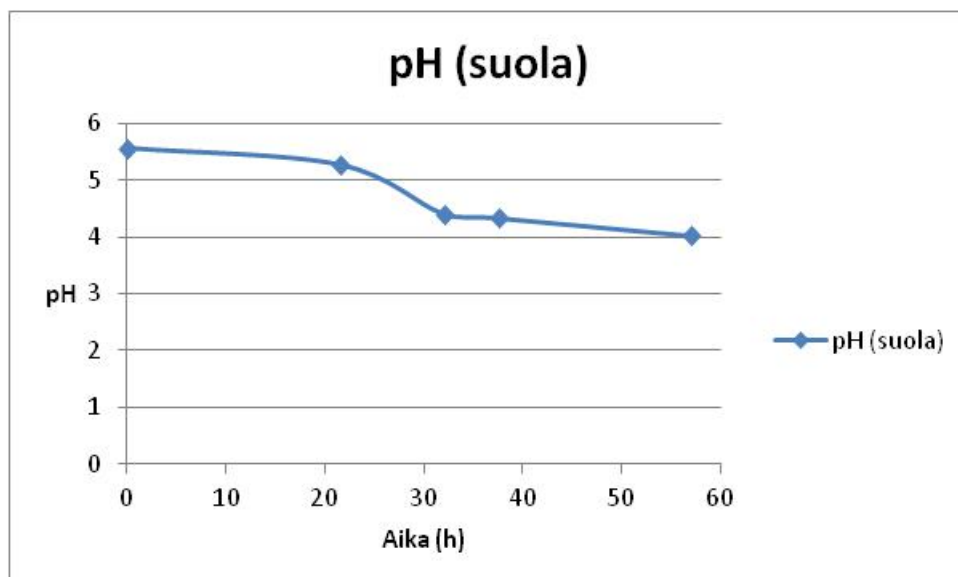
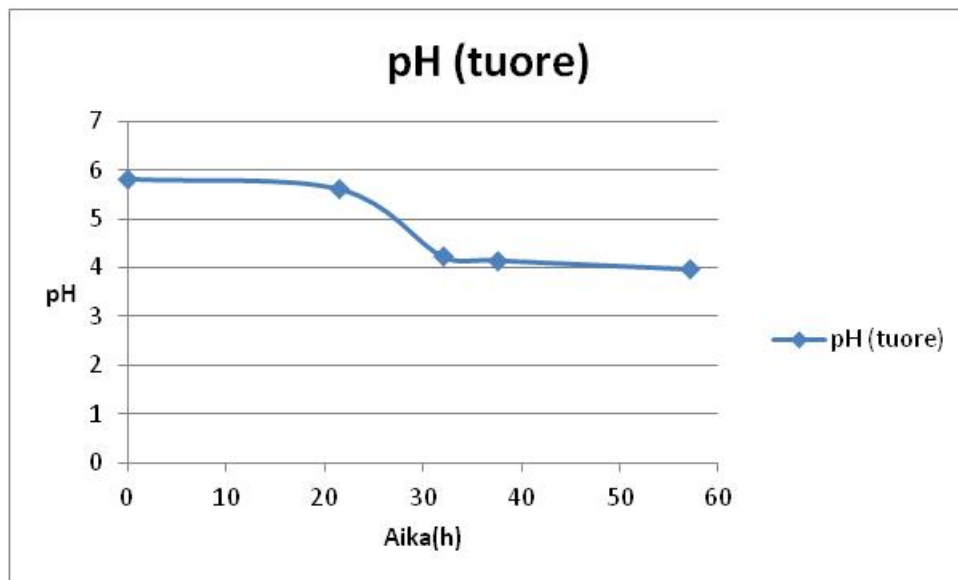
Ph muutos 20 astetta ajan funktiona, pH- arvojen keskiarvot		
Mittaus	Tuore	80°C 2minuuttia
1 (0h)	5,88	5,77
	5,84	5,73
	5,86	5,79
<b>KA</b>	<b>5,86</b>	<b>5,76333333</b>
Mittaus 2 (71,5h)	4,41	4,89
	4,36	4,77
	4,24	4,56
<b>KA</b>	<b>4,33666667</b>	<b>4,74</b>
Mittaus 3 (97h)	4,22	4,05
	4,32	3,98
	4,19	3,99
<b>KA</b>	<b>4,24333333</b>	<b>4,00666667</b>
Mittaus 4 (116h)	4,17	
	4,19	
	4,15	
<b>KA</b>	<b>4,17</b>	

