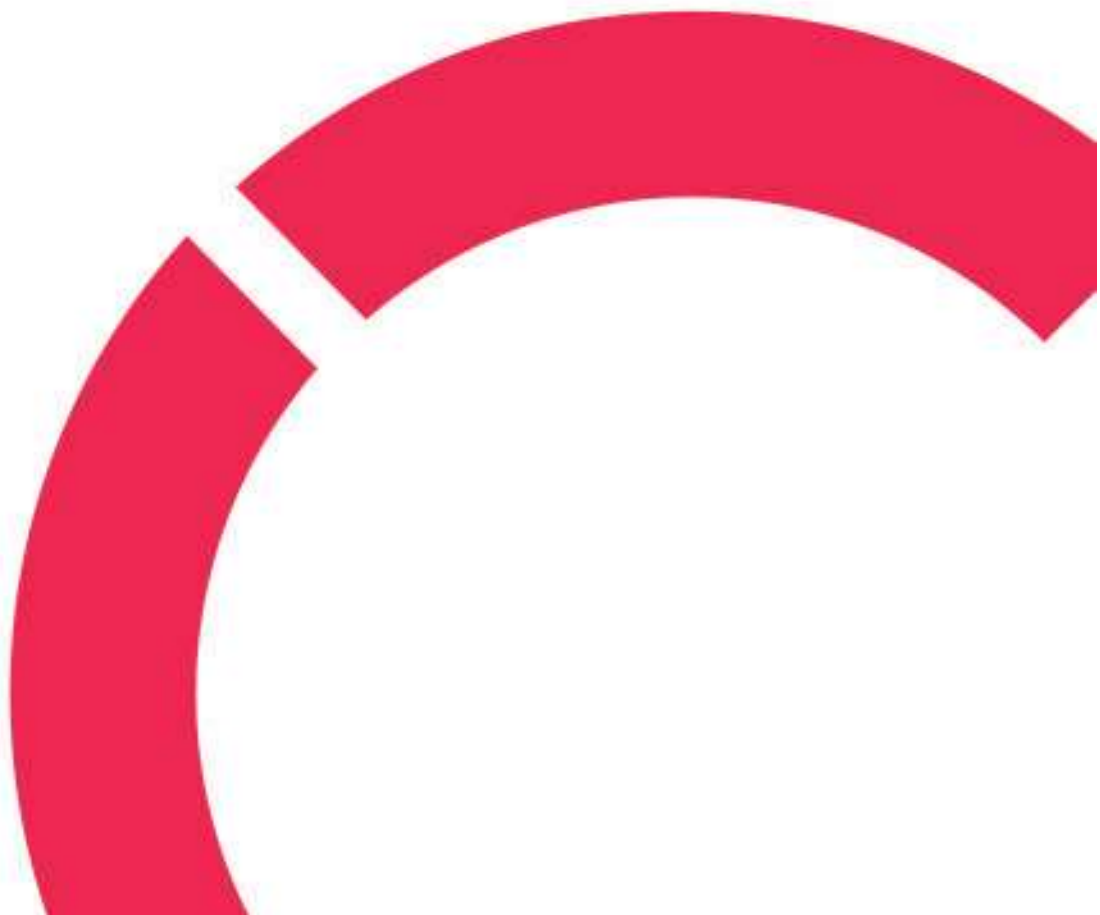


**Liisa Pokela**

**RUISMALLASVISKIN JA ERILAISTEN TYNNYRINÄYTTEIDEN  
PUUJOHDANNAISTEN AROMIEN ANALYSOINTI KAASUKRO-  
MATOGRAFISIN MENETELMIN**

**Opinnäytetyö  
CENTRIA-AMMATTIKORKEAKOULU  
Kemiantekniikan koulutus  
Huhtikuu 2023**



## TIIVISTELMÄ OPINNÄYTETYÖSTÄ

<b>Centria-ammattikorkeakoulu</b>	<b>Aika</b> Huhtikuu 2023	<b>Tekijä</b> Liisa Pokela
<b>Koulutus</b> Kemiantekniikka		<input checked="" type="checkbox"/> AMK <input type="checkbox"/> YAMK
<b>Työn nimi</b> RUISMALLASVISKIN JA ERILAISTEN TYNNYRINÄYTTEIDEN PUUJOHDANNAISTEN AROMIEN ANALYSOINTI KAASUKROMATOGRAFISIN MENETELMIN		
<b>Työn ohjaaja</b> Jana Holm		<b>Sivumäärä</b> 48 + 11
<b>Työelämäohjaajat</b> Jani Kujala, Kalle Valkonen		
<p>Opinnäytetyö tehtiin toimeksiantona Rye Rye Oy:lle kevään 2023 aikana. Opinnäytetyössä tutkittiin toimeksiantajayrityksen valmistaman ruismallasviskin puujohdannaisia yhdisteitä. Analysointimenetelmänä käytettiin suorainjektointia ja käytetty analysointilaitteisto oli massantunnistimella varustettu kaasukromatografi. Teoriaosuudessa on kuvailtu eri viskintuotantoprosesseja ja kerrottu, miten Rye Rye Oy:n prosessi eroaa muista. Teoriaosuudessa on pyritty tuomaan ilmi viskissä esiintyvien yhdisteiden pitoisuuteen vaikuttavia seikkoja. Analyttisessä osassa on kuvailtu laboratoriolaitteistoa ja sen toimintaperiaatteita. Analysoitavien näytteiden kokonaismäärä oli 84 kappaletta, ja niistä suurin osa oli uusissa tai bourbonin valmistuksessa aiemmin käytetyissä Amerikan valkotammitynnyreissä kypsytettyjä viskejä. Tynnyrinäytteet koostuivat viskin tuotannon eri valmistuseristä, joista oli saatavilla kontrollinäytteet. Lisäksi verrattiin savuisen ja ei-savuisen viskin eroja tutkittavien yhdisteiden osalta.</p> <p>Puujohdannaisen yhdisteiden, furfuraalin, viskin laktonin ja sen cis- ja trans-muotojen, vanilliinin, syringiinaldehydin ja sinappialdehydin ohella tarkasteltiin yhtä tislauksen aikana syntyvää yhdistettä, etyylikaproaattia. Tuloksissa verrattiin myös eri tynnyryyppien sekä alkoholipitoisuuksien vaikutusta yhdisteiden pitoisuuksiin. Työssä perehdyttiin yhdisteiden pitoisuuksiin eri näytteissä ja selvitettiin eri näytteiden välillä johtuvien eroavaisuuksien syitä.</p> <p>Tuloksia tarkasteltaessa huomattiin alkoholipitoisuudella olevan merkittävä vaikutus yhdisteiden pitoisuudelle. Alkoholipitoisuudelle ei kuitenkaan pystytty määrittämään tiettyä arvoa, jolla kaikkien tarkasteltavien yhdisteiden pitoisuudet olisivat olleet korkeimpia tai matalimpia, vaan yhdisteiden pitoisuuksien katsottiin olevan keskenään vaihtelevia kaikilla eri alkoholipitoisuuksilla. Tynnyrinäytteiden alkoholipitoisuus oli pääsääntöisesti eri tuotantoerien kontrollinäytteiden alkoholipitoisuutta suurempi ja tynnyrinäytteistä havaittiin pääsääntöisesti sekä enemmän yhdisteitä että korkeampia pitoisuuksia tarkasteltavissa yhdisteissä. Eroja yhdisteiden pitoisuuksissa havaittiin myös käytettyjen tynnyryyppien välillä.</p> <p>Julkisesta opinnäytetyöversiosta on jätetty pois luottamuksellisia tietoja sisältävä liite.</p>		

<b>Asiasanat</b> Etyylikaproaatti, furfuraali, kaasukromatografi, puujohdannaiset yhdisteet, ruismallasviski, sinappialdehydi, suorainjektointi, syringiinaldehydi, tynnyrinäyte, vanilliini, viskin laktonit, viskiyhdisteet
--

**ABSTRACT**

<b>Centria University of Applied Sciences</b>	<b>Date</b> April 2023	<b>Author</b> Liisa Pokela
<b>Degree programme</b> Chemical Engineering		
<b>Name of thesis</b> ANALYSIS OF WOOD DERIVATIVE AROMAS FROM RYE MALT WHISKY AND DIFFERENT CASK SAMPLES USING GAS CHROMATOGRAPHY		
<b>Centria supervisor</b> Jana Holm	<b>Pages</b> 48 + 11	
<b>Instructors representing commissioning company</b> Jani Kujala, Kalle Valkonen		
<p>The thesis was commissioned for Rye Rye Oy during spring 2023. Wood derivative aromas of rye malt whisky produced by the commissioning company were studied in the thesis. Used analysis method was direct injection and used analysis equipment was gas chromatography paired with a mass detector. In the theory part, different whisky production processes have been described and how Rye Rye Oy's process differs from others. In the theory part different details that affect the concentration of compounds abundant in whisky are presented. The analytical part describes the laboratory equipment and its operating principles. The total number of analysed samples was 84, and most of them were whiskies matured in new or previously used American white oak casks in the production of bourbon. The cask samples consisted of different whisky production batches from which control samples were available. In addition, the differences between smoky and non-smoky whisky were compared in terms of the aromas of study.</p> <p>Five wood derivative aromas, furfural, Whisky lactone and its cis and trans isomers, vanillin, syringaldehyde, sinapinaldehyde, and one aroma formed during distillation, ethyl caproate, were studied. The results compared the effect of different cask types and alcohol concentrations on the concentrations of the aromas. The concentrations of aromas in different samples were studied and the reasons for the differences between different samples were clarified in the thesis.</p> <p>It was noticed that the alcohol concentration had significant effect on the concentration of the aromas. However, it was not possible to determine a certain value for the alcohol concentration where the concentrations of all the aromas would have been the highest or lowest. The concentrations of the different aromas varied at all different alcohol concentrations. The alcohol concentration of the cask samples was generally higher than the alcohol concentration of the control samples of different production batches, and more aromas with higher concentrations were observed in the cask samples. Differences in aroma concentrations were also observed between the used cask types.</p> <p>An appendix containing confidential information has been omitted from the public thesis version.</p>		

<p><b>Key words</b> Cask sample, direct injection, ethyl caproate, furfural, gas chromatography, rye malt whisky, sinapinaldehyde, syringaldehyde, vanillin, wood derivative aromas, whisky aromas, whisky lactones</p>
---

## **KÄSITTEIDEN MÄÄRITTELY**

### **EXB**

Viskin kypsytyksessä käytettävä tynnyri, jota on käytetty aiemmin bourbonin valmistuksessa. Tynnyri on sisältänyt bourbonia, ja siitä saadaan viskin lopulliseen makuun ja väriin erilaisia, bourbonin kaltaisia, ominaisuuksia. Lyhenne EXB tulee käsitteestä ex-bourbon. Tynnyrin materiaali on Amerikan valkotammi.

### **FEINTS**

Pää- ja häntätisleiden yhteisnimitys.

### **GC-MS**

Analyysilaitteisto, jolla työn analyttinen osa suoritettiin. Kaasukromatografi massadetektorilla.

### **KDC**

Kyrö Distillery Company, viralliselta nimeltä Rye Rye Oy.

### **LOW WINES, LOW WINES -TISLAUS**

Ensimmäinen tislauksen tislataan low wines - eli raakatislaimella, jossa käyneen mäsän alkoholipitoisuus nousee noin 10 til-%:sta noin 50 til-%:iin. Low wines -tislaukseen voidaan kutsua myös raakatislaukseksi ja siitä syntyvää tuotetta nimityksellä raakatisle tai low wines.

### **NAO**

Viskin kypsytyksessä käytettävä tynnyri, jota ei ole käytetty aiemmin. Tynnyrimateriaali on Amerikan valkotammea ja siitä saadaan kyseiselle puulajikkeelle tyypillisiä ominaisuuksia viskin lopulliseen makuun ja väriin. Lyhenne NAO tulee käsitteestä New American Oak.

### **NAO + EXB**

Viskitynnyristä käytettävä merkintä tässä opinnäytetyössä, kun kyseisen tynnyrin sisältämää viskiä on kypsytetty ensin NAO-tynnyrissä noin 6 kk ajan, jonka jälkeen viski on siirretty EXB-tynnyriin.

### **ORGANOLEPTINEN HAVAINTO**

Aistinvarainen havainto näytteestä esimerkiksi sen hajusta, mausta tai väristä.

## **RANKKI**

Nimitys viskiprosessin mäsätystä nestejakeesta, johon on lisätty hiiva. Rankki fermentoidaan ennen tislausta.

## **SPIRIT-TISLAUS**

Toinen tislaukset tislataan spirit-tislaimella, jossa raakatisle tislataan toiseen kertaan ja sen alkoholipitoisuus nousee 50 til-%:sta yli 70 til-%:iin. Spirit-tislauksessa leikkauspisteet määritetään ja tislauksen aikana kerätään kolme eri tislettä, pää- sydän- ja häntätisle.

## **TIL-%**

Nesteen alkoholipitoisuus tilavuusprosentteina. Alkoholien tilavuus suhteessa nesteen kokonaistilavuuteen. Kaikkien ilmoitettujen alkoholipitoisuuksien virhemarginaali on  $\pm 0,3$  tilavuusprosenttia.

## **VATting**

Viskin käsittelyvaihe ennen pullotusta, jossa yhteen säiliöön tyhjennetään valitut viskitynnyrit. Vatting tehdään makujen yhdenmukaistamisen vuoksi sekä merkille ominaisen tyylin saavuttamiseksi. Vatting-erä sisältää yleensä ominaisuuksiltaan ja makuprofiileiltaan keskenään erilaisia tynnyreitä.

## **VIERRE**

Mäsäyksessä viljarouheessa oleva tärkkelys muuntuu sokeriksi ja liukenee veteen, ja tästä makeasta nesteestä käytetään nimitystä vierre. Viskin valmistusprosessissa nestejake, jota ei ole vielä hiivattu, fermentoitu tai tislattu.

**TIIVISTELMÄ**  
**ABSTRACT**  
**KÄSITTEIDEN MÄÄRITTELY**  
**SISÄLLYS**

<b>1 JOHDANTO</b> .....	<b>1</b>
<b>2 KYRÖ DISTILLERY COMPANY</b> .....	<b>2</b>
2.1 Kyrö-tuotteet .....	4
2.2 Ruismallasviski.....	5
2.3 Viskiprosessi ”The Kyrö Way” .....	5
2.4 Viskissä esiintyvät yhdisteet .....	9
<b>3 VISKIN VALMISTUSPROSESSI YLEISESTI</b> .....	<b>12</b>
3.1 Mallastus ja jauhaminen .....	12
3.2 Mäskäys.....	12
3.3 Käyminen .....	13
3.4 Tislaus yleisesti .....	13
3.4.1 Ensimmäinen tislaus: low wines- eli karkeatisle .....	14
3.4.2 Toinen tislaus: pää-, sydän- ja häntätisle.....	15
3.4.3 Leikkuupisteet toisessa tislauksessa .....	16
3.5 Tynnyrikypsytytys .....	17
3.5.1 Haihtuminen tynnyrikypsytyksen aikana.....	18
3.5.2 Tynnyrin ominaisuuksien merkitys.....	18
3.5.3 Tynnyrin täyttökerrat ja kypsytyisaika .....	19
3.6 Valmiin viskin pullotus .....	20
<b>4 ANALYYTTINEN OSA</b> .....	<b>21</b>
4.1 Työn tarkoitus .....	21
4.2 Analysointilaitteisto sekä käytetyt menetit.....	22
4.3 Näytteet: määrä, kattavuus ja näytteenotto .....	25
4.4 Laboratoriotyön suoritus.....	27
<b>5 TULOKSET</b> .....	<b>29</b>
<b>6 JOHTOPÄÄTÖKSET</b> .....	<b>43</b>
<b>LÄHTEET</b> .....	<b>46</b>
<b>LIITTEET</b>	
<b>KUVIOT</b>	
KUVIO 1. Kyrö Distillery Companyn viskiprosessi .....	6
KUVIO 2. Tutkittavien yhdisteiden kemialliset rakenteet.....	10
KUVIO 3. GC-MS:n toimintaperiaate .....	22
<b>KUVAAJAT</b>	
KUVAAJA 1. Pullotuserän kontrollinäytteen 5-2214-A:n rinnakkaisnäytteen b kromatogrammi.....	29
KUVAAJA 2. Kontrollinäytteestä B ja siihen käytetyistä tynnyreistä tunnistetut yhdisteet sekä tynnyrityyppikohtaiset keskihajonnat .....	31

KUVAAJA 3. Kontrollinäytteestä B ja siihen käytetyistä tynnyreistä tunnistetut yhdisteet (pl. furfural) sekä tynnyryttypikohtaiset keskihajonnat .....	32
KUVAAJA 4. Analysoiduista EX-Bourbon -tynnyrinäytteistä tunnistetut näytteet sekä niissä esiintyvät keskihajonnat.....	33
KUVAAJA 5. Analysoiduista EX-Bourbon -tynnyrinäytteistä tunnistetut näytteet (pl. furfural) sekä niissä esiintyvät keskihajonnat.....	34
KUVAAJA 6. Kaikista NAO- ja EXB-tynnyreistä tunnistetut yhdisteet sekä niissä esiintyvät keskihajonnat.....	35
KUVAAJA 7. Kaikista NAO- ja EXB-tynnyreistä tunnistetut yhdisteet sekä niissä esiintyvät keskihajonnat pl. furfural .....	35
KUVAAJA 8. Analysoidut New American Oak -tynnyrinäytteet sekä niissä esiintyvät keskihajonnat	36
KUVAAJA 9. Analysoidut New American Oak -tynnyrinäytteet sekä niissä esiintyvät keskihajonnat pl. analysointierä D:n keskihajonta ja furfural.....	37
KUVAAJA 10. Histogrammi tynnyrinäytteiden alkoholipitoisuuksista .....	37
KUVAAJA 11. Analysoiduista alkoholipitoisuudeltaan eriävistä tynnyrinäytteistä tunnistetut yhdisteet.....	38
KUVAAJA 12. Analysoiduista alkoholipitoisuudeltaan eriävistä tynnyrinäytteistä tunnistetut yhdisteet pl. furfural.....	39
KUVAAJA 13. Savuttomien vertailunäytteiden Y ja X sekä savuisen vertailunäytteen Z vertailu keskenään ja niistä tunnistetut yhdisteet .....	40
KUVAAJA 14. Savuttomien vertailunäytteiden Y ja X sekä savuisen vertailunäytteen Z vertailu keskenään ja niistä tunnistetut yhdisteet pl. furfural .....	41

## KUVAT

KUVA 1. Vanha meijerirakennus .....	2
KUVA 2. Meijerin tiloissa olevat vanhat tislaimet, jotka olivat käytössä vuosina 2016–2019. ....	3
KUVA 3. Karkea- ja raakatislaimet uuden tislaamon tiloissa .....	4
KUVA 4. Ruostumattomasta teräksestä valmistettuja käymistankkeja.....	7
KUVA 5. Spirit safe, josta seurataan tislauksen etenemistä mm. värin ja virtaaman osalta. Vasemmalta alkaen omat linjat low wines -, feints- sekä sydäntisleille.....	8
KUVA 6. Analysoidut puristekorkkiampullit näytepaletissa .....	24
KUVA 7. D-tynnyrinäytteiden keskinäinen vaihtelevuus silmämääräisesti.....	26
KUVA 8. Kiintoaines tynnyrinäytteissä .....	26
KUVA 9. Nylon-membraanisuo datin, jossa suodatettu kiintoaines .....	27

## TAULUKOT

TAULUKKO 1. Tutkittavat yhdisteet ja niiden retentioajat.....	30
---	----

## 1 JOHDANTO

Opinnäytetyö tehtiin toimeksiantona suomalaiselle yritykselle, Kyrö Distillery Companylle, eli Rye Rye Oy:lle. Työssä analysoitiin toimeksiantajayrityksen tuotteita, savuttomia ruismallasviskejä sekä leppäsavustettua ruismallasviskiä. Analysointi tehtiin kaasukromatografilla, jossa oli massantunnistin (GC-MS). Viskissä esiintyviä yhdisteitä on useita satoja ja tässä opinnäytetyössä haluttiin selvittää puujohdannaisten yhdisteiden pitoisuuksia eri näytteistä. Näytteisiin kuului valmiita viskituotteita sekä eräkohtaisia tynnyrinäytteitä. Tynnyrinäytteet olivat sekä uusia, että bourbonin valmistuksessa aiemmin käytettyjä Amerikan valkotammitynnyreitä.

Opinnäytetyössä haluttiin selvittää, millä tavoin eri tynnyreissä kypsyneet viskit eroavat kemiallisen koostumuksen osalta toisistaan, olisiko yhdisteiden muodostumiseen mahdollista vaikuttaa kypsymisen aikana ja missä kypsymisen vaiheessa tiettyä yhdistettä alkaa muodostua. Tarkasteltavia yhdisteitä olivat furfuraali, etyylikaproaatti, viskin laktoni ja sen cis- ja trans-muodot, vanilliini, syringiinaldehydi ja sinappialdehydi, joista kaikki paitsi etyylikaproaatti ovat puujohdannaisia yhdisteitä.

Opinnäytetyön vaiheisiin kuului analyttisen työn suorituksen lisäksi kaksi viikon kestoista harjoittelujaksoa Kyrö Distillery Companyn tislaamolla Isossakyrössä. Lisäksi prosessiin kuului kuukausittaiset palaverit toimeksiantajan sekä opinnäytetyöohjaajan kanssa, kirjallisuuskatsaus ja loppuseminaari. Opinnäytetyön teko ajoittui keväälle 2023 ja sen laajuus on 15 op kemiantekniikan insinöörin opinnoista. Merkittävimpiä lähdemateriaalia, jota opinnäytetyössä käytettiin, olivat henkilökohtaiset tiedoksiannot Kyrö Distillery Companyn puolesta kahden harjoitteluviikon aikana, toimeksiantajayrityksen ja opinnäytetyön tekijän välisissä palavereissa luovutettu tieto sekä J. Nikkasen viskiin keskittyvä kirjallisuus. Lisäksi analyttisen työn suorituksessa nojaututtiin vahvasti D. Livermoren väitöskirjaan sekä muihin vastaaviin tutkimuksiin, joita viskin yhdisteistä on tehty kaasukromatografilla.

## 2 KYRÖ DISTILLERY COMPANY

Rye Rye Oy:n eli Kyrö Distillery Companyn tarina alkoi toukokuussa 2012, kun perustajajäsenet Miika Lipiäinen, Miko Heinilä Mikko Koskinen, Jouni Ritola ja Kalle Valkonen saivat idean alkaa tislamaan suomalaista ruismallasviskiä. Tislaamolle etsittiin sopivaa tilaa ja lopulta päätoimipaikaksi valikoitui vanha meijerirakennus vuodelta 1908 Kyröjoen rannalta, Isostakyröstä (KUVA 1). Kyrö Distillery Companyn virallinen kieli on englanti ja sillä on sisaryhtiöitä Saksassa sekä Iso-Britanniassa. (Kyrö Distillery Company 2023b; Nikkanen 2022a; Nikkanen & Honkanen 2013; Valkonen 2023b.)



KUVA 1. Vanha meijerirakennus (Koski Syväri)

Kyrö Distillery Company (KDC) aloitti toiminnan vuonna 2014, jolloin Saksassa mittatilauksena valmistetut tislauspannut saapuivat Isonkyrön meijerin tiloihin. Tällöin ruismallasviskin arvioitu vuosituotanto oli noin 30 000 litraa puhdasta alkoholia (1-EtOH). Viskin kypsytyksessä tehtiin aluksi pääsääntöisesti pienissä 30- ja 60-litraisissa tynnyreissä, joissa kypsyminen käy nopeammin. Ensimmäisen viskitisleen kypsyessä tynnyreissä KDC tislasi giniä. Napue Gin voitti International Wine and Spirit Competition -kilpailun parhaan ginin palkinnon Gin & Tonic -sarjassa vuonna 2015. Suosio vaikutti myös

viskin tuotantoon, sillä koko kapasiteetilla valmistettiin giniä vuoden 2016 elokuuhun asti, jolloin ensimmäinen viskiliinja vanhan meijerin tiloissa saatiin käynnistettyä. Viskitislainten koot olivat 3 m<sup>3</sup> karkeatislaimelle ja 1,5 m<sup>3</sup> raakatislaimelle, mikä mahdollisti 90 000 l-EtOH vuosikapasiteetin (KUVA 2). Vuodesta 2016 alkaen käytettävien tynnyreiden tilavuus on ollut 200 litraa. (Nikkanen & Honkanen 2013; Kyrö Distillery Company 2023b; Kujala 2023; Nikkanen 2022a, 2022b; Valkonen 2023a; 2023b.)



KUVA 2. Meijerin tiloissa olevat vanhat tislaimet, jotka olivat käytössä vuosina 2016–2019.

Vuodesta 2019 alkaen viskiä on tislattu pihan toiselle puolelle sijoituvalla uudella viskitislaamolla. Uuden tislaamon vuosikapasiteetti on 350 000 litraa puhdasta alkoholia aiemman 90 000 litran sijaan, mikä tekee Kyrö Distillery Companysta Suomen suurimman viskitislaamon. Nykyään tislaamolla on kahdeksan 9 m<sup>3</sup>:n suuruista käymistankkia, 9 m<sup>3</sup>:n karkeatislain (low wines -tislain) ja 7 m<sup>3</sup>:n raakatislain (spirit-tislain) (KUVA 3). Tislaamolla käytettävä energia on peräisin lähialueella sijaitsevalta bio-kaasutehtaalta, jossa energiaa tuotetaan jätteitä hyödyntämällä. Prosessin jäähdytysvetenä käytetään jokivettä. (Nikkanen 2022a; Kujala 2023; Kyrö Distillery Company 2023d; Valkonen 2023b.)



KUVA 3. Low wines - ja spirit-tislaimet uuden tislaamon tiloissa (Valkonen & Kujala 2023)

## 2.1 Kyrö-tuotteet

Kyrön tuotteet eivät rajoitu pelkästään ruismallasviskiin, Kyrö Malt Rye Whiskyyn. Viskituotteiden valikoimasta löytyy myös riihikuivattu ruismallasviski, Kyrö Wood Smoke sekä Kyrö Malt Oloroso finish. Wood Smoke on tiettävästi ainoa laatuaan oleva perinteisellä riihisavustustekniikalla valmistettu viski. Riihisavustuksessa kuiva ruis savustetaan lyhteessä riihen sisällä, jossa poltetaan savun sisään päästävää kiuasta tai uunia. Savustus tehdään modernissa riihessä Liperissä joko leppä- tai turvesavulla. Savu johdetaan mallaspatjan läpi erillisessä kylmäsavustimessa. Oloroso finish -viski on viimeistely käytetyssä Oloroso-sherrytynnyrissä. Viimeistely kestää joitain kuukausia ja sen aikana viski saa tynnyriin tarttuneesta viinistä vivahteita niin väriin, makuun kuin hajuunkin. Lisäksi viskituoteperheeseen kuuluu erikoiseriä. Viskien alkoholipitoisuus on 47,2 til-%. (Nikkanen 2022a, 2022b; Kyrö Distillery Company 2023c, 2023d.)

Kaikki KDC:n tuoteperheeseen kuuluvat tuotteet pohjautuvat ruisviskiin. Ginejä on tällä hetkellä kolme: Kyrö Napue Gin, tynnyrissä viimeistelty Kyrö Dark Gin (ent. Koskue) sekä Kyrö Pink Gin. Ginituotteiden alkoholipitoisuus vaihtelee 38,2–46,3 til-%:n välillä. Tuoteperheeseen kuuluu myös mietoja alkoholijuomia. Näitä ovat eri makuiset lonkerot, kuohuvat ja kermalikööri. Lonkeroiden alkoholipitoisuus on 5,0 til-% ja ne on tehty ruisginipohjaan. Kuohuvien alkoholipitoisuus on 5,5–8 til-% ja kermaliköörin 16,0 til-%. Kaikkien alkoholipitoisuuksien virhemarginaali on  $\pm 0,3$  til-%. (Kyrö Distillery Company 2023c, Nikkanen 2022a.)

## 2.2 Ruismallasviski

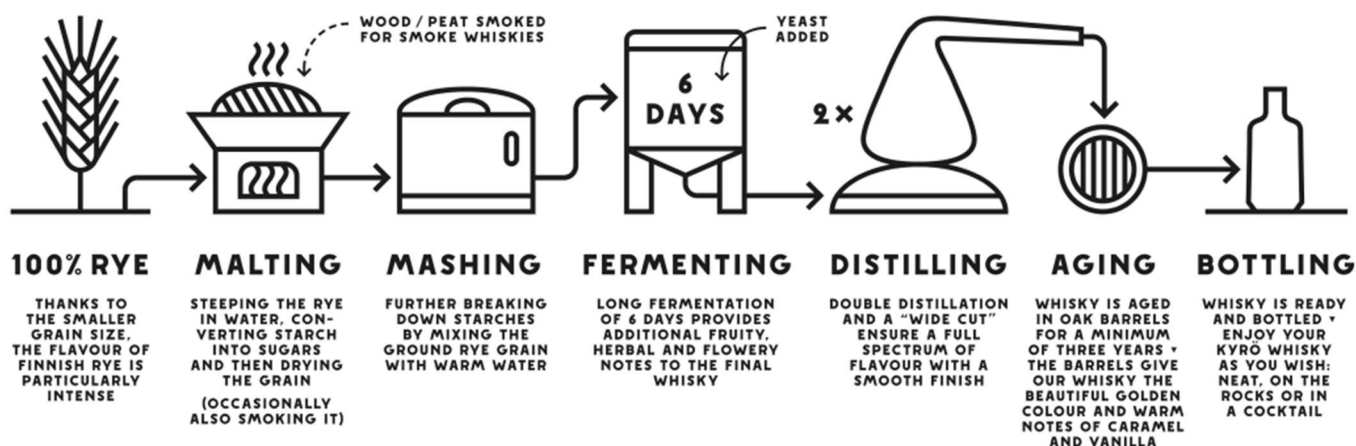
Vuonna 2022 valmistettiin noin 100 000 litraa puhdasta alkoholia, josta 70 % oli mallastettua, 15 % riihisavustettua ja 15 % turvesavustettua ruista. Ruismallasviskin valmistuksessa käytettävät tynnyrit ovat 90-prosenttisesti uutta Amerikan valkotammaa (NAO) ja käytettyjä bourbontynnyreitä (ex-bourbon, EXB). Euroopan metsätammesta tehtyjä tynnyreitä on käytössä jonkin verran, lisäksi käytössä on pieni määrä käytettyjä sherry- ja olorosotynnyreitä. Tynnyrikoko on pääsääntöisesti 200 litraa. Tynnyrien polttoaste on enimmäkseen asteikon puolivälillä, mutta vaihtelee asteikolla 1–4, jolla 1 on kevyesti ja 4 vahvasti poltettu tynnyri. (Nikkanen 2022a, 2022b; Kyrö Distillery Company 2023a.)

