



SEINÄJOEN AMMATTIKORKEAKOULU  
SEINÄJOKI UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Neva Tauriainen

---

## **Sian silavan esikäsittelymenetelmän kehittäminen**

Opinnäytetyö

Kevät 2025

Insinööri (AMK), Bio- ja elintarviketekniikka



SEINÄJOEN AMMATTIKORKEAKOULU

## Opinnäytetyön tiivistelmä

Tutkinto-ohjelma: Insinööri (AMK), Bio- ja elintarviketekniikka

Tekijä: Neva Tauriainen

Työn nimi alaotsikoineen: Sian silavan esikäsittelymenetelmän kehittäminen

Ohjaaja: Juuso Kumpulainen

Vuosi:2025

Sivumäärä: 38

Liitteiden lukumäärä: 0

---

Opinnäytetyön tavoitteena oli selvittää, millainen esikäsittelymenetelmä on toimivin sian, etenkin täyskarjujen, silavalle. Työn teoriaosuuden tavoite on perehtyä täyskarjuissa karjunhajua aiheuttaviin yhdisteisiin sekä tutkimusmenetelmiin, joihin silavan esikäsittelyä voitaisiin hyödyntää. Esikäsittelymenetelmää tarvitaan huoneenlämmössä kiinteän silavan rasvan ja sen sisältämän kiintoaineen erottamiseksi mahdollisista tutkittavista yhdisteistä. Työn pohjalta kehitettäisiin Seinäjoen ammattikorkeakoulun (SEAMK) laboratorioissa käyttöön otettava esikäsittelymenetelmä.

Opinnäytetyössä toimivinta esikäsittelymenetelmää selvitettiin SEAMKin analyysilaboratoriossa sulattamalla silavanäytteitä ja uuttamalla niitä kahteen eri alkoholiin. Tutkimus toteutettiin sekä täyskarjun silavalla että kastroidusta siasta saadulla kontrollisilavalla. Samalla tutkittiin, vaikuttaako silavan palakoko menetelmän etenemiseen tai tuloksiin. Aikaansaatuksen uutosten ulkonäköä ja tilavuutta vertailtiin keskenään.

Opinnäytetyön tulosten perusteella etanolilla uutetuista näytteistä saatiin irti hiukan enemmän uutosta kuin metanolilla, eikä silavan palakoolla ollut juuri vaikutusta uuttoaantoon tai silavan sulamiseen. Näytekohtaiset tulokset vaihtelivat kuitenkin melko paljon. Esikäsittelymenetelmä vaatii sekä hienosäätöä että todentamiskeinoja, ennen kuin sitä voidaan alkaa käyttämään tarkoituksenmukaisesti laboratorioissa.

<sup>1</sup> Asiasanat: eläinrasvat, esikäsittely, uutto

SEINÄJOKI UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

## Thesis abstract

Degree programme: Bachelor of Engineering, Food Processing and Biotechnology

Author: Neva Tauriainen

Title of thesis: Developing a preparation method for pork back fat

Supervisor: Juuso Kumpulainen

Year: 2025

Number of pages: 38

Number of appendices: 0

---

The aim of the thesis was to find out the optimal preparation method for pork back fat, especially for fat obtained from boars. The aim for the theoretical parts of this thesis was to look into the substances that cause boar taint in uncastrated boar back fat, as well as procedures in which the preparation method could be utilized. The method is required in order to separate the fat, which is solid in room temperature, and other solids from the substances the boar fat contains. The preparation method was meant to be then utilized in Seinäjoki University of Applied Sciences (SEAMK) laboratory.

The optimal preparation method was studied in SEAMK laboratory by melting samples of pork back fat and extracting them using two different types of alcohol. Both castrated and uncastrated boar back fats were used in the study. The potential effects of different sample textures on the results were also studied. Finally, the outward appearance and volume of finished extracts from different samples were compared together.

The results indicate a slightly greater yield of extract using ethanol rather than methanol and that the sample texture provides no significant effect on the final extract, although the results differ somewhat from sample to sample. The preparation method requires more adjusting as well as verification before it can be used in the laboratory as intended.

<sup>1</sup> Keywords: animal fats, preliminary treatment, extraction

## SISÄLTÖ

Opinnäytetyön tiivistelmä .....	2
Thesis abstract .....	3
SISÄLTÖ .....	4
Kuva-, kuvio- ja taulukkoluetelo .....	5
Käytetyt termit ja lyhenteet.....	7
1 JOHDANTO .....	8
2 OPINNÄYTETYÖN TAUSTA.....	10
2.1 Karjunhaju ja sen aiheuttajat .....	10
2.2 Karjunhajun ehkäisymenetelmät .....	11
2.3 Lainsäädännön muutokset .....	12
2.4 Uttaminen.....	12
2.5 Spektrofotometria .....	13
2.6 Titraus .....	14
3 MATERIAALIT JA MENETELMÄT .....	16
3.1 Työsuunnitelma .....	16
3.2 Laboratoriotyön toteutus.....	17
4 TULOKSET .....	24
5 JOHTOPÄÄTÖKSET .....	34
6 POHDINTA.....	36
LÄHTEET .....	38

## Kuva-, kuvio- ja taulukkoluetelo

Kuvio 1. Opinnäytetyön työsuunnitelman prosessikaavio. ....	17
Kuva 1. Yksi tutkittavista silavanäytteistä.....	18
Kuva 2. Silavanäytteiden sulatus vesihauteessa .....	19
Kuva 3. Eri tavoin pilkotut silavanäytteet Duran-pulloissa ennen sulatusta.....	21
Kuva 4. Uutettu silavanäyte ennen (vas.) ja jälkeen (oik.) sentrifuugauksen .....	24
Taulukko 1. Ensimmäisen etanolilla uutetun kontrollisilavan saanto.....	25
Taulukko 2. Etanolilla uutetun kontrollisilavan tulokset. ....	26
Kuva 5. Etanolilla uutettu täyskarjun PIL-sarja ennen sentrifuugausta .....	26
Kuva 6. Etanolilla uutettu täyskarjun PIL-sarja sentrifuugauksen jälkeen. ....	27
Taulukko 3. Etanolilla uutetun täyskarjun tulokset. ....	28
Kuva 7. Metanolilla uutettu täyskarjun KOK-sarja ennen sentrifuugausta .....	29
Kuva 8. Metanolilla uutettu täyskarjun KOK-sarja sentrifuugauksen jälkeen .....	29
Taulukko 4. Metanolilla uutetun täyskarjun tulokset.....	30
Kuva 9. Metanolilla uutetun kontrollisilavan KOK-sarja ennen sentrifuugausta .....	31
Kuva 10. Metanolilla uutetun kontrollisilavan KOK-sarja sentrifuugauksen jälkeen .....	31
Taulukko 5. Metanolilla uutetun kontrollisilavan tulokset. ....	32
Taulukko 6. Kontrollisilavan uuttosaanto eri liuotimilla. ....	33
Taulukko 7. Täyskarjun silavan uuttosaanto eri liuottimilla. ....	33



## Käytetyt termit ja lyhenteet

<b>Androstenoni</b>	Sian kiveksissä muodostuva hormoni, joka aiheuttaa hajuvirheitä täyskarjun lihaan
<b>Leikko</b>	Kastroitu urossika
<b>Poolinen yhdiste</b>	Molekyylilyhdiste, jossa toinen atomeista vetää jaettua elektroni- paria voimakkaammin puoleensa ja aikaansaa vastakkaiset osit- taisvaraukset eri atomeille
<b>Pooliton yhdiste</b>	Molekyylilyhdiste, jossa molemmat atomit vetävät elektroneja yhtä voimakkaasti eikä etomien välillä ole varauseroja
<b>Skatoli</b>	Sian suolistossa syntyvä tryptofaanin hajoamistuote, joka aiheut- taa hajuvirheitä täyskarjun lihaan
<b>Spektrofotometri</b>	Optinen mittauslaite, joka heijastaa valoa tutkittavaan näyttee- seen ja mittaa siihen absorboituneen valon määrää
<b>Täyskarju</b>	Kastroimaton urossika

## 1 JOHDANTO

Tämä opinnäytetyö perehtyy silavaan ja sen esikäsittelymenetelmiin, etenkin karjunhajan tutkimuksen näkökulmasta. Silava on sian nahanalaista rasvaa, jota käytetään elintarvikkeissa sekä raaka-aineena laardin valmistuksessa. Silavaan kertyy helposti rasvaliukoisia yhdisteitä sian elimistöstä, joten silavaa tutkimalla voidaan arvioida, esiintyykö sian ruhosssa esimerkiksi epämiellyttävää karjunhajua aiheuttavia yhdisteitä.

Normaalissa olomuodossaan silava on hyvin kiinteää, mikä rajoittaa sille sopivia tutkimusmenetelmiä. Lisäksi silava sisältää kiintoainesta, mikä haittaa sen tutkimista. Silavan esikäsittelymahdollisuus mahdollistaa sen tutkimisen myös menetelmillä, jotka vaativat nestemäistä näytettä, kuten esimerkiksi spektrofotometrillä. Laaja-alaisemmat tutkimusmenetelmät ovat eduksi etenkin kastroimattomien karjujen eli täyskarjujen silavan tutkimista varten. Täyskarjujen silavaan kertyy skatolia, joka yhdessä hormoni androstenonin kanssa aiheuttaa osaan karjuista karjunhajua. Epämiellyttäväksi koettu karjunhaju voi vähentää sianlihan houkuttelevuutta kuluttajille, joten sitä aiheuttavien yhdisteiden etsiminen täyskarjujen ruhoista on tärkeää täyskarjuja teurastettaessa.