## LIITE 5. pH- arvojen keskiarvo

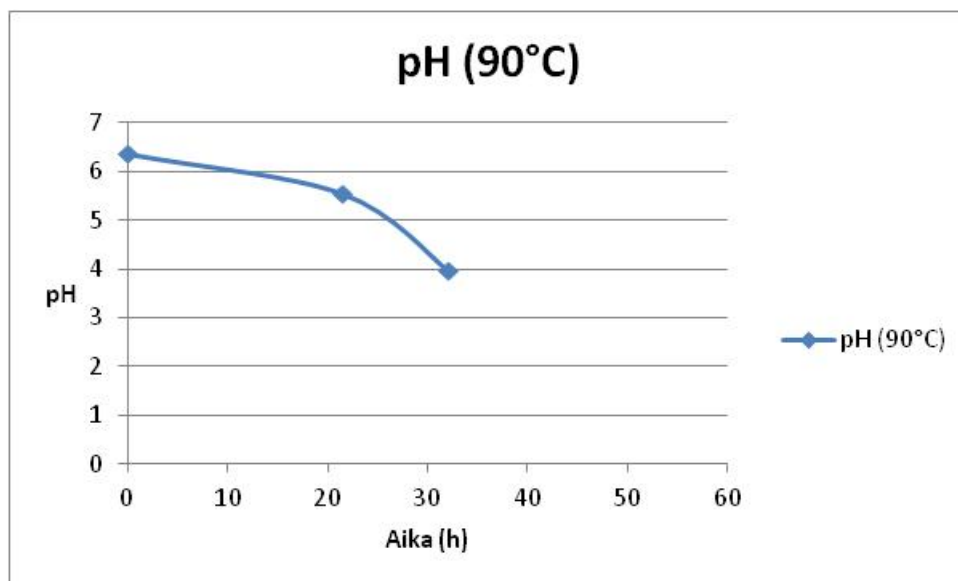
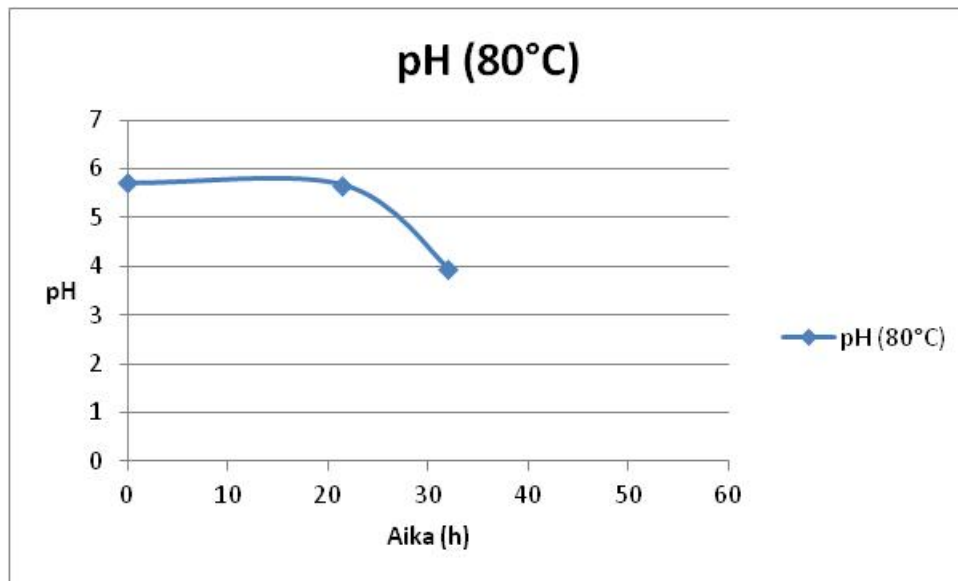
Ph muutos 15 astetta ajan funktiona, pH- arvojen keskiarvot		
Mittaus	Tuore	80°c 2minuuttia
1 (0h)	5,58	5,69
	5,55	5,83
	5,56	5,7
<b>KA</b>	<b>5,563333333</b>	<b>5,74</b>
Mittaus 2 (66h)	5,21	4,86
	4,99	4,84
	4,83	4,78
<b>KA</b>	<b>5,01</b>	<b>4,826666667</b>
Mittaus 3 (136,5h)	4,54	4,67
	4,51	4,29
	4,5	4,5
<b>KA</b>	<b>4,516666667</b>	<b>4,486666667</b>
Mittaus 4 (156h)	4,51	4,66
	4,45	4,65
	4,48	4,7
<b>KA</b>	<b>4,48</b>	<b>4,67</b>
Mittaus 5 (178,5h)	4,49	4,36
	4,46	4,37
	4,42	4,29
<b>KA</b>	<b>4,456666667</b>	<b>4,34</b>
Mittaus 6 (207,5h)	4,4	4,21
	4,43	4,2
	4,35	4
<b>KA</b>	<b>4,393333333</b>	<b>4,136666667</b>
Mittaus 7 (227,5h)	4,37	
	4,37	
	4,28	
	4,34	
Mittaus 8 (299h)	4,15	
	4,11	
	4,1	
<b>KA</b>	<b>4,12</b>	