KDC:n valmistama Single Malt Rye -viski on maailmalla harvinainen tuote, johon käytetään suomalaista mallastettua ruista. Ruis tislataan suodattamattomana, koska rukiissa ei ole kuoriosaa, jonka avulla ohramäski siivilöidään. Suodattaminen mäskäysvaiheessa jätetään kokonaan tekemättä ja mäskäysastian sisältö kokonaisuudessaan pumpataan käymistankkeihin. Vastaavia mallasrukiista tislattuja viskejä on maailmalla vain muutamia. Mäskin käymisaika on 6–7 päivää ja se tapahtuu korkeintaan 27 °C:n lämpötilassa (Kujala 2023). Kylmäkäyminen tuo mäskiin runsaampaa makua ja tasalaatuisuutta vuoden ympäri. Mäskiä ei kuitenkaan käytetä isotermisessä tilassa, vaan sen maksimilämpötilaa rajoitetaan. Tällä pyritään hallitsemaan maitohappokäymistä. (Nikkanen 2022a, 2022b; Valkonen 2023b.)

## 2.3 Viskiprosessi ”The Kyrö Way”

Kyröllä ruismallasviskin valmistusprosessi (KUVIO 1) alkaa mallastettujen ruisjyvien jauhamisesta. Mallastus tehdään Viking Maltin toimesta Lahdessa. Savuviskeissä käytettävät maltaat savustetaan Li-

perin myllyssä leppä- tai turvesavulla. Raaka-aineen, eli rukiin, tärkein ominaisuus viskin valmistuksessa on sen sisältämät  $\alpha$ - ja  $\beta$ -amylaasit, jotka vaikuttavat rukiin sokeroitumiseen. Tislaus on monivaiheinen panosprosessi, joka tehdään neljästi viikossa. Kun maltaat on jauhettu, ne pumpataan sekoitussäiliöön. Mäskäyksessä käytetään noin 2 500 kg ruismallasta, joka sekoitetaan veteen, jonka lämpötila on alle 64 °C. Ennen siirtoa käymisastiaan mäskiä pidetään sekoitussäiliössä tunnin ajan. (Kujala 2023; Kyrö Distillery Company 2023d.)



KUVIO 1. Kyrö Distillery Companyn viskiprosessi (Valkonen 2022)

Vierre siirretään sekoitussäiliöstä käymistankkiin, joita tislaamossa on kahdeksan kappaletta (KUVA 4). Yhden käymistankin panoskoko on 9 000 l. Mäskin tilavuus huomioon ottaen käymistankkiin jää tilaa hiivakäymisen aiheuttamalle kuohumiselle. Vierre hiivataan käymistankissa, jonka jälkeen sitä kutsutaan rankiksi. Hiiva lisätään sekoitettuna veteen, jonka lämpötila on 32–34 °C. Rankin fermentaatio kestää 6 vuorokautta, joista ensimmäisen kolmen vuorokauden aikana tapahtuu hiivakäyminen ja seuraavien kolmen vuorokauden aikana maitohappokäyminen. Käymistankkia kiertää vesivaippa, jossa prosessin jäähdytysvetenä käytettävä jokivesi jäähdyttää mäskin lämpötilan 27 °C:seen. Fermentaation loppuvaiheessa lämpötila laskee hieman ja valmiin rankin alkoholipitoisuus on noin 10 til-% ennen ensimmäistä tislausta. (Kyrö Distillery Company 2023d.)



KUVA 4. Ruostumattomasta teräksestä valmistettuja käymistankkeja

Ensimmäistä tislausta KDC:lla kutsutaan low wines -tislaukseksi. Tislaus tehdään suuremmissa, 9 m<sup>3</sup>:n kokoisissa low wines -tislaimissa. Tislaus aloitetaan pumppaamalla rankki sellaisenaan tisluspannuun. Neste lämmitetään lämmönvaihtimessa ja tislaimessa on sekoitin, joka estää kiintoaineksen kiinnipalamisen tisluspannun sisällä. Low wines -tislaus kestää noin 7 tuntia. Kahden tunnin kuluttua tislauksen aloituksesta spirit safesta (KUVA 5) pitäisi tulla ensimmäiset tipat. Virtaus on aluksi sameaa, mutta kirkastuu alkoholipitoisuuden saavuttaessa noin 52 til-%. Tislausta jatketaan niin kauan, kunnes sen alkoholipitoisuus on enää 2,5 til-%, joka mitataan tiheyseroihin perustuvalla mittauslaitteella, hydrometrillä. Ensimmäisen tislauksen tuote on nimeltään low wines, jota kerätään samannimiiseen säiliöön korkeintaan 3 300 l. Loput pannun rankkisisällöstä (pot ale) kerätään erilliseen pot ale -säiliöön. Rankkiin lisätään AIV-happoa ja se käytetään hyödyksi karjataloilla rehuna. Prosessin sivuvirran hyötykäyttämisen mahdollistaa se, että KDC on virallinen rehuntuottaja. (Kyrö Distillery Company 2023d.)



KUVA 5. Spirit safe, josta seurataan tislauksen etenemistä mm. värin ja virtaaman osalta. Vasemmalta alkaen omat linjat low wines -, feints- sekä sydäntisleille

Toista tislausta kutsutaan spirit-tislaukseksi. Tislaimeen pumpataan low wines -säiliön ja edellisen spirit-tislauksen yhteydessä talteen kerätyt pää- ja häntätisleet (feints). Spirit-tislaus kestää kuudesta seitsemään tuntia ja se tehdään pienemmässä, 7 m<sup>3</sup>:n kokoisessa tisluspannussa. Ensimmäiset tipat spirit safen keskimmäisestä linjasta tulevat noin puolen tunnin kuluttua tislauksen aloituksesta. Ensimmäistä tislettä kutsutaan päätisleeksi, joka kerätään feints-säiliöön. Päätisleen jälkeen, noin puolen tunnin kuluttua, tisleen alkoholipitoisuus notkahtaa hieman (73 til-%:iin) ja maku muuttuu hieman happamaksi. Kun hapokkuus on kadonnut ja alkoholipitoisuus noin 75 til-%, tehdään leikkaus. Leikkauspisteen jälkeen tislettä kutsutaan sydäntisleeksi ja se kerätään sille tarkoitettuun omaan säiliöönsä. Sydäntisle on valmista tynnyritäväksi. Sydäntisleen tulo spirit safen oikeanpuoleisesta linjasta kestää noin kolme tuntia, jonka jälkeen, kun alkoholipitoisuus on laskenut noin 59 til-%:iin, tehdään toinen leikkaus. Kolmas ja viimeinen tisle on nimeltään häntätisle, joka kerätään päätisleen kanssa samaan feints-säiliöön, jonka sisältö tislataan uudestaan seuraavassa spirit-tislauksessa. Spirit-tislausta jatketaan niin kauan, että sen alkoholipitoisuus on enää 0,2 til-%. (Kyrö Distillery Company 2023d.)

Kun sydäntisle tynnyroidään, käytetään pääsääntöisesti joko uusia Amerikan valkotammi- tai ex-bourbon-tynnyreitä. Tisle laimennetaan tynnyrin mukaan 54,5 tai 63,5 til-% vahvaksi nesteeksi. Nesteen

vahvuus kasvaa tynnyrin käyttökertojen lisääntyessä. Tynnyröinnin jälkeen viski on valmis kypsytettäväksi. Kypsytyks kestää yleensä 3–5 vuotta, jonka aikana tynnyreiden pullotuskelpoisuutta arvioidaan organoleptisesti sokkomaisteluilla. Pullotukseen valitut tynnyrit tyhjennetään, suodatetaan ja laimennetaan ennen pullotusta. Tätä vaihetta kutsutaan vatingiksi. Jokaisen pullotuserän tasalaatuisuus varmennetaan sokkomaisteluilla sekä alkoholipitoisuuden mittauksilla. (Kyrö Distillery Company 2023d; Valkonen 2023a.)

## 2.4 Viskissä esiintyvät yhdisteet

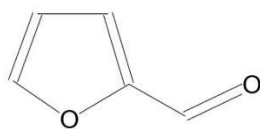
Viskin valmistukseen käytetään viljaa, KDC:n tapauksessa mallastettua ruista, vettä ja hiivaa. Fermentoinnin aikana muodostuvat kaikki sellaiset yhdisteet, jotka voidaan tunnistaa raakatisleestä. Vastavasti sellaiset aromaattiset yhdisteet, joita ei muodostu rankkiin sen käymisaikana, eivät esiinny viskissä sen myöhemmissä prosessivaiheissa. Käymisen ja tislauksen aikana viskiin syntyy tuoreiden hedelmien makuja. Kun viski tislataan, kypsytyksessä syntyneisiin happoihin yhdistyy alkoholi, jonka vuoksi yhdisteistä suurin osa on happojen tai alkoholien johdannaisia, kuten estereitä ja aldehydejä. Lopullisen viskin mausta jopa 80 % syntyy tynnyrikypsytyksen aikana ja kuivahedelmien kaltaiset maut, toisin kuin tuorehedelmäiset maut, ovat peräisin kypsytykseen käytetystä tynnyristä. Tällaisia tynnyristä peräisin olevia aromeja voidaan kutsua esimerkiksi ligniinijohdannaisiksi yhdisteiksi. (MacLean & Nikkanen 2010.)

Viskistä on pystytty tunnistamaan satoja eri yhdisteitä eri tutkimuksissa. Suurin osa viskissä esiintyvistä aromaattisista yhdisteistä on estereitä. (Aylott 2022; Baxter, Daute, Grigor, Jack & Walker 2021; Biernacka & Wardencki 2012; Biernacka, Wardencki & Plutowska 2010; Câmara, Marques, Prestrelo, Rodrigues, Oliveira, Andrade & Caldeira 2006; Demyttenaere, Martinez, Verhé, Sandra & De Kimpe 2003; Dou 2017; Jalo 2022; Livermore 2010; MacNamara & McGuigan 2010; Papaicadomou, Barnes, Vial, Thiébaud, De Saint Jores, Steyer, Contamin & Fernandez 2022; Paterson, Lee, Birkmyre & Piggott 2001; Stack, Fitzgerald, James & MacNamara 2000; Stupak, Goodall, Tomaniova, Pulkra-  
bova, Hajslova 2018.) Savuviskeissä savuisuus määritetään fenolisten yhdisteiden ppb-pitoisuudella ( $\mu\text{g/l}$ ). Tällaisia fenolisia yhdisteitä ovat sellaiset, joissa fenolirakenteeseen on kiinnittynyt jokin kemiallinen funktionaalinen ryhmä, kuten hydroksyyli- eli OH-ryhmä. Fenoliset yhdisteet syntyvät viljan savustusvaiheessa ja voidaan jäljittää ligniiniin, jossa polttoajalla ja lämpötilalla on vaikutus fenoliyhdisteiden pitoisuuteen. Kuumassa lämpötilassa syntyy enemmän ligniinin hajoamistuotteita, kuten

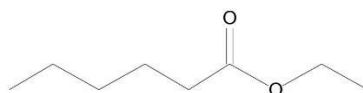
guajakolia, eugenolia, vanilliinia, syringiinaldehydia ja 2-metoksi-4-metyylifenolia. Yhdisteen pitoisuus voi olla todella pieni, vaikka se pystytään aistinvaraisesti tunnistamaan hyvin. Esimerkiksi guajakoli pystytään tunnistamaan viskistä organoleptisesti sen konsentraation ollessa vain 2 µg/l. Erittäin savuisissa viskeissä guajakolin konsentraatio voi olla jopa > 10 mg/l. (Nikkanen 2022b.)

Tynnyrikypsytyksen aikana viskin aromeihin vaikuttavat ilmiöt voidaan jakaa kolmeen kategoriaan: aromeja lisääviin, niitä poistaviin tai niitä luoviin ilmiöihin. Esimerkiksi tammitynnyrin ligniinistä syntyy viskiin väriä, vanilliinia, joka puolestaan edistää hapettumistuotteiden syntyä. Tammen tanniinit poistavat viskistä kumintuoksuisia yhdisteitä edistämällä hapettumistuotteiden syntyä ja liittymällä kitkeriin yhdisteisiin. Tynnyrin sisäpinnan hiilikerros poistaa nesteestä tiettyjä hajuyhdisteitä ja synnyttää siihen savuisia aromeja. Tammen laktonit luovat viskiin sen sisältämästä etanolista esimerkiksi asetaldehydia, jonka aromia kuvaillaan vihreäksi, raa'aksi ja kypsymättömäksi. (Nikkanen 2022b.)

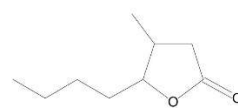
Tässä opinnäytetyössä tunnistetuista yhdisteistä valittiin kiinnostaviksi seuraavat aromit: furfuraali (furfural), etyylikaproaatti (ethyl caproate), viskin laktonit (trans-, cis- ja Whisky lactone), vanilliini (vanillin), syringiinaldehydi (syringaldehyde) sekä sinappialdehydi (sinapinaldehyde). Yhdisteiden kemialliset rakennekuvat ovat nähtävillä Kuviossa 2. Furfuraali, C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>, on ligniinijohdannainen yhdiste, joka muodostuu erityisesti tammitynnyrin hiiltymästä. Furfuraalin organoleptisiä ominaisuuksia hajun ja maun osalta on kuvailtu mantelin, leivotun, leivän, parfyymien, makean ja puun kaltaisiksi.



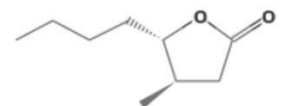
1. Furfural



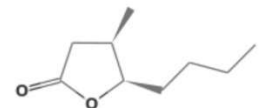
2. Ethyl caproate



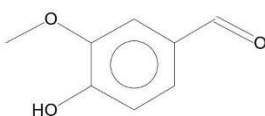
3a. Whisky lactone



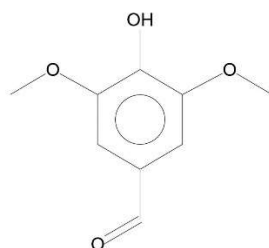
3b. trans-Whisky lactone



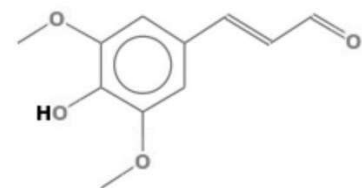
3c. cis-Whisky lactone



4. Vanillin



5. Syringaldehyde



6. Sinapinaldehyde

KUVIO 2. Tutkittavien yhdisteiden kemialliset rakenteet

Ethyl caproate,  $C_8H_{12}O_2$ , on maultaan omenan, aniksen, makean ja hedelmäisen kaltainen yhdiste. Ethyl caproate on heksaanihapon esteri, joka syntyy tislauvaiheessa hapon reagoidessa alkoholin kanssa. Ethyl caproatea esiintyy nimenomaan sydäntisleessä.

Viskin laktonit,  $C_9H_{16}O_2$ , ovat kemialliselta rakenteeltaan samankaltaiset, mutta toistensa stereoisomeerejä. Kuviossa 2 näkyvä yhdiste 3a, Whisky lactone tuo viskin tuoksuun tonkapapua, kumariinia, kookosta, paahteisuutta, pähkinäisyyttä, selleriä sekä palanutta. Maultaan Whisky lactonea kuvaillaan kumariiniseksi, kookoksiseksi, laktooniseksi, puiseksi, vaahteraiseksi ja hieman paahtuneeksi pähkinäisin nyanssein. Cis-Whisky lactonea kuvaillaan mausteiseksi, makeaksi, kookosmaiseksi ja vaniljaiseksi. Trans-Whisky lactonen organoleptiset ominaisuudet tuovat viskiin palaneen, sellerin, kookoksen, kumariinin, pähkinäisiä, paahdettuja ja tonkapavun aromeja. Kaikki laktonit ovat puujohdannaisia yhdisteitä ja tulevat viskiin sen kypsytyksen aikana.

Vanilliini,  $C_8H_8O_3$ , on ligniinijohdannainen, jota muodostuu viskin tynnyrikypsytyksessä. Vanilliinin organoleptisesti havaittavat aromit ovat suklaan, kermaisen, makean ja vaniljan kaltaisia. Syringaldehyde,  $C_9H_{10}O_4$ , on ligniinijohdannainen ja aromiltaan mausteinen, savuisa sekä furfuralin tapaan mantelimainen. Sinapinaldehyde,  $C_{11}H_{12}O_4$ , kuuluu cinnamaldehydien luokkaan, jossa cinnamaldehydeen on kiinnittynyt hydroksiryhmä 4. hiileen ja metoksyryhmät 3. ja 5. hiiliin. Sinapinaldehyde on puujohdannainen fenoli.

Aromit valikoitiin niiden hyvän tunnistettavuuden, esiintyvyyden sekä riittävän pitoisuuden vuoksi. Lisäksi yhdisteiden ominaisuuksissa esiintyi toivottua vaihtelua vertailtavien eri näytteiden välillä. Tunnistetuista yhdisteistä puuttui joitakin viskille tyypillisiä aromeita, joiden odotettiin erottavan vanhalla tisluslaitteistolla tislatus näytteet uudella tisluslaitteistolla tislatus näytteistä sekä savuviskit ei-savuisista viskeistä. Suorainjektointia käytettäessä herkkyys ei kuitenkaan ole optimaalinen yhdisteille, jotka pystytään havaitsemaan aistinvaraisesti pienissäkin pitoisuuksissa, kuten guajakolille.

### 3 VISKIN VALMISTUSPROSESSI YLEISESTI

Viskin valmistuksessa on yleisesti kymmenkunta vaihetta. Mallasviskin prosessin pääkohtiin kuuluvat mallastus, kuivaus, jauhaminen, mäskäys, käyminen, tislauk, tiivistyminen, kypsytyk sekä pullotus. Prosessi on yleinen etenkin Skotlannissa, jossa mallasviski on erittäin suosittua ja sen pääraaka-aine on ohra. Amerikkalaisissa ruisviskeissä raaka-aineena on ruis, jota ei mallasteta. Skotlantilaista mallasviskiä kypsytetään 10–18 vuoden ajan tammitynnyreissä, joita on käytetty aiemmin esimerkiksi bourbonin tai sherryn valmistuksessa, kun taas amerikkalainen ruisviski kypsytetään uusissa tynnyreissä, joiden raaka-aine on Amerikan valkotammi, 2–6 vuoden ajan. Viskiä on Euroopan alueella kypsytettävä kuitenkin vähintään 3 vuotta, jotta siitä saa käyttää nimitystä viski. (Nikkanen 2022a, 2022b; Kujala 2023; Aylott 2022, 335–362.)

#### 3.1 Mallastus ja jauhaminen

Mallastuksessa jyvät kastellaan vedellä upottamalla ne säiliöihin pariiksi päiväksi, jolloin niiden kosteuspiitoisuus nousee ja itämiselle optimaaliset olosuhteet saavutetaan. Jotta itäminen saadaan pysäytettyä, maltaat täytyy kuivata. Kuivaamisvaiheessa päätetään, tuleeko lopullisesta viskituotteesta savunmakuista vai ei, sillä kuivaaminen voidaan suorittaa kuumaa ilmaa, hiiltä, turvetta tai puuta polttoaineena käyttämällä. Ilma- ja hiilikuivauksessa viskin mausta ei tule savuinen, mutta puu- ja turvekuivatut maltaat ovat savuisia. Jauhamisvaiheessa mallastetut jyvät jauhetaan rouheeksi. Rouhe sisältää aina tietyn osuuden verran karkeaa rouhetta, kuorta ja jauhoa. (Nikkanen 2022b.)

#### 3.2 Mäskäys

Mäskäyksessä mallasrouheesta kerätään sokeri talteen mäskäysastioissa, joissa rouheen sekaan lisätään vettä muutamassa erässä. Veden lämpötila on yleensä 60–90 °C. Viljarouheesta oleva tärkkelyk muuntuu sokeriksi ja liukenee veteen, ja tästä makeasta nesteestä käytetään nimitystä vierre. Yleensä vierre siivilöidään pohjan läpi talteen, mutta käytettäessä ruista raaka-aineena ohran sijaan, mäskäysastian pohjalle ei kerry suodattavaa kerrosta jyvien kuorista. Monet ruisviskin valmistajat suodattavat mäskin saadakseen vierteestä erittäin kirkasta. (Nikkanen 2022b.)

### 3.3 Käyminen

Käymistankeissa tapahtuu prosessin seuraava vaihe, käyminen. Tankkeihin lisätään jäädytetyn vierteen sekaan hiiva, joka sokeria syömällä muodostaa muun muassa alkoholeja (etanoli), hiilidioksidia (CO<sub>2</sub>) ja muita aromaattisia yhdisteitä. Vierrettä, johon on lisätty hiiva, kutsutaan rankiksi. Tärkein muodostuva alkoholi on etanoli, mutta myös metanolia ja sikunaöljyjä syntyy. Fermentaatio loppuu, kun kaikki sokeri on muuttunut alkoholiksi. Aromaattiset yhdisteet antavat makua rankille. Jotkin aromaattiset yhdisteet ovat johdannaisia suoraan raaka-aineesta ja jotkin syntyvät käymisprosessissa, kuten esterit. (Nikkanen 2022b; Wine & Spirit Education Trust 2017.)

Käymisaika vaihtelee laajalti eri tislaamoiden välillä, yleensä 2 ja 5 vuorokauden välillä. Käymisvaiheen jälkeen nesteen alkoholipitoisuus on normaalisti noin 8–10 tilavuusprosenttia (til-%). Pidempi käymisaika aktivoi maitohapot, joiden käymistä joskus halutaan välttää, mutta se myös tuo rankkiin ja raakatisleeseen hedemäistä makua. Myös eri hiivoja käyttämällä saadaan erilaisia aromaattisia yhdisteitä viskiin. Jos käymisvaiheen jälkeen rankissa ei esiinny tiettyä aromaattista yhdistettä, sitä ei esiinny raakatisleessäkään. (Nikkanen 2022b; Wine & Spirit Education Trust 2017; Baxter ym. 2021.)

### 3.4 Tislaus yleisesti

Tislauksessa alkupään tuotteen alkoholipitoisuus on verrattain matala, noin 10 til-%. Skotlannissa viski tislataan yleisesti kaksi kertaa ja tislaus tapahtuu pannutislaimissa. Pannutislaimissa panoksena tislattut viskit sisältävät enemmän aromaattisia yhdisteitä kuin jatkuvassa tislauksessa tislattut viskit (Aylott 2022, 335–362). Amerikkalainen viski tislataan kolonnitislaimella, jonka läpi rankki tislataan yhden kerran. (Nikkanen 2022b; Wine & Spirit Education Trust 2017.)

Tislaus perustuu seoksessa esiintyvien aineiden eri kiehumispisteisiin. Rankin edetessä tislaimen sitä lämmitetään kiehumiseen saakka, jolloin siitä höyrystyy matalamman kiehumispisteen omaava nestefaasi, tässä tapauksessa etanoli, jonka kiehumispiste on 78,3 °C. Kiehumisessa syntyvät höyryt kerätään talteen, ja ne kondensoituvat takaisin nesteeksi. Tämän liuoksen alkoholipitoisuus on nyt suurempi kuin alkuperäisen liuoksen, eli se väkevöityy. Suurimman väkevöitymisen tislausvaiheessa kokee etanoli, jonka vahvuus yhden tislauksen jälkeen on noin 20–24 til-%. (Nikkanen 2022b; Wine & Spirit Education Trust 2017.)

Ensimmäinen tislaukset suoritetaan kuparipannussa, jota voidaan suomeksi nimittää karkeatistilaimeksi (wash still). Tästä kerran tislatus rankista käytetään nimitystä karkeatistile (low wines). Toinen tislaukset toteutetaan kuparisella raakatilaimella (spirit still) ja siitä syntyvää tuotetta kutsutaan raakatilaleeksi, sillä se on valmista tynnyrikypsyttäväksi. Tislaimet ovat usein kuparisia, sillä kupari on materiaalina helppo muotoilla ja sillä on hyvä lämmönjohtokyky. Lisäksi kupari toimii katalyyttisena pohjaan ei-toivottujen rikkiyhdisteiden pelkistämiseen ja niiden poistamiseen tisleestä (Valkonen, 2023b.) Tislaukset käsittää monia tislaamokohtaisia muuttujia, kuten tisleen leikkauskohdat, tislaimen täyttöasteen, tislauksen nopeuden ja tislaimen muodon. Tislaimesta tulevia tuotteita, leikkauksia, kutsutaan päiksi, sydämiksi ja hänniksi. Päät ja hännät kerätään talteen, ja ne sekoitetaan seuraavaan tislaukspanokseen. Päiden ja häntien välissä syntyy paras osa, sydämet, jotka otetaan talteen. Sydämien alkoholipitoisuus ja leikkuupisteet vaihtelevat tislaamo- ja tuotekohtaisesti. (Nikkanen 2022b; Wine & Spirit Education Trust 2017.)

Tislauksen toinen osa viskiprosessissa on kondensoituminen. Kondensoitumisessa alkoholihöyryt tiivistyvät takaisin nestemäiseen muotoon. Tislaukspannun yläosassa on alkoholihöyryyn poisjohtava nokka, josta käytetään nimitystä lyne arm. Lyne arm yhdistää tislaukspannun joutsenkaulaisen kuristusosan kondensaattoriin. Tämän nokan kulma vaikuttaa syntyvän tisleen makuun seuraavasti: jos kulma on alaspäin, kondenssi valuu tislaimesta pois ja tisleestä saadaan raskaampaa, ja jos kulma on ylöspäin, osa tiivistyvistä höyryistä valuu takaisin tislaimen ja syntyvä tisle on kevyempää. Pääsääntöisesti tiivistyminen tapahtuu kondensaattorissa, joka voi olla putkimallinen tai perinteinen kierukkakondensaattori. (Nikkanen 2022b.)

### 3.4.1 Ensimmäinen tislaukset: low wines- eli karkeatistile

Ensimmäisen tislauksen tavoite on poistaa jonkin verran vettä rankista. Neste, joka virtaa ulos kondensaattorista, kerätään useiden tuntien ajan, kunnes sen alkoholipitoisuus tilavuuden suhteen on noin 1 til-%. Tässä vaiheessa kerättyä tislettä kutsutaan karkeatistileeksi, ja vesipitoinen liuos, joka tällöin on vielä tislaimen sisällä, heitetään pois. Aiemmin kuvailtu tislaimen periaate oli yksinkertaistettu tilanne, jossa neste sisälsi vain vettä ja etanolia. Todellisuudessa rankki sisältää useita satoja yksittäisiä jakeita, joista jokaisella on oma kiehumispisteensä. Niihin ei kuitenkaan tarvitse kiinnittää kovin paljoa huomiota, sillä kun alkoholipitoisuudeltaan 10-prosenttista alkoholiliuosta keitetään, ylösnousevien höyryjen alkoholipitoisuus on noin 50 til-%. (Wine & Spirit Education Trust 2017, 10.)

Koska hyvin suuri osa käymisteitse muodostuneesta alkoholista ja tisleen ominaishajun ja -maun antavista tunnistettavista aromeista on edelleen tislauspannussa, tislausta täytyy jatkaa useita tunteja, jotta saadaan kerättyä haluttu määrä etanolia ja toivottuja aromaattisia yhdisteitä. Näiden tuntien aikana tislaimessa oleva alkoholipitoisuus laskee jatkuvasti, samoin kuin kondensaattorista ulos virtaavan nesteen. Kaiken alkoholin ja haluttujen aromaattisten yhdisteiden keräämiseksi, ensimmäisen tislauksen aikana on kerättävä myös huomattava määrä vettä, jonka vuoksi karkeatisleen alkoholipitoisuus on vain 25–30 til-%. (Wine & Spirit Education Trust 2017, 10.)

### 3.4.2 Toinen tislaus: pää-, sydän- ja häntätisleet

Tislaaminen tislauspannussa on panos-reaktoriprosessi. Rankki tulee tislata ainakin kahdesti, jotta saadaan valmistettua alkoholia. Toisen tislauksen tavoitteena on valmistaa neste, jonka voi laittaa lopulta myyntiin. Tätä varten valitaan ja väkevöidään sekä etanoli että aromaattiset yhdisteet, joiden kiehumispiste on lähellä etanolin kiehumispistettä. Valinta sen välillä, mitä suositaan ja mitä karsitaan, riippuu tislaajan henkilökohtaisista mieltymyksistä sekä siitä, minkä tyyppistä alkoholia valmistetaan. (Wine & Spirit Education Trust 2017.)

Tislattavassa liuoksessa on edelleen satoja yksittäisiä jakeita, mutta yksinkertaistamisen vuoksi nämä jakeet voidaan jakaa neljään ryhmään: aromaattisiin yhdisteisiin, joiden kiehumispiste on matalampi kuin etanolin, etanoliin ja aromaattisiin yhdisteisiin, joilla on etanolin kaltainen kiehumispiste, aromaattisiin yhdisteisiin, joilla on korkeampi kiehumispiste kuin etanolilla sekä veteen. Tislauksen sama peruseriaate pätee edelleen ja yhdisteet, joilla on suurin haihtuvuus liuoksessa, konsentroituvat höyryihin ensimmäisenä. Tämä tarkoittaa sitä, että näiden liuotinmaisten hajuisten yhdisteiden konsentraatio kondensaattorista ensimmäisenä tulevassa nesteessä on suurin. (Wine & Spirit Education Trust 2017, 10.)

