

Joonas Vastamäki

Smart-analysaattorin validointi maito- ja kaurapohjaisille tuotteille

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Laboratorioanalyttikko (AMK)

Laboratorioanalytiikka

17.11.2018

Tekijä Otsikko	Joonas Vastamäki Smart-analysaattorin validointi maito- ja kaurapohjaisille tuotteille
Sivumäärä Aika	24 sivua + 3 liitettä 19.10.2018
Tutkinto	Laboratorioanalytiikko (AMK)
Tutkinto-ohjelma	Laboratorioala
Ohjaajat	Vastaava tutkija Outi Kerojoki Tutkimusassistentti Kati Kivelä Tutkimusassistentti Annika Savolainen Lehtori Mia Ruismäki
<p>Opinnäytetyö suoritettiin Valio Oy:n tutkimusanalytiikkaryhmässä, osana Kemian analyysipalvelun toimintaa.</p> <p>Opinnäytetyön tavoitteena oli validoida vuonna 2014 epäkuntoon menneen Smart-pika-analysaattorin toiminta maitopohjaisille tuotteille, sekä kehittää ja validoida uusi menetelmä kaurapohjaisille tuotteille. Menetelmien tarkoituksena oli osittain korvata paljon aikaa ja kemikaaleja vievät referenssimenetelmät, jotta kuiva-aine ja rasvamääritykset saataisiin tehtyä nopeammin ja turvallisemmin. Analyysijä varten optimoitiin Smart-pika-analysaattorin menetelmät niin, että niiden antama tulostaso vastasi mahdollisimman hyvin referenssimenetelmillä saatuja tuloksia. Validoinnissa pyrittiin saamaan toimivat menetelmät maitojen, jogurttien, rahkojen, vanukkaiden sekä kaurapohjaisten tuotteiden analysoimiseksi.</p> <p>Validoinnin pohjana käytettiin alkuperäistä, vuonna 2010 Valiolla tehtyä validointia. Validointi suoritettiin Valion oman validointiohjeen, sekä Eviran Kemiallisten analyysimenetelmien validointiohjeen (1997) mukaan. Eviran ohje määrittelee validoinnissa huomioitavat kohdat sekä kertoo, mitä ja miten pitäisi tehdä validoitavien ominaisuuksien määrittämiseksi.</p> <p>Kaikki projektissa validoitavaksi halutut menetelmät eivät täyttäneet validoinnille asetettuja vaatimuksia. Validoinnissa voitiin hyväksyä menetelmät maidoille, vanukkaille, kaurapohjaisille tuotteille, sekä alle 1 % rasvaa sisältäville jogurteille. Keskenäisiksi jäivät menetelmät rahkalle, sekä yli 1 % rasvaa sisältäville jogurteille. Validoinnissa hyväksytyt menetelmät voitiin ottaa käyttöön rutiinanalytiikkaa varten sellaisinaan, ja keskenäisistä validoinneista saatiin paljon hyvää tietoa menetelmän kehityksen jatkamiseksi. Hyväksytyjen menetelmien mittaustulosalue kuiva-aineille oli 3 % tai enemmän ja rasvoille 0,05–5 %. Keskenäisillä menetelmillä voi myös tehdä analytiikkaa, mutta mittaustarkkuus ei ole yhtä hyvä, kuin validoinnissa hyväksytyillä menetelmillä. Hyväksytyillä menetelmillä absoluuttinen mittaustepävarmuus 95 % luottamustasolla vaihteli välillä 0,1–0,5 %.</p>	
Avainsanat	Smart, validointi, rasva, kuiva-aine

Author Title	Joonas Vastamäki Smart Trac II Rapid Moisture and Fat Analyzer – Method Development and Validation for Dairy and Plant-based Products
Number of Pages Date	24 pages + 3 appendices 19 November 2018
Degree	Bachelor of Laboratory Services
Degree Programme	Laboratory Sciences
Instructors	Outi Kerojoki, Senior Research Scientist Kati Kivelä, Research Assistant Annika Savolainen, Research Assistant Mia Ruismäki, Senior Lecturer
<p>This study was done for Valio Oy's research analytics department as a part of Chemistry analysis service.</p> <p>The purpose of the study was to re-validate CEM's Smart- analyzer that hadn't been used since 2014. The primary interest was to make sure that previously used methods for fat and moisture analysis for milk, yoghurt and quarks were functioning properly and to develop new methods for puddings and plant-based products. These methods were to replace time and chemical consuming reference methods, so that fat and moisture analysis could be done faster and safer. Smart- analyzer methods were optimized so that their results would be comparable to that of the reference methods.</p> <p>Validation for the methods was based on previous validation done at Valio in 2010. Validation was carried out according to Valio's own internal instructions and Evira's <i>Kemiallisten analyysimenetelmien validointiohje</i> (1997). Both instructions define main points and give recommendations on determining parameters used in validation of the method.</p> <p>All the methods in this project did not meet the defined parameters to be validated. Methods for milks, puddings, plant-based products and yoghurts containing less than 1 % fat passed all the requirements to be used in day-to-day analysis. Methods for quarks and yoghurts containing more than 1 % fat did not pass all the requirements and did not pass the validation. Development of these methods gave, however, good data for further optimization and validation for these matrices. For the methods that passed the validation, measuring range for moisture was under 97 % and for fats 0.05 % - 5 % and absolute measurement uncertainty with 95 % confidence interval was between 0.1 % - 0.5 % depending on matrix.</p>	
Keywords	Smart, validation, fat, moisture

Sisällys

Lyhenteet

1	Johdanto	1
2	Elintarvikkeiden peruskoostumusmäärittäminen	1
2.1	Kuiva-aine	2
2.2	Rasva	2
3	Referenssimenetelmät rasvanmäärittämiseen	3
3.1	Rasvapitoisuuden määrittäminen Röse-Gottlieb-menetelmällä	3
3.2	Rasvapitoisuuden määrittäminen Schmid-Bodzenski-Ratzlaff-menetelmällä	4
4	Referenssimenetelmät kuiva-ainemäärittämiseen	4
4.1	Kuiva-ainepitoisuuden määrittäminen pikamenetelmällä	4
4.2	Kuiva-ainepitoisuuden määrittäminen hiekkamenetelmällä	5
5	FTIR	5
6	Smart pika-analysaattori kuiva-aine- ja rasvapitoisuuden määrittämiseen	6
6.1	Kuiva-ainepitoisuuden määrittäminen Smart 5 Turbolla	7
6.2	Rasvapitoisuuden määrittäminen Smart Trac II -analysaattorilla	8
6.2.1	Ydinmagneettinen resonanssi	8
6.2.2	Matalan resoluution ydinmagneettinen resonanssi	10
6.3	Smart-menetelmän luominen	11
7	Validointi	11
7.1	Toteamis- ja määritysrajat	11
7.2	Kalibrointisuora	12
7.3	Toistettavuus	12
7.4	Oikeellisuus	12
7.5	Mittausepävarmuus	13
8	Reagenssit ja laitteet	14
8.1	Reagenssit	14
8.2	Laitteet, välineet ja ohjelmistot	14
9	Työn toteutus	15

9.1	Laitteen käyttöönotto	15
9.2	Vanhojen menetelmien tarkastus	15
9.3	Rasvamäärityksen kalibroinnit	16
9.4	Menetelmän kehitys	17
9.5	Validointidatan kerääminen	19
10	Tulokset	19
10.1	Toteamis- ja määritysrajat	19
10.2	Kalibrointisuorat	19
10.3	Toistettavuus	20
10.4	Oikeellisuus	21
10.5	Mittausepävarmuus	23
11	Yhteenveto ja johtopäätökset	23
	Lähteet	25
	Liitteet	
	Liite 1. Toistettavuuden laskeminen	
	Liite 2. Kahden otoksen t-testi referenssimenetelmien ja Smartin tuloksista	
	Liite 3. Mittausepävarmuuden laskeminen	

Lyhenteet

FTIR	<i>Fourier-Transform Infrared Spectroscopy</i> , infrapuna-tekniikka, jossa näytteen infrapuna absorptio- tai transmittanssipektri mitataan
IDF	<i>International Dairy Federation</i> , kansainvälinen maitoteollisuuden järjestö
ISO	<i>International Organization of Standardization</i> , kansainvälinen standardisointijärjestö
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i> , fysikaalinen ilmiö, jossa magneettikentässä oleva atomiydin absorboi energiaa.
MEV	Mittausepävarmuus.
2MEV	Kaksinkertainen mittausepävarmuus.
Smart	Smart Turbo 5:n kuiva-aineanalysaattorin ja Smart Trac II -rasva-analysaattorin yhdistelmä.