Suomessa karjunhajan riskiä ehkäistään karjuporsaita kastroimalla. Viimeisin laki eläinten hyvinvoinnista nostaa kastration vaatimuksia, mikä nostaa toimenpiteen kustannuksia sekä työmäärää. Yksi vaihtoehto kastratiolle voisi olla kasvattaa täyskarjuja ja tarkistaa niiden lihan skatolipitoisuus teurastuksen jälkeen. Tällä hetkellä täyskarjuja kasvattavissa maissa skatolin etsintä ruhoista tehdään aistinvaraisesti, mikä vaatii ihmisresursseja ja on altis inhimillisille virheille. Mahdollisuus määrittää esimerkiksi skatolin määrä näytteestä koneellisesti voisi tarjota varmemman tavan selvittää karjunhajua sianruhoista. Karjunhajan syntymiseen vaikuttavat myös esimerkiksi sikojen ruokinta ja elinolosuhteet. Helpottamalla karjunhajan selvittämistä näytteistä mahdollistetaan myös laajemman skaalan tutkimus karjunhajan yhteydestä teurastettujen karjujen eri muuttujiin (mm. ikä, elinolosuhteet, ruokavalio ym.).

Tämän opinnäytetyön tavoitteena on löytää esikäsitelymenetelmä, joka mahdollistaa silavan tutkimisen uusilla menetelmillä. Kehitetty esikäsitelymenetelmä on tarkoitus ottaa käyttöön Seinäjoen ammattikorkeakoulun (SEAMK) laboratoriossa.

Opinnäytetyön teoriaosuudessa käsitellään karjunhajua ja sen ehkäisymenetelmiä. Lisäksi osiossa perehdytään uuttamiseen sekä määritysmenetelmiin, joilla esikäsiteltyä silavaa voitaisiin tutkia. Opinnäytetyön käytännön osuudessa keskitytään silavan esikäsitelymenetelmän kehittämiseen laboratorio-olosuhteissa.

Opinnäytetyön alkuperäinen suunnitelma oli uuttaa esikäsitellystä silavasta karjunhajua aiheuttavaa skatolia ja selvittää, voidaanko sitä tutkia spektrofotometrillä. Tämä olisi kuitenkin paisuttanut työn aiheen liian laajaksi ja opinnäytetyö rajattiin kattamaan pelkästään silavan esikäsitelyn. Eritelty esikäsitelymenetelmä avaakin ensisijaisesti lisää tutkimusmahdollisuuksia skatolin ja muiden rasvaliukoisten yhdisteiden tutkimiseen esimerkiksi tulevissa SEAMKin opinnäytetöissä.

## 2 OPINNÄYTETYÖN TAUSTA

### 2.1 Karjunhaju ja sen aiheuttajat

Karjunhaju on epämiellyttäväksi koettu haju, jota kehittyy joidenkin karjujen lihaan niiden saavuttaessa sukukypsyyden (Hankkija, i.a.). Haju tulee esiin lihaa kypsennettäessä, kun sitä aiheuttavat yhdisteet muuttuvat haihtuvaan muotoon. Karjunhajua aiheuttaa pääsääntöisesti kaksi yhdistettä: skatoli ja androstenoni (Hankkija, i.a.). Suomessa yhdisteiden aiheuttaman hajuvirheen raja-arvoina pidetään skatolille 0,2 µg ja androstenonille 1,5 µg grammassa rasvaa.

Skatolia eli 3-metyyli-indolia muodostuu sian suolistossa, kun bakteerit pilkkovat ravinnosta saatua tryptofaania (Deslandes ym., 2001). Skatolia voi muodostua myös märehitijöiden pötsissä. Märehitijöille skatoli on myrkyllistä ja se voi aiheuttaa kuolemaan johtavaa keuhkoödeemaa sekä keuhkojen vajaatoimintaa.

Toisin kuin märehitijöille, sioille skatoli ei ole myrkyllistä (Andresen, 2006). Suolistossa muodostunut skatoli kulkeutuu maksaan ja hajoaa. Sukukypsillä karjuilla osa skatolista kulkeutuu kuitenkin maksan läpi hajoamatta ja kertyy sen sijaan rasvakudoksiin. Tämän puutteellisen hajoamisen syyksi oletetaan kivesten toimintaa ja hormoneja, sillä skatolia muodostuu sikojen suolistossa eläimen sukupuolesta riippumatta mutta sitä kertyy ainoastaan karjujen rasvakudoksiin. Skatolin sulamispiste on 95–97 °C, ja kiehumispiste 265–266 °C (Pubchem, i.a.a). Yhdiste liukenee kuumaan veteen, alkoholeihin, bentseeniin, kloroformiin ja eetteriin.

Androstenoni on sian kiveksissä muodostuva steroidi (Andresen, 2006). Sitä erittyy kiima-aikana sylkeen, jossa se toimii lisääntymiskäyttäytymistä stimuloivana feromonina. Rasvahakuisena molekyylinä androstenoni kertyy rasvakudoksiin, mutta skatolin tavoin osa androstenonista hajoaa myös maksassa. Androstenoni on todettu ainakin osatekijäksi skatolin epätäydelliseen hajoamiseen karjujen maksassa (Doran ym., 2002). Se häiritsee skatolia hajottavan entsyymin toimintaa, jolloin skatolia pääsee kertymään rasvakudoksiin.

Androstenonin sulamispiste on 140–141 °C välillä ja sen kiehumispiste on 371–372 °C (Pubchem, i.a.b).

## 2.2 Karjunhajun ehkäisymenetelmät

Karjunhajun esiintymiseen voidaan vaikuttaa karjujen ruokinnalla. Hankkijan (i.a.) ruokinta-kokeilun mukaan rehu, jossa on matala valkuaispitoisuus sekä fermentoituvia hiilihydraatteja, jotka vähentävät skatolin muodostumista sian paksusuolella. Skatolin imeytyminen myös vähenee, kun rehun kuitu lyhentää sen viipymäaika suolella.

Suomessa yleisin karjunhajun hallintakeino on karjuporsaiden kastrointi. Porsaatt kastroidaan alle viikon ikäisinä kirurgisesti, jolloin porsaan kivesten iho viilletään tai leikataan auki ja kivekset vedetään ulos sekä siemennuora katkaistaan (Heinonen, 2021). Suomessa porsaita ei puuduteta eikä nukuteta ennen kastrointiä, mutta toimenpiteen jälkeen niille annetaan tulehduskipulääkettä. Itse toimenpide on lyhytkestoinen, mutta aiheuttaa porsaille vakavan kudonvaurion ja voimakasta kipua. Kastrointi ilman paikallispuudutusta tai nukutusta on kiellettyä Ruotsissa, Norjassa, Tanskassa ja Saksassa. Sen sijaan Belgiassa kastroitaville porsaille annetaan Suomen tapaan pelkästään tulehduskipulääkettä.

Ennen kastrointiä porsaille voidaan antaa paikallispuudutusta, mutta tähän liittyvä kiinniotto ja puudutusaineen pistäminen aiheuttaa kipua ja stressiä porsaille sekä lisätyötä ja kustannuksia sikojen kasvattajalle (Heinonen, 2021). Paikallispuudutusta käytetään kastrointiä apuna Ruotsissa, Norjassa ja Tanskassa. Saksassa ja Hollannissa porsaatt nukutetaan inhalaatiokaasulla ennen kastrointiä. Nukuttavina kaasuina käytetään lähinnä hiilidioksidia, joka on verrattain halpaa mutta teholtaan heikkoa, tai kalliimpaa mutta tehokkaampaa isofluraania.

Immunokastrointi on vaihtoehto kirurgiselle kastrointielle. Immunokastrointiä yli kahdeksan viikon ikäiselle porsaille annetaan rokote, joka tuottaa vasta-aineita aivoista vapautuvalle GnRH:lle eli gonadotropiineja vapauttavalle hormonille (Heinonen, 2021; Kiviaho, 2013). Tällöin kivekset eivät kehity normaalisti, minkä johdosta skatolin ja androstenonin

pitoisuudet rasvakudoksessa vähenevät eikä karjunhajua muodostu. Rokote annetaan porsaille kahdesti kuukauden välein (Kiviaho, 2013). Immunokastratorokotteella ei ole kliinisiä haittavaikutuksia, mutta rokotteen antamiseen liittyvä käsittely ja neulan pisto aiheuttavat lisästressiä porsaille.

Kastroidun karjun eli leikon liha on laadultaan erilaista kuin täyskarjuilla (Heinonen, 2021). Leikkojen liha on yleensä täyskarjuja rasvaisempaa ja sen pH on täyskarjua korkeampi. Myös lihan rasvan laatu on erilaista, sillä leikon rasvassa on enemmän tyydyttyneitä rasvahappoja. Tyydyttyneillä rasvahapoilla on tyydyttymättömiä korkeampi sulamispiste, eivätkä ne härskiinny yhtä herkästi (Aryal, 2022).

### **2.3 Lainsäädännön muutokset**

Vuoteen 2023 saakka voimassa ollut eläinsuojeluasetus (396/1996, 6 luku 23 §) salli enintään viikon ikäisten porsaiden kastraation kudoksia repimättä pätevän henkilön suorittamana. Tätä vanhemman porsaan kastraation sai suorittaa pelkästään eläinlääkäri käyttäen asianmukaista kivunlievitystä ja anestesiaa. Alle viikon ikäisten sikojen kastratio ei laillisesti edellyttänyt tulehduskipulääkettä, mutta lihatalot edellyttivät sen antamista asiakastiloiltaan (Heinonen, 2021).

Vuonna 2024 voimaan astunut laki eläinten hyvinvoinnista (693/2023) tiukentaa karjuporsaiden kastraatiomenetelmiä. Tuotantoeläimenä pidettävien sikojen kirurginen kastratio kielletään 1.1.2035 alkaen (693/2023, 16 luku 126 §). Muutoin kastraation saa suorittaa eläinlääkäri tai muun tarvittavan koulutuksen tai osaamisen omaava henkilö (693/2023, 3 luku, pykälät 15 ja 16). Mikäli toimenpiteestä seuraa muuta kuin lievää ja hetkellistä kipua, tulee siinä käyttää kivunlievitystä.

### **2.4 Uttaminen**

Uttaminen on kemiallinen erotusmenetelmä, joka perustuu yhdisteiden erilaisiin liukoisuusominaisuuksiin (Orgaanisen kemian verkosto, 2005). Siinä kemiallisia yhdisteitä tai

yhdisteryhmiä eristetään liuoksista, kiinteistä seoksista tai kaasuista liuottimia käyttämällä (Opetushallitus, i.a.a). Orgaanisessa kemiassa uutamista käytetään eristettäessä liueneita aineita liuoksesta, eristettäessä jotain komponenttia kiinteästä seoksesta liuottimeen tai poistettaessa liukoisia epäpuhtauksia reaktioseoksesta.