Tästä jakeesta tai tisleen leikkauksesta käytetään nimitystä päät, ja ne kerätään erikseen. Tällaisten aromaattisten yhdisteiden määrä tislauspannussa laskee todella nopeasti, ja kun liuotinmaisia aromeja ei enää havaita, tislaaja voi alkaa keräämään etanolia ja aromaattisia yhdisteitä, joilla on samankaltainen kiehumispiste, sydämiä. Nämä ovat yhdisteitä, jotka antavat alkoholille sen ominaisen luonteen. Tislauspannussa tislaaminen ei kuitenkaan erota näitä yhdisteitä tarkasti ja suuri määrä väkevöidään etanolin kanssa. Tämän vuoksi pannussa tislatuilla alkoholeilla on keskimääräinen tai sitä hieman suurempi aromi-intensiteetti. Sydämet kerätään erikseen päistä ja niistä tulee lopulta myytävä tuote. Kun

sydämet on kerätty, säiliön sisältämän nesteen alkoholipitoisuus on tyypillisesti noin 70 til-%. (Wine & Spirit Education Trust 2017, 11; Nikkanen 2022b.)

Muutaman tunnin kuluttua etanolin ja yhdisteiden, jotka jakavat sen kiehumispisteen, määrä tislauksessa on laskenut tarpeeksi, jotta voidaan alkaa tislaamaan aromaattisia yhdisteitä, joilla on etanolia korkeampi kiehumispiste. Näillä yhdisteillä on muovinen aromi, ja leikkuusta, jossa niitä alkaa esiintyä, käytetään nimitystä hännät. Hännät kerätään samaan säiliöön päiden kanssa. Päät ja hännät ovat jakeita, joita tislaaja ei halua, mutta jotka kuitenkin sisältävät vielä paljon etanolia ja haluttuja aromaattisia yhdisteitä. Jotta voidaan varmistua siitä, että etanolia ja haluttuja aromaattisia yhdisteitä ei kadoteta, päät ja hännät lisätään seuraavaan karkeatisle-erään. Tisleen tarkat leikkauskohdat määritetään tislauksen aikana maistelemalla ja tislauksen katsotaan olevan valmis silloin, kun kondensaattorilta tulevan tisleen alkoholipitoisuus on noin 1 til-%. Vesipitoinen liuos tislaimessa heitetään pois. Raakatisle on nyt valmis seuraavaan prosessivaiheeseen, kypsytykseen. (Wine & Spirit Education Trust 2017, 11.)

### 3.4.3 Leikkuupisteet toisessa tislauksessa

Skotlannissa viski tislataan lähes poikkeuksetta kaksi kertaa. Ensimmäisessä tislauksessa rankista, jonka alkoholipitoisuus on noin 8 til-%, saadaan alkoholia, jonka vastaava pitoisuus on noin 20 til-%. Tämä väkevämpi alkoholi tislataan vielä uudelleen. Toisen tislauksen alussa ensimmäisenä höyrystyvät keveimmät ja väkevimmät alkoholit, jotka sisältävät myrkyllistä metanolia. Alkupään tisle on makuprofiililtaan hyökkäävää ja se on täynnä epäpuhtauksia, eikä sitä haluta mukaan viskiin. Höyrystymisen alkamisesta kuluu noin 20 minuuttia ennen kuin myrkylliset yhdisteet ovat höyrystyneet. Tislauksen aikana tislaaja havainnoi tätä hetkeä paitsi kellosta arvioimalla, myös hydrometrillä, jolla mitataan ominaistiheyttä, sekä aistinvaraisesti. Jos tislettä sekoitetaan veteen, voidaan todeta, että tisleessä oli metanolia, jos liuos samenee. (Nikkanen 2015.)

Kun ensimmäinen leikkuupiste määritetään edellä mainituin mekanismein, tislettä aletaan kerätä talteen. Käytännössä säiliö vaihdetaan tässä vaiheessa venttiilejä kääntäen, sillä alkupään tisle kerätään uudelleen tislattavien säiliöön. Yläleikkuupisteen alkoholipitoisuus vaihtelee tislaamokohtaisesti, mutta yleisesti se on noin 70 til-%. Yläleikkuupisteen jälkeen tislettä kerätään keräystankkiin useiden tuntien ajan. Aika määräytyy tislauksennun muodon, koon ja lämpötilan mukaan, jotka kaikki vaikuttavat myös tisleen ominaismakuprofiiliin. Lyhyillä kauloilla varustetuissa matalissa tislauksennuissa

tisle sisältää enemmän partikkeleita, mutta myös raskaampia partikkeleita. Tämä vaikuttaa makuun tehden siitä täyteläisemmän. Pannuja on olemassa myös supistusosilla, jotka vaikuttavat höyrystymiseen ja siihen, miten fluidit pannun sisällä liikehtivät. (Nikkanen 2015.)

Tislaus etenee lopulta alaleikkuupisteeseen, joka on määritelty tislaamon omia tarpeita ja aromiprofiilia vastaavaan paikkaan. Yleensä alaleikkuupiste sijaitsee sillä välillä, kun tisleen alkoholipitoisuus on 60–65 til-%. Jos alaleikkuupiste on määritetty myöhäiseen vaiheeseen, saadaan tisleestä laaja aromikirjo ja raskaita, esimerkiksi turvesavupartikkeleita, aromeja tisleeseen. Siten leikkuupisteet eivät ole ainoastaan tislaamo- vaan myös tuotekohtaisia. (Nikkanen 2015.)

### 3.5 Tynnyrikypsytytys

Seuraava viskinvalmistuksen prosessivaihe on raakatisleen tynnyrikypsytytys. Tynnyrikypsytyksen aikana viskille muodostuu 60–80 prosenttia sen lopullisesta mausta ja väristä. Lähes poikkeuksetta viskejä kypsytetään tammitynnyreissä useiden vuosien ajan. Euroopassa tätä tynnyrikypsytyksiaikaa säädelään laein ja sen tulee täyttää kestoaltaan vähintään 3 vuotta. Lisäksi tynnyrin tulee olla tammea ja tilavuudeltaan korkeintaan 700 litraa. (Kujala 2023; Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus 17.4.2019/787; Wine & Spirit Education Trust 2017; Nikkanen 2022b.)

Raakatisle tynnyroidään joskus 63,5 til-% vahvuisena alkoholina, mikä tarkoittaa sitä, että raakatislettä laimennetaan vedellä ennen tynnyriin laittoja. Raakatisleen voi tynnyroidä myös sellaisenaan, jolloin sen alkoholipitoisuus vaihtelee hieman erien välillä. Laimentamalla raakatisle alkoholipitoisuudeltaan karkeasti 70-prosenttisesta 63,5-prosenttiseksi, saavutetaan kypsymiselle optimaalinen tasapaino, ja kypsyminen käynnistyy parhaiten tällä alkoholivahvuudella. Alkoholien käyttäytymistä tynnyrissä ei voi kuitenkaan koskaan tarkalleen tietää ja parhaimmillaankin voidaan esittää vain hyviä arvioita kypsymisen etenemisestä. (Nikkanen 2022b.)

Tynnyrin ja tisleen välillä on kolmenlaista kemiallista vuorovaikutusta: poistavaa, lisäävää ja uusien ainesosien muodostumista. Poistavalla vuorovaikutuksella tarkoitetaan tammen kykyä imeä itseensä yhdisteitä, joita ei haluta lopulliseen viskiin, kuten rikkiyhdisteitä. Lisäävällä vuorovaikutuksella tarkoitetaan tynnyrissä jo aiemmin olleita yhdisteitä, jotka voivat olla saaneet alkunsa joko tammilajista tai, käytetyn tynnyrin tapauksessa, tynnyrissä aiemmin olleen alkoholin jäämistä. Uusien ainesosien muodostumisella viitataan tapahtumaan, jossa tisleen ja tynnyrin yhteisvaikutuksesta muodostuu täysin

uusia kemiallisia yhdisteitä. Jotta uusia yhdisteitä voi syntyä, kypsytykseltä vaaditaan aikaa ja kestoja, ja siihen vaikuttavat haihtuminen, tynnyrin koko, käytetty tammilajike, käytetyssä tynnyrissä aiemmin ollut alkoholi, tynnyrin täyttökerrat sekä kypsytysaika. (Nikkanen 2022b.)

### 3.5.1 Haihtuminen tynnyrikypsytyksen aikana

Tynnyrit ovat nestetiiviitä, mutta eivät ilmatiiviitä eli hermeettisiä. Kypsymisen aikana tynnyristä haihtuu sekä nestettä että alkoholia, ja vanhoissa tynnyreissä onkin huomattavasti vähemmän viskiä jäljellä pullotustilanteessa kuin tynnyröitäessä. Haihtuminen voidaan rinnastaa hävikkiin, ja sen vuoksi kypsytystä ei voida jatkaa loputtomiin. Hävikin lisäksi kypsytysaikaa rajoittaa se tekijä, että alkoholipitoisuus vähenee haihtumisen myötä, sillä viskin alkoholipitoisuus tulee olla vähintään 40 til-% (Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus 17.4.2019/787). Haihtuminen vaikuttaa osaltaan tynnyrin ja tisleen väliseen vuorovaikutukseen, kuten käytettävän tynnyrin kokokin. Skotlannissa tämä enkelten osuudeksi nimitetty ilmiö on noin kaksi prosenttia vuosittain, mutta arvo on riippuvainen varastokohtaisesta mikroilmastosta, kuten lämpötilasta ja ilmankosteudesta. Lämpimässä ja kosteassa ilmastossa vuosittaisen haihtumisen osuus voi olla jopa 10 %. Pienessä tynnyrissä vuorovaikutus on nopeampaa kuin suuressa. Pienessä tynnyrissä vuorovaikutus voi olla liiankin nopeaa, ja sisällä oleva alkoholi saattaa ehtiä muuttua puisevan, eli kuivakkaan ja voimakkaan tanniinisen, makuiseksi. (Nikkanen 2022b, 2015.)

### 3.5.2 Tynnyrin ominaisuuksien merkitys

Vaikka viskin kypsytyksen tulee tapahtua tammitynnyrissä, tammessa on useita eri lajikkeita, jotka vaikuttavat tynnyristä uutuviin aromeihin kukin eri tavalla. Amerikkalainen valkotammi, *Quercus alba*, antaa viskille mm. vaniljaisia ja hunajaisia aromeja ja makuja. Bourbonin kypsyttämiseen käytetyt tynnyrit on valmistettu Amerikan valkotammesta ja poltettu voimakkaasti sisäpuolelta. Sisäpuoli poltetaan, koska hiili auttaa absorboimaan ei-toivottuja yhdisteitä ja synnyttää savuisia aromeja. Eurooppalainen metsätammi, *Quercus robur*, on valkotammea huokoisempi ja antaa viskille nopeammin väriä ja makua. Metsätammesta uuttuvat maut ovat mausteisia ja tanniinisia, eikä tynnyreitä tarvitse polttaa kovin voimakkaasti sisältä. (Nikkanen 2022b.)

Mikäli kypsytyksessä käytetään käytettyä tynnyriä, yleensä tynnyri on ollut bourbon- tai sherrytynnyri. Bourbontynnyrit on valmistettu Amerikan valkotammesta, ja käytetty tynnyri antaa kypsylvälle viskille mm. vaniljaista hunajaisuutta, hedelmäisyyttä ja toffeen aromeja. Sherrytynnyrit voivat olla tehty kummasta tahansa edellä mainitusta tammilajikkeesta, ja tynnyri antaa viskille mm. mausteista leveyttä, kypsää hedelmäisyyttä ja pähkinäistä paahteisuutta. Jos kypsytyksessä käytetään uutta tynnyriä, nuoreen viskiin saadaan tammesta irtoavaa makua ja aromia runsain määrin. Täysiaikaiseen kypsyttämiseen uusia tynnyreitä harvemmin käytetään. (Nikkanen 2022b.)

### 3.5.3 Tynnyrin täyttökerrat ja kypsytysaika

Vaikka EU on määrännyt viskin vähimmäiskypsytyksen kestoksi kolme vuotta, tynnyriä saa vaihtaa tuon ajan sisällä. Tynnyreitä käytetään tislamoilla useampaan kertaan, ja jokainen täyttökerta vähentää tynnyristä irtoavien aromien määrää. Tynnyrin ja tisleen välinen vuorovaikutus on kaikkein aktiivisinta silloin, kun tynnyri on vasta saapunut tislaamon käyttöön. Tynnyri täytetään raakatisleellä ja siihen lienneet sherryn tai bourbonin jäännökset irtoavat raakatisleeseen kaikkein vahvimmin ensimmäisen täyttökerran aikana. (Nikkanen 2022b.)

Tällaisella aktiivisella tynnyrillä saa luotua viskiin lyhyelläkin kypsytysajalla runsaasti makua, väriä ja aromia. Kun kerran käytetty tynnyri tyhjennetään pullotukseen, sen seuraavasta täyttökerrasta käytetään nimitystä toinen täyttö tai uudelleentäyttö. Tynnyrin aktiivisuus on uudelleentäytössä matalampi, mikä mahdollistaa pidemmät kypsytysajat ilman, että tynnyrin sisällä oleva alkoholi muuttuu puisevan makuiseksi. (Nikkanen 2022b.)

Kypsytysaika on merkittävä tekijä viskin maulle. On olemassa riski, että viski on ollut liian pitkän aikaa liian aktiivisessa tynnyrissä, ja tynnyrin viskille tuoma maku on enemmän kuin 60–80 %:a, jolloin viskin mausta liian suuri osa on lähtöisin tynnyristä ja sen sanotaan alkavan maistua puulta. Jos kypsylvän viskin aromiprofiilia halutaan viedä johonkin suuntaan, se voidaan siirtää tynnyristä toiseen. Tynnyriviimeistelyllä tarkoitetaan sitä, että viski kypsytetään ensin bourbontynnyrissä, jonka jälkeen se siirretään jälkikypsyttäväksi täysin toisenlaiseen tynnyriin, kuten uuteen tammi -, Calvados- tai Madeiratynnyriin. Tynnyriviimeistelyn kesto on muutamasta kuukaudesta pariin vuoteen. Tynnyrikypsytyksen etenemistä ei voida tarkkaan tietää ilman laadunvalvontaa ja -seurantaa. Vaikka vierekkäisissä, identtisissä tynnyreissä olisi saman tislauerän tislettä, aromiprofiileissa voi olla suuriakin eroja. (Nikkanen 2022b.)

### 3.6 Valmiin viskin pullotus

Kun viski on kypsynyt halutun verran, se pullotetaan. Lain mukaan viskin tulee olla vähintään 40 til-% vahvuista. Tynnyrivahvuus on yleensä huomattavasti korkeampi, noin 60 til-%. Jotta viskin alkoholipitoisuus saadaan halutuksi, viski laimennetaan pullotusvaiheessa lisäämällä vettä. Yleensä viskit ovat alkoholipitoisuudeltaan 40–46 til-%. Pullotettava viskierä voidaan koostaa vatingilla, jossa erään valitaan sopivat tynnyrit organoleptisesti arvioimalla. Vatingiin valitut tynnyrit ovat peräisin yhdeltä, keskenään samalta, tislaamolta. Muita viskityyppejä ovat sekoite- ja single cask, joista ensimmäiseksi mainittu tarkoittaa yleensä useamman eri tislaamon viskien vating-erää. Single cask tarkoittaa puolestaan sitä, että pullotuserän viski on peräisin vain yhdestä tynnyristä. (Nikkanen 2022b; Whiskipedia 2021.)

Pullotusprosessin loppuvaiheessa viskille voidaan tehdä kylmäsuodatus. Pullotettavan viskin lämpötila lasketaan noin nolla-asteiseksi ja suodatus tehdään hienorakenteisten suodattimien läpi. Kylmäsuodattamalla viskistä saadaan kirkasta eikä ennen suodattamista mukana olleet nestemäiset luonnolliset öljyt ja esterit pääse kiinteytymään, jos tuotteen lämpötilaa lasketaan merkittävästi. Tällöin viski muuttuisi sameaksi. (Nikkanen 2022b.)

## 4 ANALYYTTINEN OSA

Tässä opinnäytetyössä analysoidaan valmiiden viskituotteiden kemiallista sisältöä. Kiinnostuksen kohteita ovat erityisesti tynnyrikypsytyksen aikana viskiin uuttuvat aromaattiset yhdisteet, jotka on mahdollista havaita myös organoleptisessä arvioinnissa. Tarkasteltaviksi yhdisteiksi valittiin furfuraali, etyylikaproaatti, viskin laktoni ja sen cis- ja trans-muodot, vanilliini, syringiinaldehydi ja sinappialdehydi. Analyysit tehtiin Centria-ammattikorkeakoulun Kokkolan kampuksella Centrian tutkimus, kehitys ja palvelut -yksikön kemian ja biotalouden tiimin biomateriaalilaboratoriosta löytyvillä laitteilla, joita olivat kaasukromatografi (GC, Agilent 7890A) massantunnistimella (MS, Agilent 5975C) sekä siihen liitetty tietokone ohjelmistoinen.

Näytteet analyysieihin toimitettiin toimeksiantajayritykseltä ja ne olivat pullotuksessa jokaisesta erästä kontrollipulloksi sivuun otettuja näytteitä sekä tynnyrinäytteitä. Näytetilavuus oli 100 ml ja lasiset näyttepullot oli suljettu kierrekorkein ja sinetöity kutistemuovikapsyylein lukuun ottamatta vertailunäytettä 5-2214-Y, jonka lasipullon tilavuus oli 500 ml ja se oli suljettu korkkiaineesta valmistetulla sienemuotoisella korkilla sekä kapsyyllilla. Tynnyrinäytteet on otettu silloisen pullotuserän vattungiin valikoiduista tynnyreistä. Tynnyrinäyte kerätään 100 ml lasipulloon vahvalla alkoholilla steriloidulla näytteenottoon tarkoitettulla letkulla.

Pullotuserien kontrollinäytteet olivat 5-2214-A, 5-2214-B, 5-2214-C ja 5-2214-D. Erät ajoittuivat viskin valmistuksen eri vuosille, 2016–2022. Kustakin pullotuserästä, pois lukien 5-2214-A, oli saatavilla myös tynnyrinäytteet. Tynnyrinäytteet numeroitiin kunkin pullotuserän kirjaimen mukaan, B-1–B41, C-1–C-18 ja D-1–D18. Näiden lisäksi oli kolme vertailunäytettä, 5-2214-Y, 5-2214-X sekä 5-2214-Z. Vertailunäyte Y edusti Kyrö Maltia, X New Kyrö Maltia ja Z Kyrö Wood Smokea. Näytteiden kokonaismäärä oli 84 kpl. Laboratoriotyön suorittamiseen varattu aika ajoittui helmi-maaliskuulle 2023. Laboratoriotyöt kattoivat yhteensä 7 viikkoa.

### 4.1 Työn tarkoitus

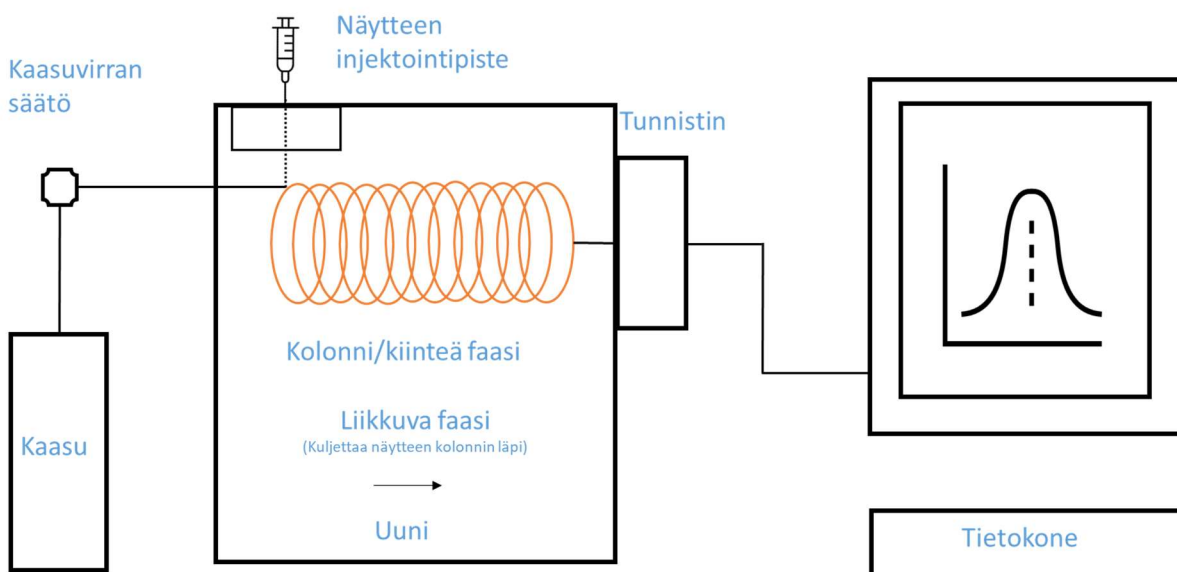
Työn tarkoituksena oli selvittää Kyrö Malt -ruismallasviskin kemiallinen sisältö sekä verrata eri tislauslaitteilla tislattuja valmiita viskejä, sekä Kyrö Wood Smoke -viskiä Kyrö Malt -viskiin. Lisäksi ha-

luttiin selvittää, millaisia aromaattisia yhdisteitä eri ikäisistä näytteistä löytyisi. Kemiallisen koostumuksen selvityksen avulla toivottiin, että haluttujen ja ei-haluttujen aromaattisten yhdisteiden konsentraatioita voitaisiin kontrolloida. Selvityksestä olisi KDC:lle hyötyä, jos analysointi pystyttäisiin rajaamaan tiettyihin indikaattoriaromaatteihin, joiden syntyyn voi vaikuttaa tislauksen tai kypsyysvaiheessa. Tavoitteena oli pystyä osoittamaan kemialliset erot eri tynnyrien välillä.

Kaikki näytteet olivat vanhassa tislauksessa valmistettuja viskejä pois lukien vertailunäyte 5-2214-X, joka on tislattu uuden tislauksen tislauksella. Tätä uuden tislauksen näytettä verrattiin vanhassa tislauksessa valmistettuun pullotuserän vertailunäytteeseen ja pyrittiin selvittämään mitä eroja kemiallisessa sisällössä oli. Visikin aromeihin eräitä vaikuttavia tekijöitä ovat tislauksennäytteen koko, muoto, kallistuskulmat, materiaali sekä materiaalin kosketuspinta-ala nesteeseen.

#### 4.2 Analysointilaitteisto sekä käytetyt menetit

GC-MS on laajalti käytetty menetelmä haihtuvien yhdisteiden analysointiin. Käytetty kaasukromatografi oli Agilent 7890A varustettuna 5875C massantunnistimella ja NIST 08-kirjastolla. Kaasukromatografian ja massantunnistimen toiminnan periaate on kuumentaa näyte kaasufaasiin, joka kuljetetaan kolonna pitkin massantunnistimelle kantajakaasun avulla. Massantunnistin tunnistaa yhdisteet niiden molekyyli-massan mukaan käyttäen elektroni-ionisaatiota (KUVIO 2).



KUVIO 3. GC-MS:n toimintaperiaate (mukaiillen Torres 2022)

Elektroni-ionisaatio (EI) saa massantunnistimen ionilähdekammiossa olevat energiset elektronit pyörimään spiraalimuodostelmina. Tällainen liikehdintä lisää elektronien viipymäaika ja niiden viemää tilavuutta. Kun ionisoituva elektroni ohittaa neutraalin molekyylin riittävän läheltä, molekyylistä poistuu elektroni. Jäljelle jäävä molekyyli on kationiradikaali eli molekyyli-ioni. Reaktio on kuvattu kaavassa (1). (Agilent Technologies 2017.)



jossa M on ionisoitava analyyttimolekyyli,  $e^{-}$  elektroni ja  $M^{+}$  syntynyt molekyyli-ioni.

Seuraavaksi molekyyli-ioni kiihdytetään heijastimesta linssipinoa kohti. Mikäli ioni on riittävän pitkäikäinen, eli pysyvässä muodossa, se siirtyy massasuodattimeen jatkaen edelleen massantunnistimelle, johon se osuu ja jossa se lasketaan. Jos molekyyli ehtii hajota massa-analyysin aikana, sen massaa ei voida analysoida. (Agilent Technologies 2017.)

Laitteessa oli näytepaletti, johon 1,5 ml:n kokoiset ampullit asetettiin (KUVA 6). Näytepalettiin mahtui kerralla 16 ampullia ja kolme pesupulloa injektioruiskulle. Pesunesteenä käytettiin etanolia, jonka puhtausprosentti oli 99,5 %. Kaikki näytteet pipetoitiin puristekaula-ampulleihin (1,5 ml,  $32 \times 11,6$  mm, 11090476, BGB Germany) automaattipipetillä (0,5–5 ml Eppendorf Research<sup>®</sup> Plus Adjustable Volume, Single Channel Pipette, Saksa) ja ampullit suljettiin puristussinetein (11 mm, Septa Silicone Rubber/PTFE, 11031875, GBG Saksa) kruunukorkinpoistimella (11 mm, 295027, BGB Saksa). Työtä varten tilattu kolonni oli ZB-5ms+ (Zebron 30 m  $\times$  0,25 mm  $\times$  0,23  $\mu$ m, Ea, Phenomenex Tanska). Kolonni on kapillaarinen sekä pooliton ja sen rakenne on 5 % fenyliaryleenia ja 95 % polydimetyylisiloksaania (PDSM).



KUVA 66. Analysoidut puristekorkkiampullit näytepaletissa

Näytteiden analysointiin kuuluva aika oli riippuvainen käytetyistä työmenetelmistä ja sekvenssien pituuksista. Vastaavien tutkimuksien perusteella valittiin työssä käytettävät tekniset tiedot mm. uunin lämpötilaohjelman, kantajakaasun, hajoitussuhteen ja sisääntulon lämpötilojen osalta (LIITE 1). Livermore (2010), vertaa tutkimuksessaan viskitynnyreiden paahto- tai polttoasteen vaikutusta viskissä esiintyviin yhdisteisiin, ja tässä opinnäytetyössä käytetyt analyysilaitteiston asetukset mukailivat Livermoren tutkimuksessa käytettyjä. Livermoren metodilla uunin lämpötilaohjelma oli seuraava: alkulämpötila  $+30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , jota pidettiin 2 minuutin ajan, jonka jälkeen lämpötila nostettiin  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  asteeseen  $7,5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$  nopeudella. Lämpötilaa pidettiin  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  asteessa 30 sekuntia, jonka jälkeen se nostettiin  $150\text{ }^{\circ}\text{C}$  asteeseen  $15\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$  nopeudella, jossa lämpötilaa pidettiin 45 sekuntia. Viimeinen lämpötilannosto tehtiin  $240\text{ }^{\circ}\text{C}$  lämpötilaan  $15\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$  nopeudella. Viimeisen lämpötilan pitoaika oli 14 min 25,2 s. Analyysin kokonaiskesto oli 33 minuuttia. Kantajakaasuna käytettiin heliumia virtausnopeudella  $1\text{ ml}/\text{min}$  ja halkaisusuhteella 50:1. Injektorin ja siirtolinjan lämpötilat olivat  $250\text{ }^{\circ}\text{C}$  ja  $170\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Massantunnistusalueena käytettiin 28–550 m/z. Massantunnistin oli kytketty pois päältä ensimmäiseksi 2,5 minuutiksi etanolipiikin ohittamiseksi, joka suojeli analyysilaitteistoa vahingoittumiselta. Livermoren metodin lisäksi koitettiin myös kahden muun menetelmän soveltuvuutta analyttisen työn suoritukseen ennen lopullisen valinnan tekoa.

Näytteiden esikäsittelytapoja kartoitettiin myös kirjallisuuden avulla ja yleisin viskin haihtuvien yhdisteiden analysoinnissa käytetty näytteen esikäsittelytapa oli kiinteän faasin mikrouutto (solid-phase microextraction, SPME). SPME-menetelmään vaadittavia laitteita ei kuitenkaan ollut saatavilla, joten päädyttiin käyttämään suorainjektointia, joka oli mahdollista suorittaa saatavilla olevalla laitekannalla. Suorainjektointia on mahdollista käyttää suhteellisen puhtaille yhdisteille, mutta jos näyte sisältää runsaasti ei-haihtuvia yhdisteitä, sisäänvalo ja kolonni kontaminoituvat helposti. Suorainjektointi ei ole ideaalinen tapa analysoida näytteitä, jotka on kypsytetty puutynnyreissä erittäin pitkän aikaa, esimerkiksi useita kymmeniä vuosia. (Morales, Troncoso, Mas, Ubeda, Callejón, Hidalgo & Torija 2010; Ng 2002; MacNamara & McGuigan 2010; Platthaus 2011.)

Suorainjektoinnin katsottiin onnistuvan opinnäytetyön aiheena olevilla näytteillä, sillä näytematriisi todettiin riittävän puhtaaksi. Kiintoainetta havaittaessa näyte suodatettiin nylonmembraanisuodattimella. Yleensä tällaiset puhtaat näytteet voidaan syöttää suoraan GC:iin halkaisuinjektiolla, ja tulosten perusteella pystytään määrittämään pitkähiiliketjuiset esterit ja hapot. Useimmat tislatuissa alkoholijuomissa esiintyvät aromit kyetään määrittämään kaasukromatografilla. Vaikka näytteet on kypsytetty puutynnyreissä, se ei ole kestänyt kymmeniä vuosia, jolloin ne olisivat todennäköisesti vaurioittavia laitteistolle. (Platthaus 2011.) Suorainjektointia käytettäessä tuli kiinnittää huomiota siihen, että kolonni ei kontaminoidu tai ylikuormitu liikaa.