1 Johdanto

Opinnäytetyö tehtiin Valio Oyj:n kemian analyysipalvelun laboratoriossa. Kemian analyysipalvelu tekee mm. peruskoostumusmittauksia, joissa määritetään elintarvikkeiden proteiini-, rasva- ja kuiva-ainepitoisuudet. Kuiva-aine- ja rasvamääritykset on tehty gravimetrisilla menetelmillä *International Organization of Standardizationin* (ISO) ja *International Dairy Federationin* (IDF) standardeihin perustuen. Molemmat menetelmät ovat aika vieviä. Tätä varten Valiolle hankittiin Smart-analysaattori, joka pystyy mittaamaan näytteen kuiva-aine- ja rasvapitoisuuden vain muutamassa minuutissa. Smart validoitiin Valion käyttöön vuonna 2010, mutta se meni epäkuntoon vuonna 2014. Laite oli käyttämättömänä vuodesta 2014 asti, minkä takia haluttiin suorittaa uudelleenvalidointi. Opinnäytetyön tarkoituksena oli validoida menetelmät eri näytematriiseille, jotta niiden kuiva-aine- ja rasvapitoisuudet saataisiin määritettyä luotettavasti ja nopeasti. Smart- menetelmissä ei myöskään käytetä ollenkaan kemikaaleja, joten se parantaa työturvallisuutta referenssimenetelmiin verrattuna. Smartilla saatuja tuloksia verrattiin referenssimenetelmien tuloksiin.

Rasvamäärityksissä referenssimenetelminä käytettiin Röse-Gottlieb- ja Schmid-Bodzynski-Ratzlaff (SBR) -menetelmiä. Kuiva-aineissa referenssimenetelminä käytettiin pika- ja hiekkamenetelmiä. Lisäksi työssä perehdyttiin myös kuiva-aine- ja rasvapitoisuuksien määrittämiseen FTIR-menetelmällä sekä verrattiin FTIR-menetelmää Smart Traciin. Tutkittavina matriiseina olivat maito, jogurtti, kaurapohjaiset tuotteet, rahkat sekä vanukkaat. Jokainen matriisi vaati oman erillisen menetelmänsä. Lisäksi vähärasvaisille (alle 1 prosenttia rasvaa) näytteille kehitettiin omat menetelmät matriisikohtaisesti.

2 Elintarvikkeiden peruskoostumusmääritys

Elintarvikkeiden peruskoostumuksen määrittäminen auttaa selvittämään sekä elintarvikkeen laatua että sen ravitsemuksellista koostumusta. Valiolla peruskoostumusmäärityksiin lukeutuvat vesi, kuiva-aine, rasva, proteiini ja tuhka. Lisäksi elintarvikkeista voidaan tutkia proteiinikoostumusta, laktoosia, vitamiineja sekä kivennäisaineita.

Elintarvikkeiden peruskoostumus auttaa sekä tuotekehittäjiä uusien tuotteiden kehittämisessä, sekä vanhojen tuotteiden prosessien optimoinnissa. Lisäksi peruskoostumusmääritysten avulla voidaan määrittää ravintoarvotiedot pakkausmerkintöihin.

Smart- analysaattori pystyy mittaamaan sekä näytteen kuiva-aine- että rasvapitoisuuden nopeasti ja luotettavasti. Tämä nopeuttaisi peruskoostumusmääritysten tekemistä varsinkin tuotekehityksen näytteillä, joille riittää usein arvio kuiva-aine- tai rasvapitoisuudesta. Tällöin akkreditoitu menetelmä ei ole pakollinen.

2.1 Kuiva-aine

Suurin osa elintarvikkeesta on yleensä vettä [1]. Sitä osaa elintarvikkeesta, joka ei ole vettä, kutsutaan kuiva-aineeksi. Elintarvikkeissa tämä sisältää pääasiassa rasvan, proteiinit ja hiilihydraatit, mutta myös vitamiinit, kivennäisaineet jne. Elintarvikkeiden ravintosisältö voidaan ilmoittaa tuorepainoa tai kuiva-ainetta kohti laskettuna [1]. Kasviksissa kuiva-ainetta on yleensä alle 10 %, kun taas esimerkiksi lihoissa kuiva-ainepitoisuus vaihtelee välillä 35–50 % [1]. Vesipitoisuus vaikuttaa mm. elintarvikkeen säilyvyyteen, laatuun ja sen valmistusprosesseihin [2, s. 44].

Kuiva-ainepitoisuus on pakollinen osa elintarvikkeen ravintosisältöä laskettaessa, sillä sitä käytetään hiilihydraattipitoisuuden laskemiseksi. Elintarvikkeen energiasisällön laskemiseksi näytteestä määritetään kuiva-ainepitoisuuden lisäksi tuhka-, raakaproteiini ja raakaraspitoisuus prosentteina. Kuiva-ainepitoisuudesta vähennetään tuhka- proteiini- ja rasvapitoisuudet, jolloin jäljelle jäävä pitoisuus kuvaa hiilihydraatin määrää näytteessä prosentteina. Itse energiasisällön laskemiseksi käytetään eri ravintoaineille ominaisia energiakertoimia, jotka perustuvat elintarvikelakiin. [3.]

2.2 Rasva

Elintarvikkeen peruskoostumusta varten määritetään näytteen raakaraspitoisuus, jolla tarkoitetaan materiaalin sisältämää kokonaislipidimäärää. Lipideihin lukeutuvat ns. tavalisten rasvojen eli triglyseridien lisäksi mono- ja diglyseridit, vapaat rasvahapot, sterolit, steroliesterit, fosfolipidit, karotenoidit ja rasvaliukoiset vitamiinit. Kaikkia näitä uuttuu ras-

vapitoisuuden määrittämiseen käytetyissä menetelmissä, jonka takia puhutaan raakas-
rasvapitoisuudesta. Jotkin näytteet voidaan uuttaa suoraan ilman esikäsitteilyä, kun taas
joistain näytteistä, esim. juustoista, kaikkia lipidejä ei saataisi uutettua ilman esikäsitte-
lyä. [4.]

3 Referenssimenetelmät rasvanmäärittäykseen

3.1 Rasvapitoisuuden määrittäminen Röse-Gottlieb-menetelmällä

Röse-Gottlieb-menetelmä perustuu standardiin IDF 1D:1996. Menetelmä soveltuu mm.
nestemäisten maitovalmisteiden, maitopohjaisten jauheiden ja ravintorasvojen raakas-
vapitoisuuden määrittämiseen. Menetelmässä näytteet punnitaan Mojonnier-putkiin uut-
tamista varten. Näytteeseen lisätään ammoniakkia ja etanolia, jonka jälkeen näytteestä
uutetaan rasva dietyylieetterillä ja petroolieetterillä. Uttaminen toistetaan kolmeen ker-
taan, jotta näytteestä saadaan uutettua kaikki rasva. Kuvassa 1 on Mojonnier-putket
odottamassa ravistelua. Ammoniakin tehtävänä on estää kaseiinin saostuminen etanoli-
lisäyksen yhteydessä. Etanolin lisääminen taas hajottaa näytteessä olevien rasvapallos-
ten membraanin, mikä tehostaa rasvan uuttamista näytteestä. Uttamisen jälkeen liuot-
timet haihdutetaan ja rasvajäännös punnitaan. Täten rasvapitoisuus voidaan laskea kaa-
valla 1.

$$\frac{(m_1 - m_2) \cdot 100\%}{m_0} \quad (1)$$

Kaavassa m_0 on näytteen paino grammoina, m_1 rasvankeruuastian ja uutetun näytteen
paino grammoina, sekä m_2 rasvankeruuastian paino grammoina. [5]



Kuva 1. Mojonnierputket valmiina ravisteluun.

3.2 Rasvapitoisuuden määrittäminen Schmid-Bodzynski-Ratzlaff-menetelmällä

Schmid-Bodzynski-Ratzlaff-menetelmä perustuu standardeihin ISO 1735 ja IDF 5:2004. Menetelmä soveltuu mm. tuore- ja sulatejuustojen, proteiini- ja kaseiinijauheiden sekä lastenruokapuurojen ja -välipalojen raakarasvapitoisuuden määrittämiseen. Menetelmä soveltuu vaikeammille matriiseille, koska siinä näyte hajotetaan happopolton avulla. Erona Röse-Gottliebiin näytteeseen lisätään punnituksen jälkeen 25 % suolahappoa, jonka jälkeen näyte siirretään kiehuvaan vesihauteeseen n. 25 minuutiksi. Näytettä sekoitetaan aika-ajoin, kunnes se on kokonaan liennut. Tämän jälkeen näytteeseen lisätään etanolia rasvapallosten membraanin hajottamiseksi. Suolahappoliuoksen lisääminen liuottaa näytteen proteiinit, jotta ne eivät pääse saostumaan uuttamisen aikana. Uuttaminen tapahtuu dietyylieetterillä ja petroolieetterillä kolmeen kertaan. Uuttamisen jälkeen liuottimet haihdutetaan ja rasvajäännös punnitaan. Näytteen rasvapitoisuus lasketaan samalla tavalla, kuin Röse-Gottlieb-menetelmässä. [6.]