Uuttamismenetelmät voidaan jakaa jatkuvauutoksi ja aktiiviseksi uutoksi (Orgaanisen kemian verkosto, 2005; Opetushallitus, i.a.a). Aktiivinen uutto perustuu uutettavan aineen ja liuottimen väliseen reaktioon, jonka ansiosta uutettavasta aineesta syntyy uusi yhdiste. Saatu yhdiste on liukoisuusomaisuuksiltaan erilainen kuin reagoimaton yhdiste. Jatkuva-uutolla puolestaan voidaan samalla liuotinmäärällä suorittaa lukemattomia uuttoja liuotinta kierrättämällä. Jatkuvauutossa hyödynnetään usein Soxhlet-uuttolaitetta, joka kuumentaa liuottimen höyryksi ja palauttaa sen takaisin keittoastiaan.

Uuttamisessa käytettävä liuotin määrittyy erotettavan aineen perusteella (Opetushallitus, i.a.a). Poolittomien aineiden, kuten rasvojen ja öljyjen, erottamisessa liuottimena käytetään hiilivetyjä, hiilivetyseoksia ja kloorattuja hiilivetyjä. Poolillisten aineiden uuttamisessa käytetään vettä tai alkoholeja.

## 2.5 Spektrofotometria

Spektrofotometri on optinen mittauslaite, jota käytetään aineiden tunnistamiseen sekä niiden puhtausasteen ja pitoisuuden määrittämiseen näyteliuoksessa (Solunetti, 2006b). Laitteen toimintaperiaate perustuu Lambert-Beerin lakiin, joka määrittelee valon pidättäytymistä aineeseen.

Spektrofotometria käytettäessä laitteeseen asetetaan nestemäistä näytettä sisältävä kyveti, jota valaistaan eri aallonpituuksilla. Sen jälkeen laite laskee, kuinka suuri osa valosta absorboitui liuokseen (Solunetti, 2006a). Spektrofotometrien yleisin aallonpituuden vaihteluväli on ultraviolettisäteilystä (100–400 nm) infrapunasäteilyyn (700–1000 nm) (Mäkelä, 2024). Orgaanisia yhdisteitä tutkittaessa käytetään useimmiten UV-valoa, sillä niiden molekyylit ovat useimmiten värittömiä eivätkä ne absorboi näkyvää valoa (Jaarinen &

Niiranen, 2008, s. 54). Absorboimattomiin näytteisiin voidaan myös tarvittaessa lisätä väri-reagensseja. Tällöin reaktion tulee olla selektiivinen, jotta näytetaustan muut komponentit eivät häiritse mitattavan johdoksen absorptiota.

Spektrofotometriä hyödynnetään elintarvikealalla laadunvalvonnassa. Heiskasen (2016) mukaan menetelmää voidaan käyttää esimerkiksi ruoan värin sekä sokeripitoisuuden analysointiin. Spektrofotometrian avulla voidaan myös arvioida ruokaöljyjen laatua ja puhautta. Lisäksi menetelmällä voidaan määrittää elintarvikkeiden fytiinihappo- ja laktoosipitoisuuksia sekä veden epäpuhtauksia, kuten fluoridia (Measurlabs, i.a.).

Spektrofotometriseen tutkimukseen opinnäytetyössä esitelty esikäsittelymenetelmä on tarpeellinen, sillä spektrofotometri tarvitsee nestemäisen näytteen toimiakseen. Sian silavan sisältämät yhdisteet on siis välttämätöntä irrottaa kiinteästä rasvasta esimerkiksi uutamalla, jotta niitä voidaan tutkia spektrofotometrisesti.

## 2.6 Titraus

Titraus on analyysimenetelmä, jossa tutkittavaan näytteeseen lisätään tunnettua mittaliuosta joka reagoi näytteen kanssa sekä väriä vaihtavaa indikaattoriainetta (Opetushallitus, i.a.b). Reagoivaa mittaliuosta lisätään, kunnes reagenssin ja näytteen välinen reaktio on tapahtunut täydellisesti. Reaktion täydellisyys voidaan havaita indikaattoriaineen värimuutoksesta, tai laskea esimerkiksi sähkökemiallisilla keinoilla. Hyödyntämällä tunnetun reagenssiaineen pitoisuutta ja tilavuutta voidaan laskea tutkittavan aineen määrä.

Elintarvikealalla titrausta hyödynnetään esimerkiksi suolan ja happoisuuden määrittämiseen elintarvikkeista (Hanna Instruments, i.a.). Menetelmällä voidaan tarkkailla sekä elintarvikkeen turvallisuutta että laatua. Titrausta voidaan suorittaa sekä käsin että automaattisia titrauslaitteita hyödyntäen.

Toinen titrauksen tärkeä soveltamismenetelmä elintarvikealalla on jodiluvun määrittäminen, jolla voidaan määrittää rasvan sisältämien kaksoissidosten määrää. Jodiluku määritetään

liuottamalla tutkittava näyte kloroformiin, hiilitetrakloridiin tai etikkahapon ja hiilitetrakloridin seokseen (Bockisch, 1998, s.804). Liuokseen lisätään tunnettu määrä jodia, joka reagoi rasvan kaksoissidosten kanssa. Reaktioajan päätteeksi yli jääneen, reagoimattoman jodin määrä selvitetään titraamalla se natriumtiosulfaatilla.

Kuten spektrofotometriassa, myös titrauksessa hyödynnetään nestemäisiä näytteitä. Täten silava tarvitsee esikäsitellä, mikäli sen sisältämiä yhdisteitä halutaan tutkia titraamalla.

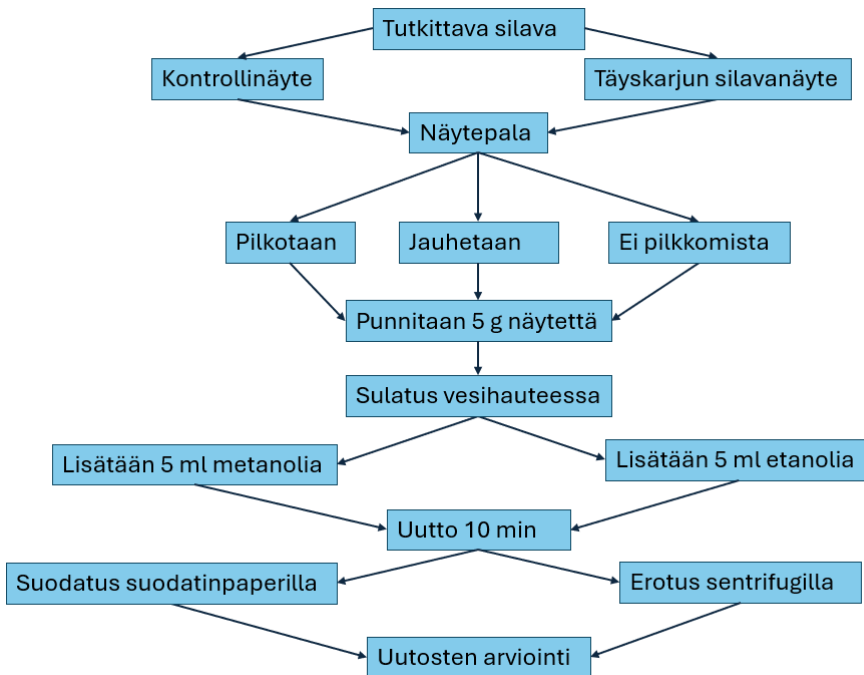
## 3 MATERIAALIT JA MENETELMÄT

### 3.1 Työsuunnitelma

Silavan esikäsittelymenetelmäksi valikoitui Ulf Nonboen (1991, s.5) patentti skatolin uutto-  
menetelmäksi sian ihrasta. Nonboen menetelmässä sulatetaan viiden gramman laardi-  
näyte mikroaaltouunissa tai rasvaa sulatetaan irti suoraa sian ruhosta erilliseen astiaan.  
Näytettä uutetaan sen jälkeen metanolissa kymmenen minuutin ajan.

Nonboen patentin pohjalta kehitettiin SeAMKin laboratorioon sopiva esikäsittelymene-  
telmä. Patentista hyödynnettiin erityisesti näytekokoja ja uuttoaikaa. Laardin sijasta tutkitta-  
vat näytteet otettaisiin sian silavasta, joka sisältää kamaraa ja joka täytyy erottaa näyt-  
teestä. Täten esikäsittelymenetelmän ohessa tutkittiin myös, millainen erottelumenetelmä  
olisi toimivin kamaran erottamiseksi uutetusta näytteestä.

Esikäsittelymenetelmää sovellettaisiin sekä täyskarjun silavaan että kastroidusta karjasta  
saatuun kontrollisilavaan. Silavalaatujen eron lisäksi tutkittiin, vaikuttaako näytesilavan  
pilkkominen tai jauhaminen esikäsittelyn lopputulokseen millään tavalla. Silavanäytteet  
saatiin paikalliselta teurastamolta helmikuussa 2024 ja niitä säilytettiin pakasteessa tutki-  
muksen toteutukseen saakka. Työsuunnitelman vaiheet ja variaatiot on esitetty kuviossa 1.



Kuvio 1. Opinnäytetyön työsuunnitelman prosessikaavio.

Esikäsittelymenetelmän työsuunnitelman alkuperäisessä muodossa eri silavalaaduista punnittiin 5 gramman kokoisia näytepaloja. Näytepaloista muodostettiin rinnakkaisnäytteitä, joissa silava sulatettiin alkuperäisessä palakoossaan, pilkottiin pieniksi paloiksi tai jauhettiin. Silavanäytteitä kuumennettiin sen jälkeen kuumavesihauteessa sulamiseen saakka, minkä jälkeen sulanut rasva siirrettiin uuttopulloon. Pulloon lisättiin 5 millilitraa etanolia tai metanolia ja seosta uutettiin sitten kymmenen minuutin ajan. Lopuksi uutettu näyte eroteltiin silavasta ja kiintoaineesta suodatinpaperin läpi suodattamalla tai sentrifugin avulla. Eri tavoilla käsiteltyjen näytteiden eroja vertaamalla arvioitaisiin optimaalisin muoto silavan esikäsittelylle.