### 4.3 Näytteet: määrä, kattavuus ja näytteenotto

Näytteet toimitettiin analysoitaviksi kahdessa erässä. Näytteiden kokonaismäärä oli 84, joista vertailunäytteitä oli kolme, kontrollinäytteitä neljä ja tynnyrinäytteitä yhteensä 77. Tynnyrinäytteistä NAO-näytteitä oli 51 ja EXB-näytteitä 26, joista 14 kpl oli NAO + EXB -näytteitä. Ensimmäisessä erässä näytteitä oli vertailunäytteen (5-2214-Y) lisäksi neljä. Näytteet olivat satunnaisesti valittuja eri tuotan-toeristä viskin valmistuksen vuosilta 2016—2022 ja silmämääräisesti keskenään tasalaatuisia. Näytteiden alkoholipitoisuus oli  $47,2 \pm 0,3$  til-%. Näytteen määrä yksittäisessä näytepullossa oli 100 ml ja pullo oli täytetty sen kaulaan asti, suljettu kierrekorkilla sekä sinetöity kutistemuovikapsyyllillä.

Toisessa erässä oli tynnyrinäytteitä ja näytemäärä oli paljon suurempi ja se kattoi 79 näytettä. Näytteet olivat ensimmäisessä erässä olleiden kontrollinäytteiden 5-2214-B, 5-2214-C ja 5-2214-D vatting-eriin valittuja tynnyrinäytteitä. Näytteet olivat väriltään, näytemäärältään, kiintoaine- ja alkoholipitoisuudeltaan erilaisia (KUVA 7). Näytteet olivat sekä NAO- että EXB-tynnyreistä ja niiden alkoholipitoisuus

vaihteli välillä  $46,3 - 63,3 \pm 0,3$  til-%. EXB-tynnyrinäytteet olivat väriltään huomattavasti NAO-tynnyrinäytteitä vaaleampia. Tynnyrinäytteiden lisäksi toisessa näytetoimituserässä oli myös kaksi vertailunäytettä (5-2214-X, 5-2214-Z).



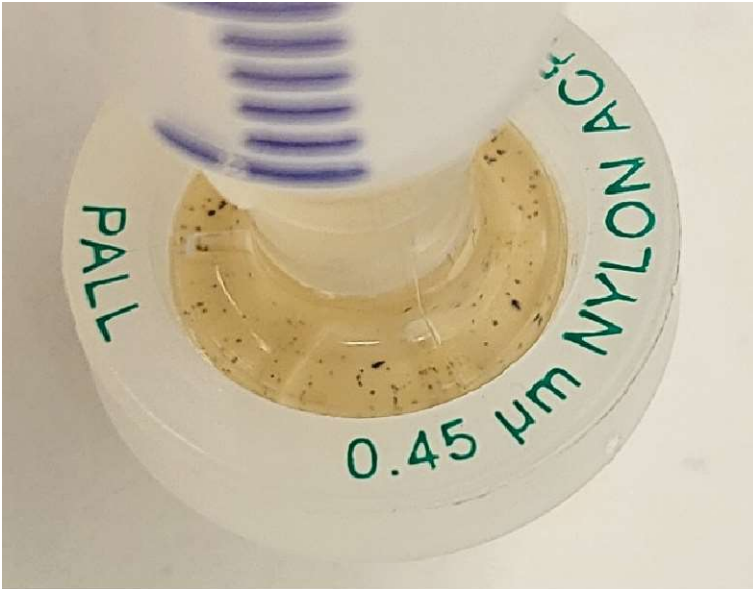
KUVA 7. D-tynnyrinäytteiden keskinäinen vaihtelevuus silmämääräisesti

Toisen näyte-erän näytepullot olivat 100 ml lasipulloja, jotka oli suljettu kierrekorkein ilman kutistemuovikapsyyliä. Näytemäärä pulloissa oli vaihteleva, mutta kuitenkin riittävä edustavan näytteen pipetointiin. Tynnyrinäytteet olivat väriltään vaihtelevia ja joissain näytteissä oli hiiltä pohjalla (KUVA 8).



KUVA 8. Kiintoaines tynnyrinäytteissä.

Tynnyrinäytteet suodatettiin tarvittaessa. Näytteet, joissa oli silmin erotettavaa kiintoainesta, pipetoitiin 10 ml dekanterilasiin. Näyte suodatettiin Pall Corporation Acrodisc 13 mm 0,45 µm nylon-membraanisuodattimella (KUVA 9) ampulliin käyttäen steriiliä 2 ml (3 ml) Norm-Ject kertakäyttöruiskua.



KUVA 9. Nylon-membraanisuodatin, jossa suodatettu kiintoaines

Kutakin analysoitavaa näytettä pipetoitiin puristekorkkiampulliin 1,5–2 ml. Ampulleja säilytettiin laboratorion vetokaapissa +20 °C lämpötilassa huoneenlämmössä. Yhteen analyysiin käytettiin 1 µl näytettä ja yhdestä puristekorkkiampullista otettiin näytettä useamman kerran vaihtamatta näytettä välissä. Mikäli analyyseja yhdestä näytteestä tehtiin useamman viikon aikana, näyte pipetoitiin uudelleen tietyn väliajoin, mikäli puristekorkki oli lävistetty injektioneulalla. Näin pyrittiin välttämään virheet, jotka olisivat voineet johtua näytteen luonnollisesta haihtumisesta.

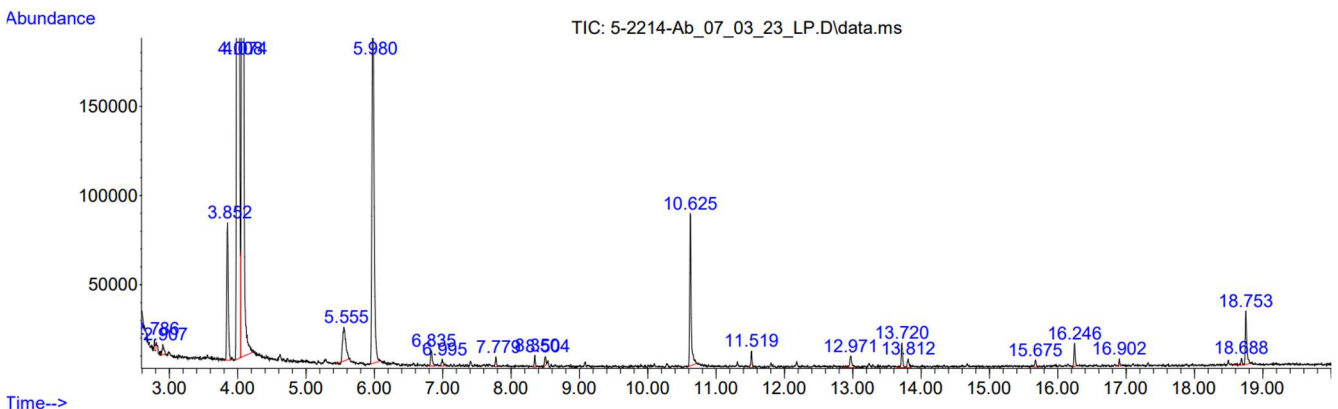
#### 4.4 Laboratoriotyön suoritus

Suorainjektointia käytettäessä näytteet eivät vaatineet esikäsitteilyä ja ne pipetoitiin puristekorkkiampulleihin sellaisenaan. Kuhunkin ampulliin kerralla pipetoitava määrä oli 1,5–2 ml, josta yhteen analyysiin käytettiin 1 µl. Ampullit säilytettiin laboratoriotyövaiheen ajan vetokaapissa huoneenlämmössä. Analyysin yhteydessä injektioneula teki ampullin kumikorkkiin pienen reiän, jonka ei katsottu muuttavan näytteen laatua tai näin ollen haittaavan analyysituloksia. Kustakin ampullista otettiin useampia analyyseja laboratoriovaikeiden aikana, lukuun ottamatta myöhemmin saapuneita näytteitä.

Työ suoritettiin Centrian ammattikorkeakoulun Kokkolan kampuksella Centrian tutkimus, kehitys ja palvelut -yksikön kemian ja biotalouden tiimin biomateriaalilaboratoriossa. Laboratoriotyön kestoksi arvioitiin etukäteen noin neljästä viiteen viikkoa. Aikataulu todettiin liian nopeaksi vähäisen henkilöstön sekä lukuisten laitteisto-ongelmien vuoksi ja lopullinen laboratoriotyön kesto ajoittui yhteensä seitsemälle viikolle tammi-maaliskuulle vuonna 2023.

## 5 TULOKSET

Laboratoriotyötä suorittaessa datan määrä kasvoi suureksi. Suuri datan määrä korosti tutkittavien aromaattisten yhdisteiden rajauksen tärkeyttä, sillä vain muutamaan yhdisteeseen oli mahdollista perehtyä riittävällä laajuudella. Tuloksia haluttiin verrata paitsi pullotuserien välillä, myös vertailunäytteiden 5-2214-Y ja 5-2214-X, sekä NAO ja EXB-tyynyreiden välillä. Lisäksi vertailunäytettä 5-2214-Z verrattiin ei-savustettuun vertailunäytteeseen ja pyrittiin löytämään savun tuomia eroavaisuuksia aromeissa. Tutkittavia näytteitä oli yhteensä 84 kappaletta ja jokainen analysoitiin kaksi kertaa virhe-elementtien minimoimiseksi. Jokaisen näytteen rinnakkaisanalyyseistä laskettiin keskiarvo. Dataa analysoitiin Agilent Enhanced Data Analysis -ohjelmalla, joka oli liitetty käytettävään kaasukromatografiaan. Kustakin näytteestä piirtyi kromatogrammi (KUVAAJA 1), joka integroitiin halutun kokoisille piikeille asettamalla sisäinen kynnyksiarvo sopivan kokoiseksi. Tämän jälkeen jokaisesta kromatogrammista kerättiin ohjelmiston tarjoama automaattinen prosentuaalinen raportti kromatogrammilla (LIITE 2) sekä kirjaston hakuraportti (LIITE 3), jossa kromatogrammiin piirtyneet piikit oli tunnistettu. Käytetty kirjasto oli NIST 08.



KUVAAJA 1. Pullotuserän kontrollinäytteen 5-2214-A:n rinnakkaisnäytteen b kromatogrammi

Kaikki näytteet käytiin läpi kromatogrammin ja kirjaston hakuraportin perusteella. Liki kaikki kromatogrammissa esiintyvät piikit olivat löydettävissä mistä tahansa muusta näytteestä samalla retentioajalla. Näytteiden suuren määrän vuoksi jokaista piikkiä ei tunnistettu erikseen kirjasto-ohjelmalla, vaan oletettiin samalla retentioajalla piirtyneen piikin olevan sama yhdiste kaikissa näytteissä näytematriisin ja näytteiden välisten kromatogrammien samankaltaisuuden vuoksi. Jos tietyssä näytteessä ei ollut havaittavissa kromatogrammissa tietyllä retentioajalla piikkiä, kyseisen näytteen piikin pinta-alaksi merkittiin nolla. Jos näytteessä oli havaittavissa piikki tietyllä retentioajalla, mutta se oli asetettua integrointirajaa pienempi eikä siitä ollut saatu kirjaston hakuraporttia, yhdisteen oletettiin olevan

sama, kuin samalla retentioajalla muissa näytteissä tunnistetun yhdisteen ja sen pinta-alan arvona käytettiin sille soveltuvaa mediaaniarvoa (TAULUKKO 1).

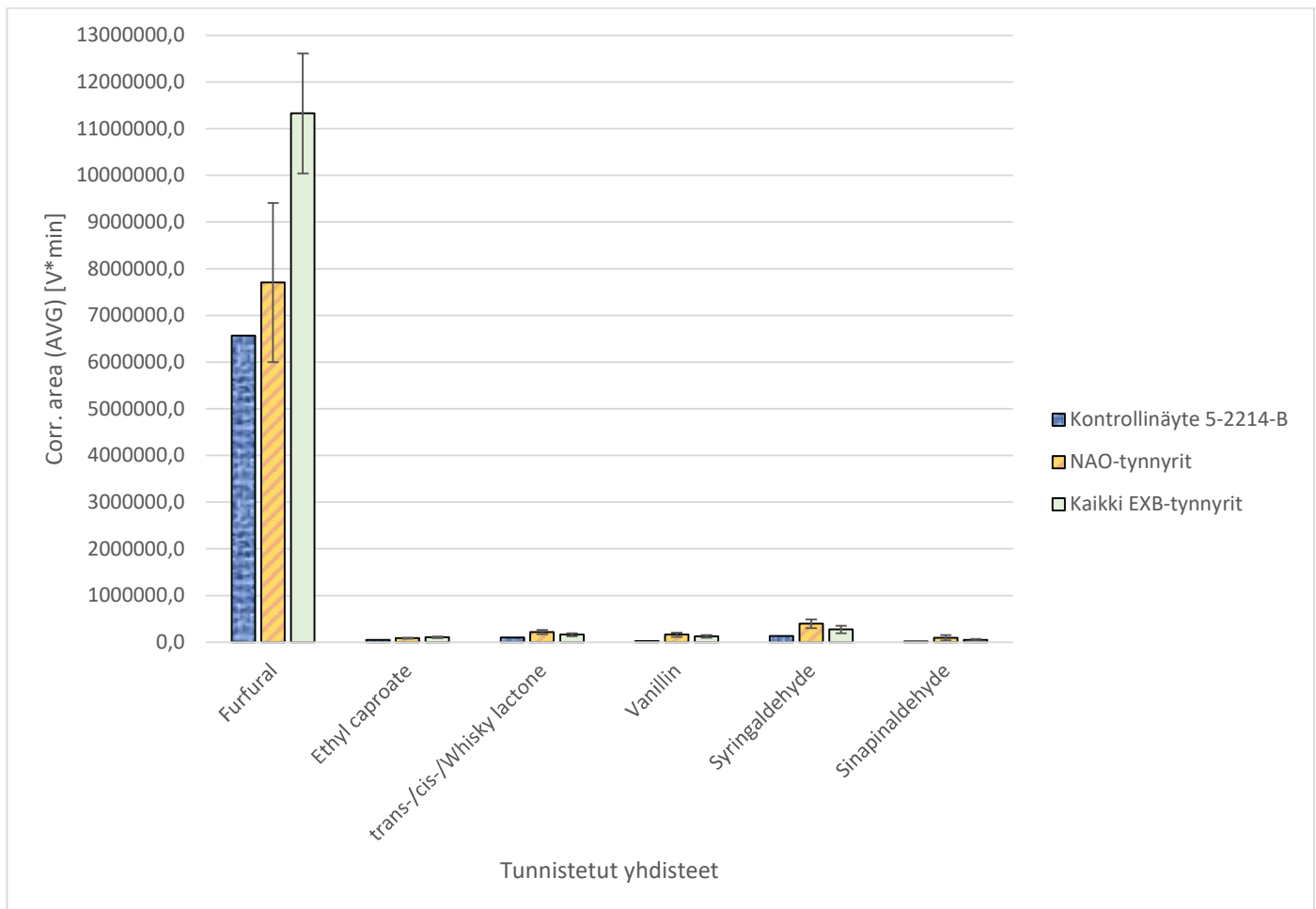
TAULUKKO 1. Tutkittavat yhdisteet ja niiden retentioajat

Yhdisteen nimi:	Retentioaika:
Furfural	5,981
Ethyl caproate	9,085
trans-/cis-/Whisky lactone	12,969
Vanillin	13,808
Syringaldehyde	16,244
Sinapinaldehyde	18,688

Kunkin näytteen rinnakkaisanalyyseistä koostettiin keskiarvotaulukko tutkittavien kuuden yhdisteen osalta (LIITE 4), jota käytettiin kulloisen tynnyrytyypin koostetaulukon arvona. Kirjaston hakuraporteissa huomattiin, että retentioajalla 12,97 min tunnistettu yhdiste oli poikkeuksetta jokin viskin laktoni, mutta sen isomeeristä ei saatu varmuutta. Yhdiste tuolla retentioajalla voi olla Whisky lactone, cis-Whisky lactone tai trans-Whisky lactone, eikä käytössä olleella laitteistolla päästy tätä tarkempaan määrittelyyn. Koostettaessa useita eri tynnyrinäytteitä kuvaamaan tiettyä tynnyrytyppiä, laskettiin kunkin yhdisteen kohdalla tynnyrytyypikohtainen virhemarginaali käyttäen otoskeskihajontaa. Pääsääntöisesti virhemarginaali oli suhteellisen pieni, mutta sen koko kasvoi silloin itse pylvästä suuremmaksi, kun kyseisellä yhdisteellä oli saman tynnyrytyypin sisällä sekä erittäin suuria että useita keskihajonnan arvoa pienempiä pinta-aloja. Näissä tapauksissa virhemarginaalin palkki ulottui kuvaajan y-akselin negatiiviselle alueelle (LIITE 5).

Kuten kontrollinäyte 5-2214-B:n ja sen vating-erään käytettyjen tynnyrinäytteiden vertailukuvaajasta (KUVAAJA 2) voi nähdä, piikin pinta-ala furfuraalin osalta oli niin suuri, että se häiritsee muiden yhdisteiden vertailua. Tarkastelua helpottaakseen jokaisesta kuvaajasta tehtiin versio myös niin, että furfuraali on jätetty siitä pois (KUVAAJA 3). Piikkien pinta-aloja on käytetty pitoisuuden määrittävänä tekijänä, koska se on tulkittavissa olevasta datasta tarkin mahdollinen yksittäinen arvo, joka kuvaa yhdisteen pitoisuutta näytteessä. Piikin pinta-ala on laskettu automaattisesti integroiden piikin leveys ja korkeus raja-arvojen sisällä.

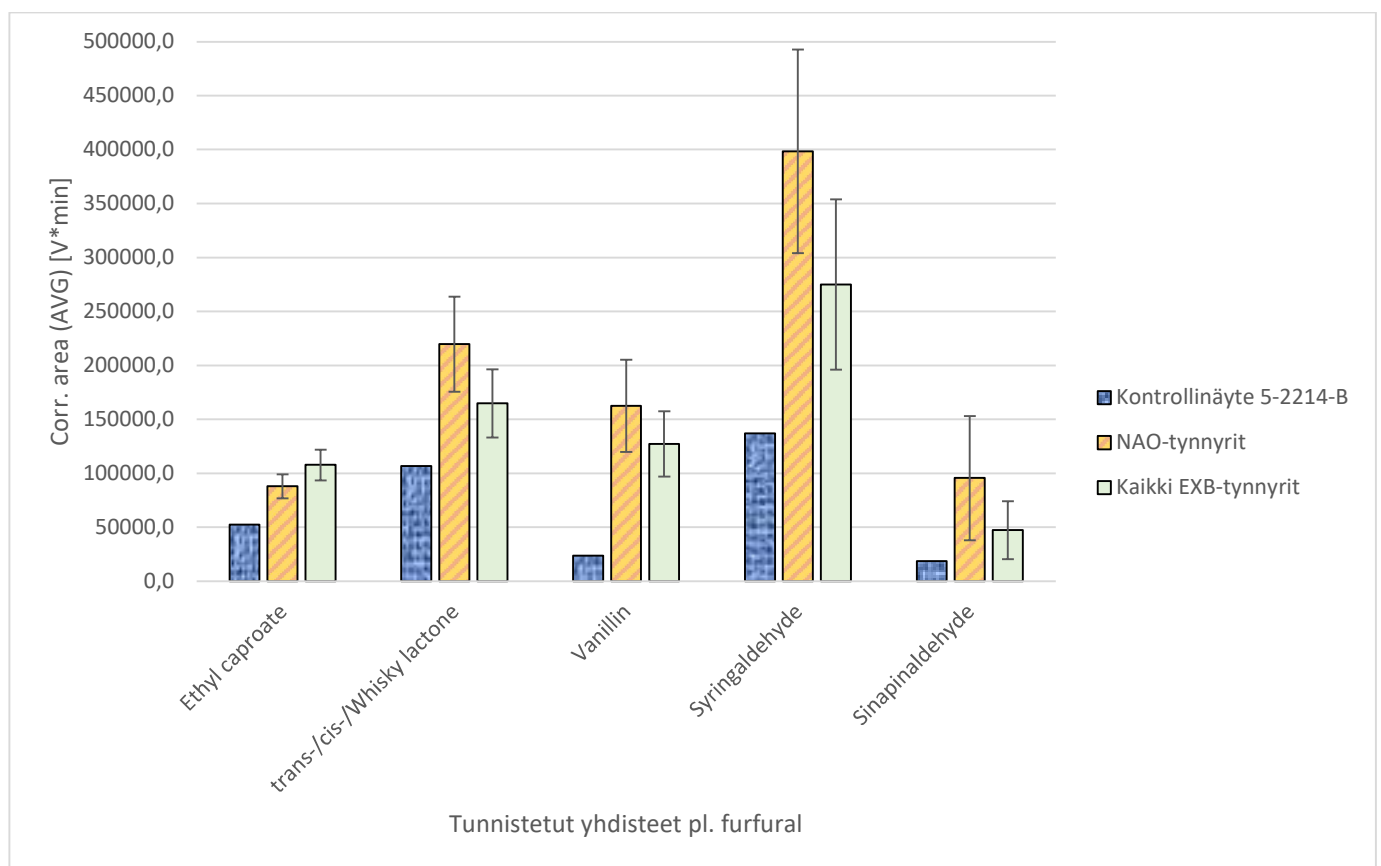
Kuvaajasta 2 voidaan nähdä, että EXB-tynnyrinäytteissä furfuraalin määrä oli 1,5-kertainen NAO-tynnyrinäytteisiin. Keskihajonnan virhemarginaali oli EXB-tynnyrinäytteissä pienempi. Kontrollinäytteessä kaikkien yhdisteiden pitoisuus oli pienempi ja voi johtua esimerkiksi näytteen matalammasta alkoholipitoisuudesta.



KUVAAJA 2. Kontrollinäytteestä B ja siihen käytetyistä tynnyreistä tunnistetut yhdisteet sekä tynnyri-tyypikohtaiset keskihajonnat

Kuvaajaa 3 tarkasteltaessa voidaan nähdä, että vain ethyl caproatea ja furfuraalia havaittiin enemmän EXB-tynnyrinäytteissä kuin NAO-tynnyrinäytteissä. Viskin laktoneja ja vanilliinia oli NAO-tynnyrinäytteissä 1,3-kertainen määrä, syringaldehydea 1,4- ja sinapinaldehydea jopa 2-kertainen määrä verrattuna EXB-tynnyrinäytteisiin. Vanilliinin ja sinapinaldehyden piikkien pinta-alat kontrollinäytteessä olivat huomattavasti pienemmät kuin muissa näytteissä tai yhdisteissä. Kontrollinäytteistä 5-2214-C ja 5-2214-D tehtiin vastaavat kuvaajat (LIITE 5). Liitteen 5 kuvaajat poikkeavat kuvaajista 2 ja 3 siten, että kontrollinäytteessä 5-2214-C vanilliinin määrä oli alle laboratoriolaitteiston määritysrajan, vaikka se pystyttiin tunnistamaan sekä NAO-, että EXB-tynnyrinäytteistä, joista sen pitoisuus oli suurempi

ex-bourbon-tynnnyreissä. Vanilliinin tavoin kontrollinäytteestä 5-2214-C ei myöskään pystytty tunnistamaan sinapinaldehydea. Vastaavasti kontrollinäytteessä 5-2214-D ethyl caproatea, vanilliinia tai sinapinaldehydea ei pystytty tunnistamaan, vaikka ne havaittiin molemmista tynnyrinäytetyypeistä. Tarkasteltavia yhdisteitä valitessa tuloksista oli koostettu karkeasti arvioitu taulukko, jonka mukaan ethyl caproaten esiintyminen näytteessä painottui EXB-tynnnyreihin. Tarkempien pinta-alojen vertailun jälkeen havaittiin pitoisuuksien olevan korkeampia EXB-tynnnyrinäytteissä, mutta ethyl caproatea tunnistettiin myös NAO-tynnnyrinäytteistä, joskin hieman pienempiä pitoisuuksia. Lisäksi erän D NAO-tynnnyrinäytteissä saatiin vanilliinille sekä erittäin suuria, että paljon pieniä pitoisuuksia, joka teki vanilliinin keskihajontavirhemarginaalista selkeästi suuremman kuin muissa erissä.

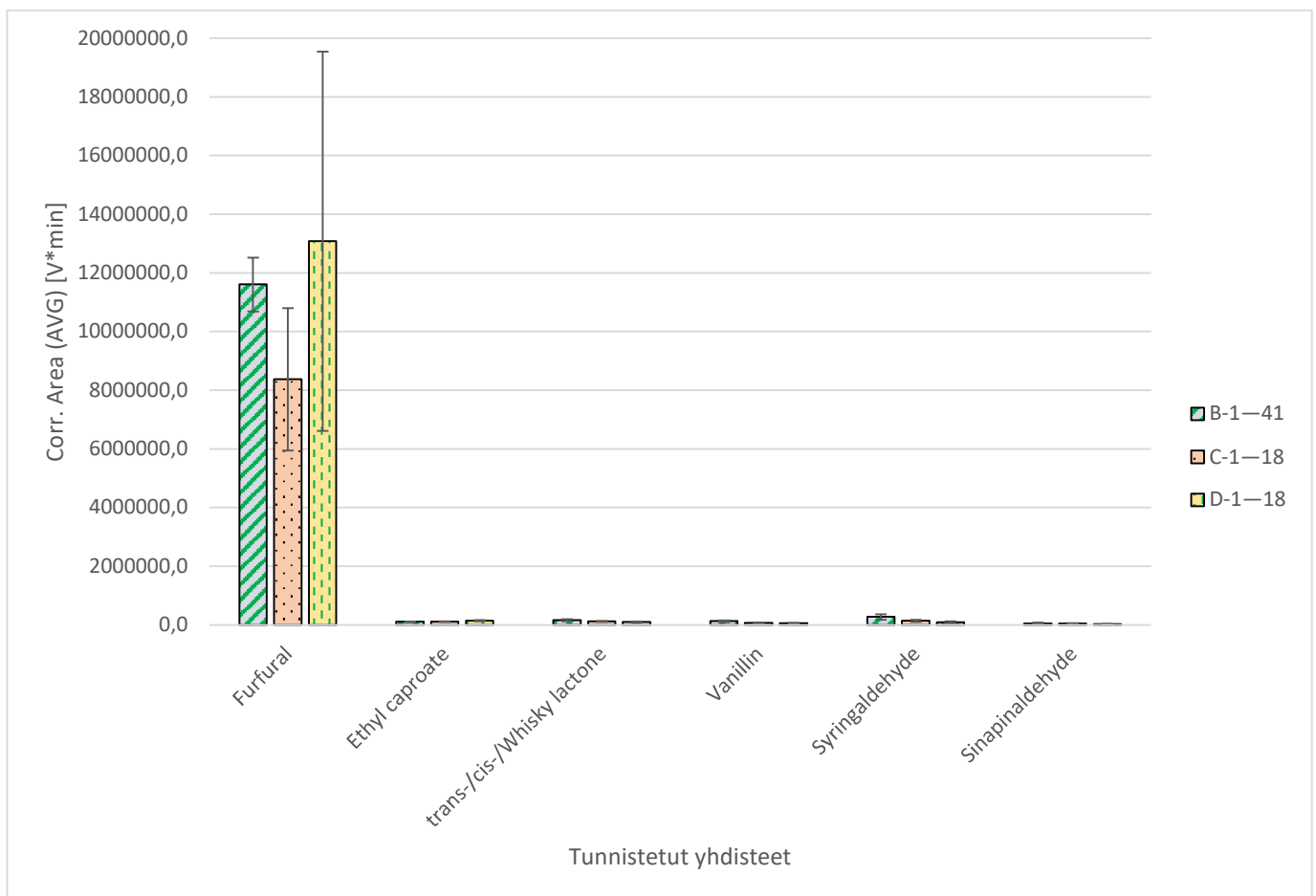


KUVA AJA 3. Kontrollinäytteestä B ja siihen käytetyistä tynnyreistä tunnistetut yhdisteet (pl. furfural) sekä tynnyryyppikohtaiset keskihajonnat

Yhdisteiden pitoisuudet olivat erien välillä karkeasti arvioiden samanlaisia tai vähintään samassa suuruusluokassa. Joitain eroavaisuuksia kuitenkin löytyi etenkin tynnyryyppikohtaisesti. EXB-tynnnyrit erässä B poikkesivat muiden erien EXB-tynnnyreistä siten, että osa tynnyreistä oli sellaisia, joiden sisältämä viski oli siirretty ex-bourbon-tynnnyriin noin 6 kk New American Oak -tynnnyrissä kypsymisen jälkeen. Näitä B-erän eri EXB-tynnnyreitä vertailtiin keskenään ja NAO-tynnnyreissä olleita näytteitä ku-

vattiin merkinnällä NAO + EXB (LIITE 6). Vastaavia NAO + EXB -tynnyreitä oli erässä C, jossa niiden määrä oli kolme. Furfuraalin määrä oli yhdisteistä ainut, joka poikkesi merkittävästi, ollen NAO + EXB -tynnyrinäytteissä 0,9-kertainen verrattuna vain EXB-tynnyreissä olleisiin näytteisiin. Keskihajonnan virhemarginaalin suuruus ethyl caproatessa oli todella pieni vain EXB-tynnyreissä olleessa viskissä.