4 Referenssimenetelmät kuiva-ainemäärittäykseen

4.1 Kuiva-ainepitoisuuden määrittäminen pikamenetelmällä

Referenssimäärittäyksissä näytteen kuiva-ainepitoisuus määritetään gravimetrisesti, joko pikamenetelmällä, tai hiekkamenetelmällä. Pikamenetelmä perustuu standardiin IDF 21B:1987, ja se soveltuu ei sokeria sisältäville nestemäisille maitovalmisteille. Näyte punnitaan kertakäyttöiseen kuiva-aineastiaan, jonka jälkeen siitä haihdutetaan vesi vesihauteessa metallilevyn päällä ja lämpökaapissa. Jäljelle jäänyt kuiva-aine punnitaan, jonka jälkeen kuiva-ainepitoisuus voidaan laskea kaavalla 2.

$$\frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0} \cdot 100\% \quad (2)$$

Kaavassa M_0 on kuiva-aineastian paino grammoina, M_1 näytteen ja kuiva-aineastian paino ennen kuivausta grammoina ja M_2 näytteen ja kuiva-aineastian paino kuivauksen jälkeen grammoina. [7.]

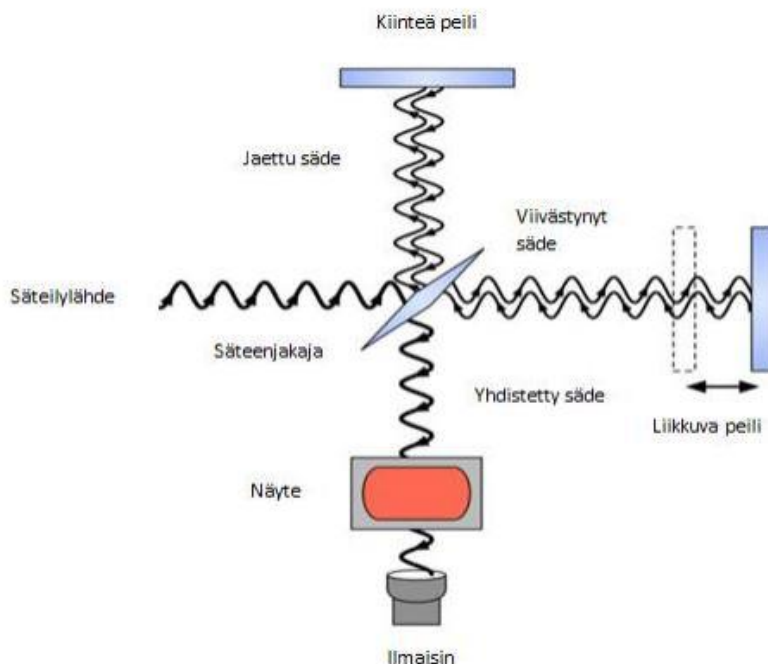
4.2 Kuiva-ainepitoisuuden määrittäminen hiekkamenetelmällä

Hiekka-menetelmä perustuu standardiin IDF 15B:1991. Menetelmä soveltuu sokeria sisältävien, sekä muuten mahdollisesti hankalampien näytteiden kuiva-ainepitoisuuden määrittämiseen. Menetelmässä näyte punnitaan alumiiniseen kuiva-aineastiaan, jossa on hiekkaa, sekä lasisauva. Näytteen punnitsemisen jälkeen kuiva-aineastiaan lisätään vettä, ja näyte hierretään hiekan sekaan. Tämän jälkeen näytteestä haihdutetaan vesi vesihauteessa metallilevyn päällä koko ajan sekoittaen. Näytettä kuivataan vesihauuteessa, kunnes se on kuivunut hiekkamaiseksi, jonka jälkeen haihduttamista jatketaan lämpökaapissa. Kuiva-ainepitoisuus lasketaan samalla tavalla, kuin pikamenetelmässä. [8.]

5 FTIR

Infrapunaspektrometriaa käytetään yleisesti näytteen rakenteen tutkimiseen ja sen erilaisten rakenteiden tunnistamiseen [9]. Kahden eri aineen infrapunaspektrit eivät ole koskaan samanlaisia, vaan jokaisella yhdisteellä on sille ominainen spektri, ns. sormenjälki [10]. Näytteeseen osuessaan infrapunasäteily saa aikaan värähtelyä näytteen molekyylien välisissä sidoksissa. Tämän värähtely aiheuttaa infrapunasäteilyn absorptiota jokaiselle funktionaaliselle ryhmälle ominaisella aaltoluvulla [10]. Jokainen sidos voi kuitenkin liikkua useammalla eri tavalla, kuten esim. venymällä tai taipumalla, joten jotkin sidokset voivat absorboida infrapunasäteilyä usealla aaltoluvulla [11]. Infrapunaspektri koostetaan vertaamalla lähetettyä säteilyä näytteen kautta tulleeeseen säteilyyn. Yleensä mitataan säteilyä aallonpituusalueella 4–40 μm . Absorptiospektrissä piikkien paikat ilmaistaan kuitenkin aaltolukuina 400–4000 m^{-1} , joka on aallonpituuden käänteisarvo.

FTIR-spektroskopiassa (*Fourier transform infrared*) voidaan yhden aaltoluvun mittaamisen sijaan mitata koko tutkittava aaltolukualue samalla kertaa. FTIR-laitteisto mittaa valon dispersion sijaan valon interferenssiä. Fourier-muunnoksen avulla interferenssikuvasta saadaan muunnettua absorptiospektri. Kaikkien aaltolukujen samanaikaisen mittaamisen lisäksi FTIR-spektroskopian etuja tavalliseen IR-spektrometriin verrattuna on suuri säteilyn läpäisykyky, sekä parempi taajuuksien erotuskyky. Kuvassa 2 on esitetty FTIR-spektrometrin toimintaa. [10]



Kuva 2. FTIR-spektrometrin toimintaperiaate [12].

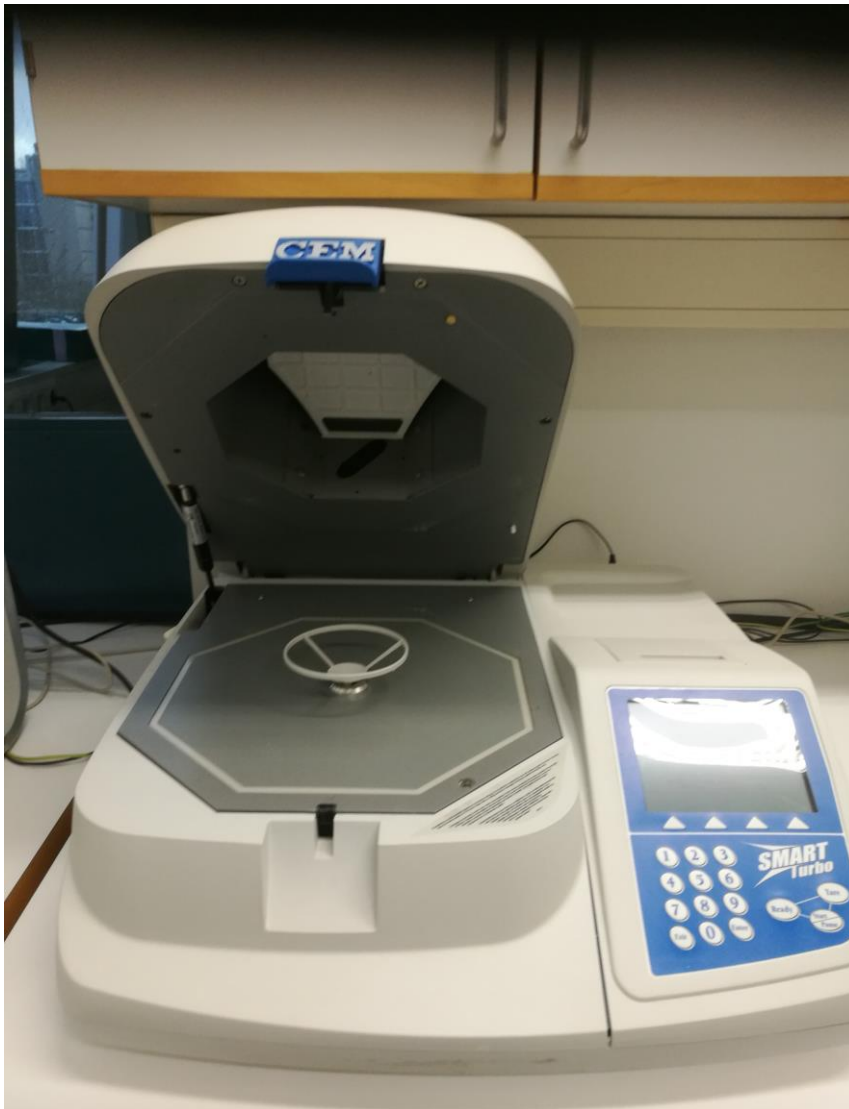
Koska eri sidokset absorboivat säteilyä eri aaltoluvuilla, ja absorptio määrä on suoraan verrannollinen sidosten määrään näytteessä, voidaan infrapunaspektrometriaa käyttää myös kvantitatiivisiin määrittäksiin. Kvantitatiivista analyysiä varten rakennetaan polynomifunktio referenssitulosten ja FTIR-spektrien pohjalta. Polynomifunktio etsii tiettyjen signaalien kasvua tai pientymistä ja pystyy niiden perusteella laskemaan tutkittavan aineen pitoisuuden näytteestä. Saatu kalibrointi ei kuitenkaan ole kovin stabiili, ja menetelmä vaatii tarkkaa seuranta ja uudelleen kalibrointeja, jotta tulostaso pysyy hyvänä. Menetelmä onkin työläs, mutta sen etuna Smartilla tehtävään pika-analyysiin verrattuna on mahdollisuus useamman analyysin, kuten rasva-, proteiini-, kuiva-aine- ja laktoosipitoisuuden, suorittamiseen samanaikaisesti. [13.]