### 3.2 Laboratoriotyön toteutus

Opinnäytetyön käytännön osuus toteutettiin huhti-toukokuussa 2024 SeAMKin analyysilaboratoriossa. Tutkittavat silavanäytteet haettiin pakasteesta laboratorion jääkaappiin

sulamaan päivää ennen työn aloitusta (kuva 1). Uuttotyö vaati paljon valmistelua ja aikaa tutkittavien rinnakkaisnäytteiden kanssa, joten yksittäisenä laboriopäivänä tutkittiin pelkästään yhtä silavalaatua ja liuotinta kerrallaan.



Kuva 1. Yksi tutkittavista silavanäytteistä (Tauriainen, 2024, CC-BY-NC-ND).

Ensimmäisenä laboriopäivänä ryhdyttiin testaamaan alkuperäistä työsuunnitelmaa käytännön tasolla. Työssä käytettiin etanolilla uutettavaa kontrollisilavaa. Silavanäytteet pilkottiin noin viiden gramman paloiksi, jotka jaettiin kolmeen näytesarjaan sulatusta edeltävän esikäsittelytavan mukaan mahdollisimman suureksi jätettyinä paloina, veitsellä pieniksi paloiksi pilkottuna tai jauhettuna. Valmiit näytteet siirrettiin dekanterilaseihin odottamaan sulatusta. Alkuperäisessä suunnitelmassa jauhettavat silavanäytteet oli tarkoitus jauhaa käsin morttelissa, mutta tämä osoittautui välittömästi tehottomaksi menetelmäksi. Jauhettavat näytteet olivat tähän aivan liian sitkeitä ja luiskahtelivat morttelissa jauhautumatta lainkaan.

Pilkkomisen jälkeen silavanäytteitä ryhdyttiin sulattamaan. Ensimmäistä näytettä kokeiltiin sulattaa mikroaaltouunissa, mutta dekanterilasin muoto johti liian suureen roiskumisriskiin kuumennuksen aikana. Mikroaaltouni hylättiin ja näytteet päätettiin sulattaa kuumavesihauteessa keittolevyllä. Sulatus toteutettiin sarjoittain, eli samalla tavalla pilkotut näytteet sulatettiin kattilassa yhtä aikaa (kuva 2). Tästä seurasi suuri määrä meteliä ja työtä, kun

dekanterilasit tärisivät ja kolisivat toisiaan vasten kiehuessa vedessä. Hauteen lämpötila osoittautui vaikeaksi säätää: korkeassa lämpötilassa veden kiehuessa dekanterilasit kolisivat huolestuttavan paljon, mutta matalammissa lämpötiloissa silavanäytteet eivät sulaneet kunnolla.



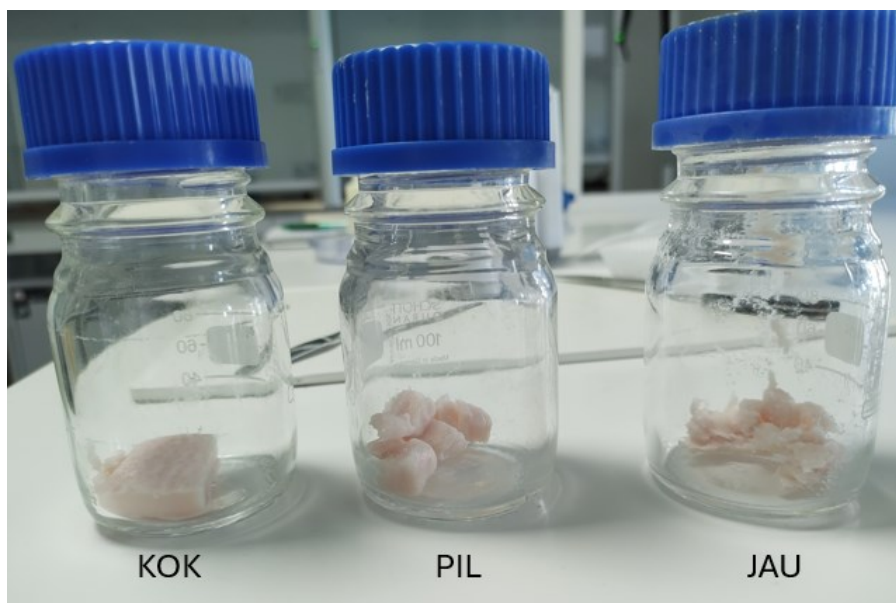
Kuva 2. Silavanäytteiden sulatus vesihautteessa (Tauriainen, 2024, CC-BY-NC-ND).

Näytteistä saatiin lopulta irrotettua pienehkön oloinen määrä rasvaa, joka siirrettiin näyte kerrallaan erotussuppiloon uutettavaksi. Suppiloon pipetoitiin 5 ml etanolia, minkä jälkeen silavanäytettä uutettiin vetokaapissa kymmenen minuutin ajan. Erotussuppilon käytössä todettiin nopeasti ongelmia silavan uutossa: näytteestä irronnut rasva ja kiintoaines jähmettyivät nopeasti suppilon sisälle ja tukkivat sen ohuen tyhjennysputken hyvin nopeasti. Lisäksi näytteen kaatamisessa suppilon sisälle ja sieltä ulos jatkotoimia varten aiheuttivat jonkin verran hävikkiä, mikä on haitaksi silavan pienen näyteköön vuoksi. Lisähävikkiä ja -työtä muodostui myös, jos jo erotussuppiloon siirrettäessä yritettiin estellä kiintoainespaloja pääsemästä suppilon sisälle. Tällöin uutettavaa näytettä saatiin pienempiä määriä, mutta toisaalta erotussuppiloon pääsi kertymään hieman vähemmän rasvaa per näyte.

Uuttamisen jälkeen irti saatu uutostoitu erottaa rasvasta ja kiintoaineesta. Alkuperäisen työsuunnitelman mukaisesti erottelua kokeiltiin sekä suodatinpaperin että sentrifugin avulla. Ensimmäinen näyte päätettiin suodattaa kaatamalla se suodatinpaperilla vuoratun suppilon läpi pieneen mittalasiin. Suodatinpaperimenetelmä osoittautui kuitenkin välittömästi toimimattomaksi, sillä suodatettava näyte lähinnä imeytyi suodatinpaperiin valumatta juurikaan sen läpi. Pienen näytteen ja suuren hävikin vuoksi suodatinpaperimenetelmä hylättiin saman tien ja loput näytteet eroteltiin sentrifugin avulla. Silavanäytteet ajettiin neljän näytteen sarjoissa 300 kierroksen minuuttinopeudella viiden minuutin ajan.

Toisena laboratoriopäivänä ryhdyttiin testaamaan uudenlaisia käsittelyvaihtoehtoja edellisellä kerralla huomattujen toimimattomien menetelmien tilalle. Koska vesihaude oli sulatusmenetelmänä heikkotehoinen, siirryttiin mikroaaltouunisulatukseen ja dekantterilasit vaihdettiin Duran-pulloihin. Ensimmäisen päivän tapaan näytesilavana käytettiin kontrollisilavaa, joka uutettiin etanolilla. Jauhettavat silavanäytteet käsiteltiin morttelin sijasta pienellä kutterilla hienoksi massaksi. Näytteet punnittiin ennen sulatusta analyysiväällä.

Työssä käytetyt Duran-pullot sekä erilaiset silavanäytteet on esitetty kuvassa 3. KOK-näyte on kokonaisena leikattu silavapala, PIL-näyte edustaa paloiksi pilkottuja näytteitä ja JAU-näyte on jauhettu kutterilla.



Kuva 3. Eri tavoin pilkotut silvanäytteet Duran-pulloissa ennen sulatusta (Tauriainen, 2024, CC-BY-NC-ND).

Mikroaaltouunia varten Duran-pullot suljettiin löysästi korkeilla niin, ettei pulloista roiskuisi rasvaa, mutta kuumennuksessa syntyvät kaasut pääsisivät pakenemaan niistä turvallisesti. Silvanäytteitä sulatettiin yksitellen noin kolmen minuutin pätkissä eri tehoilla, jotta toimivin sulatusteho ja -aika saataisiin selville. Täksi vakiintui lopulta 500 W teho noin kymmenen minuutin ajan. Sulatus katsottiin valmiiksi, kun näyte oli lakannut kuplimasta mikrosta poistettaessa. Näytteen esikäsittelyllä ei havaittu vaikutusta sulamisnopeuteen.

Sulatetut näytteet uutettiin suoraa Duran-pulloissa ilman erotussuppiloa. Pulloihin pipetoiitiin 5 ml etanolia ja niitä ravisteltiin voimakkaasti kymmenen minuutin ajan, pullon korkkia raotettiin uuton aikana muutamia kertoja muodostuneiden kaasujen poistamiseksi. Uuton aikana käytettiin suojakäsineitä, sillä pullot olivat melko kuumia mikrokuumennuksen jälkeen. Saatua liuos kaadettiin suppilon kautta sentrifugiputkiin ja jätettiin odottamaan sentrifugausta. Havaittiin, että putkessa levätessään näytteistä alkoi erottua kaksi selkeää faasia: pohjalle kasautuva rasva- ja sakkafaasi, joka sisälsi putkeen seoksen mukana päätyneet kiintoaineshiiput, sekä sen päälle nouseva liuosfaasi.

Kun uutettuja näytteitä saatiin valmiiksi neljä kappaletta, ne siirrettiin sentrifugiin, jossa niitä ajettiin 400 kierroksen minuuttinopeudella viiden minuutin ajan. Lopuksi näytteistä irronnut liuos mitattiin 10 ml mittalasilla niiden tarkemman tilavuuden selvittämiseksi. Koska sentrifugiin mahtui kerrallaan vain neljä näytettä, päätettiin pieniksi paloiksi pilkottu PIL2-näyte jättää sentrifuugaamatta ja antaa sen erottua itseksen erillisiksi faaseiksi. Tätä menettelyä jatkettiin jokaisen laboratoriopäivän aikana ja sentrifuugaamatonta näytettä vertailtiin muihin näytteisiin sentrifuugauksen vaikutuksen tutkimiseksi.

