

Opinnäytetyö (AMK)

Bio- ja kemiantekniikka

2025

Jussi Haulivuori

Oluen säilyvyyden määrittäminen omavalvonnan tukemiseksi pienpanimossa

– Case: Kupittaa Campus Brewery

Opinnäytetyö (AMK) | Tiivistelmä

Turun ammattikorkeakoulu

Bio- ja kemiantekniikka

2025 | 62 sivua, 13 liitesivua

Jussi Haulivuori

Oluen säilyvyyden määrittäminen omavalvonnan tukemiseksi pienpanimossa

- Case: Kupittaa Campus Brewery

Opinnäytetyön tavoitteena oli luoda omavalvontaan sovellettavia menetelmäohjeita oluen säilyvyyden määrittämiselle Kupittaa Campus Brewery -pienpanimolle. Menetelmäohjeita tehdään kaksi kappaletta, joista yksi perustuu EBC-menetelmään ja toinen oluen nopeutettuun ikääntymiseen.

EBC-menetelmässä olut säilytetään huoneenlämmössä ja analyysit suoritetaan aistinvaraisesti. Nopeutetun ikääntymisen menetelmässä oluen ikääntymistä nopeutetaan säilyttämällä näytteitä lämpökaapissa. Ikäännyttämisen jälkeen oluesta mitataan sameus. Menetelmän tavoiteltu tulos on, että näytteiden sameus kasvaa niiden ollessa kauemmin lämpökaapissa.

EBC-menetelmää ei suoritettu, joten siitä ei tullut tuloksia. Nopeutetun ikääntymisen menetelmän tavoiteltu tulos ei onnistunut, joten menetelmää pitää vielä kehittää. Vaikka menetelmän avulla ei saada selville oluen tarkkaa hyllyikää, sen avulla luodaan sameuden alustavat raja-arvot. Menetelmän avulla voidaan myös havaita kontaminoituneita näytteitä.

Asiasanat:

pienpanimo, oluen säilyvyys, nopeutettu ikääntyminen, omavalvonta

Bachelor's Thesis | Abstract

Turku University of Applied Sciences

Biotechnology and Chemical Engineering

2025 | 62 pages, 13 appendices

Jussi Haulivuori

Determination of shelf life of beer for improved self-monitoring at microbrewery

- Case: Kupittaa Campus Brewery

The aim of this bachelor's thesis was to create method instructions for the determination of the shelf life of beer for the self-monitoring plan of the Kupittaa Campus Brewery microbrewery. Two method instructions were to be created, one based on an EBC method and the other on forced ageing of beer.

In the EBC method the beer is stored at room temperature and sensory analyses are carried out. In the forced ageing method, the ageing of the beer is accelerated by keeping the beer in an incubator. After ageing the beer, the haze of the beer is determined. The desired result of the method is that the haze levels of the beer samples increase, the longer they are in the incubator.

The EBC method did not provide any results because it was not conducted. The desired result of the forced ageing method was not achieved so the method should be improved upon. Even if, the method does not provide an accurate estimate of the shelf life of beer, it can be used to give preliminary haze value limits. The method can also be used to detect contaminated samples.

Keywords:

microbrewery, shelf life of beer, forced ageing, self-monitoring

Sisältö

Käytetyt lyhenteet tai sanasto	8
1 Johdanto	9
2 Oluen säilyvyys	11
2.1 Oluen laatuun vaikuttavat tekijät	11
2.1.1 Oluen maku	11
2.1.2 Oluen vaahto	12
2.1.3 Oluen väri	14
2.1.4 Oluen kirkkkaus	14
2.1.5 Oluen ylikuohunta	14
2.2 Oluen mikrobiologinen säilyvyys	15
2.2.1 Oluen mikrobiologinen epävakaus	16
2.2.2 Oluen mikrobiologisen säilyvyyden parantaminen	17
2.3 Oluen fyysinen säilyvyys	18
2.4 Pakkauksen vaikutus oluen säilyvyyteen	18
3 Oluen säilyvyyden mittaamisen menetelmät	20
3.1 EBC-menetelmä	20
3.1.1 Oluen aistinvarainen analyysi	21
3.1.2 Kontaminoituneen näytteen viljely	21
3.2 Nopeutetun ikääntymisen menetelmä	22
3.2.1 Arrheniuksen malli	22
3.2.2 Sameuden mittaus	23
4 Oluen säilyvyyden menetelmien suorittaminen	25
4.1 EBC-menetelmän suunnitelma	25
4.1.1 Periaate	25
4.1.2 Reagenssit, laitteet ja välineet	26
4.1.3 EBC-menetelmän suorittaminen	26
4.2 Nopeutetun ikääntymisen menetelmän suunnitelma	27
4.2.1 Periaate	27

4.2.2	Reagenssit ja turvallisuus	27
4.2.3	Laitteet ja välineet	29
4.2.4	Sameusmittarin viritys	29
4.2.5	Nopeutetun ikääntymisen menetelmän suorittaminen	31
5	Menetelmien tulokset	35
5.1	Tulokset	35
5.1.1	Sameudet mittauskerran mukaan	35
5.1.2	Sameudet lämpötilan mukaan	43
5.2	Virhearviointi	47
5.2.1	Laitteista, välineistä ja tekijästä johtuvat virheet	47
5.2.2	Menetelmästä johtuvat virheet	48
5.3	Raja-arvot	50
6	Menetelmäohjeiden soveltaminen omavalvontaan	52
6.1	Menetelmäohjeet	52
6.2	Omavalvontaan soveltaminen	52
6.2.1	Kaapin leanaus	53
6.2.2	Excel-taulukko	57
7	Loppupäätelmät	58
	Lähteet	60

Liitteet

Liite 1. Nopeutetun ikääntymisen menetelmäohje

Liite 2. EBC-menetelmäohje

Liite 3. Vaara- ja turvalausekkeet

Kuvat

Kuva 1. Esimerkki oluiden vaahtoavaisuuden erosta

13

Kuva 2. Oluen ylikuuhunta (Bamforth 2008, 187).	15
Kuva 3. Lämpötilan vaikutus oluen maun heikentymiseen (Bamforth 2008, 95).	23
Kuva 4. Käytettävä sameusmittari ja siihen kuuluvat välineet	24
Kuva 5. Olutnäytteet ultraäänihauteessa	32
Kuva 6. Esikäsitellyt olutnäytteet kyveteissä	32
Kuva 7. Olutnäytteet jäähauteessa	33
Kuva 8. Vuotavia tölkkejä (vasemmalla ensimmäisen mittauskerran 60 °C näyte ja oikealla neljännen mittauskerran 40 °C näyte)	50
Kuva 9. Tyhjä kaappi	54
Kuva 10. Kaapin yhden lokeron ja tölkin mitat	54
Kuva 11. Kaapin leanauksen vaihtoehdot	55
Kuva 12. Kaapin leanaukseen käytettävät teipit ja laitteet	56
Kuva 13. Leanattu kaappi	56
Kuva 14. Excel-taulukko: EBC-menetelmä	57
Kuva 15. Excel-taulukko: Nopeutetun ikääntymisen menetelmä	57

Kuviot

Kuvio 1. Ensimmäisen mittauskerran 50 °C tulokset	44
Kuvio 2. Toisen mittauskerran 50 °C tulokset	45
Kuvio 3. Kolmannen mittauskerran 50 °C tulokset	45
Kuvio 4. Neljännen mittauskerran 40 °C tulokset	45
Kuvio 5. Viidennen mittauskerran 40 °C tulokset	46
Kuvio 6. Kuudennen mittauskerran 40 °C tulokset	46
Kuvio 7. Seitsemännen mittauskerran 40 °C tulokset	47

Taulukot

Taulukko 1. Nopeutetun ikääntymisen menetelmässä käytettävät reagenssit	28
Taulukko 2. Nopeutetun ikääntymisen menetelmässä käytettävien reagenssien turvallisuustiedot (Carl Roth 2024a; Carl Roth 2024b; Sigma-Aldrich 2025).	28
Taulukko 3. Nopeutetun ikääntymisen menetelmässä käytetyt laitteet ja välineet	29
Taulukko 4. Ensimmäisen ja toisen mittauskerran näytteet	31
Taulukko 5. Neljännestä mittauskerrasta eteenpäin käytettävät näytteet	34
Taulukko 6. Ensimmäisen mittauskerran tulokset	36
Taulukko 7. Toisen mittauskerran tulokset	38
Taulukko 8. Kolmannen mittauskerran tulokset	39
Taulukko 9. Neljännen mittauskerran tulokset	39
Taulukko 10. Viidennen mittauskerran tulokset	40
Taulukko 11. Kuudennen mittauskerran tulokset	41
Taulukko 12. Seitsemännen mittauskerran tulokset	42
Taulukko 13. Kontaminoituneiden näytteiden tulokset	43
Taulukko 14. Kontrollinäytteiden tulokset	43
Taulukko 15. 60 °C näytteiden tulokset	44
Taulukko 16. Nopeutetun ikääntymisen menetelmän tulosten raja-arvot	51

Käytetyt lyhenteet tai sanasto

ASLT	Accelerated shelf life testing on kaikki menetelmät, joilla elintarvikkeen säilyvyys määritetään selvästi lyhyemmässä ajassa kuin elintarvike säilyy (Kilcast ym. 2011, 482–483)
Chill haze	Sameus, joka muodostuu olueeseen sen ollessa alle 0 °C lämpötilassa (Bamforth 2008, 114)
EBC	European Brewing Convention on oluen panon ammattilaisten johtama yhdistys, joka luo ja validoi ohjeita ja menetelmiä oluen analyysiin (Brewup nd)
<i>Fusarium</i>	Home, joka voi kontaminoida ohraa (Robertson 2009, 219)
KCB	Kupittaa Campus Brewery on pienpanimo Turun ammattikorkeakoulussa
Kollodiaalinen	Oluen fyysistä säilyvyyttä kutsutaan myös kollodiaaliseksi säilyvydeksi (Kilcast ym. 2011, 529)
LEAN	Filosofinen ajattelutapa, jossa keskiössä on organisaatioiden ja henkilöstön ongelmratkaisutaidon järjestelmällinen kehittäminen (Leanthinking 2025)
Maillard-reaktio	(eng. Maillard browning reaction) on ruskeaa väriä aiheuttava kemiallinen reaktio, joka tarvitsee lämpöä (Bamforth 2008, 221)
Nukleaatio	Aineen olomuodon muutoksen ensimmäinen askel (Bamforth 2008, 3)
Omavalvonta	Järjestelmä, jolla toimija pyrkii varmistamaan, että sen valmistamat ja myymät tuotteet ovat turvallisia ja noudattavat lainsäädäntöä (Valvira 2018, 5)
Polyfenoli	Orgaaninen yhdiste, joka sisältää fenoliryhmän (Heininen 2019)
Polypeptidi	Useasta aminohaposta koostuva peptidiketju, joka voi yksin tai muiden polypeptidien kanssa muodostaa valkuaisainemolekyylin (Heininen 2019)

1 Johdanto

Opinnäytetyön aiheena on luoda menetelmäohjeita oluen säilyvyyden määrittämiseksi Kupittaa Campus Brewery -pienpanimolle. Valmiita menetelmäohjeita on tarkoitus hyödyntää KCB:n omavalvonnassa. Opinnäytetyön aihe on tärkeä, koska sen avulla saadaan optimoitua oluen hyllyikä, joka kasvattaa myyntiaikaa ja varmistaa tuotelaadun viimeisenä myyntipäivänä.

Opinnäytetyössä luodaan kaksi uutta menetelmäohjetta oluen säilyvyyden määrittämiseksi. Ensimmäinen menetelmäohjeista perustuu osittain KCB:n vanhaan menetelmäohjeeseen, mutta sitä tarkennetaan ja se sovelletaan paremmin omavalvontaan. Huoneenlämmössä säilyville oluille järjestetään oma säilytyskaappi Lean-järjestelmän ohjeiden mukaisesti ja säilytetyille oluille ja niiden analyyseille tehdään Excel-taulukko, joka integroidaan omavalvontaan. Toinen menetelmäohjeista perustuu Nopeutetun ikääntymisen menetelmään ja on uusi menetelmä KCB:lle. Opinnäytetyön tavoitteena on selvittää Nopeutetun ikääntymisen menetelmän luotettavuus ja luomaan sen mittauksille sopivat raja-arvot.

Opinnäytetyön teoreettisen pohjan lähdeaineisto koostuu suurimmaksi osaksi oluen ja muiden elintarvikkeiden säilyvyyteen ja laatuun liittyvistä kirjoista, esimerkiksi Beer: a quality perspective ja Food and beverage stability and shelf life (Bamforth 2008; Kilcast ym. 2011). Itse menetelmät perustuvat osittain KCB:n ennaltaan tehtyihin menetelmäohjeisiin ja EBC-ohjeisiin. EBC eli European Brewing Convention on oluen panon ammattilaisten johtama yhdistys, joka luo ja validoi ohjeita ja menetelmiä oluen erilaisiin analyyseihin (Brewup nd).

EBC-ohjeet ovat luotettava lähde olueen liittyvissä analyyseissä. Kaikki niistä ei kuitenkaan sovellu pienpanimoihin ja useat ovat tarkoitettu suodatettuihin oluihin, joita KBC ei tuota. Opinnäytetyössä käytettyjä EBC-ohjeita ei sovelleta suoraan kopioimalla, vaan niitä mukailaan tilanteeseen sopiviksi, mikä alentaa niiden luotettavuutta. Kirjalliset lähteet ovat luotettavia teoreettiseen

taustatyöhön, mutta relevantin tiedon erottelu muusta tiedosta ei ole itsestäänselvää.

Nopeutetulle ikääntymiselle ei löydy omaa EBC-ohjetta, joten sen luotettavuus on vaikeampi todistaa. Oluen nopeutetusta ikääntymisestä löytyy paljon pintatietoa, mutta tarkempaa ja tieteellisempää tietoa on vaikeampaa löytää. Mittaustuloksiin voi vaikuttaa monet eri parametrit ja tekijät, joten virhearvionti on oleellinen osuus tuloksien luotettavuutta arvioidessa. Huoneenlämmössä säilyvän oluen analyysit ovat vain aistinvaraisia, joten niissä voi tapahtua ihmisestä johtuvia virheitä.

Tavoitteena on saada menetelmäohjeista toimivat ja selkeät, jotta niitä voidaan hyödyntää KCB:n omavalvonnassa jatkossa. Opinnäytetyön sisältöalueet ovat oluen säilyvyyden ja laadun yleinen teoria, menetelmien teoria, menetelmien suoritus, suoritusten tuloksen, menetelmien soveltaminen omavalvontaan sekä loppupäätelmät. Liitteinä työn loppuun lisätään valmiit menetelmäohjeet.

Nopeutetun ikääntymisen menetelmän hypoteesi on oluen sameuden kasvaminen, mitä kauemmin sitä säilytetään lämpimässä olotilassa. EBC-ohjeeseen perustuvassa huoneenlämmössä säilytettävän oluen menetelmässä hypoteesi ei ole yhtä selkeä, koska analyysit ovat vain aistinvaraisia ja sen tarkoitus on enemmän kontaminoituneen oluen havaitseminen oluterästä.

2 Oluen säilyvyys

Oluen pano on yksi varhaisimmista prosesseista, joita alettiin hyödyntämään kaupallisessa mittakaavassa. Oluen panoprosessissa yksinkertaistettuna hiivasoluja lisätään oluen vierteeseen, josta hiiva uutaa etanolia, hiilidioksidia ja muita enimmäkseen makuun vaikuttavia aineita. (Kilcast ym. 2011, 527–528.)

Oluen säilyvyyteen ja laatuun vaikuttavat monet eri tekijät. Säilyvyyden heikentymiseen liittyviä riskejä tapahtuu koko oluen panoprosessin aikana. Pakkaamisen jälkeen säilyvyyteen vaikuttavat säilyttämisolosuhteet ja pakkauksen materiaali.

KCB:n oluiden säilydeksi on valittu 6 kuukautta, mutta osa oluista voi säilyä paljon kauemmin. Esimerkiksi Karhun 4,6 % olut säilyy vuoden. Oluen suodattaminen ja pastörointi vaikuttavat molemmat positiivisesti säilyvyyteen (Bamforth 2008, 179). KCB:n ja monen muun pienpanimon oluihin ei tehdä näitä käsittelyjä.

2.1 Oluen laatuun vaikuttavat tekijät

Suurin osa oluista on parhaimillaan sinä hetkenä, kun ne siirretään säilytysastiaansa. Kuukausien säilytyksen aikana oluen laatuun vaikuttavat tekijät, kuten kirkkaus, väri, maku ja vaahtoavaisuus voivat heikentyä. (Robertson 2009, 215.)

2.1.1 Oluen maku

Oluen maku on yksi sen tärkeimmistä ominaisuuksista ja siinä tapahtuvien muutosten avulla voidaan helposti huomata oluen laadussa tapahtuvaa heikentymistä. Siksi oluesta tehdään aina aistinvarainen analyysi säilyvyyttä tutkiessa. Olut on yllättävän monimutkainen juoma maun suhteen, sillä siinä käytetään monta erilaista raaka-ainetta ja panoprosessia kontrolloidaan tarkasti (Robertson 2009, 217).

Oluen maun kynnyksellä viitataan etanolin massaan, jossa sen maistaa tietyssä tilavuudessa olutta. Oluen jonkin makukomponentin konsentraation ja maun kynnyksen välistä suhdetta kuvataan makuyksikön (eng. flavor unit) avulla. (Barth 2013, 201). Oluen makukomponentteja voi jakaa primääri- ja sekundäärimakuihin. Makukomponentit voivat myös olla erityisiä tietylle oluelle tai epähaluttuja sivumakuja. Primäärimakujen makuyksikkö on yli kaksi yksikköä. Oluelle tyypillisiä primäärimakuja ovat etanoli, isohumulone, humaloista johtuvat maut sekä hiilidioksidin maku. Sekundäärimaut ovat 0,5-2 makuyksikköä ja niiden avulla erilaiset oluet voidaan erottaa toisistaan. Erityisiä makuja ovat esimerkiksi savun maku ja fenolin maku. Tiettyjen sivumakujen avulla voidaan havata panoprosessissa tapahtuva virhe tai kontaminaatio. Yleisiä sivumakuja oluessa ovat diasetyyli ja dimetyylisulfidi. (Barth 2013, 202, 204–205.)