6 Smart pika-analysaattori kuiva-aine- ja rasvapitoisuuden määrittämiseen

Seuraavissa luvuissa perehdytään siihen, miten Smart Turbo 5 -kuiva-aineanalysaattori määrittää näytteen kuiva-ainepitoisuuden, sekä siihen miten Smart Trac II -analysaattori määrittää näytteen rasvapitoisuuden Smart 5 turbolla kuivatusta näytteestä ydinmagneettisen resonanssin avulla. Lisäksi käydään läpi huomioitavia asioita Smart-menetelmän kehittämisessä.

6.1 Kuiva-ainepitoisuuden määrittäminen Smart 5 Turbolla

Jotta näytteen rasvapitoisuus voidaan mitata Smart Trac II:llä, tulee näyte ensin kuivata Smart 5 Turbolla. Näyte punnitaan näytealustoille, jonka jälkeen Smart 5 Turbo kuivaa näytteen mikroaalloilla. Näytteen tasaisen lämpenemisen vuoksi vältytään mm. kalvojen muodostumiselta näytteen pinnalle, tai näytteen pinnan palamiselta. Laitteessa on vaaka, joka mittaa näytteen painon reaaliajassa. Kun painon muutos pysähtyy, laite laskee kuiva-ainepitoisuuden vertaamalla kuivatun näytteen painoa punnittuun painoon. Kuvassa 3 Smart 5 Turbo. [14.]



Kuva 3. Smart 5 Turbo kuiva-aineanalysaattori

6.2 Rasvapitoisuuden määrittäminen Smart Trac II -analysaattorilla

Kun kuiva-ainepitoisuus on saatu mitattua, siirretään kuivatut näytealustat Trac-kalvon päälle. Kalvo kääritään rullalle, ja laitetaan muovisen näyteputken sisälle rasva-analyysia varten. Rasvapitoisuuden määrittäminen Smart Trac II -analysaattorilla perustuu ydinmagneettiseen resonanssiin.



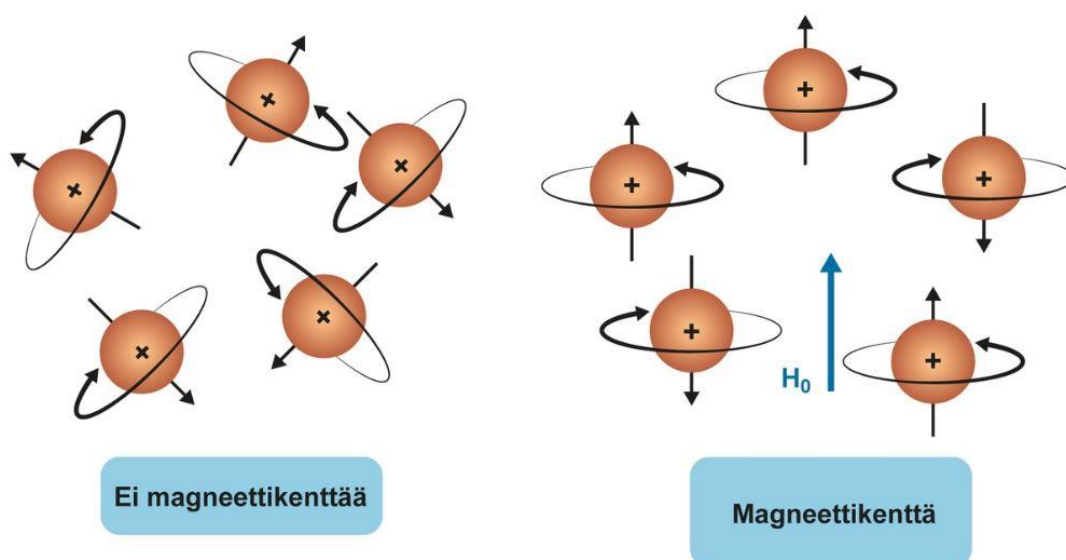
Kuva 4. Smart Trac II rasva-analysaattori

6.2.1 Ydinmagneettinen resonanssi

Atomit koostuvat ytimestä, sekä ydintä ympäröivistä elektroneista. NMR (*nuclear magnetic resonance*), eli ydinmagneettinen resonanssi perustuu atomin ydinten käyttäytymiseen magneettikentässä [15]. Monilla isotoopeilla on niille ominainen spin-luku. NMR-spektroskopian edellytyksenä on, että spinkvanttiluku on erisuuri kuin 0. Ytimen spinkvanttiluku määräytyy siinä olevien protonien ja neutronien lukumäärän mukaan. Mikäli protoneita ja neutroneita molempia on parillinen määrä, saa ytimen spin arvon 0, eikä

ydintä pystytään havaitsemaan NMR-spektrometrillä. Tällaisia ytimiä ovat esim. ^{12}C ja ^{16}O [16, s. 2]. Yleisimmät ytimet NMR-spektrometriassa ovat ^1H ja ^{13}C , joilla molemmilla on spinkvanttiluku $\frac{1}{2}$.

Spinin ansiosta ytimet käyttäytyvät kuin pienet magneetit. Ulkoisessa magneetissa ytimet suuntautuvat joko magneettikentän suuntaisesti tai vastaisesti. Kuvassa 5 on esitetty magneettikentän vaikutusta ytimien suuntautumiseen. Eri tavalla suuntautuneilla ytimillä on eri energiatasot. Kentän suuntaisesti olevilla ytimillä tämä energia on pienempi, kun taas kentän vastaisesti suuntautuneilla ytimillä on suurempi energia. Tämä energiamero on kvantittunut, ja se vastaa tietyn radiotaajuuden suuruista energiaa. Tämä energiamäärä on suoraan verrannollinen magneettikentän voimakkuuteen. [17.]



Kuva 5. Magneettikentän vaikutus ytimien suuntautumiseen. H_0 kuvaa magneettikentän suuntaa.

Kun magneettikentässä olevaan näytteeseen kohdistetaan radiotaajuudella olevaa sähkömagneettista säteilyä, magneettikentän mukaisesti suuntautuneet ytimet absorboivat energiakvantin ja siirtyvät korkeammalle energiatasolle. Yhdisteen magneettisten momenttien summassa tapahtuva muutos havaitaan NMR-spektrissä. [17.]

Vaikka eri energiatasojen välistä eroa voidaan kasvattaa nostamalla magneettikentän voimakkuutta, on energiatasojen välinen ero aina hyvin pieni [18]. Tästä syystä vahvan magneettikentän lisäksi näytettä tarvitaan paljon, jotta tapahtuva energianmuutos olisi

helpompi havaita. Tämän takia ^1H -ydin soveltuu erityisen hyvin NMR-spektrometriaan, sillä suurin osa vetyatomeista omaavat tämän ytimen.

Perinteisessä protoni-NMR spektroskopiassa pystytään tutkimaan molekyylien rakennetta. Vetyatomien ympäristö vaikuttaa siihen, kuinka suuren magneettikentän sen ydin saa. Täten eri atomeihin sitoutuneet vetyatomit absorboivat eri määrän energiaa, jolloin niiden piikit pystytään erottamaan NMR-spektristä. [17.]