Kolmantena päivänä siirryttiin varsinaiseen täyskarjun silavaan. Uutossa käytettiin edelleen etanolia. Silavanäytteet pilkottiin ja punnittiin edellispäivän tapaan Duran-pulloihin. Yksittäisiä, eri tavalla esikäsiteltyjä näytteitä testailemalla täyskarjun silavan sulatustehoksi määrittyi 500 W kahdessa viiden minuutin kuumennuspätkässä. Kuumennusten välissä näyte poistettiin mikrosta hetkellisesti tarkistettavaksi ja sitä pyöriteltiin kevyesti pullon pohjalla. Kuumennusmenetelmän vakiinnuttua samalla tavalla esikäsitellyt näytteet sulatettiin kaikki yhtä aikaa ja jätettiin mikroon odottamaan edellisenäytteen uuttamisen ajaksi, sillä sammuneenakin mikro piti näytteiden rasvan sulana riittävän kauan tätä varten.

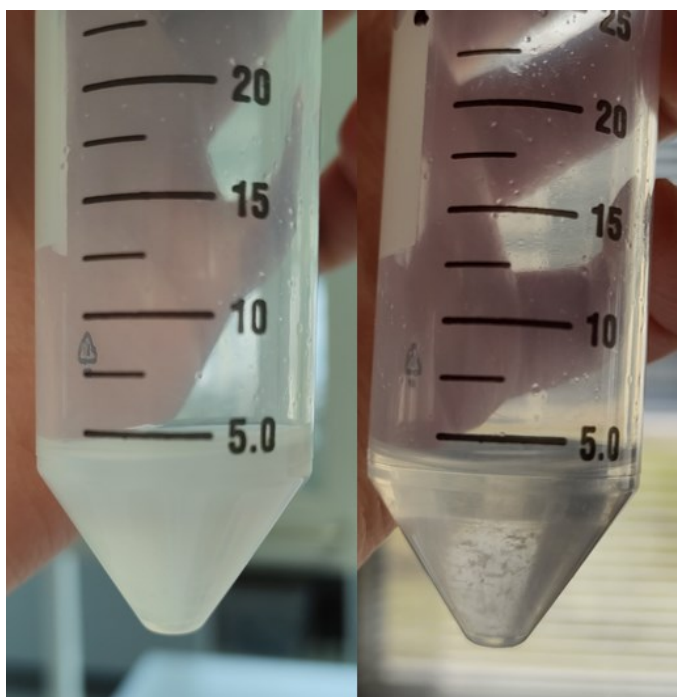
Sulatuksen jälkeen silavanäytteet käsiteltiin samalla tavalla kuin edelliskerran kontrollisilavakin, näytteisiin pipetoitiin 5 ml etanolia ja niitä uutettiin suojäkäsineet kädessä kymmenen minuutin ajan. Edelliskerrasta poiketen sentrifugiputkiin siirretyt näytteet punnittiin ennen sentrifugia, lisäksi putket punnittiin uudelleen sentrifuugauksen jälkeen, kun irronnut uutosto oli kaadettu mittalasiin. Koska tutkittavia näytteitä oli yhteensä yhdeksän kappaletta ja sentrifugiin mahtui kerrallaan neljä näytettä, päätettiin myös jättää yksi näytteistä sentrifugoimatta ja verrata sen laatua sentrifuugattuihin näytteisiin.

Kun sekä kontrolli- että täyskarjun silavaa oli uutettu etanolilla, siirryttiin metanolilla uuttamisen puolelle. Kävi kuitenkin ilmi, että molemmat tutkittavat silavanäytteet olivat pilaantuneet jääkaappisäilytyksestä huolimatta käyttökelvottomiksi noin viikon kuluttua niiden sulatuksesta. Pilaantuneet näytteet hävitettiin ja tilalle haettiin pakasteesta uudet silavanäytteet metanoliuuttoja varten.

Kun uudet silavanäytteet olivat sulaneet käyttövalmiiksi, aloitettiin metanolilla uuttamisko-keilut. Kokeet aloitettiin täyskarjulla, joka esikäsiteltiin samanlaisissa rinnakkaisnäytesarjoissa kuin etanolilla uutetut näytteet. Silavanäytteet sulatettiin 500 W teholla kahdessa viiden minuutin sarjassa kolme näytettä kerrallaan. Sulatuksen jälkeen näytepulloihin pipetoi-tiin 5 millilitraa metanolia ja näytteitä uutettiin 10 minuutin ajan. Uuton jälkeen näytteet siirrettiin sentrifugiputkiin, punnittiin ja ajettiin sentrifugissa 400 kierroksen minuuttinopeudella viiden minuutin ajan. Sama työ toteutettiin vielä verrokkisilavalla.

## 4 TULOKSET

Ensimmäisen laboriopäivän tulokset merkattiin ylös epätarkasti ja hieman hajanaisesti. Tutkittavat silavanäytteet punnittiin myös epätarkemmalla vaa'alla kuin myöhempien päivien näytteet. Aikaansaadut uutokset olivat väriltään vaaleita ja sameita, eikä niihin muodostunut myöhemminä päivinä nähtyä rasvafaasia. Näytteiden väri kirkastui sentrifugauksen jälkeen silminnähden, kuten kuvassa 4 on esitetty. Yksittäisten sentrifugiputkien pohjalla erottui kuitenkin yksittäisiä hippuja sakkaa. Uutosten pitoisuus arvioitiin ainoastaan karkeasti suoraan sentrifugiputkien mitta-asteikosta. Koska jauhettavien näytteiden esikäsittely epäonnistui, ei nähty tarpeelliseksi jatkaa niiden käsittelyä eikä täten niiden tuloksia ole kerätty ylös.



Kuva 4. Uutettu silavanäyte ennen (vas.) ja jälkeen (oik.) sentrifugauksen (Tauriainen,2024, CC-BY-NC-ND).

Silavanäytteistä saatujen uutosten määrät on kerätty taulukoihin 1–7. Näytteiden lyhenneillä viitataan niiden esikäsittelytapaan: KOK-sarja on sulatettu yhtenä kappaleena, PIL-

sarja pilkottiin pieniksi paloiksi ja JAU-sarja jauhettiin kutterilla. Ainoa poikkeus on ensimmäisen päivän JAU-sarja, jota yritettiin jauhaa käsin.

Ensimmäisen laboratoriopäivän tulokset on esitetty taulukossa 1. PIL1-näytteen vähäinen saanto johtuu siitä, että kyseinen näyte kokeiltiin suodattaa suodatinpaperin läpi. Muut näytteet ajettiin sentrifugilla.

Taulukko 1. Ensimmäisen etanolilla uutetun kontrollisilavan saanto.

Näyte	Silavanäytteen massa (g)	Uutoksen tilavuus (ml)
KOK1	5,0	5
KOK2	5,0	5
KOK3	5,0	5
PIL1	5,0	<1
PIL2	5,1	5
PIL3	5,0	5
JAU1	5,2	-
JAU2	5,1	-
JAU3	5,2	-

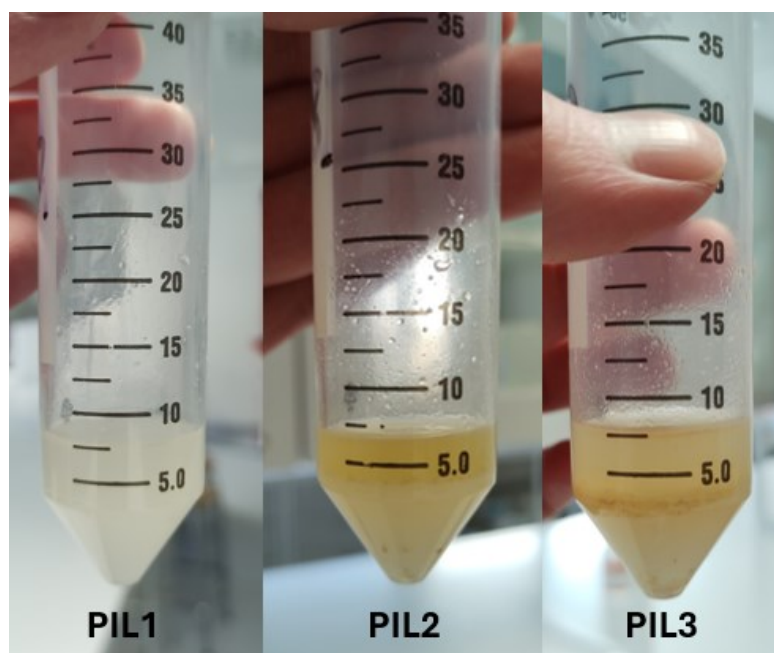
Myöhempinä laboratoriopäivinä näytteitä ruvettiin punnitsemaan useammin ja eri työvaiheiden välissä, jotta saataisiin mahdollisimman tarkasti selville uutosten pitoisuus ja massa sekä työn aikana syntynyt hävikki. Uutettujen liuosten tilavuus mitattiin 10 millilitran mittalasiilla.

Etanolilla uutetut kontrollisilavanäytteet olivat väriltään hieman kellertäviä ja sameahkoja, mutta sameus väheni sentrifugattaessa. Etanoliuutosten tulokset on kuvattu taulukossa 2.

Taulukko 2. Etanolilla uutetun kontrollisilavan tulokset.