Oluen pakkaus vaikuttaa oluen makuun eniten maun heikentymisenä. Oluen pakkauksella tarkoitetaan yleensä kegiä, lasi- tai muovipulloa tai alumiinitölkkiä. Ehkä tärkein tekijä oluen säilyvyyden kannalta pakatulla oluella on pakkauksen ja täten oluen lämpötila. Muita kriittisiä tekijöitä oluen pakkaamisessa ovat oluen pakkauksen pinnan sisäinen kestävyys, hapen (O₂) määrä pakkauksen sisällä ja pakkauksen väri, jos kyseessä on muovi- tai lasipullo. KCB käyttää alumiinitölkkejä, joten pakkauksen väri ei ole säilyvyyden kannalta tärkeää. (Robertson 2009, 217.)

Lämpötila vaikuttaa oleellisesti oluen makuun ja samalla säilyvyyteen. Lämpötilan nostaminen alentaa oluen hyllyikää dramaattisesti. Hapen määrä vaikuttaa oluen makuun paineen ja erilaisten kemiallisten reaktioiden avulla. (Bamforth 2008, 88, 95.)

2.1.2 Oluen vaahto

Oluen vaahto on yksi sen tärkeimmistä esteettisistä ominaisuuksista. Voidaan sanoa, että ”olutta juodaan yhtä paljon silmillä kuin suulla”. Eli oluen ulkonäkö ja kuluttajan luomat alitajunnalliset miellelyhtymät vaikuttavat osittain oluen

makuun. Oluen vaahdon avulla kuluttaja saa ensimmäisen käsityksen oluen aromista ja vaahto vaikuttaa oleellisesti suutuntumaan. Oluen vaahtoa tutkimalla saadaan nopeasti tietoa oluen laadusta ja säilyvyydestä. (Bamforth 2008, 1.)

Vaikka olut on hiilidioksidista ylikylläistä, siihen ei spontaanisti muodostu kuplia paitsi nukleaation eli aineen olomuodon muutoksen ensimmäisen askeleen tapahtuessa. Nukleaatioin halutaan olla pientä, jotta vaahto muodostuu pienikokoisemmista kuplista. Oluen kaatamiskulma ja olutlasin tyyppi ja muoto vaikuttavat kuplien kokoon vaahdossa. (Bamforth 2008, 3–4.)

Hiilidioksidin määrä oluessa vaikuttaa oleellisesti sen vaahtoavaisuuteen. Vaahdon muodostumista oluessa lisää sen valmistukseen käytettävät tietyt komponentit, joita on esimerkiksi humalista tulevat iso- α -hapot, proteinit/polypeptidit, metalli-ionit ja polysakkariidit. Tärkein komponentti vaahdon kannalta on kuitenkin proteiini. (Robertson 2009, 218; Kilcast ym. 2011, 533.)

Oluen vaahdon laatuun eli sen vakauteen vaikuttaa alle 5 kDa kokoisten proteiinien, joita muodostuu maltaasta ja humalien hapoista, keskenäinen vuorovaikutus. Lipidit, perus aminohapot ja korkea etanolin konsentraatio alentaa vaahdon laatua. (Bamforth 2008, 12.)



Kuva 1. Esimerkki oluiden vaahtoavaisuuden erosta

2.1.3 Oluen väri

Ihmissilmä näkee väriä elektromagneettisella spektrillä 380-780 nm aallonpituudella. Oluen väriä mitataan yleensä spektrofotometrillä ja EBC Analytica käyttää 430 nm aallonpituutta sen mittaamiseen. (Bamforth 2008, 213, 218, 220.)

Oluen väriin vaikuttaa ainesosista eniten oluessa käytetyt viljat ja varsinkin niiden prosessointitapa. Ohra sisältää hyvin vähän pigmentoivia ainesosia ja itse mallastusprosessi aiheuttaa enemmän värin muodostusta. Maillard-reaktiosta aiheutuva maltojen paahtumisen ja kuivumisen taso mallastuksessa vaikuttaa värin muodostumisen tasoon. Jossain oluissa myös karamellisaatio ja pyrolyysireaktiot vaikuttavat värin muodostumiseen. Osa värin muodostumisesta tapahtuu oluen vierteen keiton yhteydessä. Oksidaatio ja polyfenolit vaikuttavat värin muodostumiseen, kun olutta säilytetään. (Bamforth 2008, 221; Robertson 2009, 218.)

2.1.4 Oluen kirkkaus

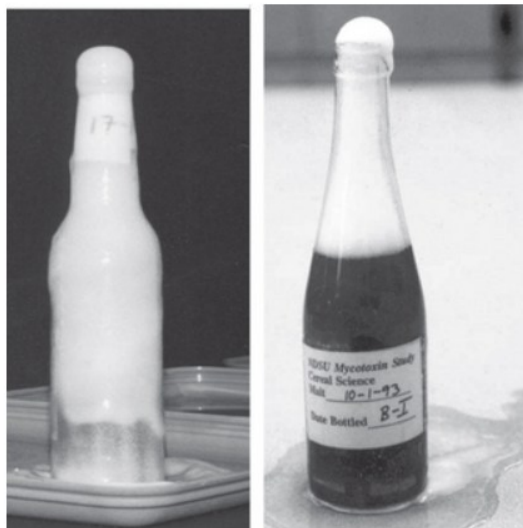
Yleensä oluet ovat kirkkaita ja ne pysyvät sellaisina koko hyllyikänsä aikana. Oluen säilyvyyden heikentymistä voidaan siksi juuri tutkia sameuden avulla. Osa oluista kuitenkin on sameita, esimerkiksi suodattamattomat oluet. Oluen kirkkaus voi heikentyä biologisista tai epäbiologisista syistä. Pakkaus- ja kuljetusolosuhteet voivat heikentää oluen kirkautta. (Robertson 2009, 219.)

2.1.5 Oluen ylikuohunta

Oluen ylikuohunta (eng. gushing) tarkoittaa oluttölkkin tai -pullon avatessa tapahtuvaa spontaania vaahdon syntymistä, joka kuohuaa yli tölkistä tai pullosta. Oluiden ylikuohunnan taso halutaan pitää vakiona, koska kuluttajat huomaavat siinä olevat erot helpommin kuin oluen maussa olevat pienet erot. (Bamforth 2008, 185; Robertson 2009, 219.)

Ylikuuhuntaa oluessa aiheuttaa oluessa olevat nukleaatiokohtina toimivat kiinteät partikkelit tai kaasussa olevat vakaat mikrokuplat. Tärkeänä nukleaatiokohtana oluen ylikuuhunnalle ovat *Fusarium*-nimisen homeen tuottamat hydrofobiset polypeptidit, jotka voivat kontaminoida ohraa. Samoin kuin vaahtoa muodostuu olueeseen, myös ylikuuhuntaa voi aiheuttaa olutlasin laatu, sisäpinnan sileys, epäpuhtaus, muoto ja kaatamiskulma. Oluen ylikuuhuntaa lisää sen varastointi alhaisessa lämpötilassa, mutta avaaminen korkeassa lämpötilassa. (Robertson 2009, 219–220; Bamforth 2008, 188.)

Ylikuuhuntaa voidaan jaotella usealla eri tavalla, mutta yksi suosituimmista on sen jakaminen primääri- ja sekundääriylikuuhunnaksi. Alunperin ajateltiin primääriylikuuhunnan aiheutuvan maltaista ja sekundääriylikuuhunnan aiheutuvan tuotannossa tapahtuvista virheistä. Nykyään ajatellaan primääriylikuuhunnan aiheutuvan hometta sisältävien maltaiden käytöstä ja sekundaariylikuuhunnan aiheutuvan kollodiaalisten tai kiinteiden partikkeleiden olemisesta oluessa. (Bamforth 2008, 187.)



Kuva 2. Oluen ylikuuhunta (Bamforth 2008, 187).

2.2 Oluen mikrobiologinen säilyvyys

Vanhoissa sivilisaatioissa oluen juominen oli turvallisempaa kuin veden juominen, koska oluen panoprosessissa tapahtuva keittäminen inhiboi

bakteereita ja olut on mikrobiologisesti vakaata. Oluen mikrobiologista vakautta ja säilyvyyttä voidaan pitää yhtenä sen tärkeimpänä ominaisuutena. Oluen hyvää mikrobiologista säilyvyyttä selittää sen alhainen pH. Ihmiselle patogeeniset eli tautia aiheuttavat mikrobit eivät kasva oluessa, mutta olutta pilaavat hiivat ja bakteerit kasvavat. (Bamforth 2008, 163.)

2.2.1 Oluen mikrobiologinen epävakaus

Oluen biologinen epävakaus johtuu juuri näistä hiivoista, bakteereista tai myseelisienistä. Oluen mikrobiologisen kontaminaation riski on aina olemassa, mutta oluen mikrobiologinen vakaus vaikeuttaa mikrobien kasvua. Kontaminaatioita tapahtuu yleensä raaka-aineiden tai huonosti puhdistettujen välineiden takia. Myös ylikuohunnan yhteydessä mainittu *Fusarium*-home, jota voi löytyä ohrasta, voi sisältää mykotoksiineja eli sienimyrkkyjä. *Fusarium* voi myös sisältää bakteereja, jotka ovat osana luomassa nitrosoamiineja eli karsinogeenisia typpiyhdisteitä. (Kilcast ym. 2011, 528.)

Panimosta löytyvästä mikrofloorasta pelätyimmät bakteerit ovat grampositiiviset maitohappobakteerit (eng. lactic acid bacteria). Ne voivat potentiaalisesti ”pilata” oluen ja niiden havaitseminen on haastavaa. Yleensä grampositiiviset bakteerit eivät kasva oluessa sen sisältämien humalien happojen takia. Kuitenkin osa maitohappobakteereista pystyy vastustamaan näitä happoja paremmin eikä niiden morfologia, fysiologia tai aineenvaihdunta eroa muista maitohappobakteereista tunnistettavalla tavalla. (Kilcast ym. 2011, 528.)

Gramnegatiivisista bakteereista eniten olutta kontaminoi etikkahappobakteerit, mutta gramnegatiivisten bakteerien uhka on paremmin hallinnassa kuin grampositiivisten. *Saccharomyces*-hiivojen villihiiva kontaminaatiot voivat kontaminoida myös oluen. (Kilcast ym. 2011, 529.)

2.2.2 Oluen mikrobiologisen säilyvyyden parantaminen

Oluessa olevien mikro-organismien havaitsemiseen löytyy useita menetelmiä, esimerkiksi bakteeriviljelmien avulla, PCR:llä tai vasta-ainemäärityksellä (eng. immunoassay). Menetelmät ovat kuitenkin kalliita varsinkin pienpanimon näkökulmasta ja mikrobiologisia kontaminaatioita kannattaa ennaltaehkäistä ennen niiden tapahtumista. Tärkein ennaltaehkäisyn tapa on panimon puhtaudesta huolehtiminen. Hapen määrän ja pääsyn vähentäminen suljetuilla putkilla ja astioilla vaikeuttaa aerobisten mikrobien pääsyä olueeseen. (Bamforth 2008, 178–179.)

Oluen pastörinti on yksi tapa välttää mikrobiologista kontaminaatiota. Pastörinti tehdään usein lämpökäsittelyn avulla, joka voi johtaa laadun heikkenemiseen ja varsinkin maun heikkenemiseen. Pastörintia voidaan lämpökäsittelyn sijaan tehdä esimerkiksi sähkökenttien tai hydrostaattisen paineen avulla. Sähkökenttiä voidaan hyödyntää pastöroinnissa PEF (eng. pulsed electric field) tekniikan avulla. Hydrostaattista painetta käytetään oluessa 100-1000 MPa paineella, mikä parantaa säilyvyyttä ilman laadun selkeää heikentymistä. (Bamforth 2008, 179.)

Pastöroinnin lisäksi oluen suodattaminen on hyvä tapa estää mikrobiologista kontaminaatiota. Suodattamisessa kaksi tärkeintä huomionkohdetta ovat suodattamisen kalleus ja mikrobiologisen vakauden parantamisen varmuus. Varsinkin pienpanimoille suodattaminen voi olla liian kallista. Kaikki olutta pilaavat mikrobit jäävät kiinni joko 1,2 µm tai 0,22 µm suodattimiin. Kalvosuodatuksen voi tehdä monessa eri oluen panoprosessin vaiheessa. (Bamforth 2008, 180.)

KCB:n panimon oluet eivät ole suodatettuja eikä pastöroitua. Tämä pitää ottaa huomioon säilyvyyden määrittämisen menetelmiä luodessa ja niitä suorittaessa. Tšekin Oluenpanon ja Maltaiden Tutkimusinstituutin (eng. Research Institute of Brewing and Malting) tutkimuksen mukaan pienpanimoissa pantujen suodattamattomien ja pastöroimattomien oluiden kontaminaatoriskin vaikuttaa enemmän solujen määrä oluessa kuin säilytyslämpötila. Suodattaminen on tapa

vähentää näiden solujen määrää. Osa pienpanimoiden oluista oli kaupassa myynnissä, vaikka ne olivat kontaminoituneita. (Fous ym. 2024, 7.)

2.3 Oluen fyysinen säilyvyys

Oluen fyysistä säilyvyyttä voidaan myös kutsua kollodiaaliseksi säilyvyydeksi. Se tarkoittaa oluen sameuden muodotumista ja kirkkauden vähenemistä oluen säilytyksen aikana. Sameuden muodostumista aiheutuu koko panoprosessin aikana ja siihen vaikuttaa monta tekijää, mutta yleisin syy on raaka-aineet. (Kilcast ym. 2011, 529.)

Oluen sameuden aiheuttajatyyppejä on erilaisia, esimerkiksi β -glukaani, tärkkelys, mikro-organismit ja oksalaatti. Yleisin sameutta aiheuttava reaktio on polyfenolien polymerisaatio ja niiden vuorovaikutus tiettyjen proteiinien kanssa. Polyfenolit oluessa tulevat ohrasta ja käytetyistä humalista. Polyfenolien rooli oluessa kollodiaalisen säilyvyyden lisäksi on oluen suojaaminen hapettumista vastaan, joka auttaa maun säilyvyydessä. (Bamforth 2008, 134; Kilcast ym. 2011, 529.)

Chill haze sameutta muodostuu oluen ollessa alle 0 °C:n lämpötilassa. Chill haze sameus koostuu polymerisoiduista polyfenoleista ja proteiineista, jotka ovat peruutettavasti yhteydessä toisiinsa. Kun olut palautetaan huoneenlämpöön, niin siitä tulee taas kirkasta. Sameudesta voi tulla peruuttamatonta, jos oluen lämpötilaa vaihdetaan edestakaisin tarpeeksi monta kertaa tai sen annetaan olla huoneenlämmössä kuusi kuukautta tai kauemmin. (Bamforth 2008, 114; Kilcast ym. 2011, 529.) Nopeutetun ikääntymisen menetelmää varten, oluesta halutaan chill haze sameus.

2.4 Pakkauksen vaikutus oluen säilyvyyteen

Varhaisimmat oluet pakattiin puutyynyreihin tai keramisiin säiliöihin eivätkä ne säilyneet kovin pitkään. Nykyään olut pakataan kegeihin, tölkkeihin ja lasi- tai muovipulloihin. Uudet pakkausmateriaalit ja -tavat parantavat oluen säilyvyyttä

ja laatua. Modernissa oluessa pakkauksen sisäinen paine on tärkeää, jotta sen hiilidioksidipitoisuus ei laskisi. (Barth 2013, 241; Robertson 2009, 223.)

KCB:n tölkit pakataan kegeihin tai alumiinitölkkeihin ja tässä opinnäytetyössä käytettävät oluet ovat tölkitettyjä.

Oluen täyttämässä pakkaukseen on tärkeää minimoida oluen hävikki, pitää oluen tilavuus vakiona, minimoida hiilidioksidin menetys ja hapen lisääminen ja välttää mikrobiologista, fyysistä tai kemiallista kontaminaatioita. Muovipullot ja alumiinitölkit ovat lasipulloja heikompia, mikä tulee ottaa huomioon täyttämistapaa valitessa. Niiden heikkous myös vaikeuttaa hapen saamista pois pakkauksesta ilman pullon litistymistä, mikä huonontaa oluen säilymistä. (Robertson 2009, 224.)

Alumiini on suhteellisen uusi käyttömateriaali. Alumiini esiintyy luonnossa Al^{3+} -ionin muodossa ja sitä täytyy prosessoida käyttöä varten. Tölkeissä käytettävä alumiini sisältää hieman magnesiumia ja mangaania mekaanisten ominaisuuksien parantamiseksi. Alumiinitölkin seinämät ovat vain 0,09 mm:n paksuisia. Tölkkien sisäpinnat päällystetään epoksi nimisellä polymeeripinnoitteella, jotta olut ei olisi suoraan kosketuksessa alumiinin kanssa. Alumiinitölkit ovat halpoja, kevyitä ja vievät vähän tilaa, joka säästää energiaa kuljetuksessa. Ongelmana tölkeissä on tölkin kannen mahdollinen kontaminaation aiheuttaminen sen vuorovaikutuksessa oluen kanssa. (Barth 2013, 245–247.)

3 Oluen säilyvyyden mittaamisen menetelmät

Oluen säilyvyyden mittaamiselle löytyy erilaisia menetelmiä, joissa on omat hyvät ja huonot puolensa. Tässä opinnäytetyössä mittaaminen tehdään aistinvaraisesti huoneenlämmössä ja sameuden avulla, kun lämpötilaa on nostettu. Kumpikaan mittaustavoista ei ole täydellinen, ja niistä voi molemmista aiheutua virheitä. Pienpanimon mittakaavassa ne ovat kuitenkin tarpeeksi tarkkoja.

Oluen säilyvyyden mittaamiselle yksi parhaimmista tavoista on liunneen hapen mittaaminen. Liunneen hapen mittaamiseen tarvittavat laitteet ovat kuitenkin kalliita, joten ne ovat suurimmalle osalle pienpanimoista liian suuria investointeja. (Heininen 2019, 48.)