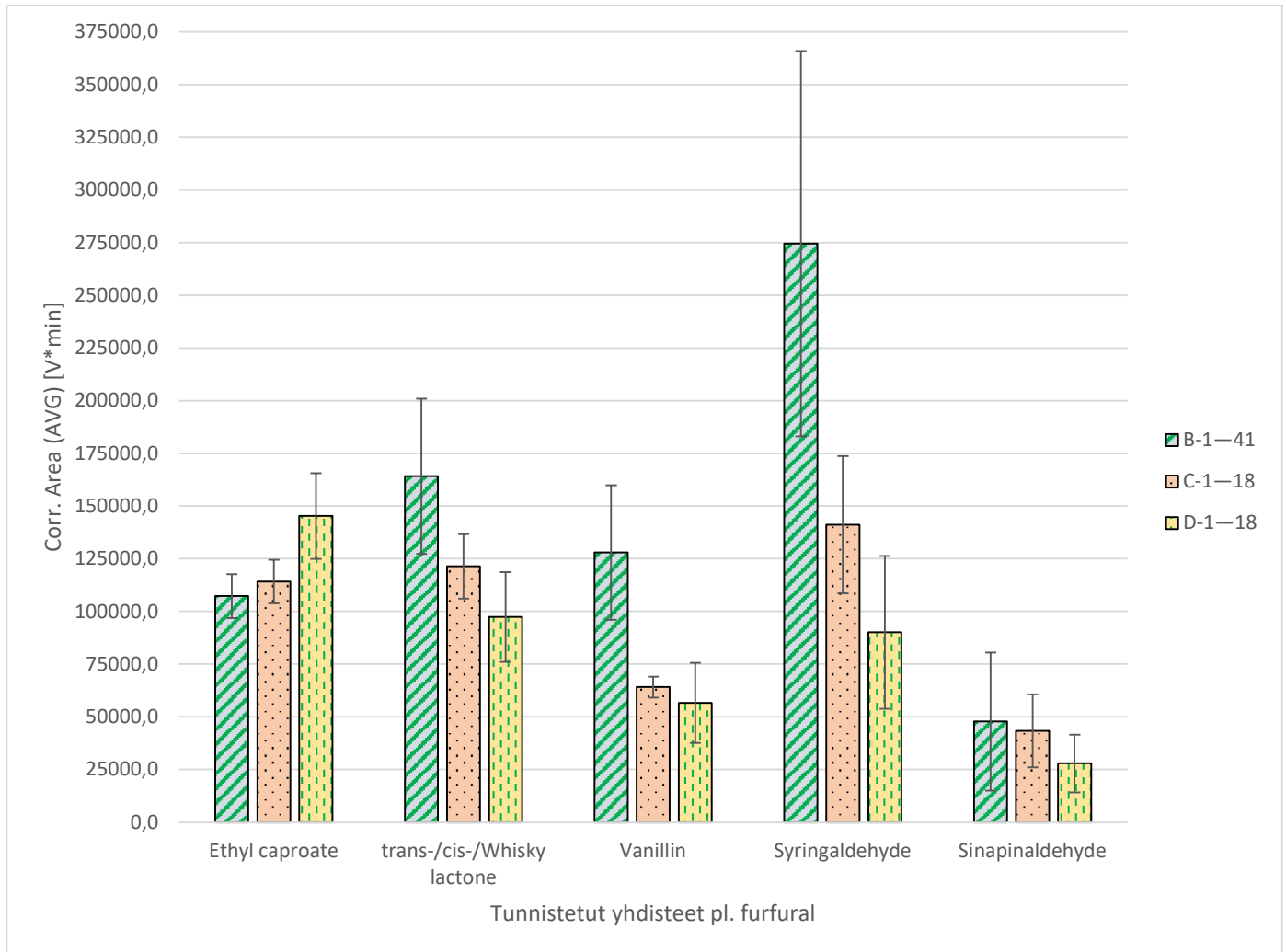
Erässä B näytteiden alkoholipitoisuus oli tasaisempi, vattungiin valittujen tynnyrien määrä huomattavasti suurempi ja EXB-tynnyreiden osuus isompi kuin muissa analysoiduissa erissä. Erässä B yhdisteiden pitoisuudet olivat suurimpia kaikkien yhdisteiden, paitsi furfuraalin ja ethyl caproaten osalta, kun tarkasteltiin EXB-tynnyreitä (KUVAAJAT 4 ja 5).



KUVAAJA 4. Analysoiduista EX-Bourbon -tynnyrinäytteistä tunnistetut näytteet sekä niissä esiintyvät keskihajonnat

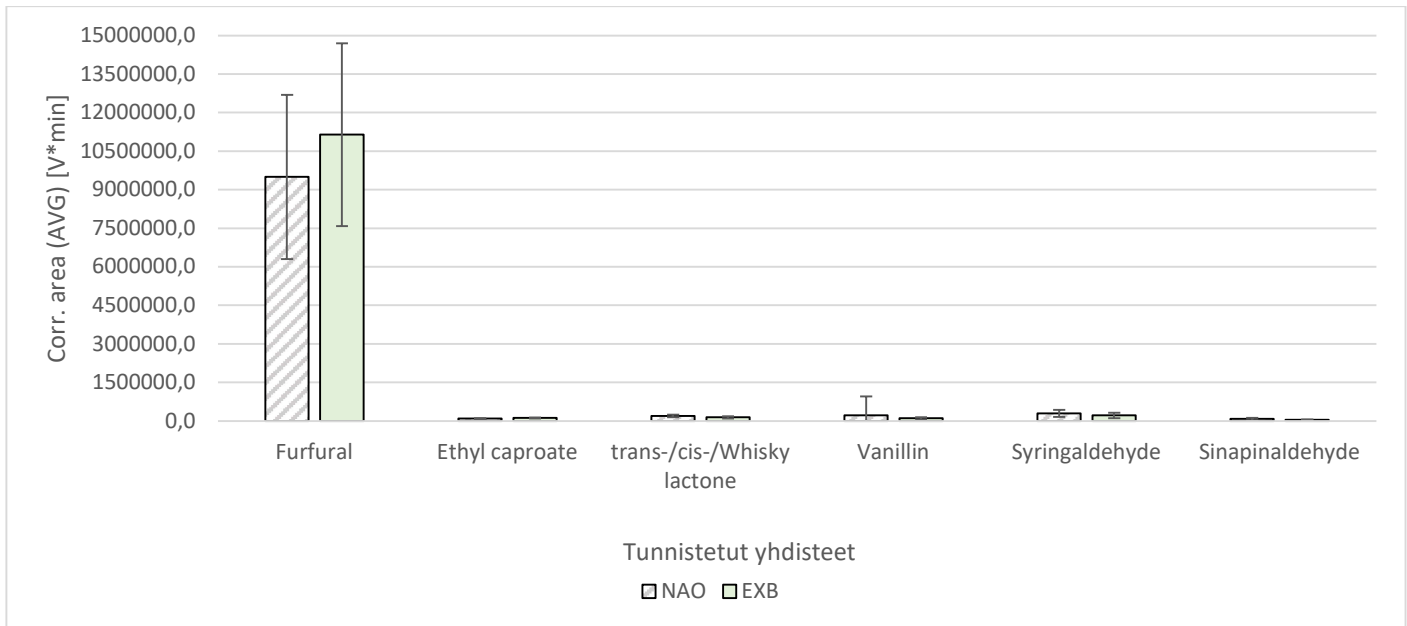
Kuvaajasta 5 voidaan nähdä, että erän B ex-bourbon-tynnyrien yhdistekohtaiset piikkien pinta-alat ovat vanilliinin ja syringialdehydin osalta huomattavasti korkeammat kuin muissa analysoiduissa

erissä C ja D. Vanilliinin pitoisuus erän B ex-bourbon-tynnyreissä oli kaksinkertainen verrattuna vastaavaan pitoisuuteen erässä C, ja 2,3-kertainen verrattuna vanilliinin pitoisuuteen erän D EXB-tynnyrinäytteissä. Syringaldehyden pitoisuus oli jopa kolme kertaa suurempi erässä B kuin erässä D vastaavissa tynnyrinäytteissä.



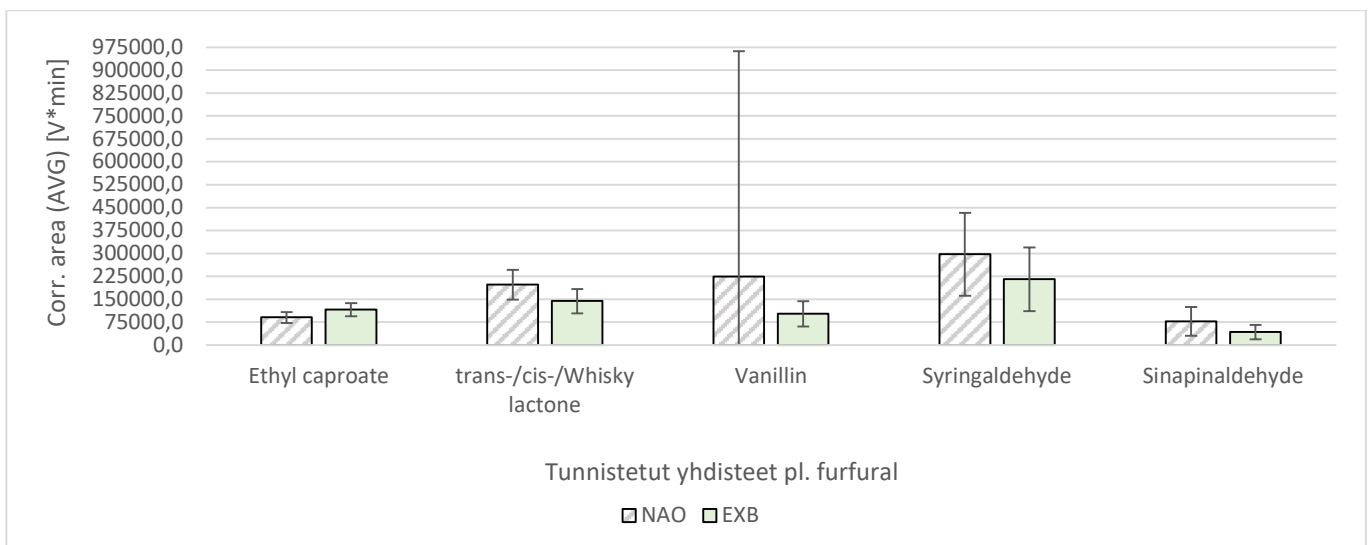
KUVAAJA 5. Analysoiduista EX-Bourbon -tynnyrinäytteistä tunnistetut näytteet (pl. furfural) sekä niissä esiintyvät keskihajonnat

Kaikista analysoiduista eri tynnyrityypeistä koostettiin kuvaajat (LIITE 7). New American Oak -tynnyrinäytteiden tuloksia tarkasteltiin erillään muista tynnyrityyppinäytteistä (KUVAAJA 6). Kun NAO- ja EXB-tynnyreiden tuloksia verrattiin toisiinsa, todettiin yhdisteiden pitoisuuksien olevan NAO-tynnyreissä suurempia viskin laktonien, vanilliinin, syringaldehyden ja sinapinaldehyden kohdalla. Furfuraalin ja ethyl caproaten pitoisuudet olivat suurempia EXB-tynnyreissä.



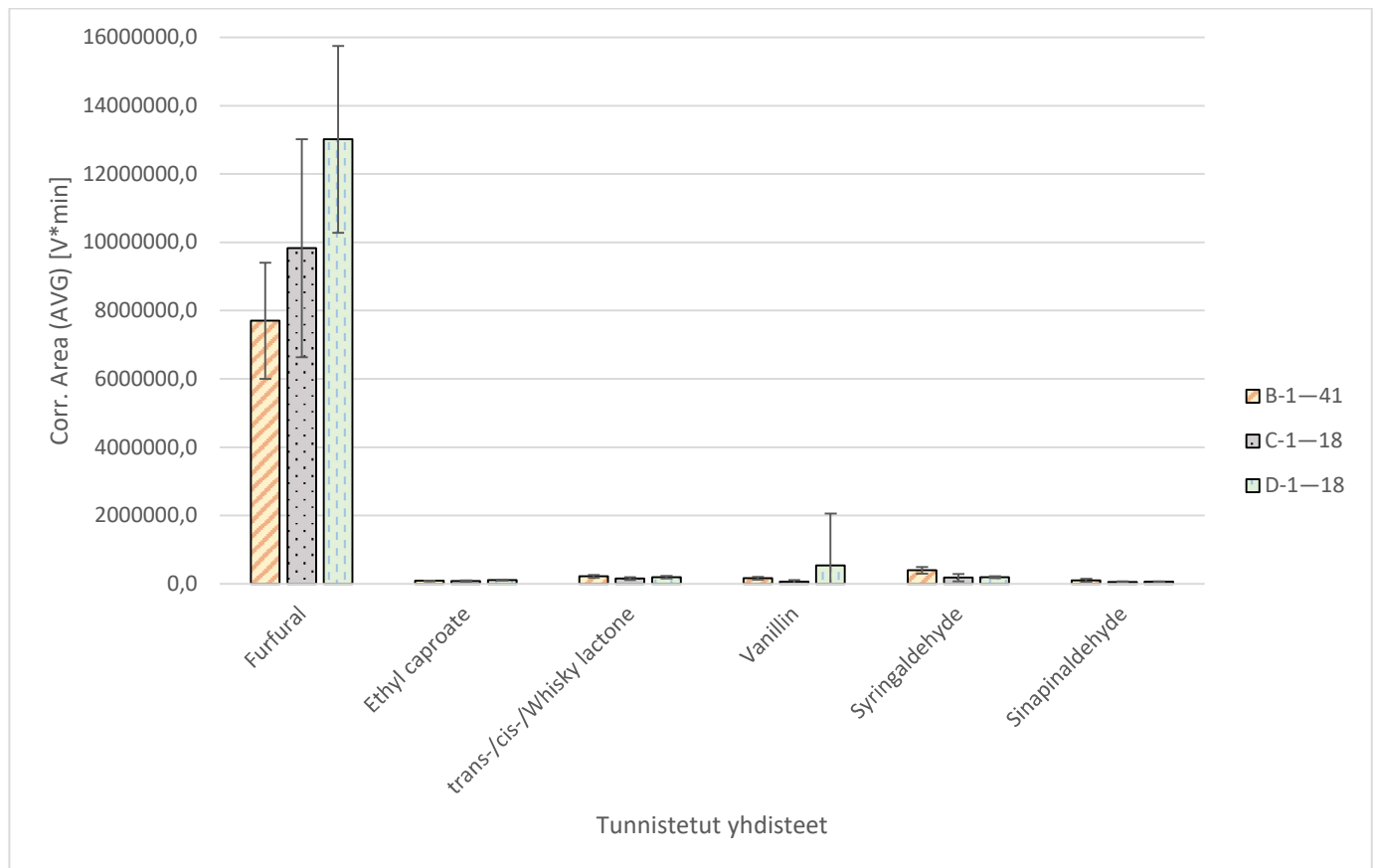
KUVAAJA 6. Kaikista NAO- ja EXB-tynnyreistä tunnistetut yhdisteet sekä niissä esiintyvät keskihajonnat

Virhemarginaalin suuruus NAO-tynnyrinäytteistä tunnistetussa vanilliinissa oli muita yhdisteitä suurempi. Virhemarginaalin suuruus johtuu siitä, että kyseisissä tynnyrinäytteissä vanilliinin kromatogrammiin piirtyneen piikin pinta-ala oli joissain näytteissä erittäin suuri, mutta analysoiduissa näytteissä oli myös suuri määrä pieniä vanilliinin pitoisuuksia. Nämä pienet pitoisuudet olivat keskihajonnan arvoa alempia, joka teki keskihajonnan arvoon perustuvasta virhemarginaalipalkista erittäin laajalajaisen (KUVAAJA 7). Vanilliinin keskimääräinen pitoisuus kaikissa NAO-tynnyrinäytteissä oli 2,2-kertainen verrattuna vastaavaan pitoisuuteen kaikissa EXB-tynnyrinäytteissä.



KUVAAJA 7. Kaikista NAO- ja EXB-tynnyreistä tunnistetut yhdisteet sekä niissä esiintyvät keskihajonnat pl. furfural

New American Oak -tynnyrinäytteistä tehtiin eräkohtaiset kuvaajat (LIITE 5). Lisäksi niitä tarkasteltiin samassa kuvaajassa kontrollinäyte-erien B, C ja D vattungiin valituista NAO-tynnyrinäytteistä. Kuvaajasta voi huomata suurta hajontaa niin eri yhdisteiden pitoisuuksien välillä, kuin saman yhdisteen pitoisuuksissa eri kontrollinäyte-erien välillä (KUVAAJA 8).

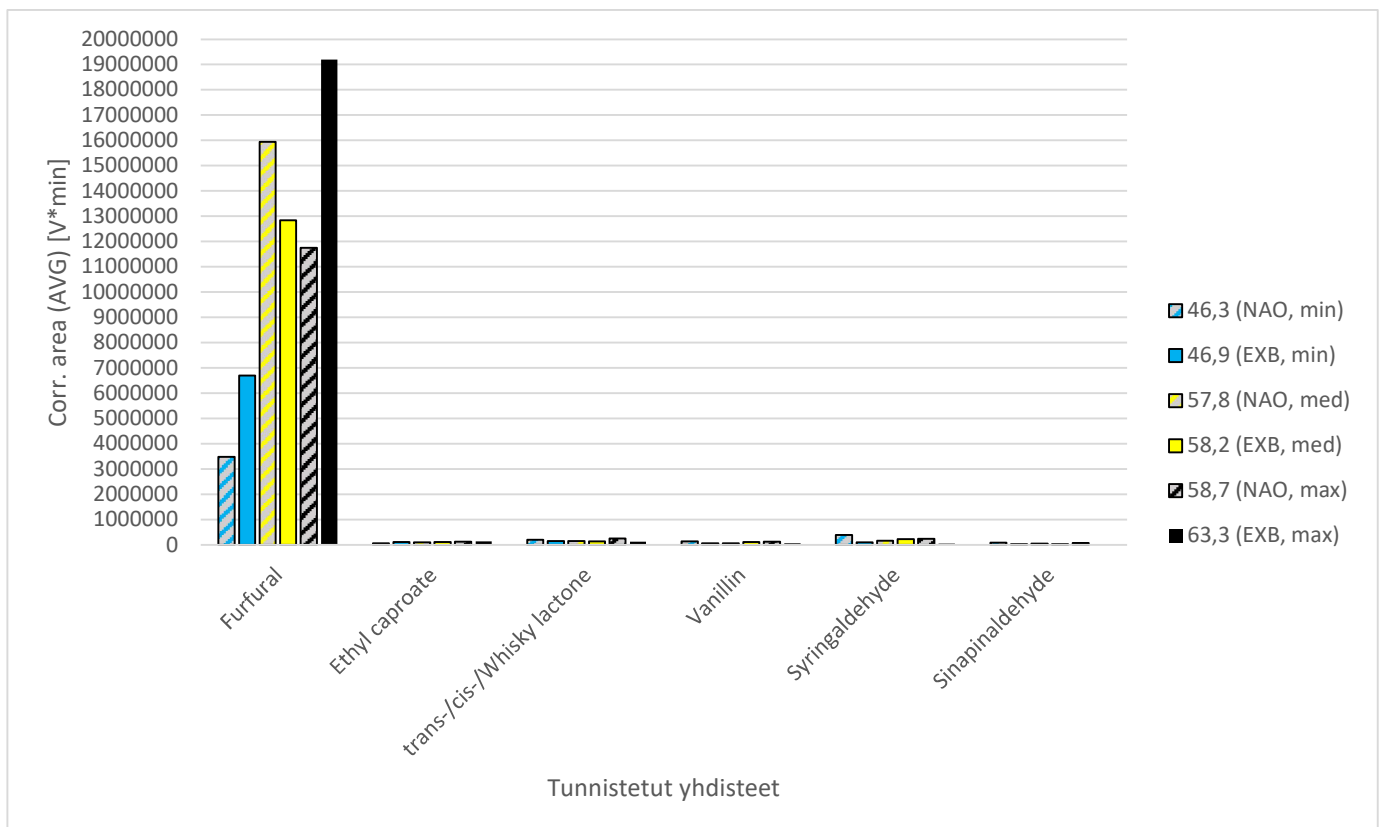


KUVAAJA 8. Analysoidut New American Oak -tynnyrinäytteet sekä niissä esiintyvät keskihajonnat

Tulosten selkeyttämisen vuoksi kuvaajasta 9 on jätetty analysointierän D keskihajonnan virhemarginaali pois näkyvistä, sillä kuvaajan 7 tavoin se häiritsi muiden arvojen tarkastelua poikkeavan suurella arvolla. Yhdisteiden pitoisuuksista voidaan havaita poikkeuksellisen suurta hajontaa vanilliinin pitoisuuksissa verrattuna muihin tässä opinnäytetyössä esitettyihin kuvaajiin. Vanilliinin pitoisuus NAO-tynnyrinäytteissä erässä C oli pienin verrattuna muiden erien NAO-tynnyrinäytteisiin. Erässä D vanilliinin pitoisuus oli NAO-tynnyrinäytteissä toiseksi suurin kaikista tarkasteltavista yhdisteistä vain furfuraalin ollessa sitä isompi (KUVAAJA 9).

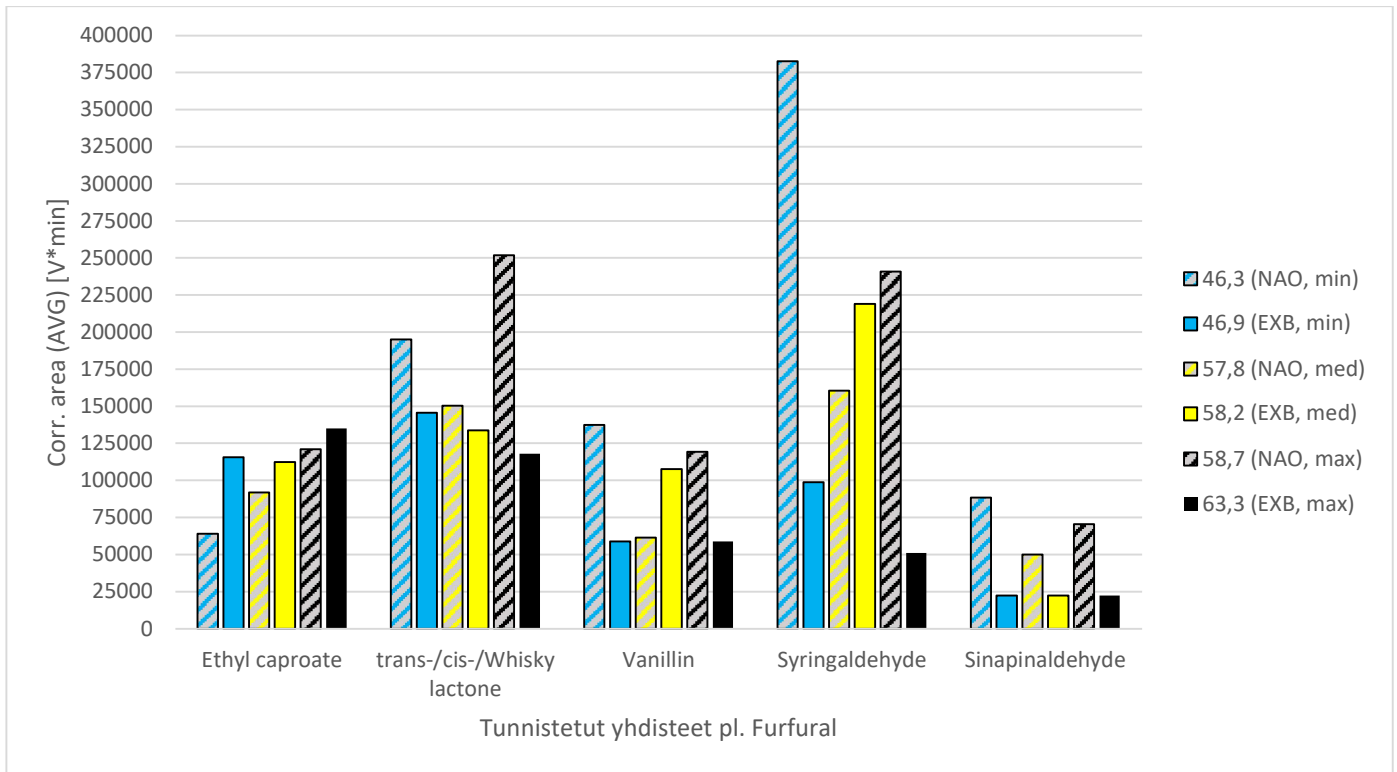


Histogrammissa esitetyistä korostetuista arvoista tehtiin yhdistekohtainen kuvaaja. Kuvaajassa käytettiin molempien tynnyryyppien minimi-, mediaani- ja maksimiarvoja (KUVAAJAT 11 ja 12). Kuvaajaa tarkasteltaessa voidaan havaita, että matalampi alkoholipitoisuus NAO-tynnyreissä antaa suurempia pitoisuuksia vanilliinin, syringaldehyden ja sinapinaldehyden kohdalla verrattuna kyseisen tynnyryyppin mediaani- ja maksimipitoisuuksiin. Vastaavasti viskin laktonien ja ethyl caproaten pitoisuudet näytteessä olivat suurempia korkeimmalla alkoholipitoisuudella. Furfuraalin pitoisuus oli suurin NAO-tynnyreiden mediaanialkoholipitoisuudella 57,8 til-%.



KUVAAJA 11. Analysoiduista alkoholipitoisuudeltaan eriävistä tynnyrinäytteistä tunnistetut yhdisteet

EXB-tynnyreitä tarkasteltaessa voidaan huomata sinapinaldehyden pitoisuuksien eri alkoholin tilavuusprosentilla pysyvän samansuuruisena, joskin aina huomattavasti vastaavia NAO-pitoisuuksia matalampina. Vanilliinin ja syringaldehyden pitoisuudet näytteessä olivat suurimpia EXB-tynnyreiden alkoholipitoisuudella, joka sijoittui asteikon puoliväliin. Korkeasta alkoholipitoisuudesta EXB-tynnyreissä oli hyötyä furfuraalin ja ethyl caproaten pitoisuuksille. Alkoholipitoisuuden vertailussa käytettiin toimeksiantajalta saatuja tynnyrikohtaisia tietoja (LIITE 8). Kaikista kontrollinäytteistä ja niihin käytetyistä tynnyreistä tunnistetuista yhdisteistä koostettiin yhteinen kuvaaja (LIITE 9).

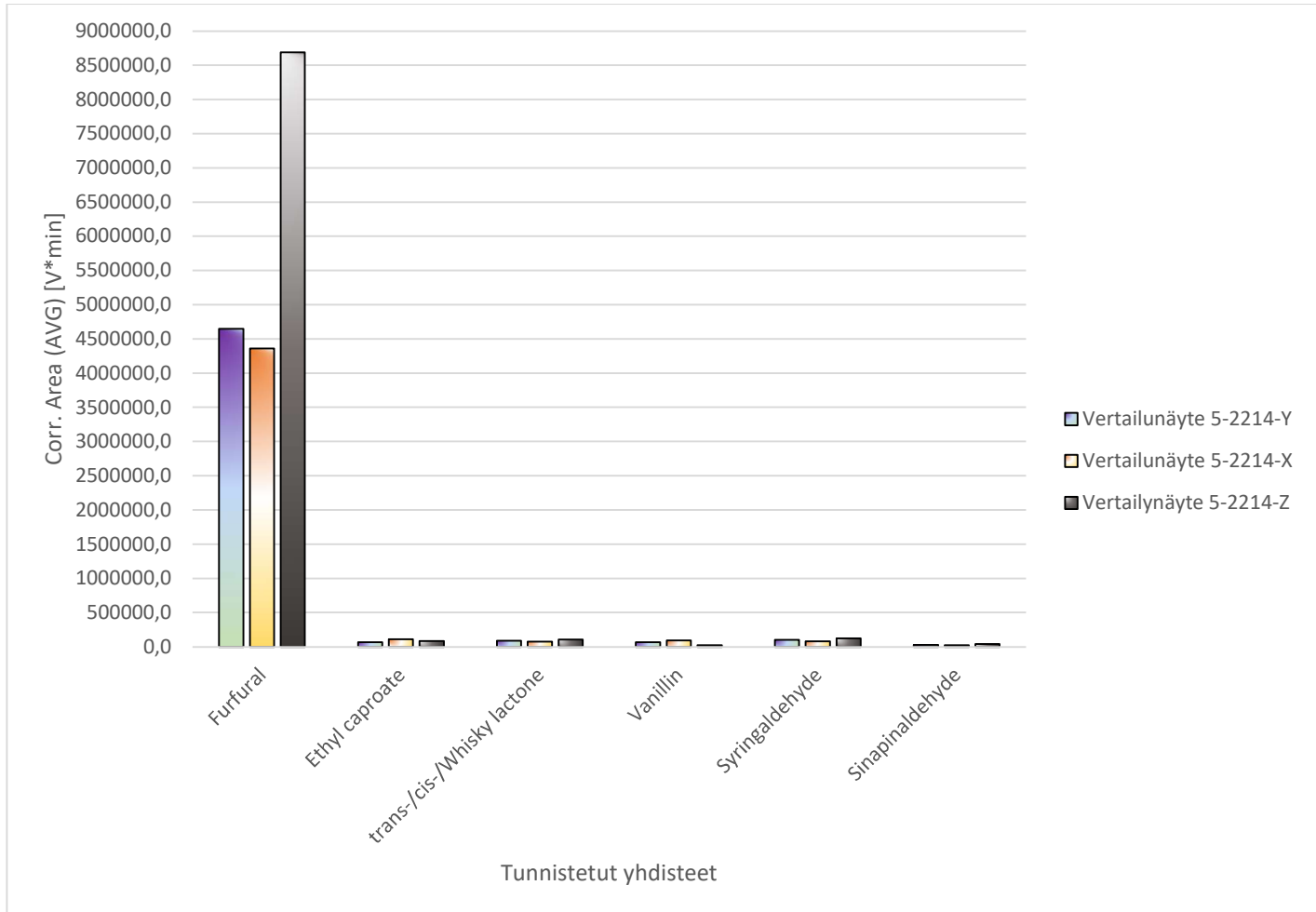


KUVAAJA 12. Analysoiduista alkoholipitoisuudeltaan eriävistä tynnyrinäytteistä tunnistetut yhdisteet pl. furfural

Erien B–D lisäksi analysoitiin kontrollinäyte erästä A. A-erän tynnyrinäytteitä ei ollut saatavilla ja sen yhdisteiden pitoisuuksia verrattiin vertailunäytteeseen 5-2214-Y (LIITE 10). Tynnyrien välisten tulosten lisäksi haluttiin vertailla myös erilaisten KDC:n valmistamien viskien välisiä eroja. Vertailu jäi tässä laajuudessa suppeaksi ja vertailtavia viskejä olivat vanhan meijerin tiloissa olevalla tislaimilla valmistettu Kyrö Malt (vertailunäyte 5-2214-Y), uudella tislaamolla valmistettu New Kyrö Malt (vertailunäyte 5-2214-X) sekä savuviski Kyrö Wood Smoke (vertailunäyte 5-2214-Z), joka on tislattu vanhan puolen tislaimilla.