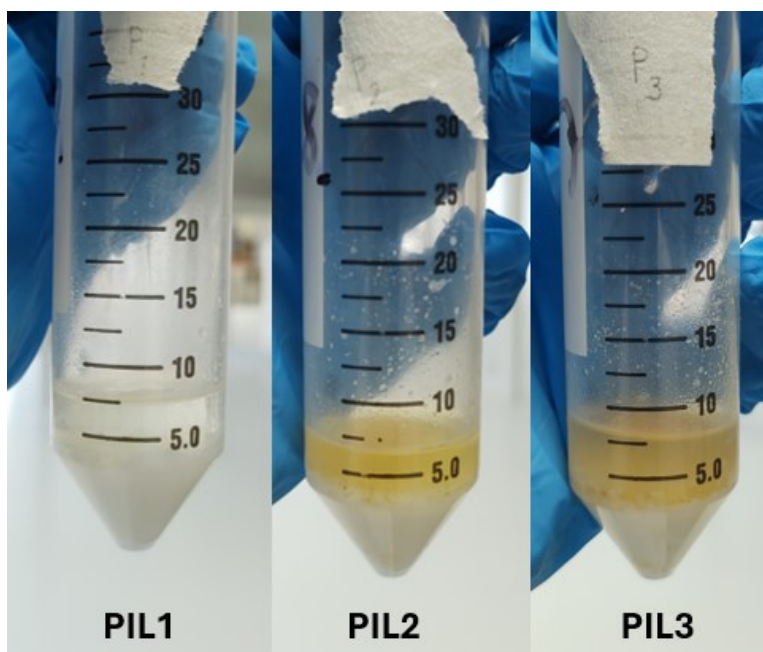
Näyte	Silavanäytteen massa (g)	Uutoksen tilavuus (ml)
KOK1	5,09	3,6
KOK2	5,11	3,4
KOK3	5,21	3,2
PIL1	5,22	2,8
PIL2	5,06	3
PIL3	5,15	1,4
JAU1	5,01	3
JAU2	5,10	2,9
JAU3	5,15	2,4

Täyskarjun silavanäytteiden ulkonäkö vaihteli voimakkaasti etanolilla uutamisen jälkeen. Suuri osa näytteistä oli väriltään vaaleita ja sameahkoja, mutta osaan näytteistä muodostui voimakkaampi keltainen sävy. Näytekohtainen vaihtelu näkyi erityisen hyvin PIL-sarjassa, jonka näytteet on kuvattu ennen sentrifugausta kuvassa 5.



Kuva 5. Etanolilla uutettu täyskarjun PIL-sarja ennen sentrifugausta (Tauriainen, 2024, CC-BY-NC-ND).

Sentrifugikäsittely kirkasti uutettuja näytteitä jonkin verran. Vaikutus näkyi erityisen hyvin väriltään vaaleammista näytteistä, kuten PIL1:ssä. PIL-sarja kokonaisuudessaan on esitetty sentrifuugauksen jälkeen kuvassa 6.



Kuva 6. Etanolilla uutettu täyskarjun PIL-sarja sentrifuugauksen jälkeen (Tauriainen,2024, CC-BY-NC-ND).

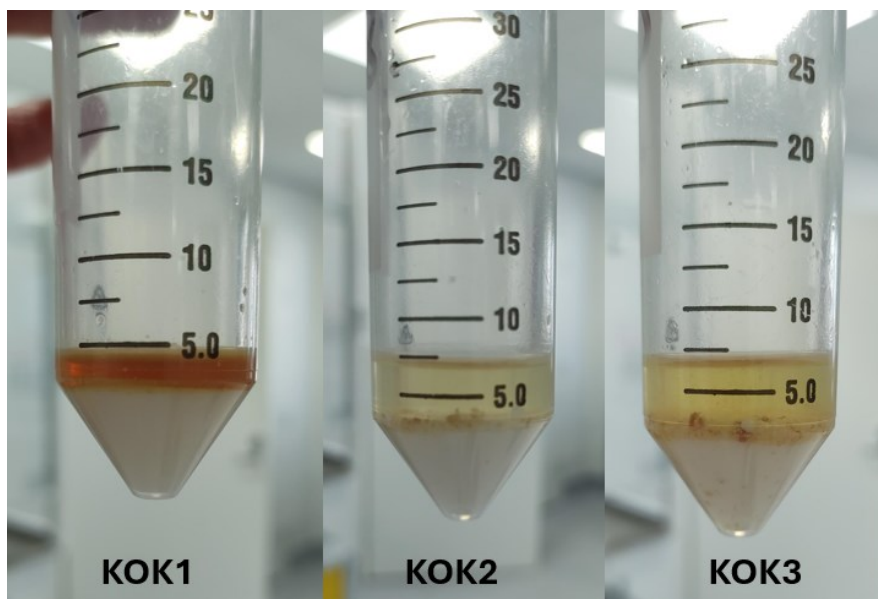
Yhdessäkään tutkitussa näytteessä ei kuumennuksen aikana havaittu karjunhajua.

Täyskarjun silavaa tutkittaessa näytteitä ryhdyttiin punnitsemaan useassa työn vaiheessa, jotta pystyttäisiin laskemaan saadun uutoksen massa pelkän tilavuuden lisäksi. Etanolilla uutettujen täyskarjunäytteiden tulokset on kuvattu taulukossa 3.

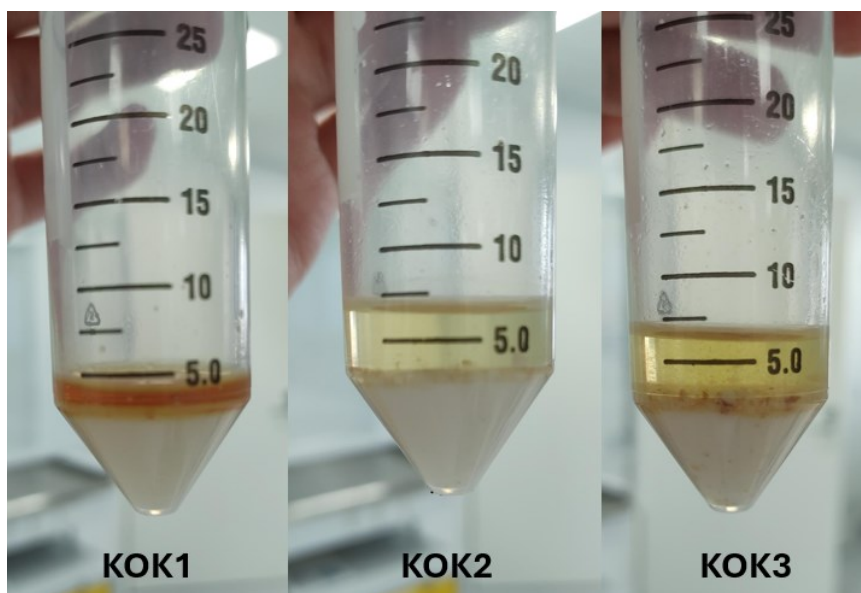
Taulukko 3. Etanolilla uutetun täyskarjun tulokset.

Näyte	Silavanäytteen massa (g)	Uutoksen tilavuus (ml)	Uutoksen massa (g)
KOK1	5,24	3,4	3,11
KOK2	5,12	2	1,81
KOK3	5,14	3,8	3,21
PIL1	5,12	3,4	2,94
PIL2	5,03	1,8	1,68
PIL3	5,23	2,4	2,36
JAU1	5,11	2,4	2,12
JAU2	5,03	2	1,78
JAU3	5,23	3	2,57

Metanolilla uutetut täyskarjunäytteet olivat keskimääräisesti väriltään kellertäviä, osa jopa tummankeltaisia. Tummanväristen näytteiden sisältämä sakka oli myös väriltään poikkeuksellisen tummaa. Päivän tuloksia edustaa hyvin KOK-sarja, jonka näytteet on esitetty kuvassa 7 välittömästi näytteiden uuton jälkeen. Sentrifuugaus vaikutti metanolinäytteisiin kirkkavasti samoin kuten etanolilla uutettuihinkin näytteisiin, kuten kuvassa 8 on esitetty.



Kuva 7. Metanolilla uutettu täyskarjun KOK-sarja ennen sentrifuugausta (Tauriainen, 2024, CC-BY-NC-ND).



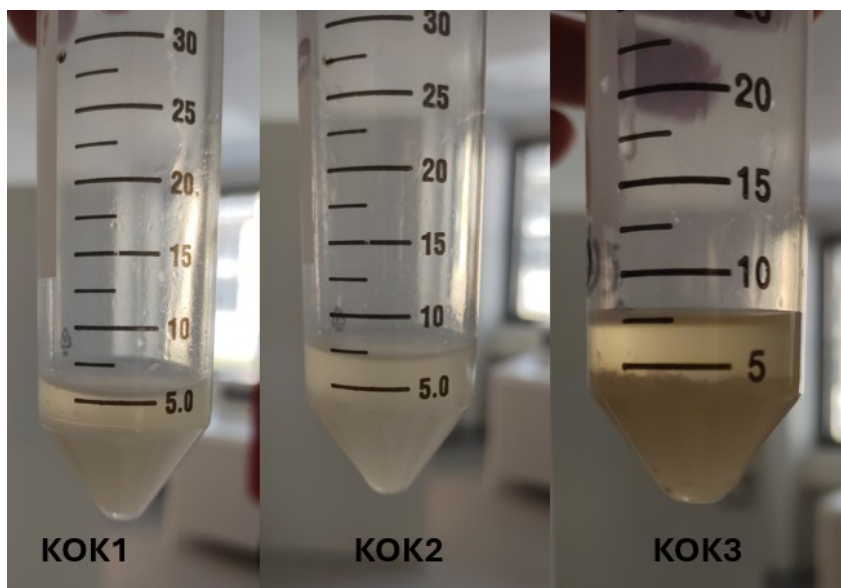
Kuva 8. Metanolilla uutettu täyskarjun KOK-sarja sentrifuugauksen jälkeen (Tauriainen, 2024, CC-BY-NC-ND).

Muutaman täyskarjunäytteen saanto oli poikkeuksellisen heikko. Yksittäisestä näytteestä ei lopulta irronnut käytännössä lainkaan uutosta. Metanolilla uutettujen täyskarjunäytteiden tulokset on kuvattu taulukossa 4.