3.1 EBC-menetelmä

Oluen säilyvyyden määrittämiseksi löytyy useita eri EBC:n ohjeita. Osa niistä on tarkoitettu erikseen suodatetulle oluelle, joten niitä ei voida käyttää KCB:n panimolla. EBC:n ohje, jota hyödynnetään tässä menetelmässä on 4.3.1.2 Shelf Life of Beer in Cans and Kegs (2011). (EBC 2011.)

EBC-ohjetta ei suoraan kopioida, vaan sitä käytetään mukailien. Ohjeessa olut säilytetään huoneenlämmössä 30 ja 60 päivää, minkä jälkeen siitä testataan mikro-organismien määrä, josta voidaan päätellä oluen biologinen vakaus (EBC 2011). KCB:n oluiden säilyvyys on arvioitu olevan 6 kuukautta, joten EBC-ohjetta mukailaan, niin että oluet säilyvät 30 ja 60 päivän sijaan 6 kuukautta sekä 9 kuukautta. 9 kuukautta otetaan mukaan, jotta testataan voiko oluiden hyllykää mahdollisesti nostaa.

Oluttölkkejä laitetaan säilymään yhteensä neljä kappaletta, josta kaksi avataan aina kerrallaan. Oluet säilytetään Lean-järjestelmän ohjeiden mukaan järjestellyssä kaapissa, josta kerrotaan enemmän kappaleessa 6.2. Avatuista

tölkeistä otetaan aistinvaraisia analyyskejä. Jos niissä havaitaan kontaminaatio, niin niille tehdään mikrobiologinen viljely.

3.1.1 Oluen aistinvarainen analyysi

Oluen aistinvaraisessa analyysissä koulutettu raati analysoi olutta aistiensa avulla, joista näkö, haju ja maku ovat oleellisimmat. Aistinvaraiset analyysit voidaan jakaa hedonistisiin ja analyyttisiin analyysihin. Hedonistisissa analyysissä maistajat eivät ole koulutettuja ja heitä käytetään yleensä uusien tuotteiden tai uuden reseptin kokeilemiseen. Analyttisissä analyysissä paneeli on koulutettu ja analyysien on tarkoitus olla objektiivisiä. Analyttisissä analyysissä on tärkeää pitää testiympäristö neutraalin näköisenä ja vältellä liiallisen tiedon kertomista näytteistä, jotta tulokset ovat objektiivisempia. (Barth 2013, 192.)

Tölkkin avatessa oluesta otetaan aistinvaraisia analyyskejä, jotka ovat tuoksu, visuaalinen sameus ja viimeisenä maku. Oluen sameuden kasvamisesta tölkin sisällä voi päätellä siinä tapahtuvan potentiaalisen kontaminaation tapahtumisen. Kontaminaation voi huomata myös tietyistä tuoksuista ja mauista. Kappaleessa 2.1 kerrotaan oluen sivumauista ja sameuden vaikutuksesta säilyvyyteen.

Aistinvaraiset analyysit suorittaa joko KCB:n henkilökunta ja/tai siellä työskentelevät opiskelijat. Suunnitteilla on myös opiskelijoista koostuva makuraati, joka on koulutettu oluen aistinvaraiseen analyysiin ja suorittaisi juuri tässä menetelmässä tehtäviä analyyskejä.

3.1.2 Kontaminoituneen näytteen viljely

Kun aistinvaraisissa analyysissä huomataan potentiaalinen kontaminaatio, niin oluesta otetaan näyte säilöön. Näytteestä tehdään mikrobiologinen viljely. Viljelyn menetelmän suunnitteleminen ei kuulu tähän opinnäytetyöhön, vaan se

on jo valmiina. Menetelmän nimi on Oluen mikrobiologisen laadun määrittäminen.

3.2 Nopeutetun ikääntymisen menetelmä

Oluen tai muiden elintarvikkeiden säilyvyyden mittaaminen perinteisellä tavalla on hidaskeski. Siksi on kehitetty tapoja, joilla elintarvikkeiden ikääntymistä nopeutetaan jotakin parametriä tai parametrejä muuttamalla. Elintarvikkeiden nopeutettua ikääntymistä kutsutaan akronyymilla ASTL (eng. accelerated shelf life testing). Elintarvikkeiden nopean hyllyiän mittaamisen lisäksi nopeutettua ikääntymistä käytetään elintarvikkeiden hyllyiän potentiaalisen kasvattamiseen. (Kilcast ym. 2011, 482.)

3.2.1 Arrheniuksen malli

Nopeutetun ikääntymisen menetelmäohjeessa päädyttiin käyttämään Arrheniuksen mallia, koska se yksinkertainen ja helposti suoritettava koulun laboratoriotiloissa.

Arrheniuksen mallissa on vain yksi oleellinen ikääntymistä nopeuttava parametri, joka on lämpötila. Arrheniuksen malli on yleisesti hyväksytty, mutta sen validointi on haastavaa, koska sen kaavassa ei oteta varastointiolosuhteita huomioon. (Kilcast ym. 2011, 487.)

Arrheniuksen kaava on seuraavanlainen (Bamforth 2008, 95).

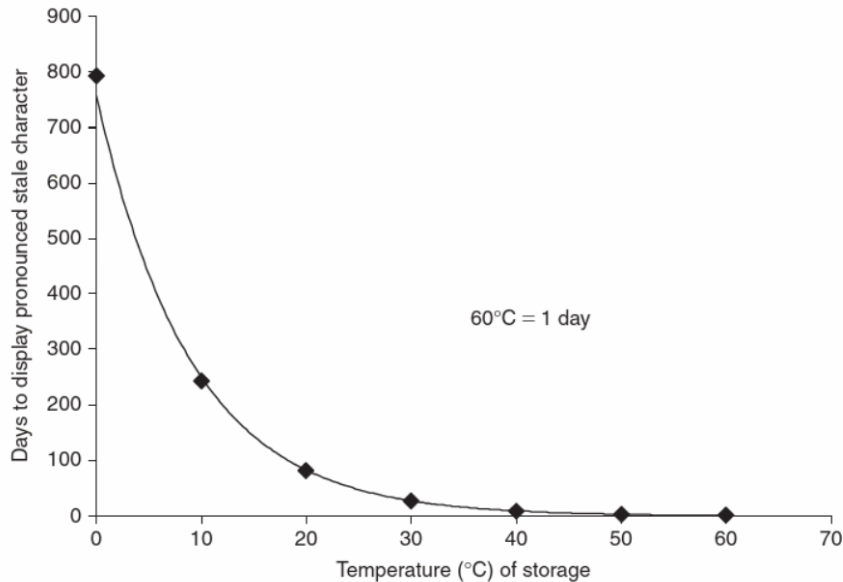
$$k_{t+10} = 2\sim 3 k_t, \quad (1)$$

jossa

k_t on kemiallisen reaktion nopeus tietyssä lämpötilassa

k_{t+10} on reaktion nopeus lämpötilaa nostettaessa 10 °C

Arrheniuksen kaavan mukaan siis nostamalla oluen lämpötilaa 10 °C, oluen ikääntyminen nopeenee kahdesta kolmenkertaiseksi. Arrheniuksen menetelmän heikkous on tarkan ikääntymisen nopeutumisen tietämisen puute. (Bamforth 2008, 95.)



Kuva 3. Lämpötilan vaikutus oluen maun heikentymiseen (Bamforth 2008, 95).

Kuvan 3 avulla nähdään lämpötilan vaikutus oluen säilyvyyteen visuaalisesti. Olut ikääntyy yhden vuorokauden aikana 60 °C:ssa yhtä paljon kuin neljän viikon aikana 30 °C:ssa. Jos olutta säilytetään 10 °C:ssa huoneenlämpötilan sijaan, niin sen pitäisi teoreettisesti säilyä noin 5 kuukautta kauemmin. Lämpötila on siis todella oleellinen parametri oluen säilyvyyttä ajatellessa. (Bamforth 2008, 95–96.)

3.2.2 Sameuden mittaus

Nopeutetun ikääntymisen menetelmässä oluet ikäännytetään lämpötilan avulla. Oluen ikääntymistä kuitenkin täytyy myös mitata, jotta menetelmän toimiminen voidaan varmistaa ja saadaan selville mittauksien raja-arvot. Ikääntyminen mitataan oluen sameuden avulla. Varastoinnin lämpötila ja hapen määrä oluessa vaikuttavat eniten oluen sameuteen. Oluen säilyessä korkeammassa

lämpötilassa kuuluisi teoreettisesti tehdä siitä lineaarisesti sameampaa. (Kilcast ym. 2011, 529–530.)

Menetelmässä olutnäytteistä mitataan chill haze sameutta, josta kerrotaan kappaleen 2.3 loppu puolella. Chill haze sameuden mittaamisessa käytetään apuna EBC-ohjetta EBC 9.41 Alcohol Chill Haze in Beer (Chapon) (2004), jossa selitetään miten chill haze -sameus saadaan mitattua oluesta. EBC-ohjeen avulla oli jo tehty sameuden mittaamiselle menetelmäohje KCB:n panimolle, jota myös hyödynnetään Nopeutetun ikääntymisen menetelmäohjetta tehdessä.

Sameus mitataan HACH 2100P ISO Turbidimeter -sameusmittarilla.

Sameusmittarin viritys kuuluu osana opinnäytetyöhön ja sen suorittaminen mainitaan menetelmäohjeessa. Sameusmittarin viritys perustuu EBC-ohjeeseen EBC 9.29 Haze in Beer: Calibration of Haze Meters (2015).

Sameusmittari mittaa oluesta sameuden mittaamalla nefelometrisesti 90 asteen kulmasta siroutuneen valon. Olutnäytteet ovat kyveteissä sameusmittarin sisällä ja valo kulkee niiden lävitse. (EBC 9.41 2004.)



Kuva 4. Käytettävä sameusmittari ja siihen kuuluvat välineet

4 Oluen säilyvyyden menetelmien suorittaminen

Oluen säilyvyyden mittaamisen menetelmäohjeita tehdään kaksi. Ensimmäinen perustuu EBC-ohjeeseen ja toinen perustuu nopeutettuun ikääntymiseen. EBC-ohjeeseen perustuva menetelmä kestää 9 kuukautta, johon opinnäytetyön tekemisessä ei ole aikaa, joten sen toimimista ei ehditä varmistaa. Nopeutetun ikääntymisen menetelmän yksi mittauskerta kestää viikon, joten siitä ehditään tehdä monta toistoa ja menetelmää voidaan muokata mittausten aikana tuloksista riippuen. Nopeutetun ikääntymisen menetelmän mittaukset suoritetaan Turun Ammattikorkeakoulun laboratoriotiloissa.

4.1 EBC-menetelmän suunnitelma

EBC-menetelmässä tölkitettyä olutta säilytetään huoneenlämmössä ja siitä otetaan tietyin ajanjaksoin aistinvaraisia analyyseja. Jos oluessa epäillään olevan kontaminaatio, niin olutnäyte otetaan talteen ja sille tehdään mikrobiologinen viljely. EBC-menetelmässä ei käytetä vaarallisia reagensseja eikä jätteitä tarvitse kerätä erikseen, joten turvallisuudelle ei tehdä erikseen kappaletta.

4.1.1 Periaate

EBC-menetelmässä mukailaan EBC-ohjetta 4.3.1.2 Shelf Life of Beer in Cans and Kegs (2011).

EBC-menetelmä perustuu osittain KCB:n entiseen oluen säilyvyyden mittaamisen menetelmään.

Mikrobiologinen viljely perustuu Oluen mikrobiologisen laadun määrittäminen -menetelmäohjeeseen.

4.1.2 Reagenssit, laitteet ja välineet

Reagenssit

Neljä tölkkiä mitattavaa olutta

Laitteet ja välineet

Menetelmässä ei käytetä laitteita tai välineitä. Oluet säilytetään erikseen merkatussa kaapissa ja aistinvaraisiin analyyseihin ei tarvita laitteistoa.

4.1.3 EBC-menetelmän suorittaminen

Menetelmää varten leanataan oma kaappi KCB:n panimon tilaan, johon merkataan oluiden säilyttämisen alkamiskuukausi. Kaapista kerrotaan lisää kappaleessa 6.2.

Menetelmää varten otetaan neljä tölkkiä olutta jokaisesta erästä olutta talteen. Oluet laitetaan huoneenlämpöön säilymään, niin että kaksi niistä avataan 6 kuukauden säilymisen jälkeen ja toiset kaksi 9 kuukauden jälkeen. Säilytettävät oluet merkataan omavalvontaan sovellettuun Excel-taulukkoon, josta kerrotaan lisää kappaleessa 6.2.

Oluttölkeistä tehdään aistinvaraisia analyyskejä niiden avaamisen yhteydessä edellämainittuina ajanjaksoina. Aistinvaraiset analyysit ovat visuaalinen sameus, tuoksu ja maku. KCB aikoo hankkia makuraadin, johon kuuluu oluen aistinvaraisiin analyyseihin koulutettuja opiskelijoita, jotka voivat suorittaa tähän menetelmään kuuluvat analyysit osana opiskeluaan. Aistinvaraisten analyysien avulla yritetään selvittää onko olut kontaminoitunut.

Jos olut todetaan kontaminoituneeksi, niin siitä otetaan talteen näyte, josta suoritetaan mikrobiologinen viljely. Mikrobiologisen viljelyn suoritus kerrotaan erillisessä menetelmäohjeessa.

4.2 Nopeutetun ikääntymisen menetelmän suunnitelma

Nopeutetun ikääntymisen menetelmän suunnitelmassa olutta säilytettiin aluksi lämpökaapissa 60 °C:ssa päivän ajan ja 50 °C:ssa kolme päivää. Näytteistä otetaan vuorokauden välein sameusmittaus ja viikonloppuna ei ole mahdollista tehdä mittauksia, joten haluttiin valita lämpötila, jossa olut ikääntyisi tarpeeksi neljän päivän sisällä. Aluksi haluttiin suorittaa viisi toistoa mittauksia, jotta saataisiin tarpeeksi dataa menetelmän toimimisen todistamiseksi.

Menetelmässä tapahtuvien huonojen tulosten ja virheiden takia menetelmää yritettiin optimoida ja lämpötila laskettiin lopuksi 40 °C:een neljäksi päiväksi. Menetelmää tehtiin yhteensä seitsemän toistoa, mutta koska menetelmää muutettiin ja osassa toistoissa tapahtui virheitä, niin kunnollisia toistoja 40 °C:ssa saatiin yhteensä kolme kappaletta.

4.2.1 Periaate

Menetelmäohjeessa mukaillaan EBC-ohjetta EBC 9.41 Alcohol Chill Haze in Beer (Chapon) (2004).

Sameusmittarin kalibrointiliuos ja viritys tehdään EBC-ohjeen EBC 9.29 Haze in Beer: Calibration of Haze Meters (2015) mukaan.

Nopeutettu ikääntyminen perustuu Arrheniuksen malliin, josta selitetään tarkemmin kappaleessa 3.2.1.

Sameuden mittauksen ja sameusmittarin käytössä käytetään KCB:n aiempaa sameuden mittaamisen ohjetta apuna.




4.2.2 Reagenssit ja turvallisuus

Sameusmittarin virittämisessä käytetyt reagenssit ovat vaarallisia (hydratsiinisulfaatti ja heksametyleenitetramiini) ja niiden jätteet otetaan talteen. Reagenssit ja niihin kuuluvat turvallisuusriskit löytyvät taulukoista 1 ja 2.

Taulukko 1. Nopeutetun ikääntymisen menetelmässä käytettävät reagenssit

Reagenssi	Valmistaja	Lot	Puhtaus	CAT no
Hydratsiinisulfaatti (N ₂ H ₅) ⁺ (HSO ₄) ⁻	Sigma- Aldrich	#BCBD5022V	≥ 99,0 %	53900- 100G
Heksametyleenitetramiini (CH ₂) ₆ N ₄	Supelco	K52279143110	for analysis	1.0434. 0100
Etanoli 99,5 til-%	Altia Oyj	-	Aa	64-17-5
Mitattavat oluet: Olut X (KCB:n olut) ja Karhu 4,6 %				

Taulukko 2. Nopeutetun ikääntymisen menetelmässä käytettävien reagenssien turvallisuustiedot (Carl Roth 2024a; Carl Roth 2024b; Sigma-Aldrich 2025).

Reagenssi	Merkinnät	Vaara- ja turvalausekkeet
Heksametyleenitetramiini (CH ₂) ₆ N ₄		H228, H317, P210, P280, P333+P313
Hydratsiinisulfaatti (N ₂ H ₅) ⁺ (HSO ₄) ⁻		H301, H331, H311, H314, H318, H317, H350, H400, H410, P260, P273, P280, P303+P361+P353, P304, P340+P310, P305+P351+P338
Etanoli CH ₃ CH ₂ OH		H225, H319, P210, P233, P305+P351+P338

Taulukossa 2 olevat vaara- ja turvalausekkeet ovat liitteessä 3.

Reagensseja käsitellessä käytetään suojalaseja, nitrilihanskoja ja laboratoriotakkia. Hydratsiinisulfaatti on myrkyllistä ja ympäristölle haitallista, joten sitä käsitellessä täytyy olla erityisen varovainen. Sitä käsitellään vetokaapissa ja sen jätteet otetaan talteen. Heksametyleenitetramiini sekoitetaan hydratsiinisulfaattiin ja sitä kautta otetaan myös talteen. Etanolin voi kaataa viemäriin runsaan veden kera, koska sen konsentraatio näytteissä on

alhainen ja laboratoriossa on neutralointikaivo. (Carl Roth 2024a; Carl Roth 2024b; Sigma-Aldrich 2025.)