6.2.2 Matalan resoluution ydinmagneettinen resonanssi

Smart Trac II-analysaattorissa käytetään matalan resoluution NMR:ää (*low resolution NMR*), jossa ei pystytä havaitsemaan eroja eri tavalla sitoutuneiden tai erilaisessa ympäristössä olevien vetyatomien välillä. Sen sijaan mittaaminen perustuu siihen, että näytteen eri ainesosien signaali vaimenee eri nopeudella. Tällöin mitataan relaksaatioaikaa (*transverse relaxation*). Mikroaalloilla kuivatussa elintarvikenäytteessä protonit ovat pääasiassa peräisin rasva-, proteiini ja hiilihydraattimolekyyleistä. Kyseisten ainesosien välillä on selkeitä eroja relaksaatioajoissa, joihin Smart Trac II-analysaattorin rasvamääritys perustuu. Sekä proteiinit että hiilihydraatit ovat kiinteässä muodossa näytteen kuivaamisen jälkeen, jonka takia niillä on kiinteille aineille ominainen relaksaatioaika. Kiinteiden aineiden relaksaatioajat ovat erittäin lyhyet, joten sekä proteiini- että hiilihydraattimolekyyleissä olevat protonit palautuvat nopeasti alemmalle energiatasolle. Proteiineilla ja hiilihydraateilla relaksaatioajat ovat alle 10 μs . Rasvamolekyylit ovat kuivauksen jäljiltä edelleen nestemäisessä muodossa, jonka takia niillä on nestemäisille aineille ominaiset relaksaatioajat. Nestemäisten protonien relaksaatioajat ovat yli 10 μs . Vaikka kuivaus ei olisi täydellinen, näytteeseen mahdollisesti jääneet vesimolekyylit vastaavat relaksaatioajoiltaan enemmän hiilihydraatteja ja proteiineja, joten myös ne pystytään erottamaan rasvamolekyyleistä. Mittaaminen perustuu siihen, että hiilihydraatti- ja proteiinimolekyylien signaalien annetaan vaimentua, jonka jälkeen jäljellä oleva signaali on suoraan verrannollinen näytteen rasvamolekyyleissä olevien vetyatomien määrään, eli suoraan verrannollinen näytteen rasvapitoisuuteen. [18;13.]

6.3 Smart-menetelmän luominen

Menetelmää tehtäessä tärkeimpänä kriteerinä oli, että Smartilla saatu tulostaso vastaisi referenssimenetelmien tulostasoa. Menetelmää rakentaminen aloitettiin aina optimoimalla ensin kuiva-aineen määrittäminen jokaiselle matriisille. Kun sopiva menetelmä kuiva-aineen analysoimiseksi oli valmis, ruvettiin tekemään kalibrointisuoraa rasvamääritykselle. Kuiva-ainemenetelmän luomista varten tarvittiin riittävä määrä tunnetun kuiva-ainepitoisuuden omaavaa kalibrointinäytettä. Menetelmän kalibrointi tarkistettiin myös eri kuiva-ainepitoisilla näytteillä. Kalibrointeihin tarvittavat referenssitulokset määritettiin Valion referenssimenetelmien mukaisesti.

7 Validointi

Validointi perustui Valion omaan validointiohjeeseen, sekä Eviran Kemiallisten analyysimenetelmien validointiohjeeseen (1997). Eviran ohje määrittelee validoinnissa huomioitavat kohdat sekä ohjeistaa mitä ja miten validoinnissa tulisi tehdä.

Validointi suoritettiin tekemällä useita koesarjoja eri näytematriiseilla rinnakkain referenssimenetelmillä, sekä Smartilla. Tuloksista määritettiin tilastollinen merkitsevyys menetelmien välillä, sekä toistettavuus, määritysrajat ja mittausepävarmuus validoitaville Smart-menetelmille.

7.1 Toteamis- ja määritysrajat

Toteamisraja on alhaisin pitoisuus, jolla näyte voidaan tunnistaa luotettavasti. Toteamisrajan määrittämistä varten ajettiin nollanäytteenä ionivaihdettua vettä. Toteamisraja laskettiin lisäämällä nollanäytteen keskiarvoon kolminkertainen keskihajonta. [20.]

$$Toteamisraja = \bar{x} + 3 * s \quad (3)$$

Jossa \bar{x} on nollanäytteiden mittaustulosten keskiarvo ja s keskihajonta.

Määritys- eli kvantitointirajalla tarkoitetaan alinta pitoisuutta, jolle voidaan esittää epävarmuusarvio. Kuiva-ainemenetelmälle määritysrajaksi määritettiin alhaisimman hyväksyttävää tulosta antaneen näytteen pitoisuus. Rasvamenetelmälle määritysraja laskettiin lisäämällä nollanäytteen keskiarvoon kymmenkertainen keskihajonta. Toteamisrajan ja määritysrajan väliin jäävällä alueella näytteen kuiva-aine ja rasvapitoisuudet voidaan mitata, mutta tuloksiin sisältyy huomattavasti isompi epävarmuus [20].

$$\text{Määritysraja} = \bar{x} + 10 * s \quad (4)$$

Jossa \bar{x} on nollanäytteiden mittaustulosten keskiarvo ja s keskihajonta

7.2 Kalibrointisuora

Rasvamenetelmän kalibrointisuorina käytettiin alkuperäisen vuonna 2010 tehdyn validoinnin kalibrointisuoria. Kalibrointisuorista raportoitii kulmakerroin, selitysaste sekä leikkauspiste.

7.3 Toistettavuus

Toistettavuus kuvaa määrittämiseen sisältyvien työvaiheiden aiheuttamaa pienintä variaatiota tuloksissa. Toistettavuutta arvioidaan suorittamalla määrittäminen samalla menetelmällä, samalla laitteella, samassa ympäristössä, saman tekijän tekemänä, lyhyellä aikavälillä [19]. Toistettavuus määritettiin tekemällä samasta näytteestä useita analyyskejä rinnakkaisnäytteistä eri päivinä. Mittauksista laskettiin suhteellinen keskihajonta (RSD, *relative standard deviation*), eli variaatiokerroin (CV%).

7.4 Oikeellisuus

Menetelmän oikeellisuus määritettiin vertailemalla saatuja mittaustuloksia referenssimenetelmillä saatuihin tuloksiin. Referenssimenetelmillä saaduista tuloksista ja Smartilla saaduista tuloksista tehtiin rinnakkainen kahden otoksen t-testi 95 %:n luotettavuustasolla. Hyväksyttävä tulos oli se, että menetelmien välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa 95 %:n luottamustasolla.

7.5 Mittausepävarmuus

Mittausepävarmuudella (MEV) ilmaistaan mm. näytteenoton, matriisin ja ympäristöolosuhteiden mittaukseen aiheuttamien epävarmuuksien vaikutusta tulokseen. Mittausepävarmuus on siis kvantitatiivinen arvio rajoista, joiden sisältä oikea tulos löytyy halutulla todennäköisyydellä. Mittausepävarmuus voidaan määrittää joko tilastollisia menetelmiä käyttäen (tyypin A mittausepävarmuusarvio) tai muilla kuin tilastollisilla menetelmillä (tyypin B mittausepävarmuusarvio). Tällöin käytetään esim. kirjallisuustietoa, aikaisempaa kokemusta tai valmistajan ilmoittamia arvoja. [21]

Jokaiselle matriisille laskettiin oma mittausepävarmuus. Mittausepävarmuutta varten laskettiin arviot mittauksissa tapahtuvan satunnaisvirheen ja systemaattisen virheen suuruudesta. Yhteenlaskettuna satunnaisvirheet ja systemaattiset virheet kuvaavat mittausepävarmuutta (MEV). Mittausepävarmuudesta laskettiin laajennettu mittausepävarmuus (2MEV), kertomalla laskettu mittausepävarmuus kertoimella 2. Kaksinkertainen mittausepävarmuus vastaa mittausepävarmuutta 95 % luottamustasolla. Mittausepävarmuus laskettiin Nordtestin oppaan mukaan. Mittausepävarmuuden laskemiseen käytetyt kaavat löytyvät alta [22].

$$u(Rw) = \sqrt{s^2} \quad (5)$$

Jossa $u(Rw)$ on arvio menetelmän satunnaisvirheestä

s on rinnakkaisten tulosten keskihajonta

$$u(bias) = \sqrt{bias^2 + \left(\frac{S_{bias}}{\sqrt{n}}\right)^2 + u(Cref)^2}$$

Jossa $u(bias)$ on arvio menetelmän systemaattisesta virheestä

$bias$ on referenssitulosten ja mittaustulosten erotus

S_{bias} on mittaustulosten keskihajonta

$u(Cref)$ on referenssimenetelmän mittausepävarmuus/1,96

8 Reagenssit ja laitteet

8.1 Reagenssit

Referenssimenetelmissä käytetyt reagenssit:

- dietyylieetteri, VRW, tuotenro: 1.00921.5000
- petroolieetteri, VWR, tuotenro: 1.01773.6025
- etanoli, Altia, ETAX A
- ammoniakki, J.T Baker, tuotenro: 2672
- 0,5-prosenttinen metyylinen etanolissa
- suolahappo, VWR, tuotenro: 1789
- kvartsihiekkä, Sibelco Oy Nordic/Nilsin kvartsi, 0,1–0,5 mm.

Smart Trac II- analysaattorissa näytteet eivät vaadi mitään esikäsittelyä, joten Smartilla ei käytetty mitään reagensseja.