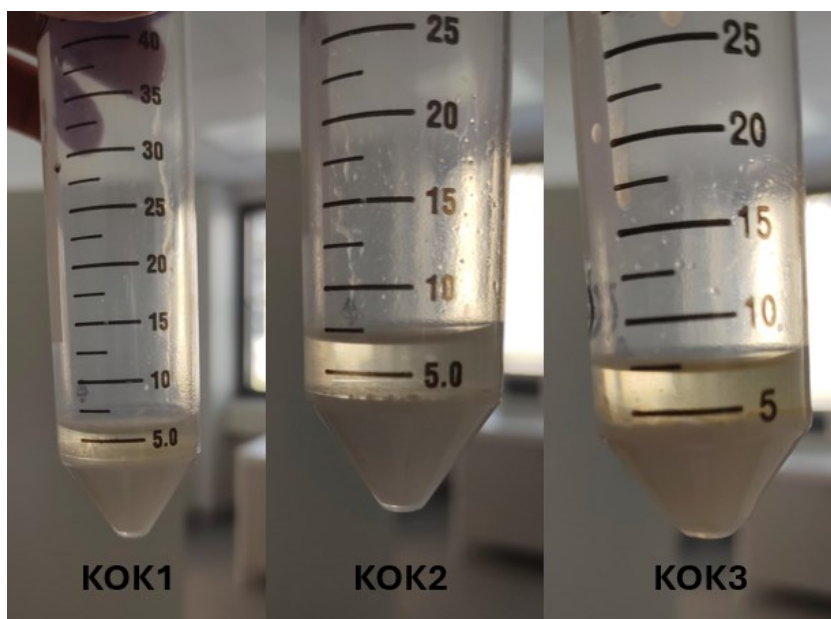
Taulukko 4. Metanolilla uutetun täyskarjun tulokset.

Näyte	Silavanäytteen massa (g)	Uutoksen tilavuus (ml)	Uutoksen massa (g)
KOK1	4,98	1	1,0
KOK2	5,15	3,4	2,91
KOK3	5,16	3,3	2,76
PIL1	5,17	3,2	2,65
PIL2	5,20	1	1,06
PIL3	5,16	3,4	2,85
JAU1	5,10	0	0,04
JAU2	5,18	3	2,54
JAU3	5,31	3,2	2,71

Kontrollisilavasta saatiin metanolilla uutettua melko kirkasta liuosta, jonka näytekohtainen heittäminen oli verrattain lievää. Metanolinäytteitä kuvastaa kuvassa 9 KOK-sarja ennen sentrifugausta. Etenkin metanolilla uutettuun täyskarjuun verrattuna näytteiden väri oli huomattavasti vaaleampi ja ne kirkastuivat sentrifugissa hyvin, kuten kuvassa 10 KOK-sarjasta näkyy. Metanolilla uutetun kontrollisilavan tulokset on kokonaisuudessaan kuvattu taulukossa 5.



Kuva 9. Metanolilla uutetun kontrollisilavan KOK-sarja ennen sentrifuugausta (Tauriainen, 2024, CC-BY-NC-ND).



Kuva 10. Metanolilla uutetun kontrollisilavan KOK-sarja sentrifuugauksen jälkeen (Tauriainen, 2024, CC-BY-NC-ND).

Taulukko 5. Metanolilla uutetun kontrollisilavan tulokset.

Näyte	Massa (g)	Uutoksen tilavuus (ml)	Uutoksen massa (g)
KOK1	5,08	2,4	2,10
KOK2	5,23	3,3	2,80
KOK3	5,14	3	2,59
PIL1	5,15	2,2	2,58
PIL2	5,09	1	1,06
PIL3	5,20	3,5	2,93
JAU1	5,07	0,1	0,31
JAU2	5,27	3,3	2,79
JAU3	5,18	2,9	2,51

Taulukoihin 6 ja 7 on kerätty silavalaatujen uuttsaannot käytetyillä liuottimilla. Taulukoihin on myös laskettu kummallakin liuottimella saadun uutoksen tilavuuden keskiarvo. Tulosten perusteella molempien silavalaatujen saanto on hieman suurempi etanolilla uutettuna.

Taulukko 6. Kontrollisilavan uuttosaanto eri liuotimilla.

Näyte	Etanolilla (ml)	Metanolilla (ml)
KOK1	3,6	2,4
KOK2	3,4	3,3
KOK3	3,2	3
PIL1	2,8	2,2
PIL2	3	1
PIL3	1,4	3,5
JAU1	3	0,1
JAU2	2,9	3,3
JAU3	2,4	2,9
Keskiarvo	<b>2,86</b>	<b>2,41</b>
Keskihajonta	<b>0,61</b>	<b>1,09</b>

Taulukko 7. Täyskarjun silavan uuttosaanto eri liuottimilla.

Näyte	Etanolilla (ml)	Metanolilla (ml)
KOK1	3,4	1
KO2	2	3,4
KOK3	3,8	3,3
PIL1	3,4	3,2
PIL2	1,8	1
PIL3	2,4	3,4
JAU1	2,4	0
JAU2	2	3
JAU3	3	3,2
Keskiarvo	<b>2,69</b>	<b>2,39</b>
Keskihajonta	<b>0,69</b>	<b>1,25</b>

## 5 JOHTOPÄÄTÖKSET

Silavanäytteiden ulkonäkö ja saanto vaihteli melko rajusti. Näytteiden väri vaihteli lähes kirkkaasta voimakkaan keltaiseen ja uutoksen saanto oli yksittäisissä näytteissä käytännössä nolla. Eroja oli niin silavalaatujen kuin yksittäisten rinnakkaisnäytteidenkin välillä.

Silavanäytteiden esikäsittelytavalla ei ollut vaikutusta näytteen sulamisnopeuteen, mutta uutoksen loppusaanto heikkeni jonkin verran niin pieneksi pilkokuilla kuin jauhetuilla näytteillä. Pieninä paloina silavan kiintoainesta oli vaikeampaa erotella uutoksesta, sillä Duran-pullosta sentrifugiputkeen uutosta siirrettäessä pyrittiin mahdollisuuksien mukaan välttämään kiintoaineen pääsyä putkeen. Pulloissa kiintoainepalojen ympärille kertyi myös uutosta, minkä vuoksi paloja jouduttiin jatkuvasti siirtelemään lasisauvan avulla, jotta mahdollisimman paljon uutosta saataisiin kerättyä sentrifugiputkiin. Kokonaisena sulatetuissa näytteissä kiintoainepala pysyi suurelta osin yhtenä kappaleena, eikä se haitannut uutoksen kaatamista sentrifugiputkeen yhtä pahasti.

Näytteiden käsittelytavan lisäksi erityisesti PIL-sarjoissa saantoon voi vaikuttaa sentrifugikäsittelyn näytekohtaiset erot. Koska käytetyssä sentrifugissa oli kerrallaan tilaa vain neljälle näytteelle ja silavanäytteitä oli pariton määrä, menettelytavaksi muodostui jättää jokaisena laboratoriopäivänä PIL2-näyte ajamatta sentrifugilla. Kyseisen näytteen annettiin levätä ja erottua itsekseen ja samalla verrata sen ominaisuuksia sentrifugoituihin näytteisiin. Tämän takia PIL2-näyte on huomioitava poikkeuksellisenä näytteenä, joka ei välttämättä vastaa täysin muita PIL-sarjan tuloksia.

Silavanäytteiden uuttoa saantoa vertaillen selviää, että etanolilla uutetuilla näytteillä oli metanolia suurempi saanto. Tässä tulee kuitenkin pitää mielessä se, että silavaa uutettiin etanolilla ennen metanolia, ja tämän vuoksi etanoliuuttoa varten sulatettuja näytteitä on keskimääräisesti käsitelty varovaisemmin kuin metanolinäytteitä. Koska ensimmäisten näytteiden sulattaminen oli vielä haparoivaa, jokaisesta eri esikäsittelysarjasta vähintään yhtä näytettä sulatettiin mikroaaltouunissa lyhyemmissä sarjoissa kuin myöhemmin vakiintunut viisi minuuttia. On siis mahdollista, että metanolinäytteiden sulatus on ollut lopulta

tarpeettoman voimakasta etanolinäytteisiin nähden, ja tämä liiallinen kuumennus on osaltaan heikentänyt uuttoaannoksia.

Mikroaaltouunissa tehdyn sulatuksen teholla ja kestolla lienee vaikutusta myös silavalaatujen välisiin eroihin. Kontrollisilavasta saadut uutokset olivat keskimäärin väriltään kirkkaampia kuin täyskarjun uutokset, minkä lisäksi niiden saanto oli täyskarjua suurempi. Näytteiden värimuutokset liittyivät silavan sisältämän kiintoaineen palamiseen tai ylikuumenemiseen mikroaaltouunikäsittelyn aikana. On todennäköistä, että kontrollisilava kesti kuumennusta täyskarjua paremmin eikä sen kiintoaines palanut yhtä herkästi, minkä takia kontrollisilavan uutoksen väri jäi kirkkaaksi. Esikäsitteilymenetelmän tutkiminen aloitettiin nimenomaan kontrollisilavalla, jolloin mikroaaltouunikuumennus vakiintui juuri sen kestokyvyn ympärille. Täyskarjun silavastakin saatiin joitakin selkeästi kirkkaampia uutoksia, mikäli silavanäytteitä sulatettiin varovasti alle viiden minuutin pätkissä. Koska opinnäytetyön pääasiallinen tutkimuskohde oli juuri täyskarjun silava, jälkikäteen pohtiessa oli virhe aloittaa työ kontrollisilavan käsittelyllä.

Silavalaatujen väliset erot kuumennuksen kestossa ja uuttoaannossa eivät lopulta ole suuri yllätys. Heinosen (2021) selvityksen mukaan kastroidun karjun rasva sisältää enemmän tyydyttyneitä rasvahappoja kuin täyskarjun rasva. Aryalin (2022) mukaan tyydyttyneillä rasvahapoilla on tyydyttymättömiä korkeampi sulamispiste, mikä selittää kontrollisilavan paremman kuumennuksen sietokyvyn.

## 6 POHDINTA

Kokonaisuudessaan opinnäytetyö oli hyvin opettava kokemus. Käytännön osuuden aikana vastaan tuli paljon odottamattomia mutkia, niin näytteiden käyttöön kuin itse työn toteutusmenetelmienkin kanssa. Silavan uuttaminen toi omia haasteitaan sen sisältämän rasvan toisinaan jäähtyessä ja tukkiessa välineitä, kuten suppiloita työn aikana.