## LIITE 6. Näytteiden pH- arvojen muutos 25 asteessa.

pH- muutos 25 asteessa ajanfunktiona eri näytteillä



LIITE 6. Näytteen pH- arvojen muutos 25 asteessa.





## LIITE 7. Näytteiden arviointi ja kuvailu

## Näytteille annetut pisteet ja keskiarvot

Näyte O	Hajun sipulisuus	Hajun happamuus	Maun sipulisuus	Maun happamuus	Suutuntuman rapeus
	1	9	1	9	2
	4	9	2	9	3
	2	8	2	8	4
	8	4	6	2	9
	7	7	2	8	3
	2	9	1	9	5
	8	4	3	8	7
	2	3	1	2	4
	3	9	4	9	9
	3	1	2	7	4
<b>KA</b>	<b>4</b>	<b>6,3</b>	<b>2,4</b>	<b>7,1</b>	<b>5</b>
Näyte M	Hajun sipulisuus	Hajun happamuus	Maun sipulisuus	Maun happamuus	Suutuntuman rapeus
	8	6	8	3	8
	3	6	5	3	10
	6	3	8	5	3
	6	3	8	2	6
	6	6	8	6	7
	5	7	8	6	7
	4	7	7	6	8
	5	9	7	5	7
	7	4	6	4	5
	5	7	7	3	8
<b>KA</b>	<b>5,5</b>	<b>5,8</b>	<b>7,2</b>	<b>4,3</b>	<b>6,9</b>
Näyte J	Hajun sipulisuus	Hajun happamuus	Maun sipulisuus	Maun happamuus	Suutuntuman rapeus
	4	3	3	3	2
	2	6	5	4	4
	1	7	3	1	2
	2	9	1	9	2
	2	7	2	7	8
	4	5	2	7	4
	2	9	2	9	4
	3	7	3	7	2
	2	8	3	8	4
	1	8	1	6	7
<b>KA</b>	<b>2,3</b>	<b>6,9</b>	<b>2,5</b>	<b>6,1</b>	<b>3,9</b>
Näyte S	Hajun sipulisuus	Hajun happamuus	Maun sipulisuus	Maun happamuus	Suutuntuman rapeus
	6	7	7	3	9
	3	5	7	6	9
	5	4	8	6	6
	8	2	3	3	7
	8	5	7	7	8
	8	6	6	6	8
	3	8	6	5	5
	7	8	7	6	6
	8	2	6	3	8
	6	3	7	2	3
<b>KA</b>	<b>6,2</b>	<b>5</b>	<b>6,4</b>	<b>4,7</b>	<b>6,9</b>

## LIITE 7. Näytteiden arviointi ja kuvailu

Lisäksi näytteitä kuvailtiin seuraavasti

Näyte O Haju: Tuoksuu jotenkin oudolta, ei sipulinen tai hapan. ei tuoksunut sipulilta vaan happamalta. Tuli myös olut mieleen hajusta. Onko jokin virhe haju?  
Maku: on vetinen, en saanut happamuutta, vaikea kuvailla, miltä maistuu. Maistuu joltain muulta kuin sipulilta.

Näyte S Maku: Maistuu hieman makealta, mutta tunnistaa sipuliksi, makea

Näyte M Maku: Makea, makea, makea sipulin maku

Näyte J Haju: Kokonaisvoimakkuus mieto, piimämäinen. piimämäinen kokonaisvoimakkuus mieto muihin verrattuna. Maku: Kokonaisvoimakkuus mieto, hapan, mutta kokonaisvoimakkuus mieto. Rapeus: Melko vetinen