4.2.3 Laitteet ja välineet

Taulukko 3. Nopeutetun ikääntymisen menetelmässä käytetyt laitteet ja välineet

Laite/väline	Tiedot
Täyspipetti 25 ml	± 0,03 ml, Blau Brand, As, Ex + 15s, 20 °C
Mittapullo 100 ml	± 0,10 ml, Blau Brand, A, In 20 °C
Lämpökaappi	Memmert, Turku AMK BIO 1494
Lämpökaappi	Ehret, Turku AMK EL 1177
Analyysivaaka	± 0,0002 g, Tarkkuus 0,0001 g, Mettler Toledo, Turku AMK 5079
Automaattipipetti 1-5 ml	BIOHIT PROLINE, A216, 168
Automaattipipetti 200-1000 µl	BIOHIT PROLINE, A216, 904
Täyspipetti 10 ml	± 0,02 ml, As, Ex + 5s, 20 °C
Ultraäänihaude	Bandelin SONOREX SUPER RK 514 BH, DVE GS, Turku AMK BIO 5053
Sameusmittari	2100P ISO Turbidimeter, HACH, 09040c012518, Turku AMK BIO 2001
Jääkone	PORKKA, KF75, Turku AMK BIO 1347
Digitaalinen lämpömittari	TES 1311, K-Type Thermometer, 5, Irto 57, Turku AMK BIO 1673
Dekanterilaseja, mittapulloja, jäähaude (haudemalja + jäätä), suppiloita, pasteur-pipettejä, ajastin, sameusmittariin kuuluvat osat (esim. kyvetit)	

4.2.4 Sameusmittarin viritys

Kalibrointiliuoksen tekeminen

Nopeutetun ikääntymisen menetelmässä käytetään sameusmittaria, joten ensimmäiseksi tehdään sameusmittarin kalibrointiliuos.

Tiedot kalibrointiliuokseen tarvittavista reagensseista, laitteista ja välineistä löytyvät taulukoista 1 ja 3.

Punnitaan 1,0034 g hydratsiinisulfaattia analyysivaa'alla 100 ml mittapulloon. Täytetään mittapullo vedellä merkkiin asti ja sekoitetaan noin 20 kertaa. Annetaan liuoksen seistä vetokaapissa noin 4 tuntia.

Punnitaan 10,0027 g heksametyleenitetramiinia analyysivaa'alla 100 ml mittapulloon. Täytetään mittapullo vedellä merkkiin asti ja sekoitetaan noin 20 kertaa.

Kun hydratsiinisulfaattiliuos on seissyt vetokaapissa 4 tuntia, niin pipetoidaan 25 ml molempia liuoksia 100 ml mittapulloon. Sekoitetaan mittapulloa noin 20 kertaa ja laitetaan se 24 tunniksi 25 °C lämpökaappiin.

Sameusmittarin viritys

Kalibrointiliuoksen sameus on 4000 NTU. Sameusmittarin viritykseen tarvitaan kolme eri standardiliuosta, joiden sameudet ovat 20 NTU, 100 NTU ja 800 NTU. Kalibrointiliuosta käytetään työliuoksena, josta standardiliuokset laimennetaan.

Standardiliuokset laimennetaan työliuoksesta seuraavasti:

$$\frac{20 \text{ NTU}}{4000 \text{ NTU}} = \frac{1}{200}$$

$$\frac{100 \text{ NTU}}{4000 \text{ NTU}} = \frac{1}{40}$$

$$\frac{800 \text{ NTU}}{4000 \text{ NTU}} = \frac{1}{5}$$

20 NTU:n standardiliuos valmistetaan pipetoimalla 0,5 ml työliuosta 100 ml mittapulloon. 100 NTU:n standardiliuos valmistetaan pipetoimalla 2,5 ml työliuosta 100 ml mittapulloon. 800 NTU:n standardiliuos valmistetaan pipetoimalla 10 ml työliuosta 50 ml mittapulloon.

Tarkemmat ohjeet itse laitteen viritysprosessiin löytyy laitteen manuaalista (Hach 2004).

4.2.5 Nopeutetun ikääntymisen menetelmän suorittaminen

Näyteoluenä käytettiin KCB:n olutta, johon viitataan nimellä Olut X.

Vertailuoluenä käytettiin Karhun 4,6 % olutta.

Mittauskertoja oli yhteensä 7 kertaa ja yksi mittauskerta kesti viikon. Ensimmäisellä mittauskerralla näytteitä oli yhteensä kuusi ja niiden tiedot löytyvät alla olevasta taulukosta. Toisella mittauskerralla näytteet olivat samanlaiset, joten niiden tiedot ovat samassa taulukossa.

Taulukko 4. Ensimmäisen ja toisen mittauskerran näytteet

Näyte	Lämpökaapin lämpötila	Näytteen aika lämpökaapissa
1	60 °C	1 päivä
2-4	50 °C	1, 2 ja 3 päivää
5	Ei lämpökaapissa	-
6	Kontaminoitunut näyte	-

Kaksi ensimmäistä mittauskertaa aloitettiin laittamalla näyte 1 lämpökaappiin maanantaina. Koska näytteet 5 ja 6 eivät mene lämpökaappiin, niin ne voitiin mitata heti.

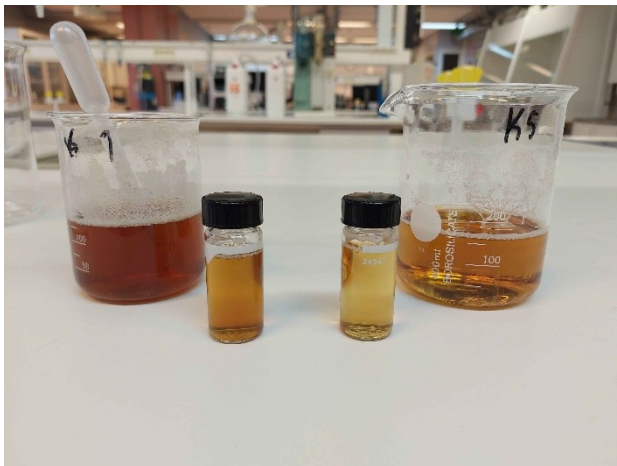
Esimerkki näytteen mittauksesta (näytteen käsittely muuttuu mittausten aikana, mutta siitä kerrotaan myöhemmin)

1. Olutnäytteestä kaadetaan noin 200 ml 400 ml:n dekantterilasiin, joka laitetaan ultraäänihauteeseen, kunnes se ei enään vaahtoa. Oluessa oleva hiilidioksidi sekä vaahto vaikeuttaa sameuden mittausta ja sen vähentäminen ennen mittausta on tärkeää.



Kuva 5. Olutnäytteet ultraäänihauteessa

2. Ultraäänihauteessa ollut näyte kaadetaan 50 ml mittapulloon ja pulloa käännellään noin 20 kertaa, jotta sameus on näytteessä mahdollisimman tasaisesti. Korkkia avataan välillä, jotta pullon sisälle ei kasva liikaa painetta. Näyte kaadetaan kyvetiin ja siitä mitataan sameus sameusmittarilla. Kyveti tyhjennetään ja samaan kyvetiin kaadetaan näytettä lisää ja otetaan sameus uudestaan. Toistetaan tämä prosessi kolmannen kerran. Yhdestä näytteestä saadaan silloin kolme rinnakkaisnäytettä. Samaa kyvetiä voidaan käyttää, koska kyseessä on samaa liuosta.



Kuva 6. Esikäsitellyt olutnäytteet kyveteissä

3. Pipetoidaan 3 ml etanolia 100 ml mittapulloon. Täytetään mittapullo merkkiin asti jäljellä olevalla olutnäytteellä. Olutnäytettä käsitellessä voidaan käyttää pasteur-pipettejä, koska oluen vaahto vaikeuttaa tarkkoja mittauksia. Mittapulloa käännellään noin 20 kertaa välillä korkkia avaten. Kaadetaan valmis liuos kolmeen kyvetiin. Laitetaan kyvetit haudemaljaan, joka täytetään jäällä. Annetaan näytteiden olla jäähauteessa 40 minuuttia. Jäähaude kannattaa laittaa jääkaappiin, jotta jää ei sula.



Kuva 7. Olutnäytteet jäähauteessa

4. Kun näytteet ovat olleet jäähauteessa 40 minuuttia, niin niistä mitataan sameudet uudestaan. Lämpötilan muutos vaikuttaa paljon oluen sameuteen, joten aika näytteiden jäähauteesta poisoton ja sameuden mittauksen välillä pitää olla mahdollisimman lähellä vakiota ja alle 2 minuuttia. Tulokset ja niiden käsittely kerrotaan kappaleessa 5.1.

Mittausten aikana tapahtuvat muutokset

Kolmannesta mittauskerrasta alkaen mittauksiin otettiin mukaan digitaalinen lämpömittari. Olutnäytteiden lämpötilan täytyy olla noin huoneenlämpöinen ennen ensimmäistä sameuden mittausta, mikä testattiin lämpömittarin avulla.

Kolmannesta mittauskerrasta eteenpäin mittauksiin otettiin mukaan vertailunäytteinä toimivia Karhun 4,6 % oluita, joiden avulla menetelmän toiminta pystyttiin todistamaan paremmin. Karhun olunäytteet ovat muuten samanlaisia kuin muut näytteet, paitsi niistä ei ole kontaminoitua näytettä (näyte 6). Karhun näytteet merkitään lisäämällä K näytteen numeron eteen, esimerkiksi näyte K2 on saman aikaa lämpökaapissa samassa lämpötilassa kuin näyte 2. Kolmannen mittauskerran näytteet ovat siis identtisiä taulukossa 4 oleviin näytteisiin paitsi niissä on mukana näytteet K2-K5. K1 näytettä ei tehty, eli Karhun näytettä ei laitettu 60 °C.

Neljännestä mittauskerrasta eteenpäin 60 °C näytteet poistettiin menetelmästä kokonaan, koska tölkeissä oli tapahtunut vuotoja. Sen sijaan lisättiin 40 °C näytteitä. Neljännellä mittauskerralla pidettiin näyte 6 eli kontaminoitunut näyte menetelmässä, mutta se poistettiin sen jälkeen, koska rinnakkaismittausta siitä riitti. Alla olevassa taulukossa ovat neljännestä mittauskerrasta eteenpäin käytettävät näytteet.

Taulukko 5. Neljännestä mittauskerrasta eteenpäin käytettävät näytteet

Näyte	Lämpökaapin lämpötila	Näytteen aika lämpökaapissa
1-4 ja K1-K4	40 °C	1, 2, 3 ja 4 päivää
5 ja K5	Ei lämpökaapissa	-
6 (vain 4. mittauskerta)	Kontaminoitunut Olut X näyte	-

5 Menetelmien tulokset

EBC-menetelmän suorittamisessa kestää 9 kuukautta, joten sitä ei suoritettu opinnäytetyön aikana, eikä siitä sen takia ole tuloksia.

Nopeutetun ikääntymisen menetelmän tuloksia tuli seitsemästä mittauskerrasta, jossa yksi kerta mittauksia kesti viikon ajan. Tarkemmin menetelmän näytteistä ja niissä tapahtuvista muutoksista kerrotaan kappaleessa 4.2.5. Menetelmän tulokset ovat näytteistä mitattavia sameuksia ja niistä pääteltyjä raja-arvoja. Virhearviointi on tärkeä osa tulosten analysointia ja menetelmän luotettavuuden arviointia.

5.1 Tulokset

Nopeutetun ikääntymisen menetelmän tulokset ovat chill haze sameuksia, jossa sameus mitataan huoneenlämmössä ja jäähauteessa olon jälkeen. Jokaisesta näytteestä on rinnakkaisnäytteitä tulosten luotettavuuden lisäämiseksi.

5.1.1 Sameudet mittauskerran mukaan

Chill haze sameus lasketaan seuraavanlaisella kaavalla (EBC 9.41 2004).

$$\text{Sameus} = FT - IT,$$

jossa

FT on jäähauteen jälkeen mitattava sameus (Final Temperature)

IT on huoneenlämmössä mitattava sameus (Initial Temperature)

Alla olevissa taulukoissa (Taulukot 6-12) on jokaisen mittauskerran sameuksien tulokset. Sameuden yksikkö on NTU. Taulukoissa on myös keskiarvo (\bar{x}), keskihajonta (s) ja suhteellinen keskihajonta (RSD%).

Taulukko 6. Ensimmäisen mittauskerran tulokset

Näyte	IT	FT	\bar{x}	s	RSD%	FT-IT
1. (60 °C 1 d)	47,7 48,0 46,5	- - -	IT: 47,4 FT: -	IT: 0,79 FT: -	IT: 1,67 FT: -	-
2. (50 °C 1 d)	33,8 34,6 34,7	125 120 121	IT: 34,4 FT: 122	IT: 0,49 FT: 2,65	IT: 1,44 FT: 2,17	87,6
3. (50 °C 2 d)	29,8 29,5 29,2	115 117 112	IT: 29,5 FT: 115	IT: 0,30 FT: 2,52	IT: 1,02 FT: 2,19	85,2
4. (50 °C 3 d)	25,9 25,9 26,0	95,4 102 103	IT: 25,9 FT: 100	IT: 0,06 FT: 4,13	IT: 0,22 FT: 4,12	74,2
5. kontrolli	21,2 22,2 21,9	47,8 58,4 60	IT: 21,8 FT: 55,4	IT: 0,51 FT: 6,63	IT: 2,36 FT: 11,97	33,6
6. kontam.	122 122 122	184 182 174	IT: 122 FT: 180	IT: 0,00 FT: 5,29	IT: 0,00 FT: 2,94	58,0

Jokaisesta näytteestä otettiin kolme rinnakkaisnäytettä, joista lasketaan keskiarvo (\bar{x}), keskihajonta (s) ja suhteellinen keskihajonta (RSD%).

Näytteiden keskiarvo lasketaan seuraavasti.

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n},$$

jossa

\bar{x} on keskiarvo

$\sum_{i=1}^n x_i$ on kaikkien arvojen summa

n on arvojen lukumäärä

Lasketaan esimerkkilasku keskiarvosta näytteellä 1 (Taulukko 6).

$$\bar{x} = \frac{47,7 + 48,0 + 46,5}{3} = 47,4$$

Näytteiden keskihajonta lasketaan seuraavasti.

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}},$$

jossa

s on keskihajonta

Lasketaan esimerkkilasku keskihajonnasta näytteellä 1 (Taulukko 6).

$$s = \sqrt{\frac{(47,7 - 47,4)^2 + (48,0 - 47,4)^2 + (46,5 - 47,4)^2}{3 - 1}} = 0,79$$

Näytteiden suhteellinen keskihajonta lasketaan seuraavasti.

$$RSD\% = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100 \%,$$

jossa

$RSD\%$ on suhteellinen keskihajonta

Lasketaan esimerkkilasku suhteellisesta keskihajonnasta näytteellä 1 (Taulukko 6).

$$RSD\% = \frac{0,79}{47,4} \cdot 100\% = 1,67\%$$

Taulukko 7. Toisen mittauskerran tulokset

Näyte	IT	FT	\bar{x}	s	RSD%	FT-IT
1. (60 °C 1 d)	33,7 33,5 34,4	99,9 107 104	IT: 33,9 FT: 104	IT: 0,47 FT: 3,56	IT: 1,40 FT: 3,44	69,8
2. (50 °C 1 d)	35,7 37,0 36,3	107 97,1 102	IT: 36,3 FT: 102	IT: 0,65 FT: 4,95	IT: 1,79 FT: 4,85	65,7
3. (50 °C 2 d)	34,7 35,6 35,6	98,2 102 99,4	IT: 35,3 FT: 99,9	IT: 0,52 FT: 1,94	IT: 1,47 FT: 1,95	64,6
4. (50 °C 3 d)	21,0 20,7 20,8	89,3 86,5 81,2	IT: 20,8 FT: 85,7	IT: 0,15 FT: 4,11	IT: 0,73 FT: 4,80	64,8
5. kontrolli	22,5 23,5 22,1	37,8 39,6 31,2	IT: 22,7 FT: 36,2	IT: 0,72 FT: 4,42	IT: 3,18 FT: 12,22	13,5
6. kontam.	284 284 284	321 318 316	IT: 284 FT: 318	IT: 0,00 FT: 2,52	IT: 0,00 FT: 0,79	34,3

Taulukoissa 8-12 eli kolmannesta mittauskerrasta eteenpäin ei ole yksittäisiä sameustuloksia, vaan IT:n ja FT:n kohdalla käytetään keskiarvoja, koska mittauksissa oli mukana vertailunäytteitä ja dataa on liian paljon yhteen taulukkoon. Keskihajonta ja suhteellinen keskihajonta ovat kuitenkin taulukoissa, joten rinnakkaisnäytteiden eroavaisuudet näkee niistä silti.

Taulukko 8. Kolmannen mittauskerran tulokset

Näyte	IT	FT	s	RSD%	FT-IT
1. 60 °C 1 d	49,4	109	IT: 1,20 FT: 5,51	IT: 2,43 FT: 5,04	59,9
2. 50 °C 1 d	28,4	85,3	IT: 0,35 FT: 5,40	IT: 1,22 FT: 6,33	56,9
K2. 50 °C 1 d	2,31	2,33	IT: 0,13 FT: 0,08	IT: 5,77 FT: 3,46	0,03
3. 50 °C 2 d	26,4	102	IT: 0,38 FT: 3,21	IT: 1,44 FT: 3,14	76,0
K3. 50 °C 2 d	2,90	3,42	IT: 0,18 FT: 0,31	IT: 6,18 FT: 9,01	0,52
4. 50 °C 3 d	20,8	93,0	IT: 0,44 FT: 4,47	IT: 2,10 FT: 5,09	72,2
K4. 50 °C 3 d	3,12	3,65	IT: 0,12 FT: 0,33	IT: 4,00 FT: 9,10	0,53
5. kontrolli	23,5	37,6	IT: 0,44 FT: 3,46	IT: 1,85 FT: 9,21	14,1
K5. kontrolli	3,62	2,57	IT: 1,12 FT: 0,09	IT: 3,11 FT: 3,40	-
6. kontamin.	374	406	IT: 0,58 FT: 0,58	IT: 0,15 FT: 0,14	32,0

Taulukko 9. Neljännen mittauskerran tulokset

Näyte	IT	FT	s	RSD%	FT-IT
1. 40 °C 1 d	49,1	109	IT: 0,45 FT: 0,58	IT: 0,92 FT: 0,53	60,2
K1. 40 °C 1 d	2,75	3,34	IT: 0,52 FT: 0,24	IT: 18,99 FT: 7,11	0,58

Taulukko 9 (jatkuu).