Ensimmäisen laboratoripäivän tulokset jäivät hyvin erilaisiksi myöhempään työpäiviin verrattuna, minkä lisäksi ne kirjattiin jokseenkin puutteellisesti ylös. Silavanäytteet punnittiin ainoastaan aivan työn alussa, eikä valmiiden uutosten määrää mitattu kovin tarkkoilla välineillä. Päivän tulokset epäluotettavia myös siksi, ettei niitä mitattu mittalasilla. Täten niitä ei voida varmuudella verrata muiden päivien näytteisiin ja on mahdollista, että niiden saanto olisi todellisuudessa ollut huomattavasti vähäisempi kuin sentrifugiputken oma mitta-asteikko antoi ymmärtää. Toisaalta ensimmäinen päivä oli nimenomaan testikierros, jolla selvitetiin alustavia toimintaperiaatteita työskentelylle. Päivän kokeellisuus opetti työn toiminnasta ja toteutuksesta paljon, ja tätä hyödynnettiin onnistuneesti myöhempien laboratoripäivien kohdalla.

Jälkikäteen pohdittuna oli huono päätös aloittaa silavatutkimukset nimenomaan kontrollisilavalla. Koska työn rutiinit erityisesti silavan sulatuksen suhteen muodostuivat juuri kontrollisilavan toiminnan ympärille, varsinaisen täyskarjun silavasta saadut tulokset saattoivat jäädä heikommiksi ja epäluotettavammiksi kuin olisi ollut suotavaa. Tulosten pohjalta täyskarjun silava tulee jatkossa sulattaa varovaisemmin ja lyhyemmissä kuumennuspätkissä, jotta näytteen tarpeeton tummuminen voitaisiin minimoida.

Vaikka laboratoriotyön tulokset viittaavat etanolin olevan hieman metanolia parempi liuotin uuttotyössä, tuloksia ei voida pitää ehdottoman varmoina ja luotettavina. Etanolilla käsitellyjä näytteitä sulatettiin aavistuksen varovaisemmin kuin metanolinäytteitä, joiden kohdalla sulattamiseen oli muodostunut jo hieman voimakkaampi kuumennusrutiini. Lisäksi näytekohtainen saannin heittäminen voi johtua myös itse näytepaloista, sillä eläinperäiset näytteet ovat aina laadultaan hieman epätasaisia. Jos tutkittava näytepala on otettu sellaisesta kohdasta silavaa, jossa sattuu olemaan enemmän kiintoainesta ja vähemmän rasvaa, jää

todennäköisesti rasvasta irti uutettavan liuoksenkin määrä vähäisemmäksi. Vaikka näytepalat näyttivät silmämääräisesti keskenään samalta, on tällainen epätasaisuus otettava tulosten tulkinnessa huomioon.

Vielä tällaisenaan silavan esikäsittelymenetelmä ei ole välttämättä käyttövalmis. Koska työn tavoitteena oli nimenomaan esikäsittelymenetelmän kehittäminen muttei sen tulosten tutkiminen, ei ole lainkaan varmaa mitä kaikkea saatavista uutoksista voitaisiin lopulta määrittää. Olisi hyvästä toistaa työ varovaisemmilla sulatustehoilla ja selvittää, vaikuttaako uutoksen väri mahdollisten jatkotutkimusten tuloksiin. Lisäksi tutkittavien silavanäytteiden kokoa olisi hyvä kasvattaa, sillä viiden gramman näytteestä uutetun liuoksen pitoisuus on vielä turhan pieni useimmille analyyseille. Suuremmalla näytekoolla on kuitenkin tarkkailtava silavanäytteiden palakokoa, sillä opinnäytetyössä käytettyjen näytteiden sulamiskäyttäytyminen ei välttämättä vastaa suurempien näytteiden toimintaa. Koska sekä työsuunnitelmassa että työn pohjana käytetyssä patentissa silava-liuotinsuhde oli 1:1, tutkittavan näytteen kokoa lienee helppo säätää jatkotutkimuksissakin.

Kenties suurin haaste opinnäytetyön tulosten suhteen on niiden todentamattomuus. Koska työn tavoitteena oli nimenomaan esikäsittelymenetelmän kehittäminen, menetelmällä aikaansaatuja uutoksia ei testattu jatkomenetelmillä eikä täten ole varmaa, liukeniko silavanäytteistä ylipäättäen minkäänlaisia yhdisteitä liuotinaiseisiin. Täten työ jättää mahdollisuuden jatkotöille sekä esikäsittelyn toimivuuden eri jatkokäsittelyillä todentamisen että itse esikäsittelyn parantelun muodoissa.

Mahdollisia jatkotutkimuksia varten tulee myös pitää mielessä, että opinnäytetyössä käytettyjä silavanäytteitä oli säilytetty pakastimessa useita kuukausia ennen työn toteutusta. Mahdollisen uusintatyön tulokset täten vaihdella opinnäytetyön tuloksista, mikäli tutkittava silava on tuoreempaa tai säilytetty eri tavoin kuin alkuperäiset näytteet. Jatkotutkimukset myös tulee tehdä melko pian silavan sulatuksen tai tuoreena vastaanottamisen jälkeen sen lyhyen käyttöiän vuoksi. Opinnäytetyön pohjalta esimerkiksi pakasteesta sulatella silavalla on noin viikon käyttöikä, ennen kuin se alkaa pilaantua ja muuttuu käyttökelvottomaksi.

## LÄHTEET

Andresen, Ø. (7.8.2006). *Boar taint related compounds: Androstenone/skatole/other substances*. Acta Veterinaria Scandinavica.

<https://actavetscand.biomedcentral.com/articles/10.1186/1751-0147-48-S1-S5>

Aryal, S. (4.1.2022). *Saturated vs unsaturated fatty acids- definition, 20 differences, examples*. Microbe Notes. <https://microbenotes.com/saturated-vs-unsaturated-fatty-acids/>

Bockisch, M. (1998). *Fats and oils handbook*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-9818936-0-0.50014-7>

Deslandes, B., Gariépy, C. & Houde, A. (2001). *Review of microbiological and biochemical effects of skatole on animal production*. Elsevier Science B.V.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0301622601001890>

Doran, E., Whittington, F., Wood, J. & McGivan, J. (2002). *Cytochrome P450IIE1 (CYP2E1) is induced by skatole and this induction is blocked by androstenone in isolated pig hepatocytes*. Elsevier Science B.V.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0009279702000157>

Eläinsuojeluasetus. 396/1996.

<https://www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/kumotut/1996/19960396#L6>

Hankkija. (i.a.). *Karjunhajuun voidaan vaikuttaa ruokinnalla*.

<https://www.hankkija.fi/rehut/sikojen-ruokintaohjeet/ia-karjunhajuun-voidaan-vaikuttaa-ruokinnalla-2036704/>

Hanna instruments. (i.a.). *Food testing: using automated titration to determine salt and acidity*. <https://www.hannacan.com/media/wysiwyg/resources/ebooks/food-testing-using-automated-titration-to-determine-salt-and-acidity--v2--hanna-instruments.pdf>

Heinonen, M. (23.12.2021.) *Kastraatio selvitys 2021*. Maa- ja metsätalousministeriö.

[https://mmm.fi/documents/1410837/1858027/Selvitys\\_Sikojen\\_kastraatio\\_2021.pdf/fadec6f1-c4a2-586b-1449-8fb578c6247b/Selvitys\\_Sikojen\\_kastraatio\\_2021.pdf?t=1643886578613](https://mmm.fi/documents/1410837/1858027/Selvitys_Sikojen_kastraatio_2021.pdf/fadec6f1-c4a2-586b-1449-8fb578c6247b/Selvitys_Sikojen_kastraatio_2021.pdf?t=1643886578613)

Heiskanen, N. (9.3.2016). *Spektrofotometrin historiaa, toiminta ja sovelluksia– esimerkkinä klorofyllin määrittäminen*. Helsingin yliopisto.

[https://kemia.ovh/ont/Heiskanen\\_N\\_2016\\_kandidaatintutkielma.pdf](https://kemia.ovh/ont/Heiskanen_N_2016_kandidaatintutkielma.pdf)

- Jaarinen, S., Niiranen, J. (2008). *Laboratorion analyysitekniikka*. (5.–6. p.) Edita.
- Kiviaho, H. (2013). Immunokastration vaikutus sikojen käyttäytymiseen ja hyvinvointiin. Helsingin yliopisto. <https://helda.helsinki.fi/items/96e0b071-f7d9-460a-b5b0-0f26f6e11511/full>
- Laki eläinten hyvinvoinnista. 693/2023. <https://finlex.fi/fi/laki/alkup/2023/20230693>
- Measurlabs. (i.a.). Spektrofotometria. <https://measurlabs.com/fi/menetelmat/spektrofotometria/>
- Mäkelä, M. (2024). *Näkyvän valon absorboituminen veteen. tutkimuspohjainen oppimateriaali lukioon*. Avointen oppimateriaalien kirjasto. <https://aoe.fi/#/materiaali/3784>
- Nonboe, U. (1991). *Method for determining indole compounds associated with boar taint in pork as well as a sample container to be used in the method*. (US5344780A). <https://patents.google.com/patent/US5344780>
- Opetushallitus. (i.a.-a). *Laboratorioanalyysit: 2. Erotusmenetelmät*. [http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/analyysimenetelmat\\_2-1\\_yleista\\_erotusmenetelmista.html](http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/analyysimenetelmat_2-1_yleista_erotusmenetelmista.html)
- Opetushallitus. (i.a.-b). *Laboratorioanalyysit: 4. Mitta-analyysi eli volymetria*. [http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/analyysimenetelmat\\_4\\_mitta-analyysi\\_eli\\_volymetria.html](http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/analyysimenetelmat_4_mitta-analyysi_eli_volymetria.html)
- Orgaanisen kemian verkosto. (2005). *Uutto*. <http://virtuaali.tkk.fi/fi/orgaaninenkemialabraopas/menetelmat/erottelu/uutto/uutto.htm>
- PubChem. (i.a.-a). *Compound summary: skatole*. National Library of Medicine. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6736>
- PubChem. (i.a.-b). *Compound summary: 5alpha-androst-16-en-3-one*. National Library of Medicine. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6852393>
- Solunetti. (2006a). *Spektrofotometri*. <https://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/spektrofotometri/>
- Solunetti. (2006b). *Spektrofotometria*. <https://solunetti.fi/fi/solubiologia/spektrofotometria/>