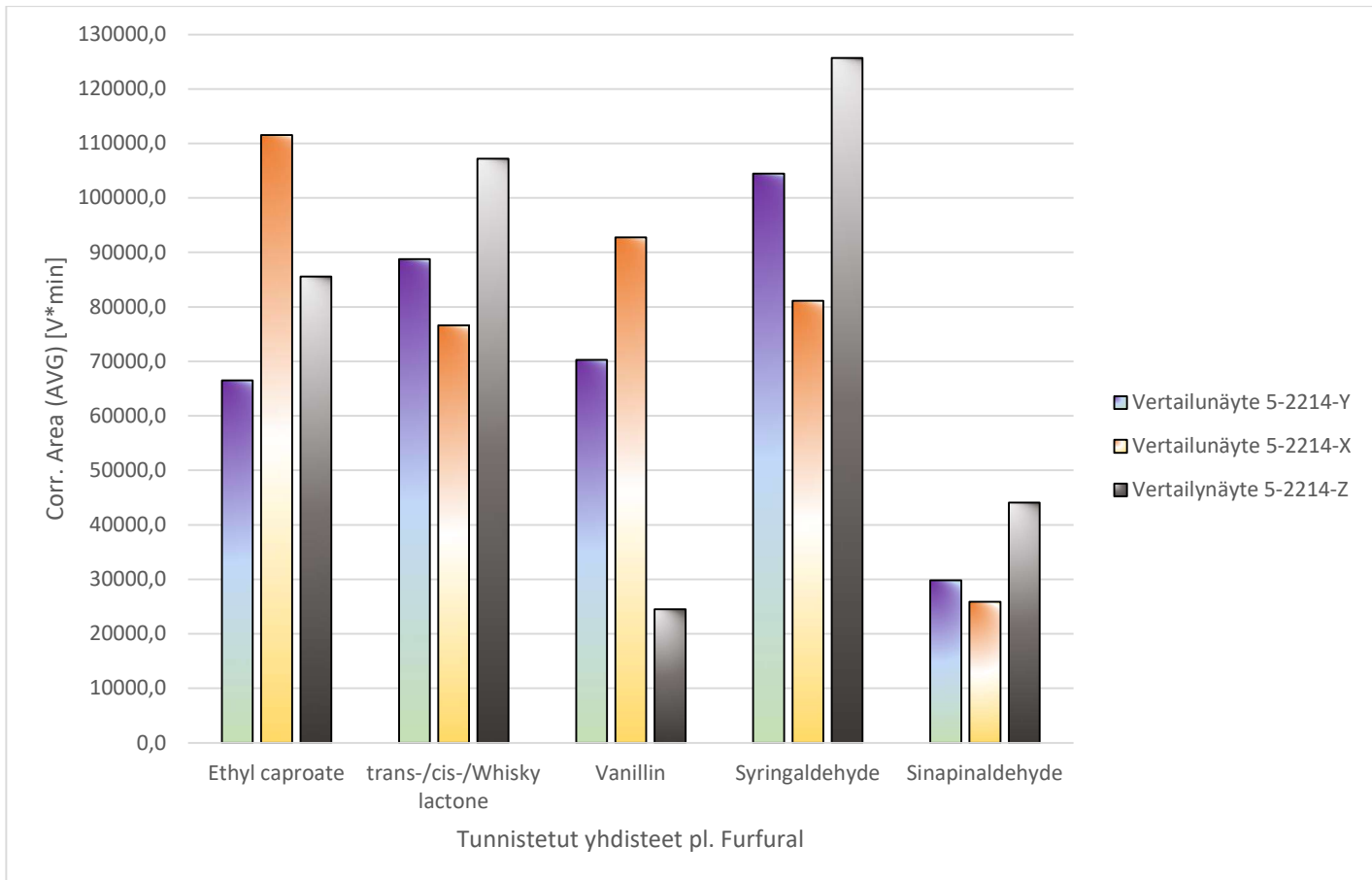
Kyrö Maltin ja New Kyrö Maltin välisiä eroja haluttiin tarkastella kokonaisina kromatogrammeina ja tuoda näin ilmi piikkien lukumääräinen ero (LIITE 11). Kyrö Maltin rinnakkaisnäytteiden keskimääräinen piikkien lukumäärä oli 31, vastaavan luvun New Kyrö Maltilla ollessa 39 kpl. Piikkien lukumäärä, jotka löytyivät vain toisesta näytteestä, olivat Kyrö Maltin osalta 4 ja New Kyrö Maltin osalta 12 kappaletta. Vain Kyrö Maltista löytyneet piikit painoutuivat kromatogrammin alkupäähän, josta tunnistettiin pääosin alkoholeja ja erilaisia happoja. Piikit, jotka löytyivät vain New Kyrö Maltista, painoutuivat kromatogrammin puolivälin jälkeiselle osalle, josta tunnistettiin enemmän esteri-, aldehydi- ja fenoliyhdisteitä. Tämän kaltainen tulos viittaa siihen suuntaan, että uuden tislaamon laitteistolla viskiin saadaan enemmän aromaattisia yhdisteitä, kuin vanhalla tislauslaitteistolla.

Kaikista kolmesta vertailunäytteestä muodostettiin yhteinen kuvaaja, josta voi huomata furfuraalin pitoisuuden olevan savuviskissä 1,9-kertainen verrattuna ei-savuisten viskien saman yhdisteen keskiarvoon (KUVAAJA 13).



KUVAAJA 13. Savuttomien vertailunäytteiden Y ja X sekä savuisen vertailunäytteen Z vertailu keskenään ja niistä tunnistetut yhdisteet

Tarkasteltavien yhdisteiden pitoisuuksista nähdään, että New Kyrö Maltin yhdisteiden pitoisuus näytteessä on 80–90-prosenttisesti sama kuin Kyrö Maltissa. Poikkeuksen tuovat ethyl caproate sekä vanilliini, joiden pitoisuudet New Kyrö Maltissa ovat 1,7- ja 1,3-kertaiset. Savuviskiä verrattiin molempien ei-savuisten viskien keskiarvoon ja siinä vanilliinin pitoisuus oli vain 0,3-kertainen verrattuna ei-savuisiin näytteisiin. Kaikissa muissa, paitsi ethyl caproatessa, savuviskin yhdistekohtaiset pitoisuudet olivat korkeampia, jossa se vastasi ei-savuisten näytteiden keskiarvoa (KUVAAJA 14).



KUVAAJA 14. Savuttomien vertailunäytteiden Y ja X sekä savuisen vertailunäytteen Z vertailu keskenään ja niistä tunnistetut yhdisteet pl. furfural

Dataa tulkittaessa huomattiin, että datan analysointiohjelmistossa oli epäluotettavuuksia piikkien tunnistettavuuden osalta. Kutakin piikkiä tuli klikata, jotta sen sisältämä data avautui, mutta eri kohtia klikkaamalla tunnistetun aineen vasteprocentti (prob.) saattoi muuttua merkittävästi, tai tunnistettu yhdiste saattoi muuttua kokonaan toiseen. Tämän vuoksi dataa tulkittaessa käytettiin vain kirjasto-ohjelman automaattisia raportteja, joka tunnisti integraalialueella olevat piikit. Integraalialueen kynnyksen oli määritetty olevan 13, jolloin suurin osa erottuvista piikeistä sisältyi siihen. Joidenkin yhdisteiden kohdalla huomattiin kuitenkin, että yhdistettä ei esiintynyt näissä automaattisissa raporteissa ollenkaan, vaikka manuaalisesti ko. yhdiste oli näytteestä löydetty. Jos kynnyksarvoa laskettiin, ohjelmisto havaitsi pohjaviivan kaiken taustakohinan piikeiksi, joka ei ollut tarkoituksenmukaista.

Olisi voinut olla järkevää suodattaa kaikki tynnyrinäytteet membraanisudattimella, mutta asia kävi ilmi vasta kun osa tynnyrinäytteistä oli jo analysoitu sellaisenaan. Kaikki jo pipetoidut ampullit käytiin läpi ja jos nestematriisissa näkyi silmin mitään kiintoainesta, näyte pipetoitiin uudestaan suodattaen.

Mahdollisesti juuri kiintoainne aiheutti joidenkin näytteiden kromatogrammiin selkeitä virhe-elementtejä. Virhe-elementtejä ei kuitenkaan ilmennyt enää uusinta-analyyseissa, joten ne eivät vaikuttaneet lopputulokseen.

Tuloksia tarkasteltaessa huomattiin, että joissain yhdisteissä tunnistettujen piikkien määrä oli huomattavasti pienempi kuin muissa. Näistä näytteistä pystyttiin kuitenkin todennäköisesti tunnistamaan samat yhdisteet manuaalisesti piikit läpi käymällä. Vähiten tunnistettuja piikkejä ja yhdisteitä esiintyi tynnyrinäytteissä, joissa oli matala alkoholipitoisuus, kuten näytteessä C-4, jonka alkoholipitoisuus oli 46,9 til-%. Tuloksia tarkastellessa huomattiin myös, että tynnyrinäytteistä pystyttiin tunnistamaan suurempia pitoisuuksia tietyistä yhdisteistä. Jotkin yhdisteet, kuten sinapinaldehyde ja vanilliini, saattoivat jäädä kokonaan tunnistamatta kontrollinäytteestä, vaikka ko. yhdistettä oli havaittu kyseisen erän tynnyrinäytteistä. Tällöin tämän yhdisteen pitoisuuden oletettiin olevan metodin määritysrajaa alempi. Kaikkien opinnäytetyössä ilmoitettujen alkoholipitoisuuksien virhemarginaali on  $\pm 0,3$  til-%.

Tuloksia ja graafisia kuvaajia koostaessa analyysilaitteistolla saaduista arvoista laskettiin keskiarvoja useaan kertaan, joiden viimeisimmästä arvosta muodostettiin pylväsdiagrammeja. Keskiarvoon sisältyy aina keskiarvon keskivirhe, jota ei tässä opinnäytetyössä laskettu. Kyseisen virheen olemassaolo ja vaikutus lopputulokselle kuitenkin tiedostettiin, eikä pylväsdiagrammeissa näkyvissä olevat arvot ole absoluuttisia, vaan niihin tulisi suhtautua enemmän suuntaa antavasti, sillä tynnyrinäytteiden välillä saattoi olla suurtakin hajontaa. Myös saman näytteen rinnakkaisanalyysien tuloksissa saattoi olla keskinäisiä poikkeamia. Pylväsdiagrammeissa käytetyistä arvoista laskettiin virhemarginaali otoskeskihajonnalla, joka kuvastaa karkeaa vaihtelun määrää tuloksissa. Liitteessä 4 esitettyihin taulukoituihin arvoihin saatettiin laskea jollekin yhdisteelle yhdistekohtainen mediaaniarvo, jota käytettiin tulosten esittämisessä niissä tilanteissa, joissa tarkasteltavalla retentioajalla piikki oli tunnistettavissa, mutta sen suuruus oli pienempi kuin integraalialueen kynnysarvo. Käyttämällä tällaista arvoa tuloksissa arveltiin tuloksen olevan todenmukaisempi, kuin käyttämällä arvoa 0. Yhdistekohtaisia mediaaniarvoja käytettiin seuraavissa yhdisteissä seuraaville näytteille: ethyl caproatelle näytteessä C-4, trans-/cis-/whisky lactonelle näytteessä D-11, vanilliinille näytteissä C-3, C-4, C-14, D-5, D-11 ja D-12 sekä sinapinaldehydelle näytteissä B-34, C-4, D-5, D-10 ja D-15. Jos yhdisteelle ei löydetty näkyvää piikkiä manuaalisesti etsimällä tietyltä retentioajalta, sen arvoksi merkittiin nolla.

## 6 JOHTOPÄÄTÖKSET

Opinnäytetyön tavoitteena oli selvittää, millaisia aromaattisia puujohdannaisia yhdisteitä eri-ikäisistä näytteistä löytyisi. Kemiallisen koostumuksen kartoittamisen toivottiin auttavan haluttujen ja ei-haluttujen yhdisteiden pitoisuuksien kontrolloimisessa. Lisäksi tavoitteena oli tuoda ilmi erot uuden ja vanhan tislaamon laitteistoilla tislatuista viskeistä. Viskin aromeihin eräitä vaikuttavia tekijöitä ovat tislauksennujien koko, muoto, kallistuskulmat, materiaali sekä materiaalin kosketuspinta-ala nesteeseen. Kaikki vertailu perustui kuuteen indikaattoriaromiin ja niiden pitoisuuksiin näytteissä, näytteiden alkoholipitoisuuden tai kromatogrammien vertailuun. Työn analyttinen osuus suoritettiin kaasukromatografilla, jossa oli massantunnistin sekä kirjasto-ohjelma NIST 08.

Vertailtaviksi puujohdannaisiksi aromeiksi valittiin yhdessä toimeksiantajan kanssa furfuraali, etyylikaproaatti, viskin laktonit, vanilliini, syringiinaldehydi ja sinappialdehydi. Näytteiden kokonaismäärä oli 84, joista vertailunäytteitä oli kolme, kontrollinäytteitä neljä ja tynnyrinäytteitä yhteensä 77. Tynnyrinäytteistä NAO-näytteitä oli 51 ja EXB-näytteitä 26, joista 14 kpl oli NAO + EXB -näytteitä. Tynnyreitä oli kypsytetty vähintään kolmen vuoden ajan. Kypsytyssajat olivat karkeasti arvioiden eräkohtaisesti samankaltaisia, ilman merkittävää vaihtelua. Yksittäisissä tynnyrinäytteissä saattoi olla suuria eroja, mutta niiden tarkempaan tarkasteluun ei tässä opinnäytetyössä ollut resursseja. Alkoholipitoisuudet erien B, C ja D välillä vaihtelivat. Erässä B alkoholipitoisuus vaihteli kaikkien tynnyrien välillä arvojen 55,7 ja 59,2 til-% välillä, lukuun ottamatta yhtä näytettä, jonka alkoholipitoisuus oli 46,3 til-%. Erässä C vaihtelua oli alkoholipitoisuuksien 46,9 ja 58,1 til-% välillä ja vastaavat arvot erässä D olivat 50,0 ja 63,3 til-%. Alkoholipitoisuuden vaihtelun oletettiin tuovan tuloksiin eniten vaihtelua, joka oli peräisin yksittäisestä muuttujasta.

Vertailunäytteissä Y, X ja Z alkoholipitoisuudet olivat samat,  $47,2 \pm 0,3$  til-%, mikä minimoi alkoholipitoisuuden vaihtelun tuomat erot tarkasteltavien yhdisteiden pitoisuuksissa. Näytteet Y ja X edustivat Kyrö Maltia ja New Kyrö Maltia, joka on tislattu uuden tislaamon laitteistolla ja Z savuista Kyrö Wood Smokea. Eroja näytteiden Y ja X välillä syntyi kromatogrammiin piirtyneiden piikkien määrästä sekä ethyl caproaten ja vanilliinin pitoisuuksista, jotka olivat 1,7- ja 1,3-kertaisia New Kyrö Maltissa. Savuviskissä vanilliinin pitoisuus oli vain kolmasosan verrattuna sen pitoisuudesta ei-savuisten viskien keskiarvoon laskettuna. Kaikissa muissa, paitsi ethyl caproatessa, savuviskin yhdistekohtaiset pitoisuu-

det olivat korkeampia, joten se vastasi ei-savuisten näytteiden keskiarvoa. Savuviskin pitoisuudet furfuraalille, viskin laktoneille, syringiinaldehydille ja sinappialdehydille olivat ei-savuisten viskien keskiarvopitoisuuksiin verrattuna 1,9-, 1,3-, 1,4- ja 1,6-kertaiset.

Kontrollinäytteissä 5-2214-B, 5-2214-C ja 5-2214-D tutkittavien yhdisteiden pitoisuudet olivat aina tynnyrinäytteistä todettuja matalampia. Tämä johtui todennäköisesti suorainjektioon määritysrajan korkeudesta metodina ja alkoholipitoisuuden suuresta muutoksesta vating-vaiheessa. Vain kontrollinäytteessä 5-2214-B pystyttiin määrittämään pitoisuudet myös vanilliinille ja sinapinaldehydelle muihin kontrollinäytteisiin verrattuna. Kontrollinäytteessä 5-2214-C määritysrajaa alempia pitoisuuksia oli vanilliinilla ja sinapinaldehydella, joiden lisäksi määritysrajan alitti ethyl caproate kontrollinäytteessä 5-2214-D.

Kun kaikkien erien kontrollinäytteitä ja tynnyryttypikohtaisia tuloksia verrattiin yhdessä, huomattiin yhdisteiden pitoisuuksien olevan suurimpia pääsääntöisesti erässä B niin tynnyrinäytteissä kuin kontrollinäytteissäkin. Furfuraalin pitoisuus kontrollinäytteissä oli suurin näytteessä 5-2214-D ja pienin näytteessä 5-2214-B, ethyl caproaten suurin pitoisuus todettiin kontrollinäytteestä 5-2214-C ja näytteessä 5-2214-D se oli alle määritysrajan. Viskin laktonien pitoisuus oli niin ikään suurin kontrollinäytteessä 5-2214-C ja pienin näytteessä 5-2214-D. Vanilliinia havaittiin vain kontrollinäytteestä 5-2214-B, ja saman näytteen pitoisuus oli kontrollinäytteistä suurin yhdisteellä syringaldehyde. Vanilliinin tapaan myös sinapaldehydea havaittiin vain kontrollinäytteestä 5-2214-B.

New American Oak -tynnyreitä tarkasteltaessa furfuraalin pitoisuus oli suurin erässä D ja pienin erässä B ja vastaavasti ethyl caproaten pitoisuus oli suurin erässä D ja pienin erässä C. Viskin laktonien pitoisuus oli korkeinta erän B NAO-tynnyreissä ja matalinta erässä C, kun taas vanilliinin osalta erän D pitoisuuksien keskiarvo oli jopa 8,5-kertainen verrattuna vanilliinin pienimpiin pitoisuuksiin erässä C. Syringaldehyden ja sinapaldehyden pitoisuudet olivat korkeimmat erässä B ja matalimmat erässä C. Ex-bourbon-tynnyreissä furfuraalin pitoisuus eriä vertaillessa oli suurinta erässä D ja pienintä erässä C, kun ethyl caproaten pitoisuus oli niin ikään erässä D suurin ja erässä B pienin. Viskin laktoneiden, vanilliinin, syringaldehyden ja sinapaldehyden pitoisuudet oli korkeimmat erän B ex-bourbon-tynnyrinäytteissä ja pienimmät erässä D.

Kaiken kaikkiaan vaikutti siltä, että alkoholipitoisuus vaikutti yhdisteiden pitoisuuksiin merkittävästi. Liian matalalla alkoholipitoisuudella pitoisuus saattoi olla alle määritysrajan, mutta muutamissa näyt-

teissä huomattiin etsityn piikin puuttuvan kokonaan. Alkoholipitoisuuden nostaminen ei toisaalta vaikuttanut lisäävän yhdisteiden pitoisuuksia lineaarisesti, vaan tietyn alkoholipitoisuuden ylittyttyä yhdisteiden pitoisuudet olivat jälleen matalia. Tarkasteltavat yhdisteet reagoivat eri tavoin eri alkoholipitoisuuksilla, jonka vuoksi täydellistä alkoholipitoisuutta, missä jokaista tarkasteltavaa yhdistettä olisi maksimaalinen määrä, on mahdotonta määrittää. Huomion arvoista on myös se, että tässä opinnäytetyössä tarkastellun kuuden aromaattisen puujohdannaisen yhdisteen sijaan viskistä löytyy useita satoja yhdisteitä, joista osa on haluttuja ja osa ei-haluttuja. Koska analysoitavat tynnyrinäytteet olivat keskenään yhtä kauan kypsyneitä, ei saatu määritettyä hetkeä, jolloin tiettyjä puujohdannaisia yhdisteitä alkaa muodostua tynnyrin sisällä.

Voisi olla mielenkiintoista jatkaa tutkimusta käyttäen eri menetelmiä, kuten HS- tai SPME-menetelmää, joita käytetään laajalti haihtuvien yhdisteiden analysointiin pienissä pitoisuuksissa. Näillä menetelmillä työskennellessä haihtuvat yhdisteet saattavat antaa selkeämpiä piikkejä ja spektrejä. Toinen mahdollinen jatkotutkimuksen lähestymiskanta voisi olla se, että valitaan ennen analyysia tietyt yhdisteet, joihin keskitytään ja niihin hankitaan standardit. Tällöin kirjasto-ohjelman luotettavuuteen liittyvät virhe-elementit voidaan näiden yhdisteiden osalta sulkea pois. Lisäksi sisäisiä standardeja käytettäessä näiden yhdisteiden pitoisuus näytteessä voidaan määrittää tarkasti. Myös KDC:n viskituotteiden välillä olisi mielenkiintoista tehdä tässä työssä tehtyä huomattavasti kattavampaa vertailua aromaattisten yhdisteiden välillä. Kaikki edellä mainitut lähestymistavat ovat kuitenkin jo itsessään työläitä ja sisältävät paljon taustatyötä laitteistojen ja menetelmien osalta.

## LÄHTEET

Agilent Technologies. 2017. *Interpretation of Electron Ionization Spectra*. Opiskelijan käsikirja. Alpharetta: Agilent Technologies Inc.

Aylott, R. 2022. *Whisky and Other Spirits*. 3. painos. Dunblane: Aylott Scientific. Saatavilla: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128220764000097?via%3Dihub>. Viitattu 1.2.2023.

Baxter, I., Daute, M., Grigor, J., Jack, F., Walker, G. 2021. Comparison of Three Approaches to Assess the Flavour Characteristics of Scotch Whisky Spirit. *MDPI*. Saatavilla: <https://www.mdpi.com/2076-3417/11/4/1410>. Viitattu 31.1.2023.

Biernacka, P. & Wardencki, W. 2012. Volatile composition of raw spirits of different botanical origin. *Wiley Online Library*. Saatavilla: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jib.55>. Viitattu 25.4.2023.

Biernacka, P., Wardencki, W., Plutowska, B. 2010. Identification of Volatile Compounds in Raw Spirits of Different Organoleptic Quality. *Journal of The Institute of Brewing*. Volume 116, No 4. 433-439. Saatavilla: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/j.2050-0416.2010.tb00794.x>. Viitattu 25.4.2023.

Câmara, J. S., Marques, J. C., Perestrelo, R. M., Rodrigues, F., Oliveira, L., Andrade, P., Caldeira, M. 2006. *Evaluation of volatile constituents profile in Scotch whisky by SPME/GC-itMS*. Funchal. University of Madeira, Department of Química. Saatavilla: <https://iufost.edpsciences.org/articles/iufost/pdf/2006/01/iufost06000924.pdf> Viitattu 25.4.2023.

Demyttenaere, J., Martinez, J., Verhé, R., Sandra, P., De Kimpe, N. 2003. Analysis of volatiles of malt whisky by solid-phase microextraction and stir bar sorptive extraction. *Journal of Chromatography A*. 985, 221-232. Saatavilla: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0021967302014711>. Viitattu 25.4.2023.

Dou, Y. 2017. *Chemical fingerprinting of whisky and gin with ultrahigh-resolution mass spectrometry*. Joensuu. University of Eastern Finland, Department of Chemistry. Maisterin opinnäytetyö. Saatavilla: <http://urn.fi/urn:nbn:fi:uef-20170731>. Viitattu 22.4.2023.

*Euroopan parlamentin ja neuvoston aset.* 17.4.2019/787. Saatavissa: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FI/TXT/?uri=CELEX:32019R0787>. Viitattu 2.5.2023.

Jalo, V. 2022. *Analysis of volatile aroma-active compounds from a headspace of a novel whiskey glass*. Turku: University of Turku Department of Life Technologies. Master's Degree Programme in Food Development. Master's thesis. Saatavilla: <https://urn.fi/URN:NBN:fi-fe2022061747392>. Viitattu 25.4.2023

Koski Syväri. *Tislaamo*. Saatavilla: [https://cdn.shopify.com/s/files/1/0625/1374/2053/files/Tislaamo\\_3\\_Kuvaaja\\_Koski\\_Syva\\_ri\\_750x.jpg?v=1644223142](https://cdn.shopify.com/s/files/1/0625/1374/2053/files/Tislaamo_3_Kuvaaja_Koski_Syva_ri_750x.jpg?v=1644223142). Viitattu 1.2.2023.

Kujala, J. 2023. Yrityksen toiminnan esittely 16.1.2023. Kyrö Distillery Company. Isokyrö.

- Kyrö Distillery Company. 2023a. Henkilöstön kertomat asiat tuotannosta, useita keskusteluja. 16.–20.1.2023.
- Kyrö Distillery Company. 2023b. *Kyrön tarina*. Saatavilla: <https://kyrodistillery.fi/pages/kyron-tarina>. Viitattu 1.2.2023.
- Kyrö Distillery Company. 2023c. *Rukiiset tuotteet*. Saatavilla: [https://kyrodistillery.fi/collecti-  
ons/kaikki-juomat](https://kyrodistillery.fi/collecti-<br/>ons/kaikki-juomat). Viitattu 1.2.2023.
- Kyrö Distillery Company. 2023d. Henkilöstön kertomat asiat tuotannosta, useita keskusteluja. 21.–24.3.2023.
- Livermore, D. 2010. *Quantification of Oak Wood Extractives via Gas Chromatography – Mass Spectrometry and Subsequent Calibration of Near Infrared Reflectance to Predict the Canadian Whisky Ageing Process*. Edinburgh: Heriot-Watt University, International Centre for Brewing & Distilling. Väitöskirja. Saatavilla: <http://hdl.handle.net/10399/2591>. Viitattu 4.4.2023.
- MacLean, C & Nikkanen, J. 2010. *Maailman viskit*. Helsinki: Readme.fi.
- MacNamara, K. & McGuigan, F. 2010. Automated Static and Dynamic Headspace Analysis with GC-MS for Determination of Abundant and Trace Flavour Compounds in Alcoholic Beverages Containing Dry Extract. *Global Analytical Solutions*. AN/2010/03. Saatavilla: [https://www.gerstelus.com/wp-content/uploads/2017/07/2010-03\\_dhs\\_hs-alcoholic-beverages.pdf](https://www.gerstelus.com/wp-content/uploads/2017/07/2010-03_dhs_hs-alcoholic-beverages.pdf). Viitattu 6.2.2023.
- Morales, M.L., Troncoso, A.M., Mas, A., Ubeda, C., Callejón, R.M., Hidalgo, C., Torija, M.J. 2010. Determination of major volatile compounds during the production of fruit vinegars by static headspace gas chromatography–mass spectrometry method. In A. Sant’Ana (Ed.) *Food Research International*. Science Direct. Volume 44, issue 1. 259-268. Saatavilla: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.025>. Viitattu 6.2.2023.
- Ng, L. K. 2002. Analysis by gas chromatography/mass spectrometry of fatty acids and esters in alcoholic beverages and tobaccos. In E. Heftmann (Ed.) *Analytica Chimica Acta*. Science Direct. Volume 465, issues 1-2. 309-318. Saatavilla: [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)01497-0](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)01497-0). Viitattu 6.2.2023.
- Nikkanen, J. 2022a. *Viskien salaisuudet*. Helsinki: Readme.fi.
- Nikkanen, J. 2022b. *Viskimaailma*. Helsinki: Readme.fi.
- Nikkanen, J., Honkanen, M. 2013. *Viski: suomalainen viski ja viskikulttuuri*. Helsinki: Readme.fi.
- Papaicadomou, N., Barnes, Q., Vial, J., Thiébaud, D., De Saint Jores, C., Steyer, D., Contamin, M.A., Fernandez, X. 2022. Characterization of Flavor Compounds in Distilled Spirits: Developing a Versatile Analytical Method Suitable for Micro-Distilleries. *Foods*. 11, 3358. Saatavilla: <https://www.mdpi.com/2304-8158/11/21/3358>. Viitattu 25.4.2023.
- Paterson, A., Lee, K.Y.M., Birkmyre, L., Piggott, J.R. 2001. Headspace Congeners of Blended Scotch Whiskies of Different Product Categories from SPME Analysis. *Journal of The Institute of Brewing*.

Volume 107, No 5, 315-332. Saatavilla: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/j.2050-0416.2001.tb00100.x>. Viitattu 25.4.2023.

Platthaus, M. 2011. *Whiskeyaromen mit kombinierter Headspace-Technik analysieren*. Laborpraxis. Saatavilla: <https://www.laborpraxis.vogel.de/whiskeyaromen-mit-kombinierter-headspace-technik-analysieren-a-306694/>. Viitattu 6.2.2023.

Stack, M.A., Fitzgerald, G., James, K.J., MacNamara, K. 2000. Characterisation of whiskeys using solid-phase microextraction with gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 896, 351-359. Saatavilla: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0021967300007378>. Viitattu 25.4.2023.

Stupak, M., Goodall, I., Tomaniova, M., Pulkrabova, J., Hajslova J. 2018. A novel approach to assess the quality and authenticity of Scotch Whisky based on gas chromatography coupled to high resolution mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. Volume 1042, 60-70. Saatavilla: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267018310869>. Viitattu 25.4.2023.

Torres, J. 2022. *Gas Chromatography: What It Is, How It Works, and 5 Critical Components*. BiteSizeBio. Saatavilla: <https://bitesizebio.com/28687/carrying-gas-chromatography/>. Viitattu 22.2.2023.

Valkonen, K. 2022. Kyrö Distillery Companyn päätislaajan ehdotus opinnäytetyön aiheesta, esitysmaateriaali. 9.11.2022.

Valkonen, K. 2023a. Henkilökohtainen tiedoksianto. 22.3.2023. Kyrö Distillery Company. Isokyrö.

Valkonen, K. 2023b. Opinnäytetyöhön asiasisältöön liittyvät korjaukset. Yksityinen sähköposti. 24.4.2023. Viestin saaja Liisa Pokela.