2. 40 °C 2 d	41,2	103	IT: 0,90 FT: 6,38	IT: 2,19 FT: 6,18	61,9
K2. 40 °C 2 d	2,22	3,54	IT: 0,13 FT: 0,19	IT: 5,70 FT: 5,37	1,32
3. 40 °C 3 d	26,4	83,9	IT: 0,21 FT: 5,49	IT: 0,79 FT: 6,54	57,6
K3. 40 °C 3 d	2,53	3,86	IT: 0,31 FT: 0,09	IT: 12,37 FT: 2,41	1,34
4. 40 °C 4 d	26,7	84,5	IT: 0,36 FT: 6,20	IT: 1,35 FT: 7,33	57,8
K4. 40 °C 4 d	2,24	3,11	IT: 0,14 FT: 0,32	IT: 6,10 FT: 10,19	0,87
5. kontrolli	24,8	41,7	IT: 0,42 FT: 7,77	IT: 1,68 FT: 18,6	17,0
6. kontamin.	72,3	104	IT: 0,26 FT: 7,77	IT: 0,37 FT: 7,44	32,0

Taulukko 10. Viidennen mittauskerran tulokset

Näyte	IT	FT	s	RSD%	FT-IT
1. 40 °C 1 d	97,3	155	IT: 1,26 FT: 1,53	IT: 1,29 FT: 0,98	58,1
K1. 40 °C 1 d	2,34	2,89	IT: 0,07 FT: 0,17	IT: 2,91 FT: 5,38	0,56
2. 40 °C 2 d	58,2	102	IT: 1,55 FT: 1,53	IT: 2,67 FT: 1,50	43,5
K2. 40 °C 2 d	2,46	2,40	IT: 0,07 FT: 0,06	IT: 2,85 FT: 2,64	-
3. 40 °C 3 d	58,3	133	IT: 0,32 FT: 4,04	IT: 0,55 FT: 3,03	75,1

Taulukko 10 (jatkuu).

K3. 40 °C 3 d	2,80	3,31	IT: 0,10 FT: 0,14	IT: 3,58 FT: 4,28	0,51
4. 40 °C 4 d	41,8	110	IT: 0,67 FT: 3,21	IT: 1,59 FT: 2,93	67,8
K4. 40 °C 4 d	2,06	3,36	IT: 0,16 FT: 0,15	IT: 7,83 FT: 4,09	1,57
5. kontrolli	35,9	61,4	IT: 0,96 FT: 0,85	IT: 2,69 FT: 1,39	25,5
K5. kontrolli	3,02	3,04	IT: 0,35 FT: 0,34	IT: 11,72 FT: 11,12	0,02

Taulukko 11. Kuudennen mittauskerran tulokset

Näyte	IT	FT	s	RSD%	FT-IT
1. 40 °C 1 d	41,1	83,0	IT: 0,46 FT: 4,23	IT: 1,11 FT: 5,09	41,9
K1. 40 °C 1 d	1,84	3,12	IT: 0,06 FT: 0,41	IT: 3,46 FT: 13,1	1,28
2. 40 °C 2 d	53,3	110	IT: 0,64 FT: 2,65	IT: 1,19 FT: 2,41	56,7
K2. 40 °C 2 d	1,97	3,36	IT: 0,08 FT: 0,12	IT: 3,96 FT: 3,66	1,39
3. 40 °C 3 d	40,8	110	IT: 0,26 FT: 1,53	IT: 0,65 FT: 1,38	69,5
K3. 40 °C 3 d	3,64	5,63	IT: 0,07 FT: 0,14	IT: 1,92 FT: 2,41	1,99
4. 40 °C 4 d	43,4	112	IT: 0,68 FT: 1,53	IT: 1,57 FT: 1,37	68,2
K4. 40 °C 4 d	1,91	3,38	IT: 0,07 FT: 0,13	IT: 3,56 FT: 3,86	1,47

Taulukko 11 (jatkuu).

5. kontrolli	26,0	54,4	IT: 0,36 FT: 0,98	IT: 1,39 FT: 1,81	28,4
K5. kontrolli	2,72	2,97	IT: 0,27 FT: 0,09	IT: 9,95 FT: 2,87	0,25

Taulukko 12. Seitsemännen mittauskerran tulokset

Näyte	IT	FT	s	RSD%	FT-IT
1. 40 °C 1 d	67,4	129	IT: 0,38 FT: 6,03	IT: 0,56 FT: 4,68	61,2
K1. 40 °C 1 d	2,62	3,82	IT: 0,08 FT: 0,30	IT: 2,96 FT: 7,79	1,20
2. 40 °C 2 d	54,4	120	IT: 0,87 FT: 2,08	IT: 1,59 FT: 1,74	65,3
K2. 40 °C 2 d	2,24	3,21	IT: 0,06 FT: 0,09	IT: 2,79 FT: 2,77	0,97
3. 40 °C 3 d	38,4	81,1	IT: 0,93 FT: 3,20	IT: 2,42 FT: 3,95	42,7
K3. 40 °C 3 d	1,87	3,23	IT: 0,04 FT: 0,24	IT: 1,88 FT: 7,45	1,36
4. 40 °C 4 d	52,4	104	IT: 0,93 FT: 3,06	IT: 1,77 FT: 2,95	51,3
K4. 40 °C 4 d	2,24	3,61	IT: 0,16 FT: 0,04	IT: 7,10 FT: 1,12	1,37
5. kontrolli	20,4	49,3	IT: 0,29 FT: 6,22	IT: 1,42 FT: 12,6	29,0
K5. kontrolli	3,10	5,29	IT: 0,44 FT: 0,41	IT: 13,9 FT: 7,72	2,10

Taulukon 12 kontrollinäytteiden suuret suhteelliset keskihajonnat johtuu siitä, että niiden mittaukset teki eri mittaaja.

5.1.2 Sameudet lämpötilan mukaan

Edellisessä kappaleessa näytteiden sameudet oli taulukoitu mittauskerran mukaan ja niissä oli mukana rinnakkaisnäytteet, keskiarvot, keskihajonnat ja suhteelliset keskihajonnat. Tässä kappaleessa näytteistä tehdään kuvaajat lämpötilan mukaan, joissa on vain chill haze -sameus. Kontrollinäytteet (näytteet, jotka eivät olleet lämpökaapissa), kontaminoituneet näytteet ja 60 °C:een näytteet ovat taulukoissa, koska niitä oli vain yksi mittauskertaa kohden, joten niistä ei voi tehdä kuvaajia.

Taulukko 13. Kontaminoituneiden näytteiden tulokset

Näyte	IT (NTU)	Chill haze -sameus (NTU)
6.1	122	58,0
6.2	284	34,3
6.3	374	32,0
6.4	72,3	32,0

Taulukon 13 näytteiden nimissä pisteen jälkeen oleva numero tarkoittaa mittauskerran numeroa. Tämän kappaleen muissa taulukoissa pätee sama logiikka. Kontaminoituneisiin näytteisiin otettiin IT:n keskiarvot mukaan, koska niiden korkeista arvoista näkee kontaminoitumisen parhaiten.

Taulukko 14. Kontrollinäytteiden tulokset

Näyte	Näyteoluen chill haze -sameus (NTU)	Vertailuoluen chill haze -sameus (NTU)
5.1	33,6	-
5.2	13,5	-

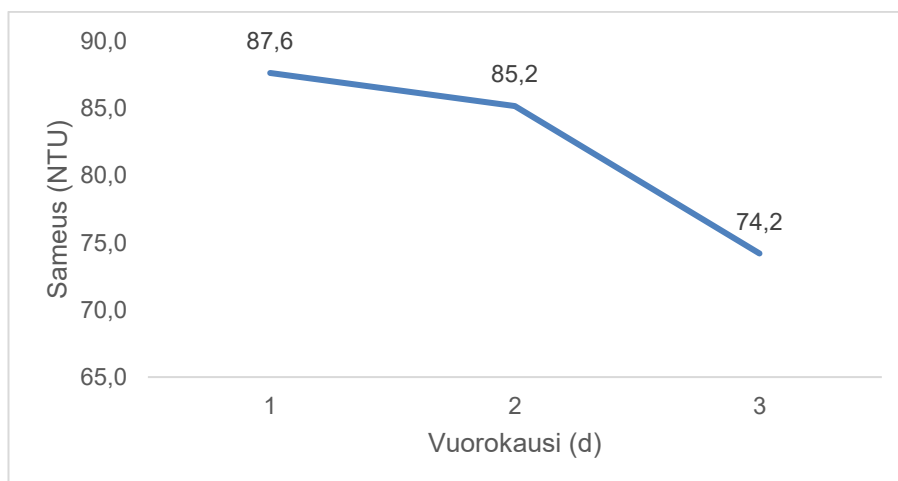
5.3	14,1	Epäonnistunut
5.4	17,0	-
5.5	25,5	0,02
5.6	28,4	0,25
5.7	29,0	2,10

Näyteoluesta (Olut X) löytyy enemmän rinnakkaisnäytteitä, kun vertailuoluesta (Karhu), koska Karhu ei ollut alusta asti mukana, kolmannella mittauskerralla sen sameudesta tuli negatiivinen tulos ja neljännellä mittauskerralla sen mittaus jäi välistä.

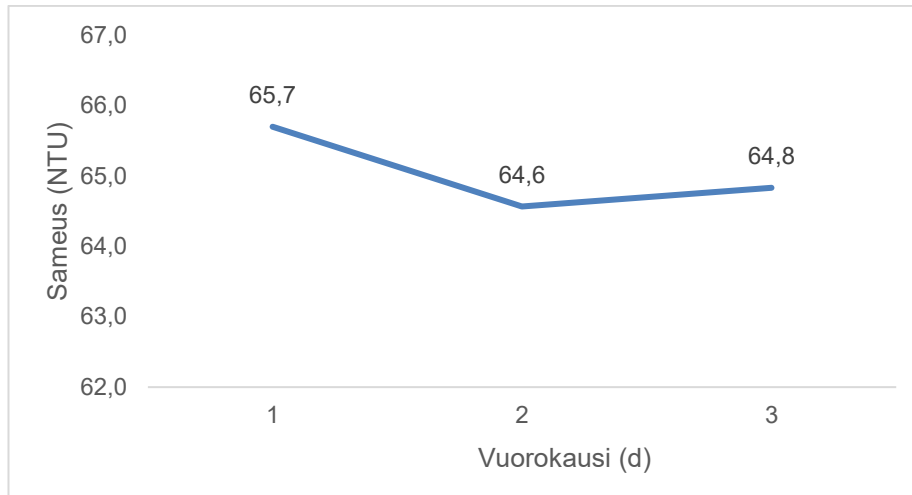
Taulukko 15. 60 °C näytteiden tulokset

Näyte	Chill haze -sameus (NTU)
1.1	-
1.2	69,8
1.3	59,9

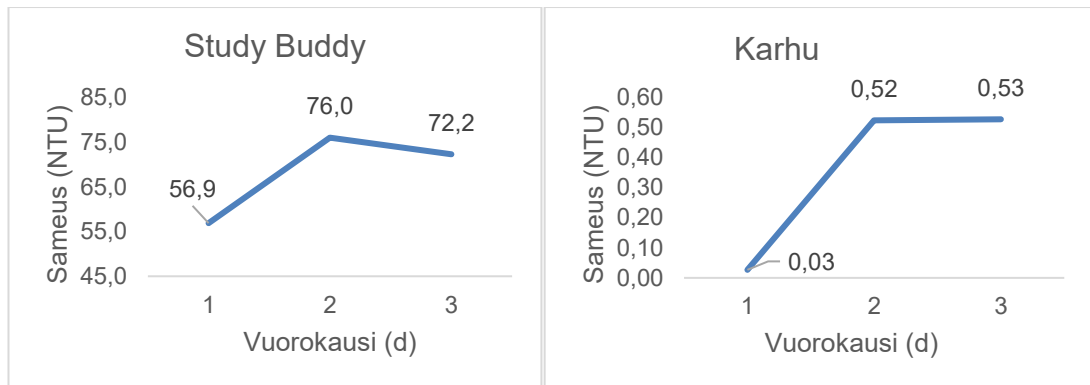
Ensimmäisen mittauskerran 60 °C näytteestä mitattiin vain IT, joten mitattavia näytteitä on vain kaksi.



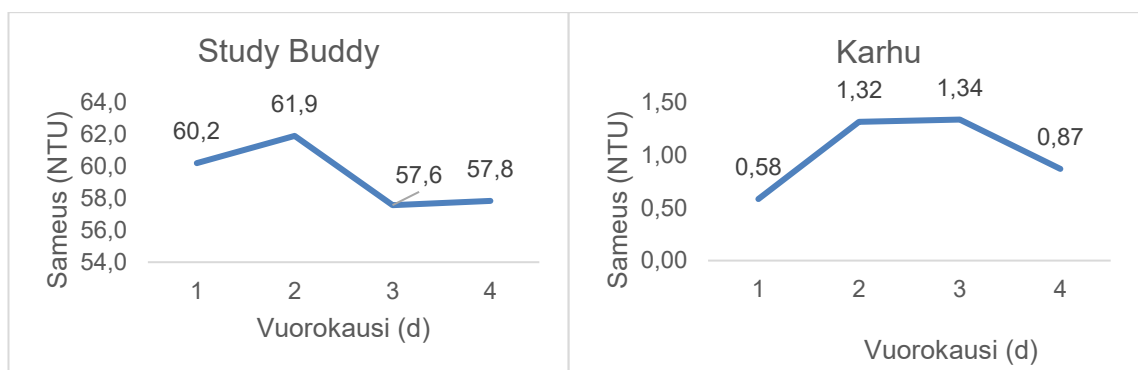
Kuvio 1. Ensimmäisen mittauskerran 50 °C tulokset



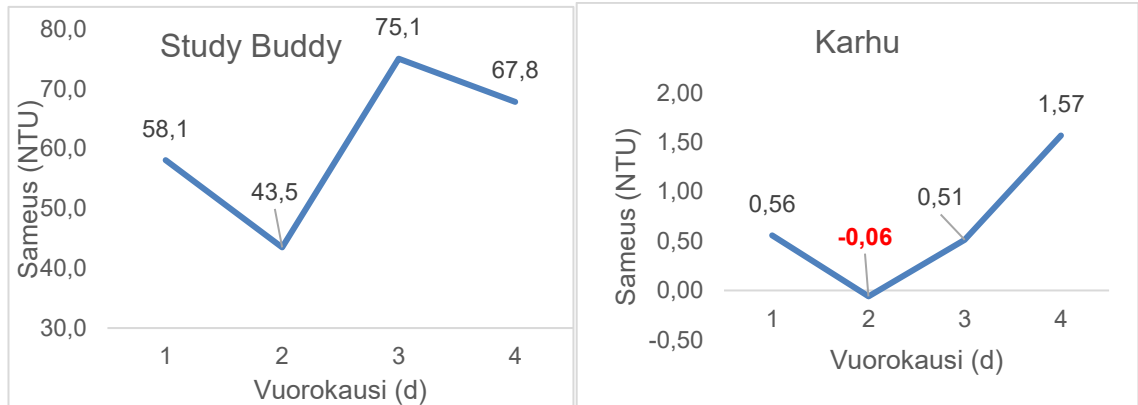
Kuvio 2. Toisen mittauskerran 50 °C tulokset



Kuvio 3. Kolmannen mittauskerran 50 °C tulokset

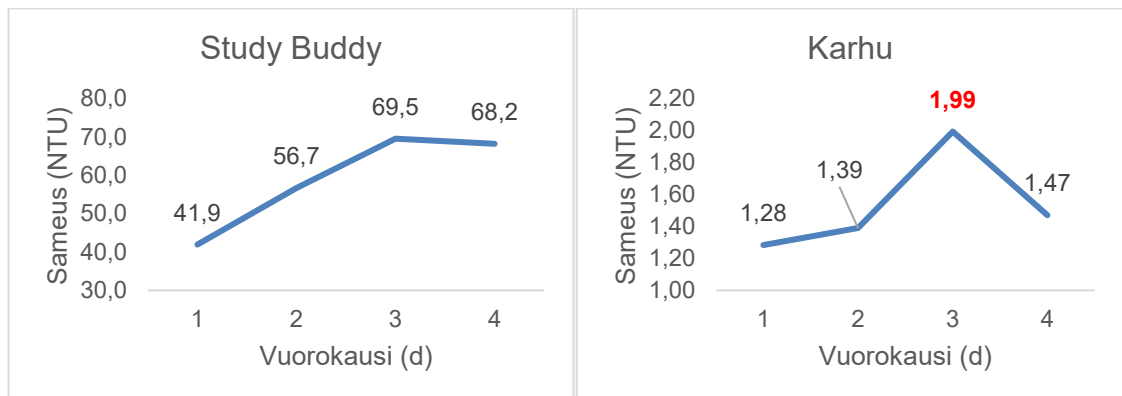


Kuvio 4. Neljännen mittauskerran 40 °C tulokset



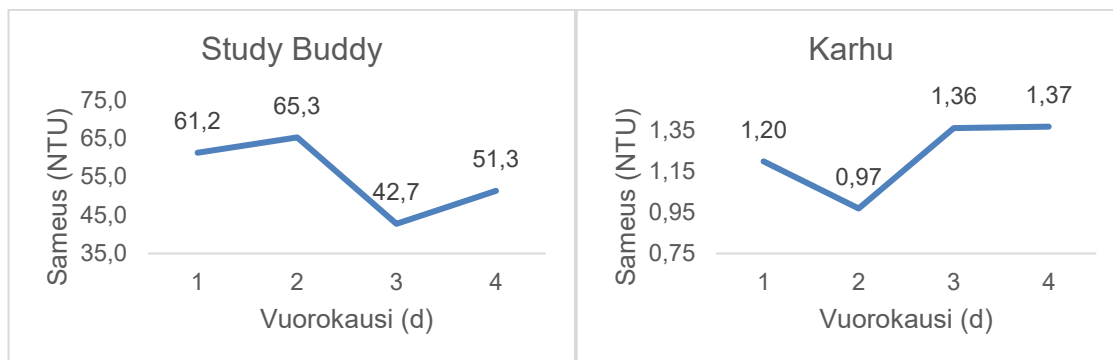
Kuvio 5. Viidennen mittauskerran 40 °C tulokset

Kuviossa 5 oleva Karhun toisen näytteen tulos on negatiivinen, joten sitä ei oteta huomioon tuloksia analysoidessa. Sitä voidaan pitää epäonnistuneena näytteenä.