8.2 Laitteet, välineet ja ohjelmistot

Rasvamääritykset:

- 5 ml:n automaattipipetti
- Mojonnier-putkia
- Ravistelija, Funke-Gerber, MSM-4
- Kippipullo 5 ja 10 ml:n kaatonokalla

- Dispensette, Sigma-Aldrich, tuotenro: 4730361
- sentrifuugi, Gerber Instruments, Universal

Smartin kuiva-aine-määritykset tehtiin CEM:n Smart 5 Turbo-laitteistolla, joka poistaa kaiken veden näytteestä, poistaen signaalin häiriöt rasvan määrittämistä varten. Rasvapitoisuus määritettiin CEM:n Smart Trac II -laitteistolla, joka mittaa näytteen rasvapitoisuuden NMR:n avulla.

9 Työn toteutus

9.1 Laitteen käyttöönotto

Alun perin Smart Trac II -analysaattori on otettu Valiolla käyttöön 2010, jolloin laitteelle on suoritettu alkuperäinen kalibrointi, sekä kehitetty tarvittavat menetelmät näytteiden analysointia varten. Smart Trac II -analysaattorin tarkoituksena oli saada nopea ja luotettava tapa erilaisten meijerituotteiden kuiva-aine- ja rasvapitoisuuksien analysoimiseksi. Smart pystyy analysoimaan kuiva-aine- ja rasvapitoisuudet alle viidessä minuutissa, ja yhden ajon hinnaksi tulee n. 50 senttiä tarvikkeineen. Kyseessä on siis nopea ja kustannustehokas tapa peruskoostumusmääritysten suorittamiseen. Valion Smart meni epäkuntoon vuonna 2014, jonka jälkeen sitä ei ehditty huoltaa ja ottaa uudelleen käyttöön ajanpuutteen vuoksi. Keväällä 2018 laitteelle suoritettiin huoltosopimuksen mukainen huolto, ja sitä ruvettiin ottamaan takaisin käyttöön.

9.2 Vanhojen menetelmien tarkastus

Uudelleenkäyttöönotto aloitettiin tarkistamalla, voisiko vanhoja menetelmiä käyttää sellaisenaan. Tärkein vaatimus menetelmän hyväksymiseksi oli se, että Smartin tulostaso vastaisi referenssimenetelmien tulostasoja. Taulukossa 1 on esitetty suurin sallittu ero referenssitulosten ja Smartilla saatujen tulosten välillä eri matriiseille. Suurimmat sallitut erot perustuvat Valion referenssimenetelmien mittausepävarmuuksiin, sekä Valion kanssa käytyihin keskusteluihin halutusta tarkkuudesta Smart- menetelmien tuloksiin. Vanhoista menetelmistä testattiin maidoille, jogurteille sekä rahkoille tehdyt menetelmät.

Kaikki menetelmät antoivat väärää kuiva-ainepitoisuutta, mutta lähes kaikki antoivat hyviä tuloksia rasvapitoisuudelle. Tämän jälkeen päätettiin validoinnissa keskittyä maitojen, jogurttien ja rahkojen menetelmien korjaamisen lisäksi myös kehittämään uudet menetelmät kaurapohjaisille tuotteille, sekä vanukkaille.

Taulukko 1. Suurimmat sallitut erot referenssitulosten ja Smartilla saatujen tulosten välillä eri matriiseille.

	Kuiva-aine (%-yks)	Rasva (%-yks)
Maito	0,1	0,1
Kaurapohjaiset tuotteet	0,3	0,1
Vanukkaat	0,3	0,1
Jogurtit	0,3	0,1
Rahkat	0,3	0,1

9.3 Rasvamäärityksen kalibroinnit

Testitulosten perusteella vuonna 2010 tehdyt kalibroinnit rasvoille todettiin edelleen toimiviksi, joten kaikki uudet menetelmät rakennettiin näiden kalibroitien pohjalle. Vuoden 2010 kalibroinneissa rasvamenetelmän kehittämiseksi käytettyjen näytteiden rasvapitoisuudet ja niiden antama signaali NMR:llä on esitetty taulukoissa 2 ja 3. Menetelmiä rasva-analyysiä varten oli kaksi, toinen pitoisuusalueelle 0–1 % ja toinen pitoisuusalueelle 1–5 %. Käytetty kalibrointisuora valittiin erikseen jokaiselle menetelmälle riippuen mitä aluetta haluttiin mitata.

Taulukko 2. Kalibrointinäytteet ja niiden antamat signaalit 0–1 % rasvaa sisältävien näytteiden analysoimiseksi

Pitoisuus (%)	Signaali
0,05	7,58
0,19	26,89
1,00	171,41

Taulukko 3. Kalibrointinäytteet ja niiden antamat signaalit 1–5% rasvaa sisältävien näytteiden analysoimiseksi

Pitoisuus (%)	Signaali
1,00	77,95
1,48	117,76
3,40	287,74
4,29	362,99
5,09	432,42
5,13	436,93

Saaduista tuloksista piirrettiin kalibrointisuorat, joiden avulla Smartin ohjelmisto laskee tulokset automaattisesti mittauksen jälkeen. Vanhoja kalibrointisuoria rasvan määrittämiseen päätettiin käyttää pääasiassa sen vuoksi, että ne antoivat hyväksyttävää tulostasoa, ja referenssinäytteiden valmistaminen ja analysoiminen olisi vienyt paljon aikaa itse Smart-menetelmän kehittämiseltä ja tarvittavan validointidatan keräämiseltä.

9.4 Menetelmän kehitys

Menetelmien kehitys aloitettiin aina määrittämällä korjauskerroin kuiva-ainemääritykselle. Smart Turbo 5 poistaa näytteestä kaiken nesteen mikroaalloilla. Referenssituloksiin verrattuna Smartin antamat kuiva-aine tulokset ovat kuitenkin järjestelmällisesti hieman suurempia. Smartin tehoa pystyy myös säätämään, mutta täydellisen tasapainon löytäminen kaiken veden poistamiseksi polttamatta näytettä on todella vaikeaa. Kuiva-ainemenetelmää kehitettäessä optimoitavat parametrit ovat teho, maksimilämpötila sekä ajon maksimiaika. Lisäksi säädetään suurin sallittu painon muutos, sekä aika jonka sisällä kyseinen muutos saa tapahtua, jotta Smart tunnistaa milloin haihtuminen loppuu ja mahdollinen palaminen alkaa. Lisäksi punnittavan näytteen määrä vaikuttaa veden haihtumiseen, ja osana menetelmän kehitystä pyrittiin löytämään sopiva määrä näytettä hyvän tuloksen saamiseksi.

Menetelmien kehitys ja validoiminen aloitettiin maitonäytteillä, sillä nestemäiset näytteet antavat tasaisinta tulostasoa kuiva-aine analyysissä. Alkuperäisen Milknew2 -menetelmän parametrit löytyvät taulukosta 4. Milknew2- menetelmää käytettiin 1–5 % rasvaa sisältävien näytteiden analysoimiseen.

Taulukko 4. Milknew2 -menetelmän parametrit.

Moisture/Fat NMR
Constant weight
Turbo ON
Power 100%
Delta weight: 0,2g
Delta time: 10s
Max time: 10 min
Bias: +0,20%
Min result: 0%
Max result: 100%
Min wt range: 3,75g
Max wt range: 4,25g
Weight compensation ON
Fat range <80%
Fat bias: +0,00%
Warm up delay: 0s
Run time: 8s
Max temp 102°C

Mittaukset suoritettiin laadunvalvontanäytteellä, josta oli useita referenssituloksia valmiina. Tuloksista laskettiin keskimääräinen ero Smartilla saatujen tulosten, ja referenssitulosten välillä.

$$bias = \text{Smartin tulosten keskiarvo} - \text{referenssitulosten keskiarvo} \quad (6)$$

Saadun tuloksen perusteella muutettiin ajoparametreja ja suoritettiin uudet ajot, kunnes tulokset olivat mahdollisimman lähellä toisiaan. Sama prosessi toistettiin myös muille vanhoille menetelmille. Kaikkien menetelmien antaessa hyvää tulostasoa alettiin validoimaan menetelmiä tekemällä rinnakkaisajoja Smartilla ja referenssimenetelmillä.

Uusien menetelmien rakentaminen

Uusina matriiseina validointiin otettiin mukaan kaurapohjaiset näytteet, sekä vanukkaat. Vanukkaiden rasvapitoisuudet osuivat välille 1–5 %, kun taas kaurapohjaisten tuotteiden

rasvapitoisuus oli alle 1 %. Molemmille menetelmille valittiin sopiva kalibrintisuora vanhoista kalibroinneista, jonka jälkeen etsittiin sopiva korjauskerroin kuiva-ainemääritystä varten. Korjauskerroin määritettiin samalla tavalla kuin vanhoille menetelmille. Vanukasmenetelmän lähtökohtana käytettiin vanhaa jogurteille tarkoitettua menetelmää, kun taas kaurapohjaisten tuotteiden menetelmä rakennettiin alle 1 % rasvaa sisältävien maitojen menetelmän pohjalta.