Valkonen, K, Kujala, J. *Uuden tislaamon kupariset tislauspannut*. Saatavilla: [https://media.cdn.teamtailor.com/images/s3/teamtailor-production/gallery\\_picture-v6/image\\_uploads/de789227-848d-4d13-ae8b-f259224a2930/original.jpeg](https://media.cdn.teamtailor.com/images/s3/teamtailor-production/gallery_picture-v6/image_uploads/de789227-848d-4d13-ae8b-f259224a2930/original.jpeg). Viitattu 1.2.2023.

Whiskipedia. 2021. *Vatted versus blended*. Saatavilla: <https://whiskipedia.com/fundamentals/vatted-versus-blended/#blending-versus-vatting>. Viitattu 4.4.2023.

Wine & Spirit Education Trust. 2017. *Spirits: looking behind the label*. Lontoo: Wine & Spirit Education Trust.

## LIITE 1

Uunin lämpötilaohjelmia		GC:n asetuksia	amu = atomic mass unit m/z = vastaava kuin amu, mass to charge ratio
<b>Livermore:</b> <b>KÄYTETTY 7.3. &amp; tynnyrinäytteille</b> 35 °C for 2 min > 7,5 °C/min 60 °C for 0,5 min > 15 °C/min 150 °C for 0,75 min > 15 °C/min 240 °C for 14,42 min TOT: 33min		<b>Livermore:</b> He = <del>1,5 ml/min</del> <b>1 ml/min</b> SPLIT T <sub>injector</sub> = 250 °C <b>50:1</b> T <sub>transfer line</sub> = 170 °C Mass scan range = <del>15-480</del> <b>28-550</b> m/z Mass scan turned off <del>2,4-6,0</del> <b>2,5</b> mins for ethanol passage	
<b>Jalo:</b> GC-O 40 °C > 5 °C/min 220 °C > 10 °C/min 240 °C for 5min TOT: 43min			
<b>Pinu &amp; Villas-Boas:</b> 50 °C for 1 min > 40 °C/min 200 °C TOT: 4,75min		<b>Pinu &amp; Villas-Boas:</b> He = x SPLIT T <sub>injector</sub> = x °C 100:1 T <sub>interface</sub> = 230 °C T <sub>quadrupole</sub> = 150 °C Mass scan range = 30-250 amu Mass scan turned off 2,03-2,21 mins for ethanol passage	
<b>Sculz et al:</b> HS-GCMS 40 °C for 5 min > 10 °C/min 220 °C for 20 min TOT: 43min		He = 1,7 ml/min SPLIT T <sub>injector</sub> = 220 °C 4:1 T <sub>interface</sub> = 250 °C T <sub>quadrupole</sub> = 150 °C T <sub>source</sub> = 230 °C Mass scan range = 33-270 amu	
<b>Akrida-Demertzi et al:</b> Direct injection 40 °C for 7 min > 15 °C/min 160 °C for 1 min > 30 °C/min 230 °C for 5 min TOT: 24min		<b>KÄYTETTY 6.3.</b> He = 1,45 ml/min <b>1 ml/min</b> SPLIT T <sub>injector</sub> = 200 °C ratio=50ml/min T <sub>detector</sub> = 240 °C T <sub>quadrupole</sub> = x °C <b>150 °C</b> T <sub>source</sub> = x °C <b>230 °C</b> Mass scan range = 28-550 amu	
<b>Morales et al:</b> <b>KÄYTETTY 1.-6.3.</b> 35 °C for 5 min > 4 °C/min 135 °C > 10 °C/min 200 °C for 5 min TOT: 41,5min		<b>Morales et al:</b> He = 1 ml/min SPLIT T <sub>injector</sub> = 200 °C 10:1 T <sub>transfer line</sub> = 250 °C T <sub>quadrupole</sub> = 150 °C T <sub>source</sub> = 230 °C Mass scan range = 29-350 amu	

BioMateriaalilaboratorio Area Percent Report

Data Path : C:\MassHunter\GCMS\1\data\Kyro Distillery\7.3\  
 Data File : 5-2214-Ba\_07\_03\_23\_LP.D  
 Acq On : 07 Mar 2023 09:07  
 Operator : LP  
 Sample : 5-2214-B  
 Misc :  
 ALS Vial : 2 Sample Multiplier: 1

Integration Parameters: events.e  
 Integrator: ChemStation

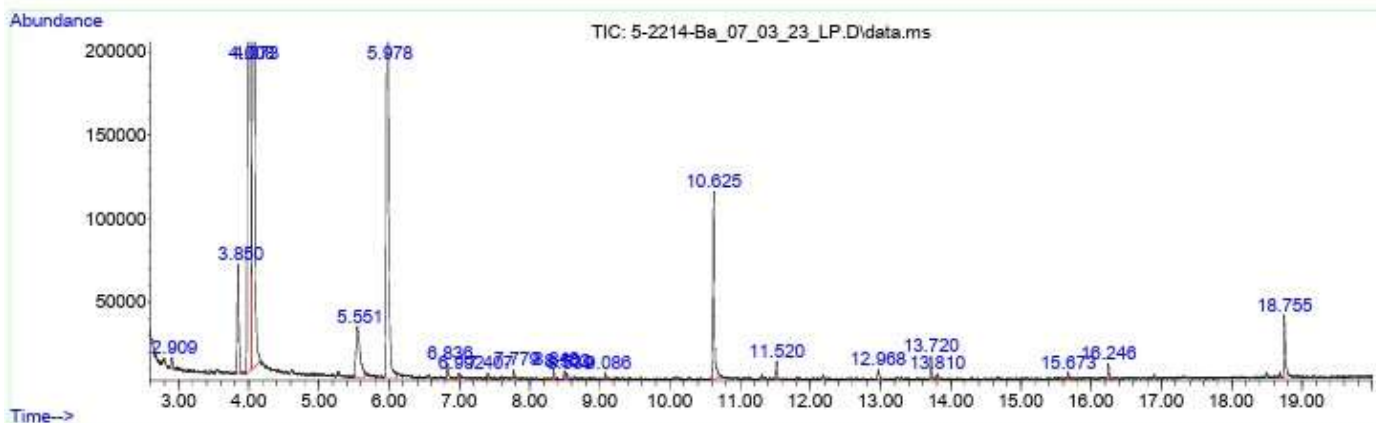
Method : C:\MassHunter\GCMS\1\methods\Viskianalyysi.M  
 Title :

Signal : TIC: 5-2214-Ba\_07\_03\_23\_LP.D\data.ms

peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	2.909	56	62	73	PV 7	6387	133395	0.38%	0.224%
2	3.850	237	243	251	VV	66535	1018261	2.89%	1.711%
3	4.008	264	273	280	PV	2148692	35177845	100.00%	59.117%
4	4.073	280	286	304	VV	709654	12032524	34.20%	20.221%
5	5.551	557	570	588	PV 3	30241	1196284	3.40%	2.010%
6	5.978	641	652	676	PV	301547	6501589	18.48%	10.926%
7	6.836	812	817	824	VV 3	8801	154616	0.44%	0.260%
8	6.992	842	847	851	PV 3	3456	58554	0.17%	0.098%
9	7.407	923	927	932	PV 5	3497	49943	0.14%	0.084%
10	7.779	994	999	1008	VV 3	5115	63505	0.18%	0.107%
11	8.348	1084	1108	1128	PV 4	5720	100736	0.29%	0.169%
12	8.502	1128	1138	1141	VV 4	4871	68628	0.20%	0.115%
13	8.539	1141	1145	1150	VV 4	3477	43352	0.12%	0.073%
14	9.086	1246	1250	1257	PV 4	4074	45843	0.13%	0.077%
15	10.625	1537	1546	1569	VV	113573	1630014	4.63%	2.739%
16	11.520	1712	1718	1730	PV 2	10508	121007	0.34%	0.203%
17	12.968	1986	1997	2008	PV 5	5974	115029	0.33%	0.193%
18	13.720	2136	2141	2153	VV 4	13772	195197	0.55%	0.328%
19	13.810	2153	2159	2164	PV 4	2968	47903	0.14%	0.081%
20	15.673	2512	2517	2531	VV 5	3921	64726	0.18%	0.109%
21	16.246	2622	2627	2635	VV 2	9426	128695	0.37%	0.216%
22	18.755	3104	3110	3125	PV	35507	557595	1.59%	0.937%

Sum of corrected areas: 59505243

Viskianalyysi.M Thu Mar 16 12:16:23 2023



## BioMateriaalilaboratorio

## Library Search Report

Data Path : C:\MassHunter\GCMS\1\data\Kyro Distillery\7.3\  
 Data File : 5-2214-Ba\_07\_03\_23\_LP.D  
 Acq On : 07 Mar 2023 09:07  
 Operator : LP  
 Sample : 5-2214-B  
 Misc :  
 ALS Vial : 2 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\NIST08.L Minimum Quality: 0  
 C:\Database\OMA.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex  
 Integration Events: ChemStation Integrator - events.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	2.909	0.22	C:\Database\NIST08.L 1-Butanol	836	000071-36-3	9
			2-Butanol, (R)-	841	014898-79-4	9
			Methyl formate	266	000107-31-3	7
2	3.850	1.71	C:\Database\NIST08.L Isoxazolidine	728	000504-72-3	43
			Ethane, 1,1-diethoxy-	8734	000105-57-7	40
			Methoxymethyl isothiocyanate	4492	019900-84-6	38
3	4.008	59.12	C:\Database\NIST08.L 1-Butanol, 3-methyl-	2111	000123-51-3	90
			1-Butanol, 3-methyl-	2103	000123-51-3	83
			1-Butanol, 3-methyl-	2110	000123-51-3	78
4	4.073	20.22	C:\Database\NIST08.L 1-Butanol, 2-methyl-, (+/-)-	2126	034713-94-5	91
			1-Butanol, 2-methyl-, (S)-	2121	001565-80-6	83
			1-Butanol, 2-methyl-	2104	000137-32-6	83
5	5.551	2.01	C:\Database\NIST08.L Isopropyl Alcohol	297	000067-63-0	72
			Propanoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester, (S)-	8642	000687-47-8	56
			R-(-)-1,2-propanediol	940	004254-14-2	56
6	5.978	10.93	C:\Database\NIST08.L Furfural	2712	000098-01-1	97
			Furfural	2713	000098-01-1	95
			Furfural	2714	000098-01-1	94
7	6.836	0.26	C:\Database\NIST08.L 1-Hexanol	4376	000111-27-3	47
			1-Hexanol	4379	000111-27-3	47
			1-Hexanol	4370	000111-27-3	38
8	6.992	0.10	C:\Database\NIST08.L Pentyl glycolate	21624	005426-43-7	23
			1-Butanol, 3-methyl-, acetate	13337	000123-92-2	23
			Cyclopropane, 1,2-dimethyl-, trans	581	002402-06-4	9
9	7.407	0.08	C:\Database\NIST08.L Dimethylamine	87	000124-40-3	9
			1H-Pyrrole, 1-methyl-	1115	000096-54-8	9
			3-Cyclohexene-1-carboxylic acid	11055	004771-80-6	9

10	7.779	0.11	C:\Database\NIST08.L Formamide, N-methoxy- 2-Propanone, 1,1-diethoxy- Carbamic acid, ethyl-, methyl este	872 034005-41-9 37 21626 005774-26-5 25 4547 006135-31-5 9
11	8.348	0.17	C:\Database\NIST08.L Maleamic acid 2,4-Imidazolidinedione, 5-methyl- Cyclohexanone, 3-hydroxy-	7629 000557-24-4 33 7015 000616-03-5 25 7136 000623-19-8 16
12	8.502	0.12	C:\Database\NIST08.L 2-Cyclobutene-1-carboxamide Pyridine, 3-methyl-, 1-oxide 1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde, 1-methyl-	2947 053778-54-4 9 5532 001003-73-2 4 5540 001192-58-1 4
13	8.539	0.07	C:\Database\NIST08.L s-Hydroxymethylthiobenzoate 2,4-Heptadien-6-ynal, (E,E)- Dimethylamine	36383 023853-33-0 9 5029 007200-04-6 7 87 000124-40-3 4
14	9.086	0.08	C:\Database\NIST08.L Butanoic acid, ethyl ester Butanoic acid, 2,2-dimethyl- Ethanedial, dioxime	8055 000105-54-4 17 8066 000595-37-9 17 1935 000557-30-2 17
15	10.625	2.74	C:\Database\NIST08.L Phenylethyl Alcohol Phenylethyl Alcohol Phenylethyl Alcohol	9807 000060-12-8 97 9805 000060-12-8 94 9806 000060-12-8 91
16	11.520	0.20	C:\Database\NIST08.L Octanoic acid, ethyl ester Heptanoic acid, ethyl ester Octanoic acid, ethyl ester	38641 000106-32-1 59 29651 000106-30-9 53 38647 000106-32-1 50
17	12.968	0.19	C:\Database\NIST08.L Heptanal 3,3'-Iminobispropylamine Cyclopropanecarboxamide	7357 000111-71-7 28 13773 000056-18-8 23 1549 006228-73-5 17
18	13.720	0.33	C:\Database\NIST08.L Decanoic acid, ethyl ester Decanoic acid, ethyl ester Decanoic acid, ethyl ester	59305 000110-38-3 64 59306 000110-38-3 64 59297 000110-38-3 64
19	13.810	0.08	C:\Database\NIST08.L 6H-Purin-6-one, 2-amino-1,7-dihydro- 8-Methyl-5-oxo-5,8-dihydro-(1,2,4)- -triazolo[3,4-c](1,2,4)-triazine 4-Amino-6-hydroxypyrazolo[3,4-d]pyrimidine	24266 000073-40-5 9 24282 059105-06-5 9 24270 005472-41-3 9
20	15.673	0.11	C:\Database\NIST08.L 1,4-Dioxane Pentanoic acid, ethyl ester 3,3'-Iminobispropylamine	2000 000123-91-1 9 13317 000539-02-2 9 13773 000056-18-8 9
21	16.246	0.22	C:\Database\NIST08.L Benzaldehyde, 4-hydroxy-3,5-dimethoxy- Benzaldehyde, 4-hydroxy-3,5-dimethoxy- Benzaldehyde, 4-hydroxy-3,5-dimethoxy-	46584 000134-96-3 76 46582 000134-96-3 53 46583 000134-96-3 49
22	18.755	0.94	C:\Database\NIST08.L Hexadecanoic acid, ethyl ester Hexadecanoic acid, ethyl ester Ethyl tridecanoate	124589 000628-97-7 95 124591 000628-97-7 91 91831 028267-29-0 72

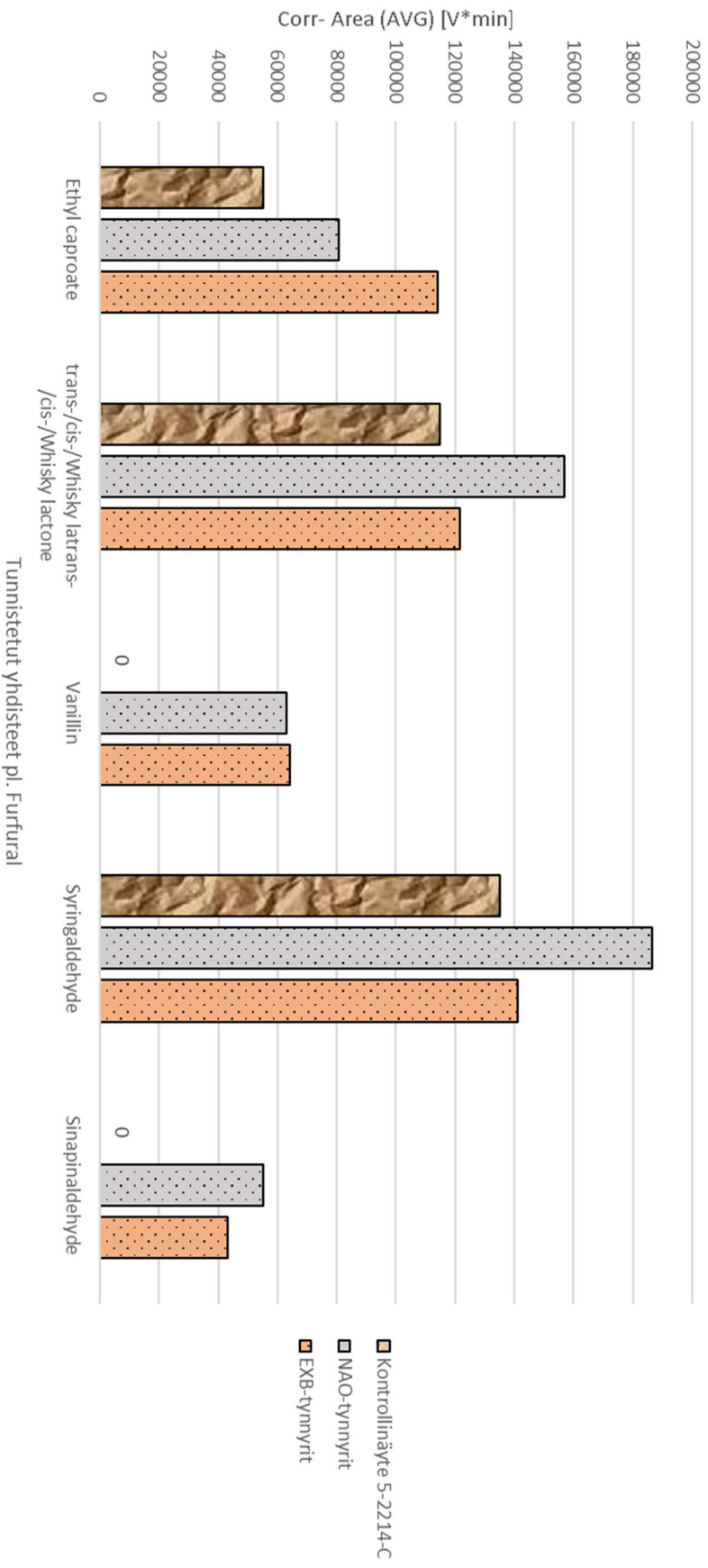


NAO	Furfural	Ethyl caproate	Trans/Cis-oak lactone	Vanillin	Syringaldehyde	Sinapinaldehyde
B-1_41	8411278,0	75345,0	197385,5	114412,0	276344,0	68418,5
	6886386,0	86373,5	214739,0	143039,5	301994,5	72112,5
	10171164,0	107797,5	187264,5	136371,0	288319,0	92503,0
	7338996,5	95435,5	171400,0	116060,5	323601,0	81357,0
	6145438,0	90695,0	202585,0	110600,5	366618,5	93220,0
	6845710,5	78063,0	254968,0	128744,5	339578,0	63907,5
	7175322,0	81939,5	162447,5	173092,5	321866,0	66584,0
	9145455,5	103791,0	271019,5	253721,0	501419,5	116289,0
	6542206,5	87117,5	190611,0	159101,5	399039,5	102921,5
	8523727,5	87592,0	244380,5	216008,0	456571,0	138499,0
	8671114,0	87203,0	152337,5	118177,5	262200,5	57724,0
	10133740,0	100334,5	236446,0	153821,0	392093,5	73318,0
	6978111,5	77591,0	208665,5	143797,0	391437,5	87018,0
	6973199,0	84211,5	191478,0	138073,5	389855,5	68396,0
	6583589,0	72310,5	245508,0	151148,0	385629,0	88654,0
	7246569,5	89319,5	237966,5	174312,5	449611,0	104880,5
	7367498,5	84876,5	300820,5	216858,0	581364,5	122509,0
	7927078,0	74369,5	358681,5	283359,0	664580,5	125441,5
	8837252,0	105420,0	212981,5	193048,5	443639,0	71289,5
	6475352,5	87594,0	225112,5	126575,0	335834,0	351531,0
	6969563,0	100478,0	226990,5	142642,0	303630,5	24146,5
	5995610,0	93530,5	209576,0	176609,5	409148,0	62913,5
	12008394,5	104320,5	183113,0	191752,0	432184,0	87140,0
	10049066,0	86502,5	195047,0	165562,0	470272,0	79088,5
	7444432,5	81681,0	235515,0	163703,0	489994,0	100384,0
	3476839,4	64102,5	194993,0	137339,5	382523,5	88387,5
Corr. Area (AVG)	<b>7704734,4</b>	<b>87999,8</b>	<b>219693,6</b>	<b>162612,7</b>	<b>398436,5</b>	<b>95716,7</b>
keskihajonta	1705008,7	11120,3	44036,6	42804,0	94246,7	57569,1
C-1_18	12250071,5	92896,0	130737,5	42583,5	127212,5	36786,5
	11636436,5	72377,0	120585,0	20077,5	120576,0	31241,5
	13885894,5	111830,0	269958,5	186592,5	490202,5	106452,5
	9796061,5	108886,5	126035,0	25352,5	157566,0	56259,5
	17308664,0	110278,5	178559,5	33619,5	150846,5	62560,5
	8036969,0	69536,5	168583,5	22783,0	70210,0	31347,0
	7817731,0	44955,5	204411,5	119206,5	322504,0	84116,0
	7368582,5	57775,5	113532,0	31140,0	153561,0	44583,0
	9318177,5	87154,0	134481,5	31880,0	153202,0	44212,0
	7063337,5	76714,0	134878,5	40660,0	131595,5	53820,0
	6165990,5	57614,0	133918,0	119334,5	143866,0	16237,5
	7360525,5	84938,0	158397,5	65480,5	186283,0	73075,0
	9735862,5	76395,0	164320,0	81544,5	215962,5	74607,5
ka	<b>9826484,9</b>	<b>80873,1</b>	<b>156799,8</b>	<b>63096,5</b>	<b>186429,8</b>	<b>55023,0</b>
keskihajonta	3192085,6	21234,6	42870,7	50495,5	108826,7	24915,7
D-1_18	10782681,5	108487,0	157795,0	92965,0	183357,5	55091,0
	8481808,0	80545,5	189596,0	101867,0	184392,5	63788,5
	10836935,5	119263,5	182585,5	63669,0	182227,0	55978,0
	15943352,5	91825,5	150301,0	61327,0	160477,5	49890,5
	17160527,0	90484,0	212984,0	91458,0	195888,0	75141,0
	13071044,5	112101,0	197339,5	79719,5	205684,0	64107,0
	13073852,0	114799,0	203779,5	109719,0	198602,0	71758,5
	16813108,5	92541,0	136669,5	102338,5	136125,5	44186,5
	11745272,5	120976,5	251798,5	119334,5	240844,5	70530,5
	14968986,0	102603,5	178352,5	119555,0	212270,0	65699,0
	10486148,0	116044,5	246397,5	5371507,5	234902,5	90258,0
	12877382,0	137505,5	224327,0	93440,5	236095,0	65885,5
ka	<b>13020091,5</b>	<b>107264,7</b>	<b>194327,1</b>	<b>533908,4</b>	<b>197572,2</b>	<b>64359,5</b>
keskihajonta	2735522,3	16174,1	36148,1	1523564,2	31332,1	12272,5
kaikki NAO	<b>9496245,0</b>	<b>90716,1</b>	<b>197693,3</b>	<b>224609,5</b>	<b>297133,4</b>	<b>77965,6</b>
keskihajonta	3197305,6	17954,2	48860,8	737525,2	135651,5	46737,2
Kaikki EXB	<b>11146476,2</b>	<b>116480,2</b>	<b>144285,3</b>	<b>102574,6</b>	<b>215778,0</b>	<b>42849,9</b>
keskihajonta	3559118,7	21392,3	39577,2	41770,1	104117,4	23600,4

Kontrollinäytteestä C ja siihen käytetyistä tynnyreistä tunnistetut yhdisteet sekä tynnyrytppikohtaiset keskihajonnat



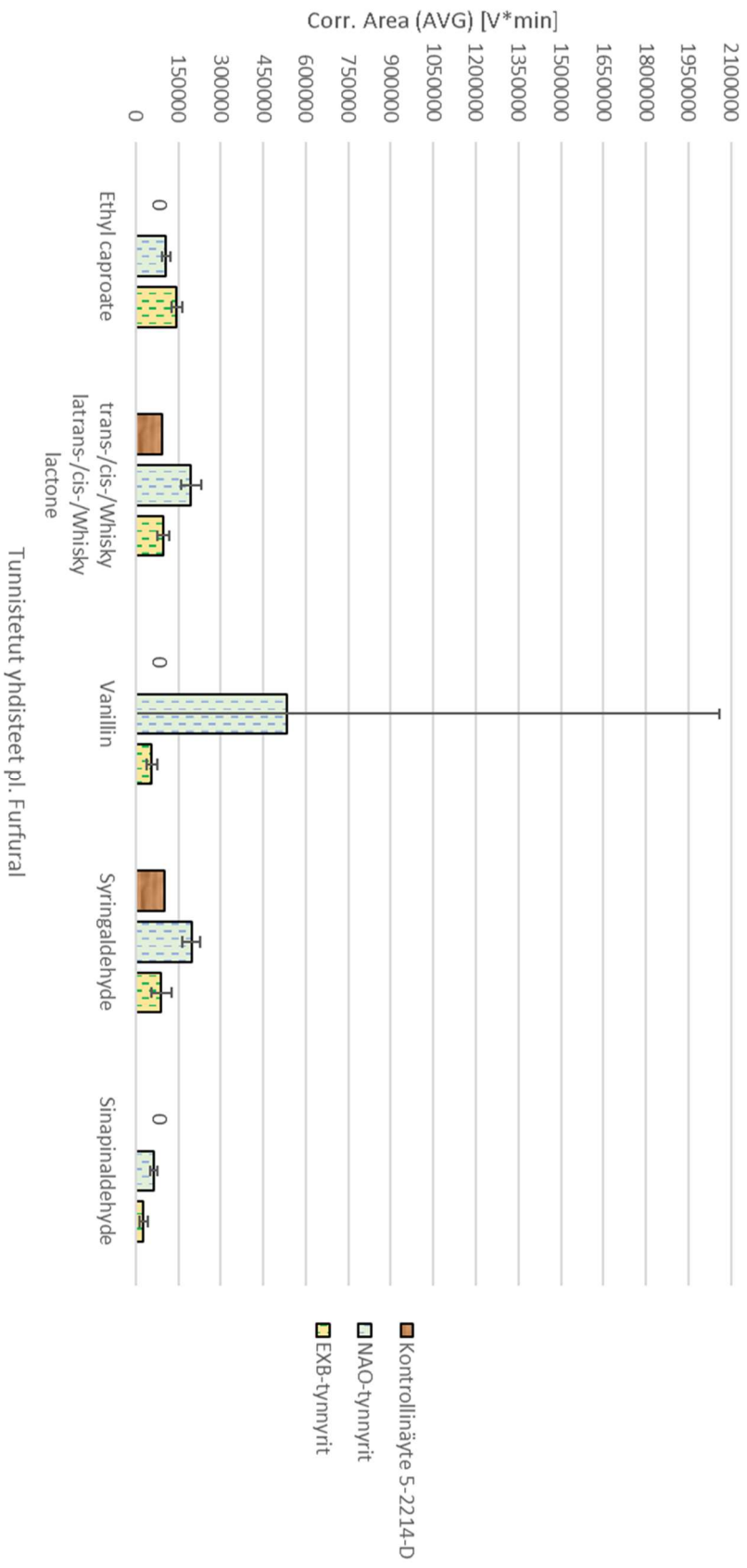
Kontrollinäytteestä C ja siihen käytetyistä tynnyreistä tunnistetut yhdisteet sekä tynnyrityyppikohtaiset keskihajonnat



Kontrollinäytteestä D ja siihen käytetyistä tynnyreistä tunnistetut yhdisteet sekä tynnyrytyypikohtaiset keskihajonnat

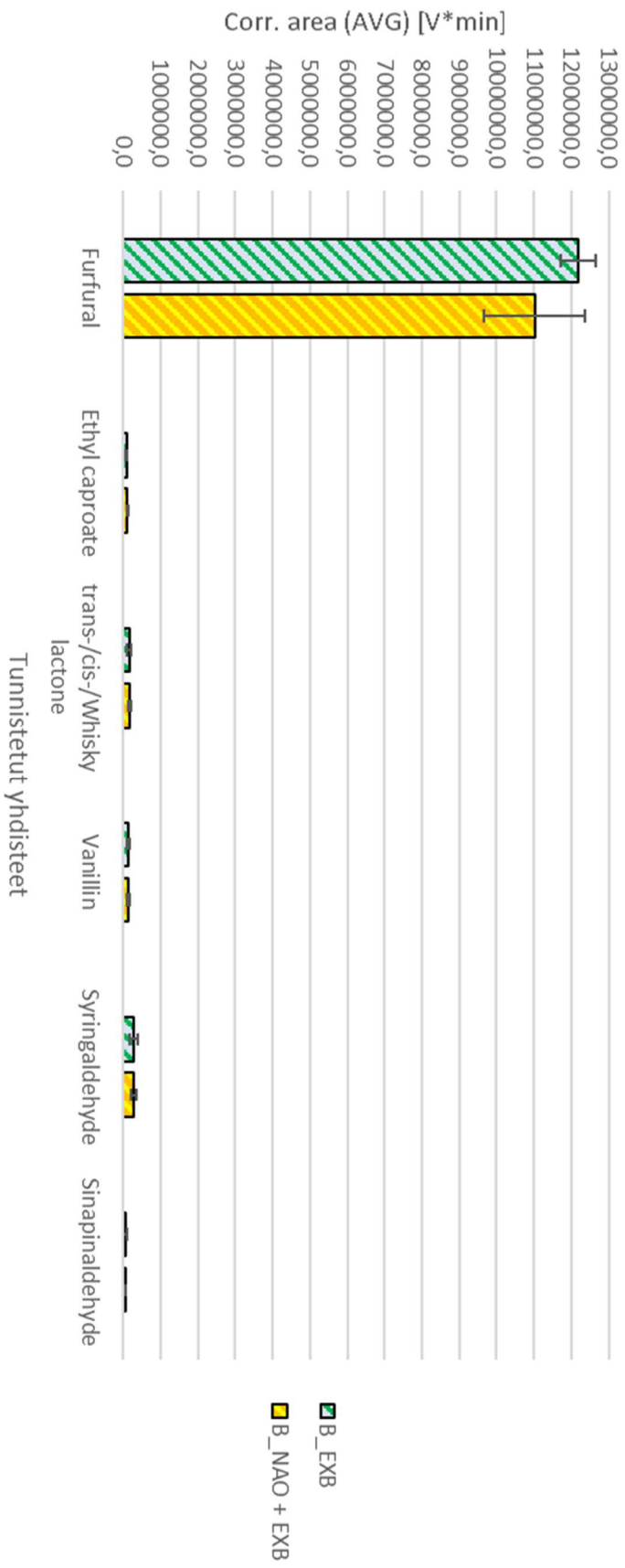


Kontrollinäytteestä D ja siihen käytetyistä tynnyreistä tunnistetut yhdisteet sekä tynnyriyppikohtaiset keskihajonnat