Kuvio 6. Kuudennen mittauskerran 40 °C tulokset

Kuviossa 6 oleva Karhun kolmannen näytteen tulos on virheellinen, koska näytteitä käsitellessä Olut X -olutta sekoittui hieman Karhun joukkoon, mikä kasvatti näytteen sameutta.



Kuvio 7. Seitsemännen mittauskerran 40 °C tulokset

5.2 Virhearviointi

Tulosten virhearviointi on tärkeä osa menetelmän luomista. Virheitä voi tapahtua monesta eri asiasta, kuten mittalaitteista, tekijästä tai olosuhteista. Tulosten luotettavuuteen vaikuttavien potentiaalisten virheiden lisäksi sameusmittauksia tehdessä tapahtui muutama virhe, jotka mainitaan myös tässä kappaleessa. Nämä virheet otetaan huomioon kappaleessa 5.3, kun lasketaan raja-arvot Nopeutetun ikääntymisen menetelmälle.

5.2.1 Laitteista, välineistä ja tekijästä johtuvat virheet

Mittalaitteilla on aina tietynlaiset tarkkuudet, joiden aiheuttamat virheet otetaan huomioon. Taulukossa 3 on mittapullojen, täyspipettien ja analyysivaa'an tarkkuudet. Myös sameusmittari voi aiheuttaa pieniä virheitä varsinkin, jos viritys ei onnistunut täydellisesti.

Mittalaitteiden lisäksi laitteen käyttäjästä eli tekijästä voi aiheutua virheitä. Esimerkiksi mittapulloja ei välttämättä täytetä täydellisesti merkin kohdalle, pipettiä ei täytetä täyteen tai osa reagenssista ei mene standardiliuokseen punnistusten yhteydessä.

Osa tekijästä johtuvista virheistä oli konkreettisempia. Esimerkiksi kuudennen mittauskerran kolmannen Karhu-näytteen sekaan joutui vähän Olut X -olutta, joka lisäsi sen sameutta. Joidenkin näytteiden kohdalla lämpökaapissa tai

jäähauteessa olemisajat eivät myös olleet täysin oikeita, vaan pieniä virheitä tapahtui.

5.2.2 Menetelmästä johtuvat virheet

Menetelmän alussa viritettiin sameusmittari. Viritykseen käytettävä kalibrintiliuos on standardiliuos, joten sen konsentraation täytyy olla tarkka. Kalibrintiliuosta tehdessä ja virittäessä tapahtuvat virheet vaikuttavat kaikkiin menetelmän tuloksiin takautuvasti, joten ne ovat oleelliset vaiheet menetelmää suorittaessa.

Menetelmän aikana tehdään seoksia ja yleisesti liuokset halutaan mahdollisimman homogeenisiksi, jotta sameus on rinnakkaisnäytteistä mahdollisimman samanlainen. Täten seosten ja liuosten sekoittaminen on tärkeää ja sen huonosti hoitaminen voi aiheuttaa suuria virheitä.

Menetelmä tulosten kannalta tärkeimmät parametrit ovat lämpötila ja aika. Näytteiden lämpökaapissa oleva aika on suhteessa niin suuri, että siinä tapahtuvat pienet eroavaisuudet eivät aiheuta suuria virheitä. Lämpökaapin lämpötilan eroavaisuus halutusta lämpötilasta voi aiheuttaa suurempia virheitä. Menetelmää suorittaessa lämpökaappi vaihdettiin ensimmäisen mittauskerran jälkeen, koska ensimmäisen lämpökaapin lämpötila oli hieman liian suuri. Aika ja lämpötila ovat myös oleellisia parametreja jäähauteen yhteydessä. Koska näyte on vain 40 minuuttia jäähauteessa, niin ajassa tapahtuvat eroavaisuudet aiheuttavat suhteellisesti suurempia virheitä. Jäähauteen lämpötilan pitäminen vakiona on vaikeampaa kuin lämpökaapin, koska jää voi sulaa ja näytteet eivät välttämättä pysy tasaisesti jäähauteessa. Aika näytteen ottamisessa pois jäähauteesta ja sameuden mittaamisen välillä on tärkeä pitää vakiona, jotta rinnakkaisnäytteiden sameudet pysyvät mahdollisimman vakiona ja tulokset ovat luotettavampia. Lämpötila vaikuttaa oleellisesti oluen sameuteen, joten jäähauteen kanssa pitää olla erityisen tarkka.

Rinnakkaisnäytteiden avulla huomataan virheitä, jotka ovat varsinkin jäähauteesta johtuvia. Kappaleessa 5.1.1 olevista taulukoista huomataan osan

FT-tulosten suhteellisten keskihajontojen olevan korkeita. Yleisesti suhteellisen keskihajonnan halutaan olevan alle 1 prosenttia. FT:n mitatessa keskihajonta kuitenkin on korkeampi, koska lämpötila vaikuttaa niin oleellisesti sameuteen, joten alle 5 prosentin suhteellinen keskihajonta on tarpeeksi hyvä. Osassa näytteistä suhteellinen keskihajonta kuitenkin on yli 10 prosenttia. IT-tulosten suhteellinen keskihajonta täytyy olla 2 prosenttia, joka ylettyy osassa näytteissä. Nämä raja-arvot perustuvat näytteen tuloksiin ja niiden tarkoituksena on parantaa tulosten luotettavuutta.

Sameusmittaria käytettäessä näytteet laitetaan kyvetteihin. Kyvettien puhtaus ja pinnan kunto vaikuttavat tulosten luotettavuuteen ja voivat aiheuttaa virheitä. Kyvetit puhdistetaan aina käytön jälkeen ja niiden kolhuttamista yritetään välttää mahdollisimman hyvin.

Suurin virhe menetelmän suorituksen aikana oli tölkkien vuotaminen. Heti ensimmäisellä mittauskerralla tölkit vuotivat, joka vaikuttaa oleellisesti sameuteen. Ensin vuotamisen syynä ajateltiin olevan liian korkea lämpötila, joka aiheutui osittain epäluotettavasta lämpökaapista. Toisella mittauskerralla lämpökaappi vaihdettiin, mutta tölkit vuotivat silti. Näytteiden lämpötilaa alennettiin, jotta vuotaminen loppuisi. Kolmannella mittauskerralla otettiin mukaan vertailunäytteet, jotka eivät vuotaneet 50 °C:ssa, joten lämpötila ei ollut ainoa syy vuotamiseen. Neljännen mittauskerran 40 °C näytteistä osa vuoti vielä, mutta kolmen viimeisen mittauskerran näytteen eivät vuotaneet enään ollenkaan. Raja-arvoja tehdessä käytetään vain kolmannen viimeisen mittauskerran tuloksia, koska ne ovat luotettavimmat.

Todennäköinen syy vuotamiselle on tölkitysprosessi. Yleensä tölkkien ei kuulu säilyä korkeissa lämpötiloissa, joten ongelmaa ei oltu ennen huomattu. Vuodot aiheutuivat joko liiallisesta hiilidioksidin määrästä, joka aiheutti liikaa painetta tai tölkin kansien saumojen löysyydestä. Pienpanimoiden tölkitysprosessit eivät ole yhtä automatisoituja ja tarkkoja kuin isommissa operaatioissa.



Kuva 8. Vuotavia tölkkejä (vasemmalla ensimmäisen mittauskerran 60 °C näyte ja oikealla neljännen mittauskerran 40 °C näyte)

5.3 Raja-arvot

Nopeutetun ikääntymisen menetelmässä käytetään 40 °C lämpötilaa, jossa näytteet ovat kaksi ja neljä päivää. Näiden näytteiden sameuksille tarvitaan alustavat raja-arvot tulosten perusteella. Tuloksia ei voida suoraan kopioida, vaan huomioon pitää ottaa rinnakkaisnäytteiden suhteelliset keskihajonnat sekä kappaleessa 5.2 kerrotut virheet.

Kuten edellisessä kappaleessa kerrotaan, neljän ensimmäisen mittauskerran näytteissä tapahtui vuotoja, joten vain kolmen viimeisen mittauskerran tuloksia käytetään raja-arvoihin. Kuvioista 5-7 nähdään, että Olut X -oluiden sameudet eivät kasvaneet lineaarisesti, vaan sameudet vaihtelivat edestakaisin. Kuvion 6 tulokset olivat parhaimmat ja kuvaaja on melkein lineaarinen. Taulukoista 10-12 nähdään suhteelliset keskihajonnat näytteille, joista osa ylitti halutut raja-arvot, mutta suurimmaksi osaksi Olut X -näytteille keskihajonnat olivat suhteellisen alhaisia. Kuudennen mittauskerran Olut X -näytteiden suhteelliset keskihajonnat pysyivät raja-arvojen alapuolella. Kuudennen mittauskerran Olut X -näytteiden

tuloksia voidaan pitää luotettavimpina, mutta otetaan raja-arvoissa huomioon myös viides ja seitsemäs mittauskerta, jotta saadaan laajemmat arvot.

Kuudennen mittauskerran Karhu-näytteiden sameudet ovat lineaarisia, jos kolmatta näytettä ei oteta huomioon tai oletetaan sen olevan toisen ja neljännen näytteet välisessä sameudessa (Kuvio 6). Kuudennen mittauskerran Karhu-näytteiden suhteelliset keskihajonnat eivät sisälly halutuille raja-arvoille (Taulukko 11).

Koska kyseessä on alustavat suuntaa-antavat raja-arvot, niin otetaan niihin mukaan kaikki viidennen, kuudennen sekä seitsemännen mittauskerran kahden ja neljän päivän tulokset, vaikka ne eivät ole täysin luotettavia. Raja-arvot löytyvät alla olevasta taulukosta.

Taulukko 16. Nopeutetun ikääntymisen menetelmän tulosten raja-arvot

Näyte	Sameuden raja-arvo (NTU)
Olut X 2 päivää	40-70
Olut X 4 päivää	50-75
Karhu 2 päivää	0,90-1,45
Karhu 4 päivää	1,30-1,65

6 Menetelmäohjeiden soveltaminen omavalvontaan

Menetelmäohjeet tehdään kappaleiden 2-5 perusteella. Menetelmien teoreettinen tausta, laboratorioissa tehdyt mittaukset ja niistä saadut tulokset otetaan kaikki huomioon. Menetelmäohjeet sovelletaan osaksi KCB:n omavalvontaa.

6.1 Menetelmäohjeet

Menetelmäohjeet tehdään Turun ammattikorkeakoulun menetelmäohjepohjaan.

Nopeutetun ikääntymisen menetelmäohjeen selkeys tarkistetaan panimo-opiskelijan avulla. Opiskelija kokeilee menetelmän suorittamista ohjeen avulla ja mainitsee epäselvyyksistä. Menetelmäohje oli selkeä eikä kysymyksiä tullut.

Valmiit menetelmäohjeet löytyvät liitteistä 1 ja 2.

6.2 Omavalvontaan soveltaminen

Alkoholilakia 1102/2017 sovelletaan alkoholipitoisten aineiden valmistukseen, myyntiin ja käyttöön. Alkoholipitoisiin aineisiin, jotka ovat elintarvikkeita, mutta eivät ole lääkkeitä sovelletaan Elintarvikelakia 297/2021. (Valvira 2018, 4.)

Omavalvonta on järjestelmä, jossa toimija pyrkii varmistamaan, että sen tuotteet ovat turvallisia ja ne noudattavat lainsäädäntöä. Tuottaja vastaa kaikista tuotteistaan ja niihin liittyvästä omavalvonnasta. Tuottajan täytyy tuntea tuotteisiinsa liittyvät vaarat ja omavalvonnassa määritetään niiden hallintatavat. (Valvira 2018, 5.)

Alkoholilaissa 1102/2017 56 § kerrotaan omavalvonnasta. Siinä mainitaan, että luvanhaltijan kuuluu laatia kirjallinen suunnitelma toimintansa lainmukaisuuden varmistamiseksi eli omavalvontasuunnitelman. Suunnitelmaa on noudatettava ja pidettävä ajan tasalla. Omavalvontasuunnitelmassa kuvataan riskit, lain

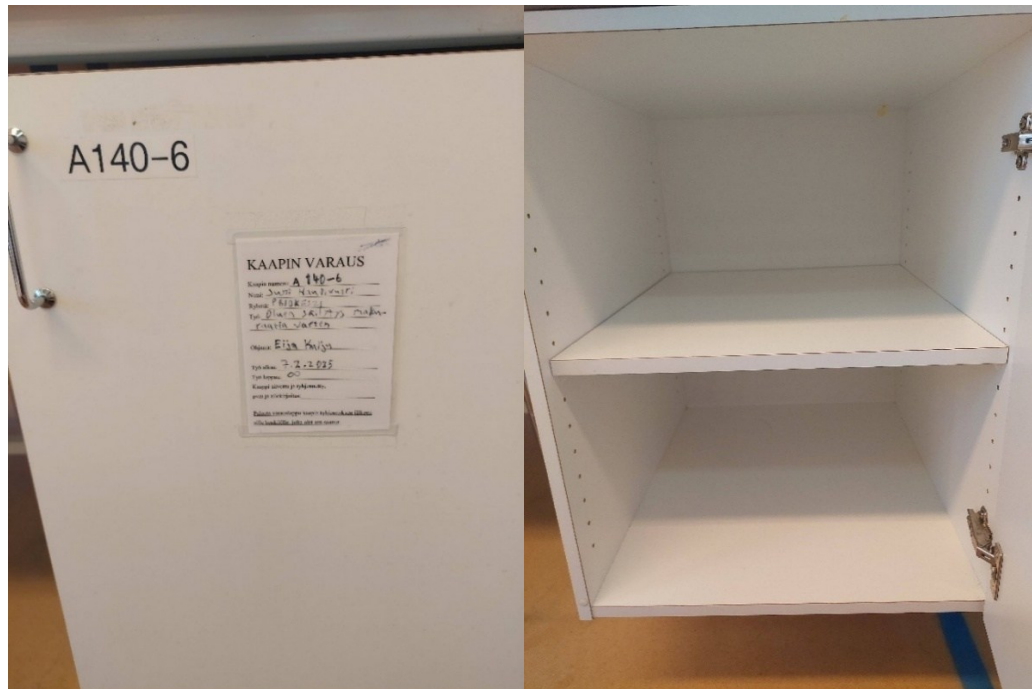
noudattamisen seuraamisen, kriittiset tilanteet ja niiden hallinnan ja miten havaitut puutteellisuudet korjataan. (FINLEX 2017.)

Elintarvikelain 297/2021 15 § kerrotaan omavalvonnasta. Siinä mainitaan, että omavalvonnassa täytyy tunnistaa ja hallita vaarat, sekä varmistaa toiminnan noudattavan elintarvikesäädännön vaatimuksia. Omavalvonnan tulokset täytyy merkata tietyllä tarkkuudella. (FINLEX 2021.)

EBC-menetelmää varten leanataan kaappi. Menetelmäohjeissa käytettäviä oluita ja niistä tehtäviä analyyssejä varten tarvitaan Excel-taulukoita, jotka sovelletaan KCB:n omavalvontaan.

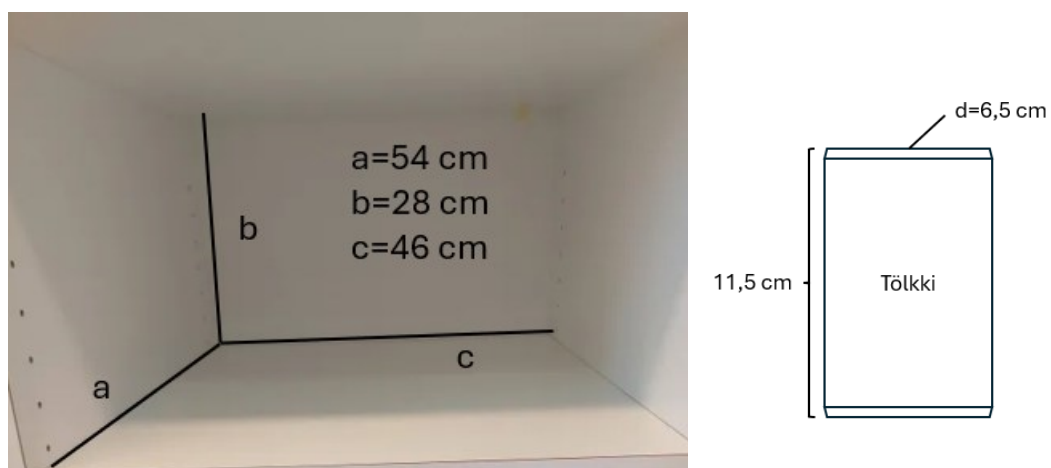
6.2.1 Kaapin leanaus

Leanaus on verbi, joka johdetaan sanasta LEAN. LEAN on filosofinen ajattelutapa, jossa keskiössä on organisaatioiden ja henkilöstön ongelmanratkaisutaidot järjestelmällinen kehitys (LeanThinking 2025). Käytännössä KCB:n tiloissa leanauksella tarkoitetaan eri laitteiden ja välineiden järjestämistä tietyille paikoille ja niiden selkeää merkkäämistä erilaisten teippien avulla. Alueet jaotellaan sinisellä teipillä ja laitteet sekä välineet merkataan tekstiä sisältävällä teipillä.