9.5 Validointidatan kerääminen

Kun menetelmät oli saatu valmiiksi, aloitettiin niiden validoiminen. Validoinnissa verrattiin Smartin tuloksia referenssimenetelmillä saatuihin tuloksiin. Koska referenssimenetelmät ovat todella aikaa vieviä, tehtiin näytteistä vain yksi tulos referenssimenetelmillä. Smartilla ajettiin alussa 5 rinnakkaista jokaisesta näytteestä, mutta validoinnin lopussa ajanpuutteen vuoksi tehtiin enää 3 rinnakkaista jokaisesta näytteestä. Näytteinä toimivat Valion tutkimus- ja tuotekehitysnäytteet. Lisäksi menetelmän toistettavuuden arvioimiseksi suoritettiin viikon aikana vähintään 20 ajoa jokaiselle menetelmälle. Nämä ajot pyrittiin ajamaan tasaisesti eri päivien aikana.

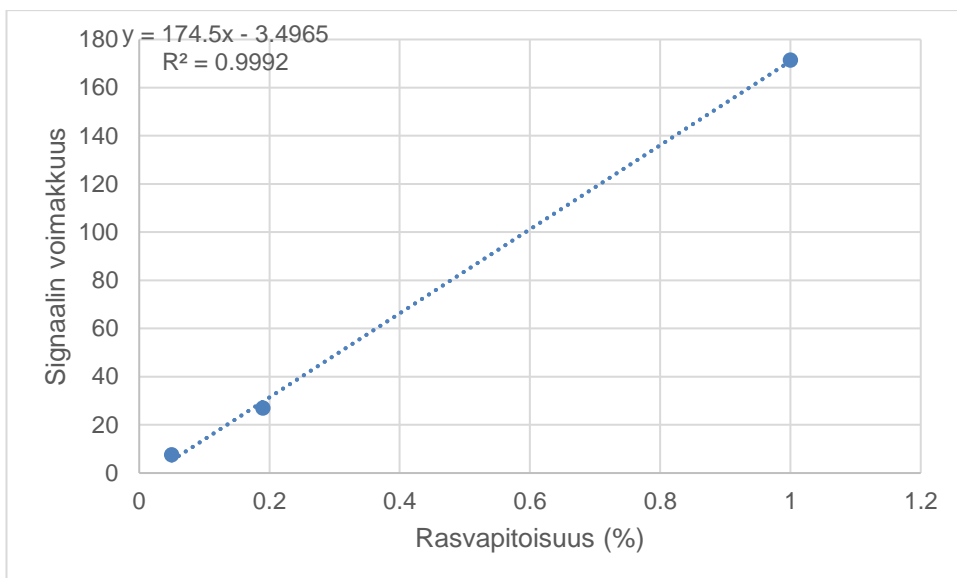
10 Tulokset

10.1 Toteamis- ja määritysrajat

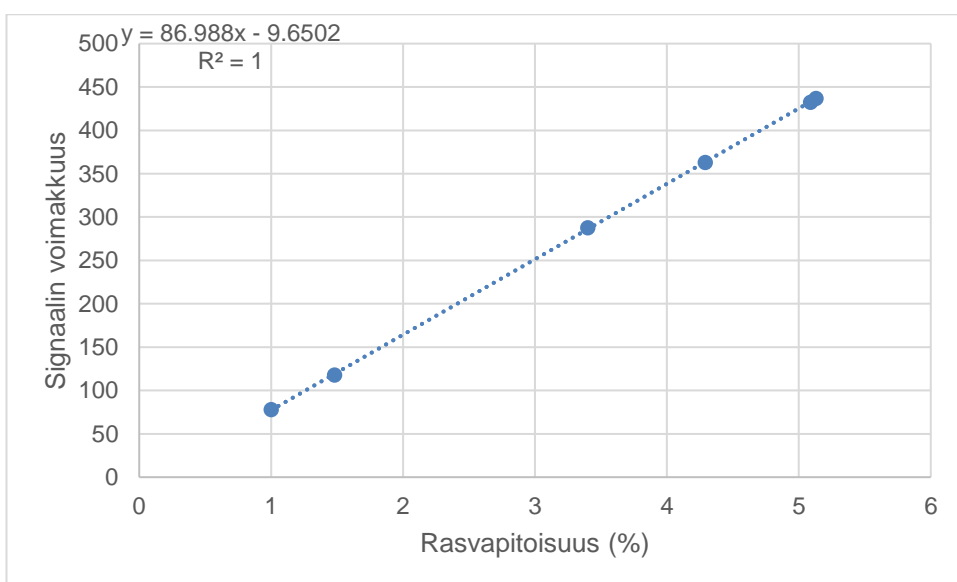
Nollanäytteistä saatujen tulosten perusteella toteamisrajaksi laskettiin kuiva-aineelle 0,07 % ja rasvalle 0,05 %. Määritysrajaksi rasvamäärityksiin laskettiin 0,1 %. Kuiva-ainemääritysten määritysrajaksi asetettiin 3 %, sillä se oli alin kuiva-ainepitoisuus, jolla Smartilla saadut tulokset olivat hyväksyttäviä referenssituloksiin verrattuna.

10.2 Kalibrintisuorat

Kalibrintisuorat sekä niiden kulmakertoimet, selityasteet sekä leikkauspisteet kuvissa 6 ja 7



Kuva 6. 0-1% rasvaa sisältävien näytteiden analysoimiseen käytetty kalibrointisuora



Kuva 7. 1-5% rasvaa sisältävien näytteiden analysoimiseen käytetty kalibrointisuora

10.3 Toistettavuus

Suhteellisen keskihajonnan laskemiseen käytetyt tulokset ja laskut löytyvät liitteestä 1. Jokaiselle matriisille laskettiin oma suhteellinen keskihajonta, koska jokainen matriisi vaatii oman menetelmänsä. Suhteelliset keskihajonnat löytyvät taulukosta 5.

Taulukko 5. Eri menetelmien suhteelliset keskihajonnat. Validoinnissa keskeneräiseksi jääneet menetelmät on merkitty *:llä

Toistettavuus (%RSD)	Kuiva-aine	Rasva
Maito 2018	0,57	1,21
Maito Rton 2018	0,33	1,39
OG 2018	0,75	1,86
Vanukas 2018	0,40	1,39
Jogurtti Rton 2018	0,71	7,38
Jogurtti 2018*	0,99	1,34

10.4 Oikeellisuus

Validoinnin tavoitteena oli, että referenssitulosten ja Smartin tulosten välillä ei olisi tilastollisesti merkitsevää eroa 95 %:n luottamustasolla. T-testin laskut ja laskuihin käytetyt tulokset löytyvät liitteestä 2. Taulukoissa 6-12 on esitetty jokaiselle menetelmälle t-testin tulokset, sekä t-testin laskemiseen käytetyn otoksen koko. Menetelmien välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa 95 %:n luottamustasolla, kun t-laskettu oli pienempi, kuin t-kriittinen.

Taulukko 6. Maito 2018-menetelmän t-testitulokset

Maito 2018	Kuiva-aine	Rasva
t.lask	2,17	0,18
t.krit	2,23	2,23
Otos	11	11

Taulukko 7. Maito Rton 2018-menetelmän t-testitulokset

Maito Rton 2018	Kuiva-aine	Rasva
t.lask	1,56	0,30
t.krit	2,20	2,20
Otos	12	12

Taulukko 8. Kaurapohjaisille tuotteille tarkoitetun OG 2018-menetelmän t-testitulokset

OG 2018	Kuiva-aine	Rasva
t.lask	1,37	2,04
t.krit	2,20	2,20
Otos	12	12

Taulukko 9. Vanukas 2018-menetelmän t-testitulokset

Vanukas 2018	Kuiva-aine	Rasva
t.lask	1,16	0,69
t.krit	2,31	2,31
Otos	9	9

Taulukko 10. Jogurtti Rton 2018-menetelmän t-testitulokset

Jogurtti Rton 2018		
	Kuiva-aine	Rasva
t.lask	1,01	0,89
t.krit	2,31	2,31
Otos	9	9

Taulukko 11. Jogurtti 2018-menetelmän t-testitulokset

Jogurtti 2018	Kuiva-aine	Rasva
t.lask	3,81	3,07
t.krit	2,16	2,16
Otos	14	14

Taulukko 12. Rahka Rton 2018-menetelmän t-testitulokset

Rahka Rton 2018	Kuiva-aine	Rasva
t.lask	4,80	0,88
t.krit	2,23	2,23
Otos	11	11

10.5 Mittausepävarmuus

Menetelmien mittausepävarmuudet ja laajennetut mittausepävarmuudet laskettiin rinnakkaisajojen tulosten keskihajonnan, referenssitulosten ja mittaustulosten erotuksen sekä referenssimenetelmien mittausepävarmuuksien perusteella. Absoluuttiset mittausepävarmuudet jokaiselle menetelmälle on esitetty taulukossa 13. Mittausepävarmuuden laskemiseen käytetyt tulokset sekä laskut löytyvät liitteestä 3.