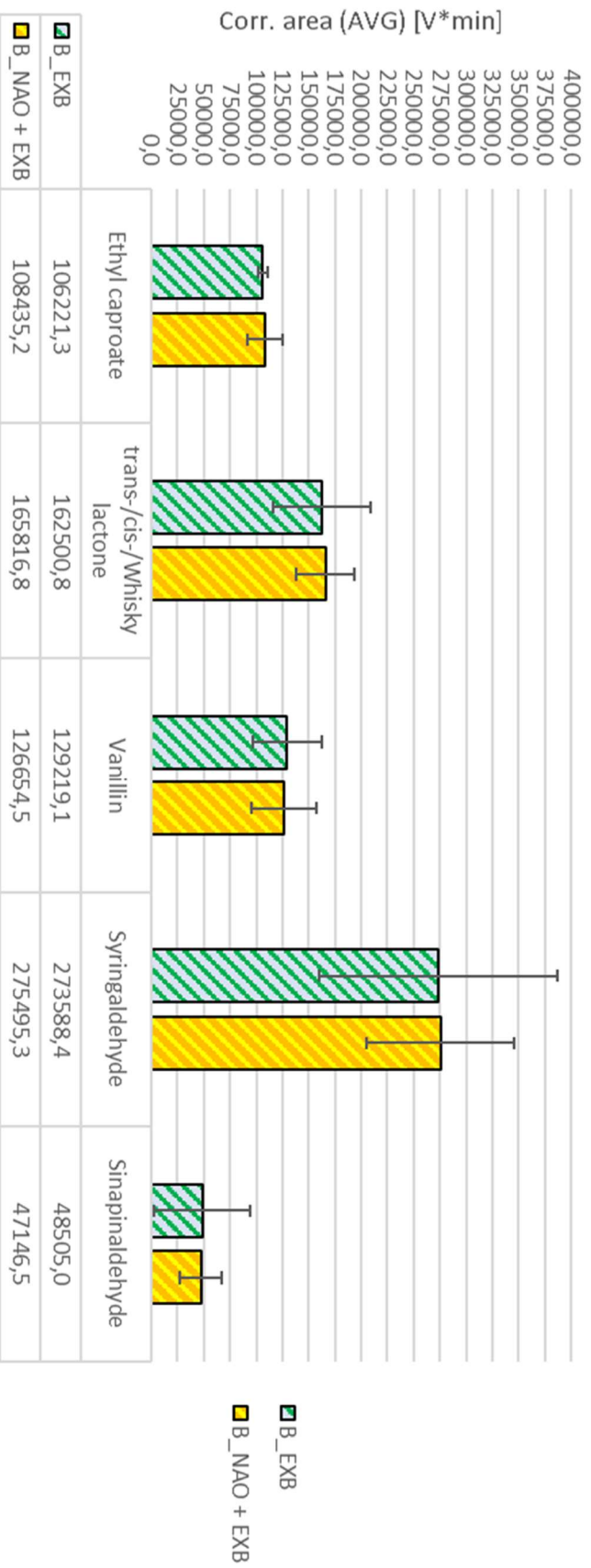


Tunnistettut yhdisteet pl. Furfural

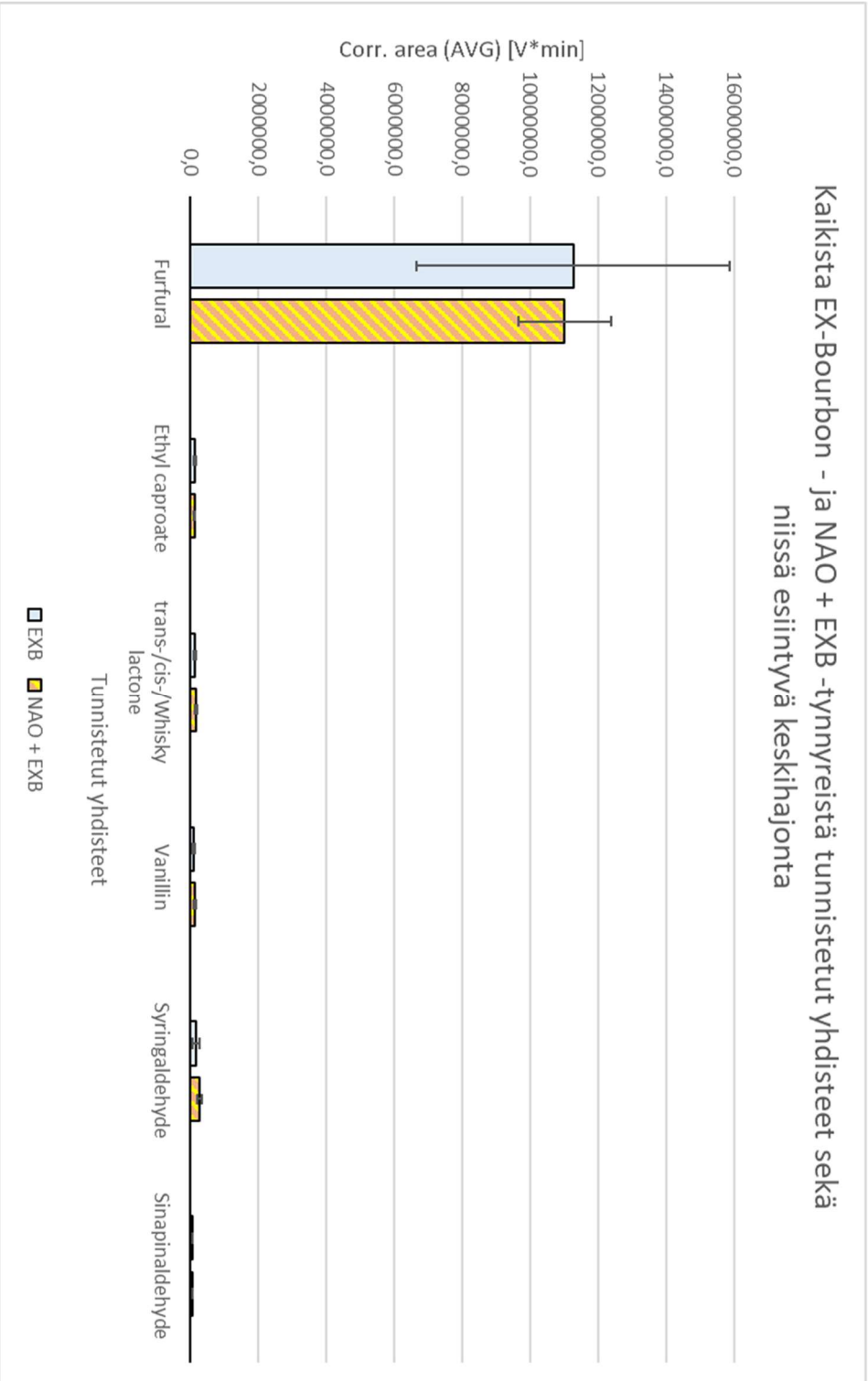
EX-Bourbon - ja NAO + EXB -tynnyreistä tunnistetut yhdisteet analysointierässä  
 B sekä niissä esiintyvät keskihajonnat



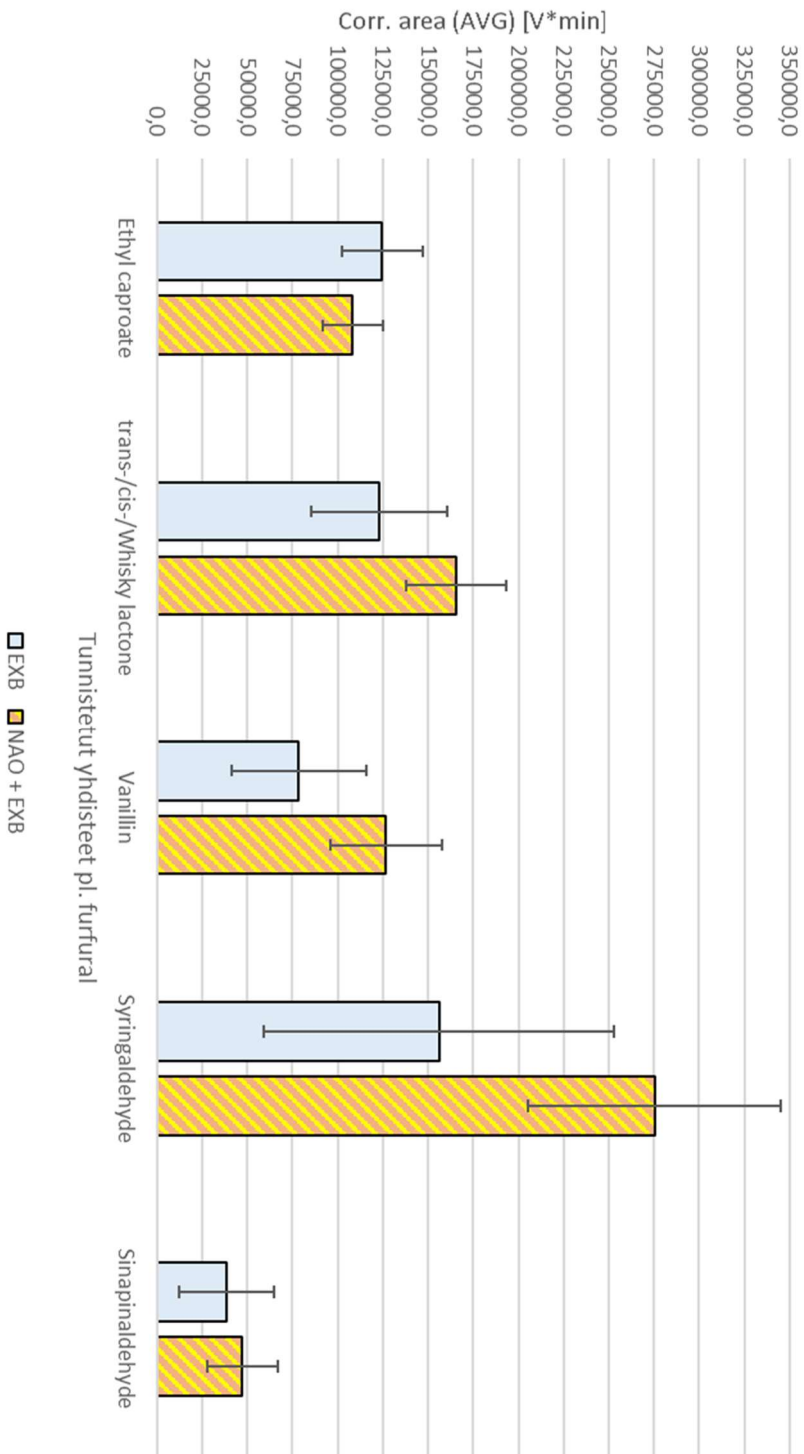
EX-Bourbon - ja NAO + EXB -tynnyreistä tunnistetut yhdisteet analysointierässä  
B sekä niissä esiintyvät keskihajonnat



Tunnistettut yhdisteet pl. Furfural

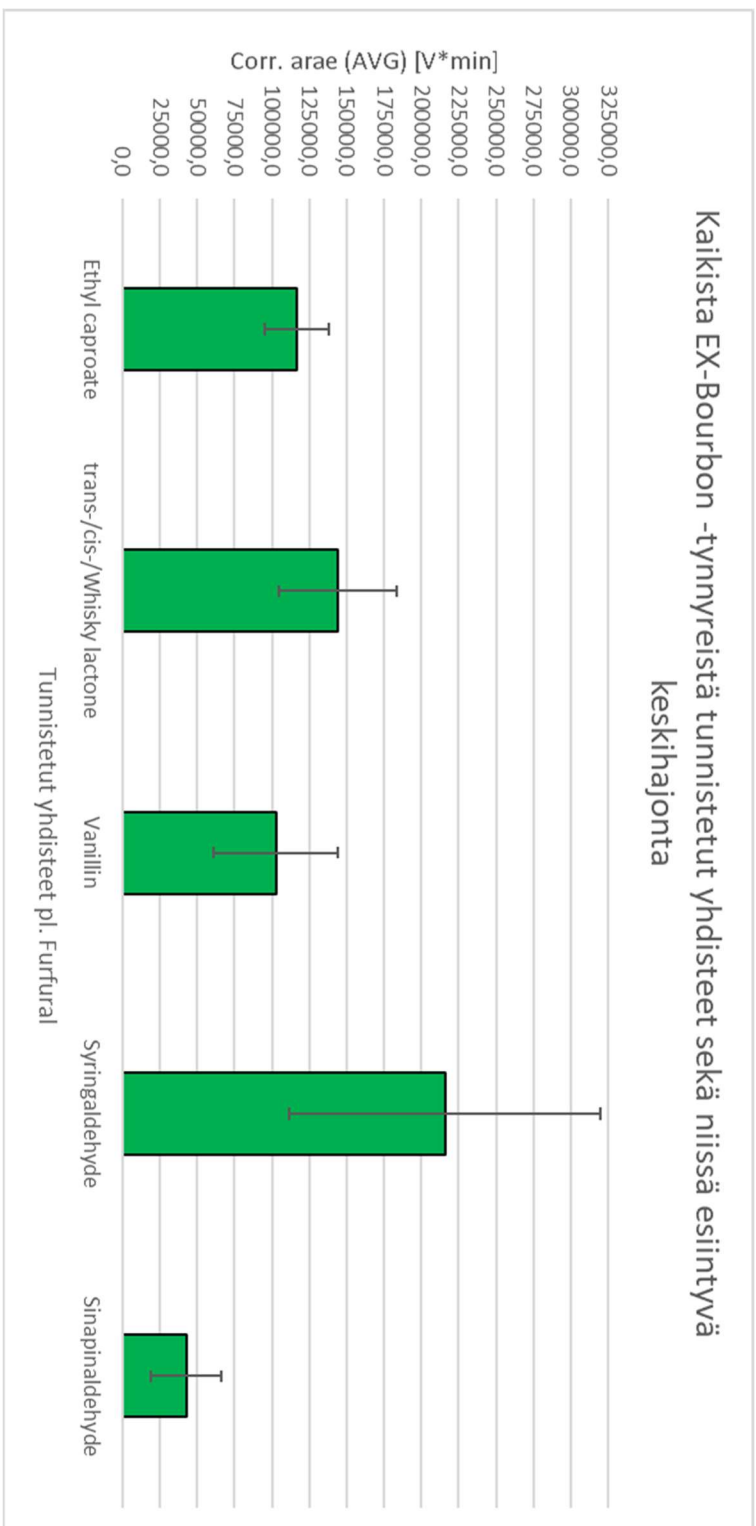


Kaikista EX-Bourbon - ja NAO + EXB -tynnyreistä tunnistetut yhdisteet sekä niissä esiintyvä keskihajonta



Kaikista EX-Bourbon -tynnyreistä tunnistetut yhdisteet sekä niissä esiintyvä keskihajonta

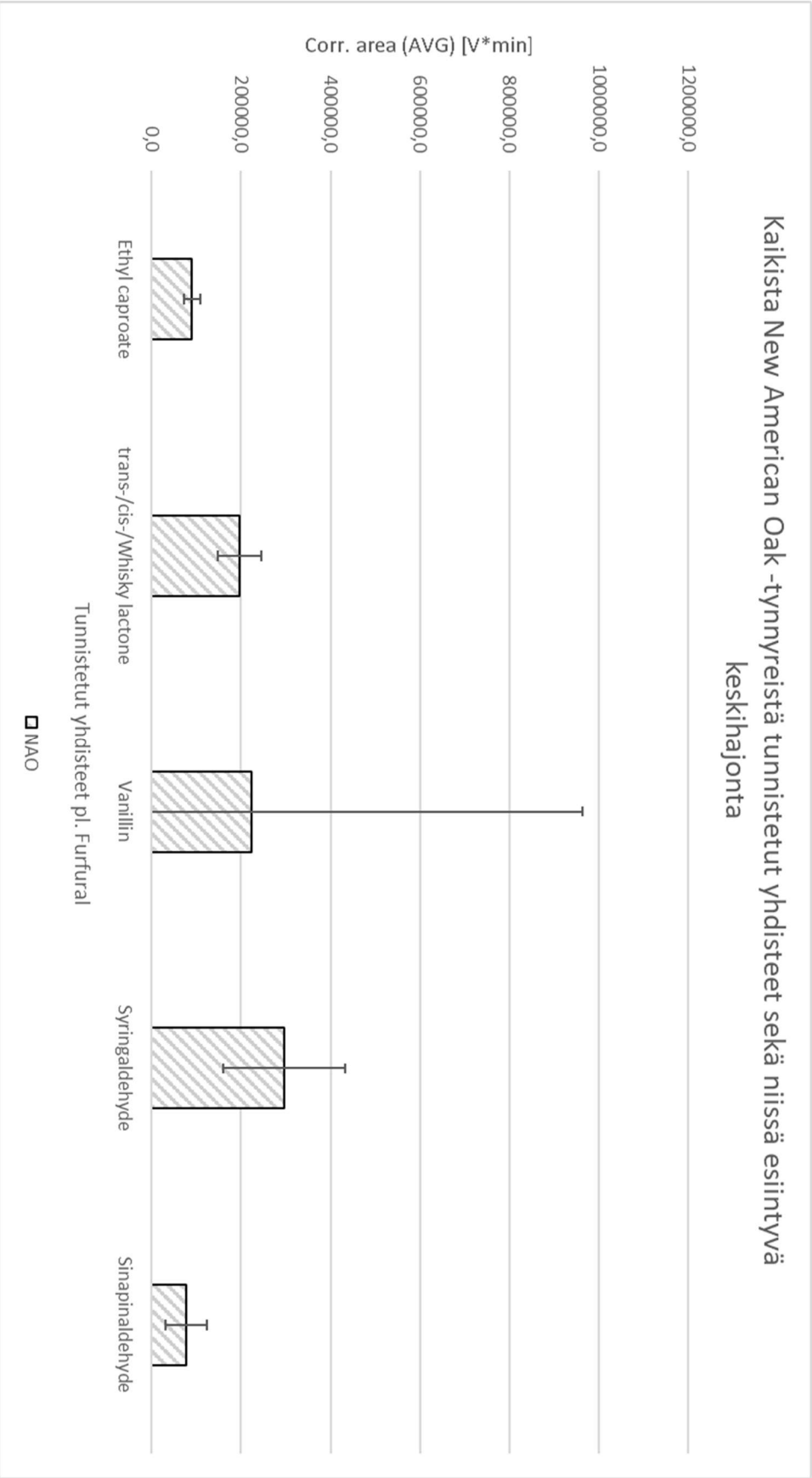




Kaikista New American Oak -tynnyreistä tunnistetut yhdisteet sekä niissä esiintyvä keskihajonta



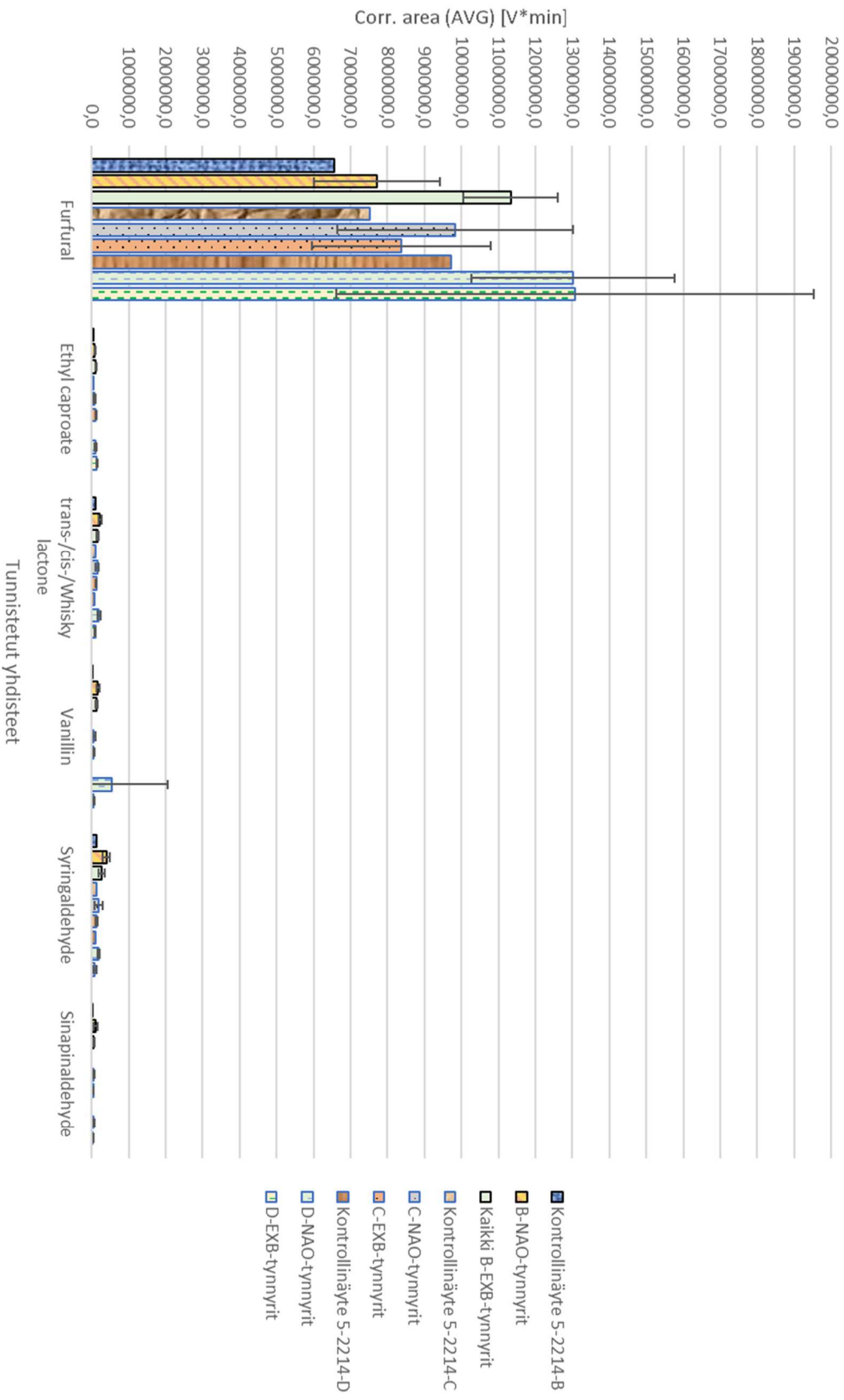
MAO



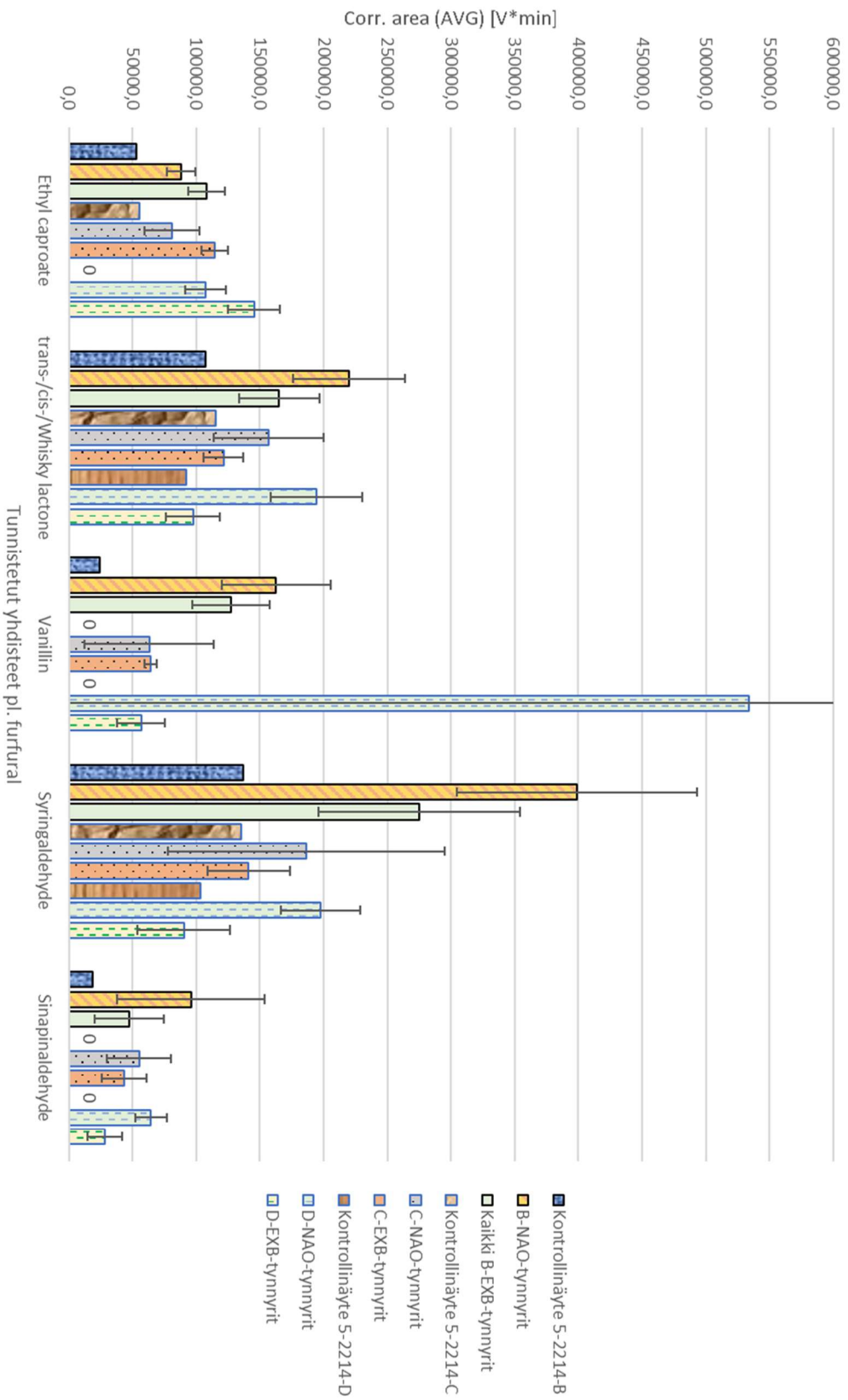




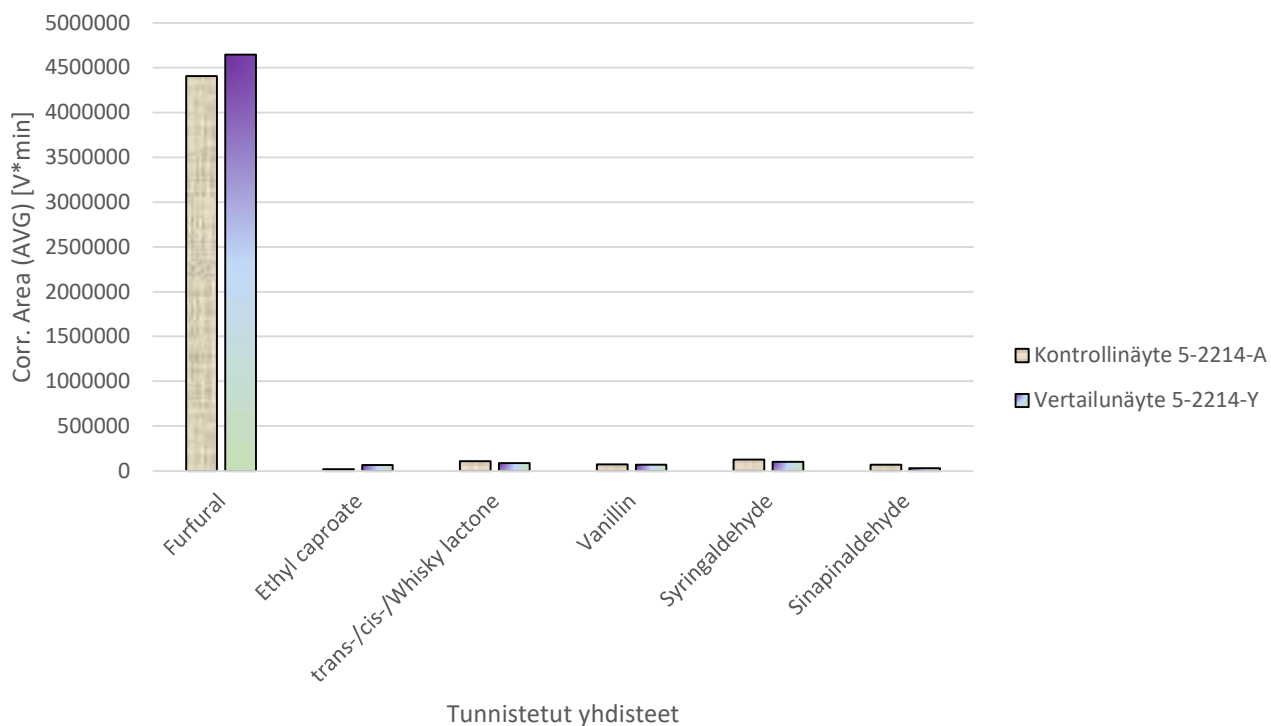
Kaikista kontrollinäytteistä ja niihin käytetyistä tynnyreistä tunnistetut yhdisteet sekä tynnyrittyyppikohtaiset keskihajonnat



Kaikista kontrollinäytteistä ja niihin käytetyistä tynnyreistä tunnistetut yhdisteet sekä tynnyrityyppi kohtaiset keskihajonnat pl. furfural



## Kontrollinäyte A:sta sekä vertailunäyte Y:stä tunnistetut yhdisteet



## Kontrollinäyte A:sta sekä vertailunäyte Y:stä tunnistetut yhdisteet