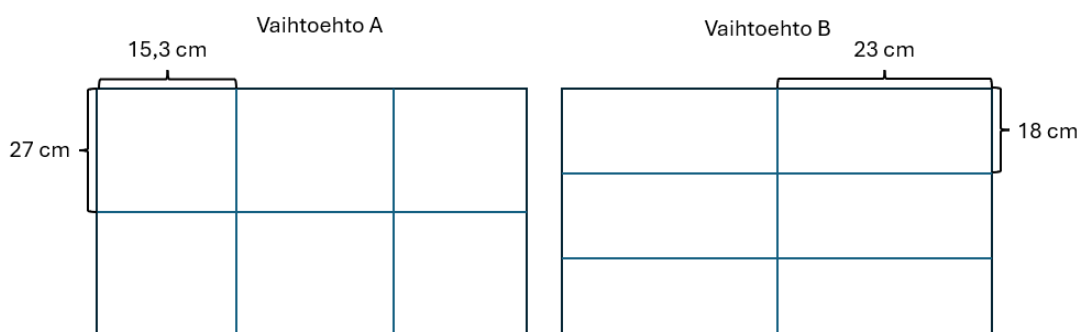
Kuva 9. Tyhjä kaappi

Joka oluterästä otetaan neljä oluttölkkiä kaappiin säilymään EBC-menetelmän mukaisesti. Kaapissa on yhteensä kaksi lokeroa, jotka näkyvät kuvassa 9. Suunnitelmana on jakaa kaappi kahteentoista osaan kuukausien mukaan, joten molemmat lokerot jaetaan kuuteen osaan. Oluet laitetaan kaappiin sen kuukauden mukaan, milloin ne laitetaan säilymään.



Kuva 10. Kaapin yhden lokeron ja tölkin mitat

Kuvasta 10 nähdään kaapin yhden lokeron ja yhden tölkin mitat, joiden avulla voidaan laskea kuinka monta olutta mahtuu kaappiin ja miten tila kannattaa jakaa. Lokeroiden jakaminen kuuteen osaan on mahdollista tehdä kahdella eri tavalla, jotka löytyvät alla olevasta kuvasta (kuva 11).



Kuva 11. Kaapin leanauksen vaihtoehdot

Yhden tölkin halkaisija ja samalla sen leveys on noin 6,5 cm (kuva 10), joten vaihtoehdon A yhteen alueeseen mahtuu 4 x 2 eli 8 tölkkiä (kuva 11).

Vaihtoehtoon B mahtuu vain 2 x 3 eli 6 tölkkiä. Valitaan leanaukseen vaihtoehto A, koska silloin yhdessä kuukaudessa voidaan tehdä kaksi erää olutta.

Vaihtoehdon A laskut:

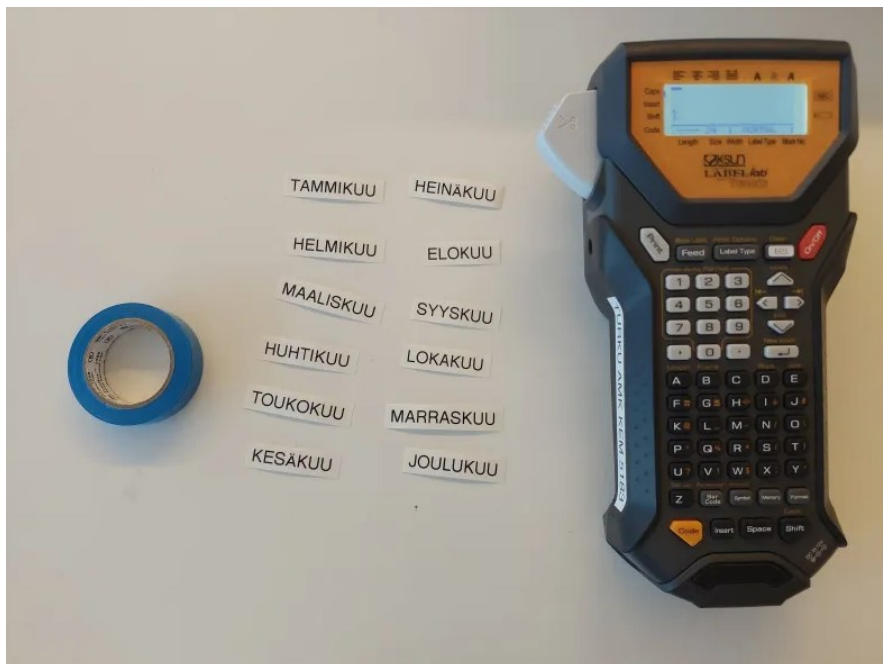
$$\frac{15,3}{6,5} \text{ cm} \approx 2 \qquad \frac{27}{6,5} \text{ cm} \approx 4$$

Vaihtoehdon B laskut:

$$\frac{23}{6,5} \text{ cm} \approx 3 \qquad \frac{18}{6,5} \text{ cm} \approx 2$$

Yllä olevien laskujen tulokset pyöristetään alaspäin, koska vain kokonaiset tölkit lasketaan.

Alueiden jakaminen tehdään sinisen teipin avulla, jota käytetään yleisesti KCB:n panimon leanauksessa. Alueihin merkataan myös teippien avulla kuukausien nimet. Alla olevassa kuvassa on sinisen teipin rulla, teipit, jossa lukee kuukausien nimet sekä laite, jolla tehdään tekstiä sisältäviä teippejä (kuva 12).



Kuva 12. Kaapin leanaukseen käytettävät teipit ja laitteet

Alla olevassa kuvassa on valmiiksi leanattu kaappi (kuva 13).



Kuva 13. Leanattu kaappi

6.2.2 Excel-taulukko

EBC-menetelmää varten edellisessä kappaleessa mainittuun kaappiin säilymään laitetut oluttölkit merkataan Excel-taulukkoon, jossa on tarkat päivämäärät säilymisen aloittamiselle. Excel-taulukkoon merkataan myös EBC-menetelmän tölkkien aistinvaraisten analyysien tulokset sekä Nopeutetun ikääntymisen menetelmän sameuden tulokset.

Excel-taulukko koostuu kahdesta välilehdestä, josta ensimmäiseen tulee EBC-menetelmän tiedot (kuva 14).

Oluen eränumero	Säilyttämisen aloituksen pvm	6 kk säilymisen pvm	6 kk analyysi	9kk säilymisen pvm	9 kk analyysi
Esim. BBppkkw-x	pp.kk.vv	pp.kk.vv	ok/ ei ok	pp.kk.vv	ok/ ei ok
Esim. BBppkkw-x	pp.kk.vv	pp.kk.vv	ok/ ei ok	pp.kk.vv	ok/ ei ok
Esim. BBppkkw-x	pp.kk.vv	pp.kk.vv	ok/ ei ok	pp.kk.vv	ok/ ei ok
Esim. BBppkkw-x	pp.kk.vv	pp.kk.vv	ok/ ei ok	pp.kk.vv	ok/ ei ok
Esim. BBppkkw-x	pp.kk.vv	pp.kk.vv	ok/ ei ok	pp.kk.vv	ok/ ei ok
Esim. BBppkkw-x	pp.kk.vv	pp.kk.vv	ok/ ei ok	pp.kk.vv	ok/ ei ok

Kuva 14. Excel-taulukko: EBC-menetelmä

Toiseen välilehteen tulee Nopeutetun ikääntymisen menetelmän tiedot (kuva 15).

Oluen eränumero	Esim. BBppkkw-x	Vertailuolut	
Olut	Esim. Study Buddy	Olut	Esim. Karhu
Analyyysin pvm	pp.kk.vv	Analyyysin pvm	pp.kk.vv
IT (NTU)	FT (NTU)	IT (NTU)	FT (NTU)
ka	#DIV/0!	ka	#DIV/0!
s	#DIV/0!	s	#DIV/0!
RSD%	#DIV/0!	RSD%	#DIV/0!
Sameus (FT-IT)	#DIV/0!	Sameus (FT-IT)	#DIV/0!

Kuva 15. Excel-taulukko: Nopeutetun ikääntymisen menetelmä

Nopeutetun ikääntymisen menetelmän Excel-taulukko (kuva 15) laskee automaattisesti rinnakkaisnäytteiden sameuksien avulla niiden keskiarvon, keskihajonnan, suhteellisen keskihajonnan ja lopullisen Chill haze sameuden.

7 Loppupäätelmät

Menetelmäohjeita tehtiin yhteensä kaksi, joista toista, EBC-menetelmää, ei ehditty suorittamaan. EBC-menetelmän voidaan silti sanoa onnistuneen, koska analyysit ovat aistinvaraisia ja niiden toimivuutta ei voida testata.

Kaapin leanaus onnistui ja jokaista kuukautta kohden mahtuu kaksi erää olutta kaappiin säilymään. Excel-taulukosta tuli tarpeeksi selkeä ja sen voi soveltaa omavalvontaan.

Nopeutetun ikääntymisen menetelmässä tavoitteena oli näytteiden sameuksien kasvaminen lineaarisesti ajan, jona näytteet olivat lämpökaapissa, mukaan. Kuviosta 1-7 kuitenkin nähdään, että tavoite ei toteutunut. Taulukoista 6-12 nähdään, että rinnakkaisnäytteiden suhteelliset keskihajonnat olivat osittain korkeita, varsinkin FT-tuloksissa.

Vaikka menetelmä ei täysin toiminut, niin sitä saatiin muokattua ja paranneltua mittauskertojen edetessä. Alkuvaiheessa tölkit vuotivat, mutta lämpötilaa alentamalla se saatiin lopetettua.

Kehitysehdotuksia menetelmälle on käyttää vertailuluena suodattamatonta olutta, koska sen sameus on samantyyppisellä tasolla itse panimon oluiden kanssa. Jäähauteen sijaan voisi oluen jäähdyttää jollain eri tavalla, koska jäähauteen lämpötila ei pysy tasaisena eikä se ole tarkka. Jää voi myös sulaa. Lämpökaapissa olevan näytteen lämmön seuraanta voisi tarkentaa erillisen lämpömittarin avulla.

Koska menetelmä ei toiminut halutusti, niin muutettiin tavoitetta. Uutena tavoitteena menetelmälle on oluen säilyvyyden määrittämisen sijaan olla apukeino kontaminoituneiden näytteiden huomaamiselle raja-arvojen avulla. Taulukossa 16 on alustavat raja-arvot.

Menetelmä tehtiin vain KCB:n Olut X -oluella, joten jatkossa menetelmä täytyy suorittaa myös muille KCB:n oluille, jotta niille saadaan omat raja-arvonsa.

Toinen menetelmäohje siis onnistui ja toisesta saatiin valmiiksi alustava versio, jota voidaan jatkossa kehittää ja muuttaa. Molemmat menetelmät ovat selkeämpiä kuin aikaisempi ja ne saavat KCB:n omavalvonnan yhtenäisemmäksi.

Lähteet

Bamforth, C. 2008. Beer: a quality perspective. Elsevier science & technology. Viitattu 18.1.2025. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/turkuamk-ebooks/reader.action?docID=403902&ppg=3> Vaatii käyttäjätunnuksen.

Barth, G. 2013. The Chemistry of beer: the science in the suds. Hoboken: John Wiley & Sons Inc. Viitattu 25.1.2025. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/turkuamk-ebooks/reader.action?docID=1368917&ppg=6>

Brewup. nd. About Analytica EBC. Viitattu 5.3.2025. <https://brewup.eu/ebc-analytica/about>

Carl Roth. 2024a. Käyttöturvallisuustiedote: Etanoli. Viitattu 3.4.2025. <https://www.carlroth.com/medias/SDB-5054-FI-FI.pdf?context=bWFzdGVyfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wyODU1NTF8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfGFETXpMMmc0WkM4NU1UZ3hPRFExTURJNE9EazBMMU5FUWw4MU1EVTBYMFpKWDBaSkxuQmtaZ3xmYzk4ZTM5NWY5NjRkNTQ2MzM0OGQ3NDhkNGY2Zjg1MGIwMDkwOTFjYTM5OTIwYzZmZjcyNDkzZDhiMzEwZDVi>

Carl Roth. 2024b. Käyttöturvallisuustiedote: Heksametyleenitetramiini. Viitattu 3.4.2025. <https://www.carlroth.com/medias/SDB-4484-FI-FI.pdf?context=bWFzdGVyfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wyODYyNjI8YXNBwbGljYXRpb24vcGRmfGFETXpMMmc0WkM4NU1UZ3hPRFF3TIRNNU5qYzRMMU5FUWw4ME5EZzBYMFpKWDBaSkxuQmtaZ3w1YTEyZGEyZDFkYzlwMDg0ZjQ5YmMzZjgzMDYyYTJIZmFINWM5OTc3MWY1MTAzMWRiNjNkZjgyN2M4YWE4MmU0>

EBC 4.3.1.2. 2011. Shelf Life of Beer in Cans and Kegs-2011. EBC Analytica.

EBC 9.29. 2015. Haze in Beer: Calibration of Haze Meters. EBC Analytica.

EBC 9.41. 2004. Alcohol Chill Haze in Beer (Chapon). EBC Analytica.

FINLEX. 2017. Alkoholilaki 1102/2017. Viitattu 30.4.2025.

<https://www.finlex.fi/fi/lainsaadanto/2017/1102>

FINLEX. 2021. Elintarvikelaki 297/2021. Viitattu 30.4.2025.

<https://www.finlex.fi/fi/lainsaadanto/2021/297>

Fous, K.; Jarolímová, A.; Kubizniaková, P. & Majtán, K. 2024. Alert for

microbreweries – a case study on unpasteurized beer and unfiltered beer.

Viitattu 30.3.2025. <https://www.kvasnyprumysl.eu/index.php/kp/article/view/306>

Hach. 2004. 2100P Iso Portable Turbidimeter Instrumental Manual. Viitattu

30.4.2025. [https://www.hach.com/p-manual-2100pportable-](https://www.hach.com/p-manual-2100pportable-turbidimeter/4650088?srsId=AfmBOoqILHNABVR9MsNZOsSML1XgVxaqF33U5GVfv3fMdXATdSunpofW)

[turbidimeter/4650088?srsId=AfmBOoqILHNABVR9MsNZOsSML1XgVxaqF33](https://www.hach.com/p-manual-2100pportable-turbidimeter/4650088?srsId=AfmBOoqILHNABVR9MsNZOsSML1XgVxaqF33U5GVfv3fMdXATdSunpofW)

[U5GVfv3fMdXATdSunpofW](https://www.hach.com/p-manual-2100pportable-turbidimeter/4650088?srsId=AfmBOoqILHNABVR9MsNZOsSML1XgVxaqF33U5GVfv3fMdXATdSunpofW)

Heininen, E. 2019. Pienpanimon laadunhallintajärjestelmän kehittäminen.

Opinnäytetyö (AMK). Prosessi- ja materiaalitekniikan koulutusohjelma. Turku:

Turun ammattikorkeakoulu. Viitattu 31.3.2025.

https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/335827/Heininen_Elina.pdf?sequence=2

Kilcast, D. & Subramaniam, P. 2011. Food and beverage stability and shelf life.

Sawston: Woodhead Publishing Limited. Viitattu 17.1.2025.

[https://ebookcentral.proquest.com/lib/turkuamk-](https://ebookcentral.proquest.com/lib/turkuamk-ebooks/reader.action?docID=1584459&ppg=559)

[ebooks/reader.action?docID=1584459&ppg=559](https://ebookcentral.proquest.com/lib/turkuamk-ebooks/reader.action?docID=1584459&ppg=559)

Leanthinking. 2025. Mitä on Lean. Viitattu 21.4.2025. [https://leanthinking.fi/mita-](https://leanthinking.fi/mita-lean-on/)

[lean-on/](https://leanthinking.fi/mita-lean-on/)

Robertson, G. 2009. Food packaging and shelf life: a practical guide. Boca

Raton: CRC Press. Viitattu 17.1.2025.

[https://ebookcentral.proquest.com/lib/turkuamk-](https://ebookcentral.proquest.com/lib/turkuamk-ebooks/reader.action?docID=566066&ppg=6)

[ebooks/reader.action?docID=566066&ppg=6](https://ebookcentral.proquest.com/lib/turkuamk-ebooks/reader.action?docID=566066&ppg=6) . Vaatii käyttäjätunnuksen.

Sigma-Aldrich. 2025. Safety Data Sheet: Hydrazine Sulfate Salt. Viitattu

3.4.2025.

<https://www.sigmaaldrich.com/FI/en/sds/sial/216046?srsltid=AfmBOoo4E-V1CoFKIOPq5T60EGnhu3HiO9raNzZe0vum4E6yLoZyGmnf>

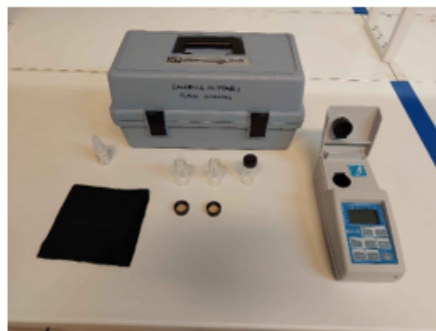
Valvira. 2018. Omavalvontaohje alkoholijuomien valmistajalle. Viitattu 30.4.2025.

https://valvira.fi/documents/152634019/163770443/Omavalvontaohje_alkoholijuomien_valmistajille.pdf/f7f03731-099f-7601-685d-08c8da3ecd47/Omavalvontaohje_alkoholijuomien_valmistajille.pdf?t=1708420809376

Liite 1. Nopeutetun ikääntymisen menetelmäohje

Oluen säilyvyyden määrittäminen Nopeutetun ikäntymisen menetelmällä

Menetelmäohje



Nopeutetun ikääntymisen -menetelmäohje	Koodi: xxxx	Sivu 1 / 9
--	-------------	------------

Sisältö

1 Turvallisuus	2
2 Toimintaperiaate.....	2
3 Laitteet	3
3.1 Sameusmittarin viritykseen tarvittavat laitteet ja välineet.....	3
3.2 Sameuden mittauksiin tarvittavat laitteet ja välineet.....	3
4 Reagenssit	3
5 TYÖN SUORITUS	3
5.1 Sameusmittarin viritys	3
5.2 Mittauksien suoritus	4
6 Tulosten laskeminen	1
7 Liitteet	2
8 Muutoshistoria.....	3

Nopeutetun ikääntymisen -menetelmäohje	Koodi: xxxx	Sivu 2 / 9
--	-------------	------------

1 TURVALLISUUS

Riskiarviointi liitteenä 1.

Taulukko 1. Reagenssien vaara- ja turvallisuuslausekkeet

Reagenssi	Merkinnät	Vaara- ja turvalausekkeet
Heksametyleenitetramiini (CH ₂) ₆ N ₄	 	H228, H317, P210, P280, P333+P313
Hydratsiinisulfaatti (N ₂ H ₅) ⁺ (HSO ₄) ⁻	   	H301, H331, H311, H314, H318, H317, H350, H400, H410, P260, P273, P280, P303+P361+P353, P304, P340+P310, P305+P351+P338
Etanoli CH ₃ CH ₂ OH	 	H225, H319, P210, P233, P305+P351+P338

Standardien valmistuksessa tulee huomioida hydratsiinisulfaatin ja heksametyleenitetramiinin käyttöturvaviedotteet. Hydratsiinisulfaatti on myrkyllistä nieltynä, sekä hengitettynä. Heksametyleenitetramiini on helposti syttyvä.

Käsittele kuivia reagensseja, siten että ne eivät pölyä ja valmista liuokset vetokaapissa!

Standardien valmistukseen käytettäviä jätteitä ei saa kaataa viemäriin, vaan ne on merkittävä vaaralliseksi jätteeksi ja säilöttävä jätepulloon. Itse mittauksiin käytettävät jätteet voidaan kaataa viemäriin runsaan veden kera.

2 TOIMINTAPERIAATE

Nopeutetun ikääntymisen -menetelmä perustuu Arrheniuksen lakiin. Arrheniuksen lain mukaan oluen lämpötilan nostaminen sen säilyessä nopeuttaa sen ikääntymistä, joten lämpötilaa nostamalla voidaan nopeammin saada oluen säilyvyys selville.

Sameuden mittaus perustuu EBC:n sameuden määrittämisohjeeseen 9.41 Alcohol Chill Haze in Beer (Test Chapon). Sameusmittarin virityksen ohje on ohjeesta 9.29 Haze in Beer: Calibration of Haze Meters- 2015 (EBC).

Menetelmän teossa hyödynnettiin KCB:lle valmiiksi tehtyä menetelmäohjetta: Oluen sameuden määrittämis -menetelmäohje. Menetelmän raja-arvot ja työn suoritus perustuu opinnäytetyöhön: Oluen säilyvyyden määrittäminen omavalvonnan tukemiseksi pienpanimossa.

3 LAITTEET

3.1 Sameusmittarin viritykseen tarvittavat laitteet ja välineet

- Lämpökaappi 25 °C
- 100 ml mittapulloja
- 25 ml täyspipettejä
- Analyysivaaka
- 50 ml mittapullo
- Automaattipipettejä
- 10 ml täyspipetti/mittalasi
- Suppilot (valinnainen, mutta kannattaa käyttää reagenssien kaatamisessa mittapulloihin)

3.2 Sameuden mittauksiin tarvittavat laitteet ja välineet

- Lämpökaappi 40 °C
- Sameusmittari 2100P ISOTurbidmeter BIO 2001 + kyvetit ja silikoniöljy (löytyy luokasta LEM_A216)
- Ultraäänihaude
- 400 ml dekantterilaseja
- 1000 ml dekantterilasi
- 50 ml mittapulloja
- 100 ml mittapulloja
- Jäähaude (haudemaljoja ja jäätä)
- Ajastin (kännykkä kelpaa)
- 1-5 ml automaattipipetti
- Digitaalinen lämpömittari (valinnainen)
- Pasteur-pipettejä (valinnainen)

4 REAGENSsit

- Hydratsiinisulfaatti
- Heksametyleenitetramiini (metenamiini)
- Etanoli 99,5 % (Etax AA)
- Mitattava olut (kaksi tölkkiä)
- Vertailuolut Karhu 4,6 % (kaksi tölkkiä)

5 TYÖN SUORITUS

5.1 Sameusmittarin viritys

1. Sameusmittarin viritykseen käytettävä kalibrintiliuos valmistetaan hydratsiinisulfaattiliuoksesta ja heksametyleenitetramiiniiliuoksesta:
 - a) Hydratsiinisulfaattiliuos valmistetaan punnitsemalla 1,000 grammaa hydratsiinisulfaattia analyysivaalla 100 ml mittapulloon ja täyttämällä se merkkiin asti vedellä. Sekoitetaan liuosta ja annetaan sen seistä huoneenlämmössä noin 4 tuntia.

Nopeutetun ikääntymisen -menetelmäohje	Koodi: xxxx	Sivu 4 / 9
--	-------------	------------

- b) Heksametyleenitetramiiniiliuos valmistetaan punnitsemalla 10,000 grammaa heksametyleenitetramiinia analyysivaa'alla 100 ml mittapulloon ja täyttämällä se vedellä merkkiin asti. Sekoitetaan liuosta.
- c) Kalibroitiliuos valmistetaan 100 ml mittapulloon pipetoimalla täyspipetillä 25 ml heksametyleenitetramiiniiliosta ja 25 ml hydratsiinisulfaattiliuosta. Sekoitetaan liuosta ja annetaan sen seistä 24 tuntia 25 °C lämpökaapissa.

2. Standardien valmistus:

1 EBC = 4 NTU

Kalibroitiliuos on 1000 EBC = 4000 NTU

Sameusmittarin viritykseen tarvitaan 20 NTU, 100 NTU ja 800 NTU standardit.

- a) $800 \text{ NTU}/4000 \text{ NTU} = 1/5$ eli se voidaan valmistaa sekoittamalla 10 ml kalibroitiliuosta (täyspipetillä tai mittalasilla) 50 ml:n mittapulloon ja täyttämällä merkkiin asti vedellä.
- b) $100 \text{ NTU}/4000 \text{ NTU} = 1/40$ eli se voidaan valmistaa pipetoimalla 2,5 ml kalibroitiliuosta 100 ml:n mittapulloon ja täyttämällä se merkkiin asti vedellä.
- c) $20 \text{ NTU}/4000 \text{ NTU} = 1/200$ eli se voidaan valmistaa pipetoimalla 0,5 ml kalibroitiliuosta 100 ml mittapulloon ja täyttämällä se merkkiin asti vedellä.
- d) Sameusmittarin virityksen ohjeet löytyvät LEM_A216 luokan kaapista, jossa sameusmittari on.

Sameusmittarin viritys on voimassa 3 kk.

5.2 Mittauksien suoritus

1. Laita mitattavat oluet ja vertailuoluet (molempia kaksi tölkkiä) tasaiseen lämpötilaan $40 \pm 1 \text{ °C}$ lämpökaappiin. Ota ensimmäinen mitattava olut sekä vertailuoluet lämpökaapista 2 vuorokauden jälkeen ja toinen 4 vuorokauden jälkeen.

Huom. Mitattavat oluet voivat vuotaa, joten niitä voi pitää muovilaatikossa lämpökaapin sisällä.

2. Kun olut otetaan pois lämpökaapista, niin siitä kaadetaan noin 200 ml olutta 400 ml dekantterilasiin. Laita dekantterilasi ultraäänihauteeseen kunnes se ei enään vaahtoa (yleensä noin 10-30 minuuttia).

Huom. 400 ml dekantterilasia käytetään, jotta olut ei vaahtoaisi yli lasista ultraäänihauteessa. Olutta tarvitaan vain noin 150 ml, mutta on hyvä ottaa 200 ml, jotta sitä varmasti riittää.



Kuva 1. Oluet ultraäänihauteessa

Nopeutetun ikääntymisen -menetelmäohje	Koodi: xxxx	Sivu 5 / 9
--	-------------	------------

3. Oluen pitää olla noin huoneenlämpöistä ja lämpötilan voi testata digitaalisella lämpömittarilla. Kaada noin 50 ml olutta 50 ml mittapulloon. Sekoita mittapulloa noin 20 kertaa välillä korkkia avaten.

Huom. Yleensä näytteitä sekoitetaan kyvetissä, mutta oluen hiilidioksidin takia, se on parempi sekoittaa mittapullossa. Mittapullon täyttämässä voi käyttää pasteur-pipettejä vaahdon takia.

4. Kaada sekoitettua olutta kyvetiin siinä olevaan valkoiseen viivaan saakka. Mittaa alustava sameus oluesta. Tyhjennä kyveti oluesta, täytä se uudestaan ja mittaa sameus uudelleen yhteensä kolme kertaa, jotta saadaan rinnakkaisnäytteitä

Huom. Tarkemmat ohjeet sameusmittarin käytöstä löytyvät kaapista, jossa sameusmittari on. Samaa kyvetiä voi käyttää rinnakkaisnäytteisiin, koska näyte on sama.

5. Pipetoi 3 ml 99,5 % etanolia 100 ml mittapulloon. Täytä mittapullo merkkiin asti oluella. Sekoita mittapulloa noin 20 kertaa välillä korkkia avaten. Kaada olutliuos kolmeen kyvetiin ja sulje korkit kiinni.

Huom. Mittapullon täyttämiseen voi taas käyttää pasteur-pipettejä. Kyvetit kuivataan labrapaperilla, jos ne kastuvat.

6. Hae 1000 ml dekantterilasiin 1. kerroksen prosessihallista jäätä. Laita kyvetit haudemaljoihin ja täytä maljat jäällä. Anna kyvettien olla jäähautteessa 40 minuuttia.

Huom. Varo kyvettien naarmuttamista. Käyttämätön jää ja jäähautteet kannattaa laittaa jääkaappiin, jotta jää sulaa hitaammin. Käyttämättömällä jäällä voi täyttää jäähautteita, jos niistä alkaa sulamaan jäätä.



Kuva 2. Oluet jäähautteessa

7. Mittaa sameudet jäähautteessa olevista näytteistä enintään 2 minuutin sisällä jäähautteesta poiston jälkeen. Aika jäähautteesta poiston ja mittauksen välillä kannattaa pitää mahdollisimman lähellä vakiota (esim. 30 sekuntia).

Huom. Muista öljytä kyvetit ennen mittaamista. Näytteen lämpötila vaikuttaa sameuteen merkittävästi, joten jäähautteesta poiston ja mittaamisen välisen ajan pitäminen vakiona on tärkeää.

Kyvettien pesuun käytetään pumpulipäistä pesuharjaa (kuva 3), jotta kyvetteihin ei tule naarmuja.

Nopeutetun ikääntymisen -menetelmäohje	Koodi: xxxx	Sivu 6 / 9
--	-------------	------------



Kuva 3. Pumpulipäivänen pesuharja kyvettien pesuun

6 TULOSTEN LASKEMINEN

Tulos pyöristetty 1 desimaalin tarkkuudella

$$\text{Sameus (EBU units)} = FT - IT$$

Jossa

FT= lopussa mitattu sameus

IT= alustava sameus

Sameus lasketaan rinnakkaisnäytteiden keskiarvojen avulla. Rinnakkaisnäytteistä otetaan myös keskihajonta ja suhteellinen keskihajonta. Suhteellinen keskihajonta IT:lle olisi hyvä olla alle 2 prosenttia ja FT:lle alle 5 prosenttia. Analyysien tulokset merkataan Excel-taulukkoon, joka löytyy panimon Teams-kanavalta.

Taulukko 2. Study Buddy ja Karhu -näytteiden sameuksien raja-arvot

Näyte	Sameuden raja-arvo (NTU)
Study Buddy 2 päivää	40-70
Study Buddy 4 päivää	50-75
Karhu 2 päivää	0,90-1,45
Karhu 4 päivää	1,30-1,65

Nopeutetun ikääntymisen -menetelmäohje	Koodi: xxxx	Sivu 6 / 9
--	-------------	------------

7 LIITTEET

Liite 1. Riskiarviointitaulukko

Riskit	Riskin minimointi/poistaminen	Riskin luokittelu
Kemialliset		
Etanoli H225, H319 P210, P233, P305+P351+P338	Laboratorion tavanomainen suojavarustus; laboratoriotakki, suojalasit ja suojahansikkaat. Rauhallinen työskentely. Suojaa tulenlähteiltä.	Kohtalainen
Hydratsiinisulfaatti H301 + H311 + H331, H314, H317, H350, H410 P260, P273, P280, P303 + P361 + P353, P304 + P340 + P310, P305 + P351 + P338	Laboratorion tavanomainen suojavarustus; laboratoriotakki, suojalasit ja suojahansikkaat. Rauhallinen työskentely. Vältä pölyämistä. Käytä vetokaappia. Älä päästä ainetta ympäristöön.	Merkittävä
Heksametyleenitetramiini H228, H317 P210, P280, P333+P313	Laboratorion tavanomainen suojavarustus; laboratoriotakki, suojalasit ja suojahansikkaat. Rauhallinen työskentely. Vältä pölyämistä Käytä vetokaappia. Älä päästä ainetta ympäristöön. Suojaa sytytyslähteiltä.	Kohtalainen
Puutteelliset astiamerkinnot	Jos analysoidaan useampaa olutta kerralla, vaikuttaa tulosten oikeellisuuteen	Vähäinen
Piilopullot	Merkitään kaikki astiat, jotta vaarallista liuosta ei päädy väärään paikkaan.	Merkittävä
Fysikaaliset		
Laiterikko	Huolellinen työskentely	Merkityksetön (analyysi ei kyläkään sitten tapahdu ilman laitetta)
Lasiesineiden rikkoutuminen	Hitaat, harkitut liikkeet. Hellä käsittely, ei voiman käyttöä. Mikäli rikkoutuu, turvallinen hävitys ja asiallinen siivous.	Vähäinen
Kompastumiset	Pidetään tavarat oikeilla paikoilla, katsotaan mihin kävellään.	Vähäinen
Liukastumiset	Lattian kuivaaminen, huolellinen ympäristön siistiminen	Vähäinen

Muutoshistoria	Koodi:
----------------	--------

8 MUUTOSHISTORIA

Versionumero	Muutos	Tekijä	Päivämäärä
1	Alkuperäinen	Jussi Haulivuori	28.04.2025
2	Kerrotaan tehty muutos.	XXXX	pp.kk.vvvv

Liite 2. EBC-menetelmäohje



Oluen säilyvyyden mittaus EBC-menetelmällä	Koodi:	Jarno lisää koodin	
	Laatija(t):	Jussi Haulivuori	29.04.2025
	Tarkastaja(t):	XX sovitaan laitevastuutiimissä	pp.kk.vvvv
	Hyväksyjä(t):	XX sovitaan laitevastuutiimissä	pp.kk.vvvv

Oluen säilyvyyden mittaus EBC- menetelmällä

Menetelmäohje



EBC-menetelmäohje	Koodi: xxxx	Sivu 1 / 5
-------------------	-------------	------------

Sisältö

1 Turvallisuus	2
2 Toimintaperiaate.....	2
3 Laitteet ja reagenssit.....	2
3.1 Laitteet ja välineet.....	2
3.2 Reagenssi(t).....	2
4 Työn suoritus.....	2
5 Tulosten tarkastelu	3
6 Muutoshistoria.....	4

EBC-menetelmäohje	Koodi: xxxx	Sivu 2 / 5
-------------------	-------------	------------

1 TURVALLISUUS

Menetelmässä ei käytetä vaarallisia reagensseja ja jätteet voidaan hävittää viemäriin.

2 TOIMINTAPERIAATE

Menetelmä on mukailtu EBC-ohjeen 4.3.2.1 Shelf Life of Beer in Cans and Kegs (2011) avulla.

Menetelmässä analyysit tehdään aistinvaraisesti.

Jos oluesta löytyy kontaminaatiota, niin siitä tehdään mikrobiologinen viljely, johon löytyy erikseen menetelmäohje: Oluen mikrobiologisen laadun määrittäminen.

3 LAITTEET JA REAGENSIT

3.1 Laitteet ja välineet

Menetelmässä ei tarvita laitteita tai välineitä.

3.2 Reagenssi(t)

- Neljä tölkkiä mitattavaa olutta

4 TYÖN SUORITUS

1. Neljä tölkkiä olutta laitetaan luokassa A140 olevaan kaappiin A140-6 (kuva 1). Kaappi on jaettu kahteentoista osaan sinisillä teipeillä ja jokaisessa osassa lukee kuukauden nimi. Tölkit laitetaan oikeaan paikkaan niiden säilyttämisen aloittamiskuukauden mukaan.



Kuva 1. Kaappi oluiden säilyttämiseen

2. Tölkkien säilyttämisen aloituksen päivämäärä merkataan panimon Teams-kanavalta löytyvään Excel-taulukkoon (kuva 2).

Liite 3. Vaara- ja turvalausekkeet

Varoitusmerkit perustuvat Euroopan parlamentin ja neuvoston asetukseen (EY) N:o 1272/2008.

Vaaralausekkeet

H225	Helposti syttyvä neste tai höyry
H228	Syttyvä kiinteä aine
H301	Myrkyllistä nieltynä
H311	Myrkyllistä joutuessaan iholle
H314	Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa
H317	Voi aiheuttaa allergisen ihoreaktion
H318	Vaurioittaa vakavasti silmiä
H319	Ärsyttää voimakkaasti silmiä
H331	Myrkyllistä hengitettynä
H350	Saattaa aiheuttaa syöpää
H400	Erittäin myrkyllistä vesieliöille
H410	Erittäin myrkyllistä vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia

Turvalausekkeet

P210	Suojaa lämmöltä, kuumilta pinnoilta, kipinöiltä, avotulelta ja muilta sytytyslähteiltä. Tupakointi kielletty.
P233	Säilytä tiiviisti suljettuna
P260	Älä hengitä pölyä / savua / kaasua / sumua / höyryä / suihketta
P273	Vältettävä päästämistä ympäristöön
P280	Käytä suojakäsineitä / suojavaatetusta / silmiensuojainta / kasvonsuojainta
P303	JOS KEMIKAALIA JOUTUU IHOLLE (tai hiuksiin):
P304	JOS KEMIKAALIA ON HENGITETTY:
P305	JOS KEMIKAALIA JOUTUU SILMIIN:
P310	Ota välittömästi yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN
P313	Hakeudu lääkäriin
P333	Jos ilmenee ihoärsytystä tai ihottumaa:
P338	Poista piilolinssit, jos sen voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista.
P340	Siirrä henkilö raittiiseen ilmaan ja varmista vaivaton hengitys.
P351	Huuhto huolellisesti vedellä usean minuutin ajan.
P353	Huuhto / suihkuta iho vedellä.
P361	Riisu saastunut vaatetus välittömästi.