Taulukko 13. Smart- menetelmien absoluuttiset mittausepävarmuudet 95 %:in luottamustasolla. Validoinnissa keskeneräisiksi jääneet menetelmät on merkitty *:llä.

Mittausepävarmuus	Kuiva-aine (%-yks)	Rasva (%-yks)
Maito 2018	0,2	0,1
Maito Rton 2018	0,2	0,1
OG 2018	0,4	0,1
Vanukas 2018	0,4	0,2
Jogurtti Rton 2018	0,4	0,1
Jogurtti 2018*	0,5	0,1

11 Yhteenveto ja johtopäätökset

Validoinnissa hyväksyttiin Valion käyttöön Smart-menetelmät alle 1 % rasvaa sisältäville maidoille, 1–5 % rasvaa sisältäville maidoille, kaurapohjaisille tuotteille, alle 1 % rasvaa sisältäville jogurteille sekä vanukkaille. Lisäksi alle 1 % rasvaa sisältäville rahkoille saatiin hyväksyttäviä tuloksia rasva-analyysissä, mutta kuiva-aine tulokset erosivat liikaa referenssimenetelmistä. 1–5 % rasvaa sisältävien jogurttien validointi jäi keskeneräiseksi, ja kyseinen menetelmä vaatii vielä jatkokehitystä.

Validoinnin jälkeen todettiin, että menetelmille asetettu vaatimus tulostasosta suhteessa referenssimenetelmiin oli kenties liian vaativa. Kyseessä on kuitenkin pika-analyysi, ja tuotekehityksessä riittää usein hieman epätarkempi tulos. Valion referenssimenetelmät ovat akkreditoituja ja kaikkia referenssimenetelmien analyyskejä ei kuitenkaan voida suorittaa Smartilla tämän takia. Validointi antoi kuitenkin paljon hyvää dataa Valiolle, ja on

mahdollista, että myös keskeneräisiä menetelmiä käytetään joidenkin näytteiden kohdalla. Mittausepävarmuudet näissä menetelmissä olisivat kuitenkin suhteellisen isot referenssimenetelmiin verrattuna.

Validoinnissa hyväksytyjen menetelmien avulla pystytään analysoimaan suurempi määrä näytteitä huomattavasti nopeammin, kuin referenssimenetelmillä olisi mahdollista. Tämä auttaa saamaan tuloksia nopeammin, tehostaen tuotekehityksen toimintaa. Smartilla saadut tulokset vastaavat todella tarkasti referenssimenetelmillä saatavia tuloksia, tiukkojen validointikriteerien ansiosta.

Lähteet

- 1 Kosteuden määrittäminen elintarvikkeesta. Verkkoaineisto. Opetushallitus. <http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/elintarvikeanalyysit_kosteus.html%20>. Luettu 17.10.2018.
- 2 Mattila, Pirjo; Ollilainen, Veli-Matti & Piironen, Vieno. 2003. Elintarvikekemian ja -analytiikka. Yliopistopaino.
- 3 Elintarvikkeen ravintoainekoostumuksen määrittäminen ja energiasisällön laskeminen. Verkkoaineisto. Opetushallitus. <http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/elintarvikeanalyysit_ravintoainekoostumuksen_maarittaminen.html%20>. Luettu 17.10.2018.
- 4 Raakarasvan määrittäminen elintarvikkeesta. Verkkoaineisto. Opetushallitus. <http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/elintarvikeanalyysit_rasvat.html%20>. Luettu 17.10.2018.
- 5 Menetelmäohje: Rasva R-G. 2017. Yrityksen sisäinen dokumentti. Valio Oy.
- 6 Menetelmäohje: Rasva SBR. 2017. Yrityksen sisäinen dokumentti. Valio Oy.
- 7 Menetelmäohje: Kuiva-aine (pika). 2016. Yrityksen sisäinen dokumentti. Valio Oy.
- 8 Menetelmäohje, Kuiva-aine (hiekkä). 2016. Yrityksen sisäinen dokumentti. Valio Oy.
- 9 Infrared: Theory. Verkkoaineisto. Chemistry LibreTexts. <[https://chem.libretexts.org/Textbook_Maps/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_\(Physical_and_Theoretical_Chemistry\)/Spectroscopy/Vibrational_Spectroscopy/Infrared_Spectroscopy/Infrared%3A_Theory](https://chem.libretexts.org/Textbook_Maps/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Spectroscopy/Vibrational_Spectroscopy/Infrared_Spectroscopy/Infrared%3A_Theory)>. Luettu 17.10.2018.
- 10 Infrapunaspektrometria. Verkkoaineisto. Opetushallitus. <http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/analyysimenetelmat_5-4_infrapunaspektrometria.html>. Luettu 7.10.2018.
- 11 Introduction to IR Spectra. Verkkoaineisto. University of California, Los Angeles. <<https://webspectra.chem.ucla.edu/irintro.html>>. Luettu 17.10.2018.
- 12 Vehviläinen, Sini. 2015. Dikloorimetaanin korvaaminen turvallisemmalla liuottimella saostuma-analytiikassa. Opinnäytetyö. Metropolia Ammattikorkeakoulu. Theseus-tietokanta.
- 13 Nurmela, Kari. 2018. Tutkija, Valio Oy, Helsinki. Keskustelu 10.9.2018.

- 14 Smart Turbo. Verkkoaineisto. CEM. <https://hosmed.fi/wp-content/uploads/2016/10/Smart-Turbo-Brochure_Single-Pages.pdf>. Luettu 27.8.2018
- 15 NMR-spektroskopia. Verkkoaineisto. Peda.net. <https://peda.net/oulainen/oulaisten-lukio/oppiaineet2/kemia/kemia2/orb-v1/Orbitaali2_152/spektroskopia/63n>. Luettu 18.10.2018.
- 16 Friebolin, Horst. Basic one- and two-dimensional NMR spectroscopy. 4th ed. Weinheim: WILEY-VCH. 2005.
- 17 NMR-spektrometria. Verkkoaineisto. Opetushallitus. <http://www03.edu.fi/oppi-materiaalit/laboratorio/analyysimenetelmat_5-6_NMR-spektrometria.html>. Luettu 18.10.2018.
- 18 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. Verkkoaineisto. Michigan State University. <<https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/spectrpy/nmr/nmr1.html>>. Luettu 18.10.2018.
- 19 Rapid Determination of Moisture/Solids and Fat in Dairy Products by Microwave and Nuclear Magnetic Resonance Analysis. Verkkoaineisto. CEM. <http://www.cem.de/documents/pdf/aoac_dairy.pdf>. Luettu 18.10.2018.
- 20 Mittaustekniikan perusteet. Verkkoaineisto. Metrology Research Institute. <http://metrology.tkk.fi/courses/S-108.1010/Luento7_2006.pdf>. Luettu 18.10.2018.
- 21 Kemian metrologian opas. Verkkoaineisto. Metrologian neuvottelukunta. <<https://www.vtt.fi/inf/pdf/MIKES/2005-J6.pdf>>. Luettu 30.7.2018.
- 22 Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories. Verkkoaineisto. NordTest. <http://www.nordtest.info/images/documents/nt-technical-reports/nt_tr_537_ed3_1_English_Handbook%20for%20Calculation%20of%20Measurement%20uncertainty%20in%20environmental%20laboratories.pdf>. Luettu 18.10.2018.

Toistettavuus

Maito 2018

	Kuiva-aine (%)	Rasva (%)
Mittaus 1	10,90	1,56
Mittaus 2	10,96	1,55
Mittaus 3	10,97	1,56
Mittaus 4	10,94	1,55
Mittaus 5	10,93	1,57
Mittaus 6	10,91	1,57
Mittaus 7	10,97	1,57
Mittaus 8	10,95	1,57
Mittaus 9	10,99	1,59
Mittaus 10	11,01	1,60
Mittaus 11	11,03	1,60
Mittaus 12	11,04	1,61
Mittaus 13	10,98	1,58
Mittaus 14	11,10	1,60
Mittaus 15	10,94	1,58
Mittaus 16	11,06	1,60
Mittaus 17	11,00	1,59
Mittaus 18	10,99	1,60
Mittaus 19	11,04	1,58
Mittaus 20	11,07	1,58
Mittaus 21	11,00	1,60
Mittaus 22	11,07	1,60
Mittaus 23	10,99	1,56
Mittaus 24	10,80	1,57
Mittaus 25	11,10	1,59
Mittaus 26	11,09	1,60
Mittaus 27	11,03	1,60
Mittaus 28	10,95	1,62
Mittaus 29	10,99	1,60
Mittaus 30	10,99	1,61
Mittaus 31	11,06	1,61
Mittaus 32	10,96	1,62
Mittaus 33	11,03	1,60
Keskiarvo	11,00	1,59
Keskihajonta	0,06	0,02
%RSD	0,57	1,21

Otos	33	33
-------------	----	----

Maito Rton 2018

	Kuiva-aine (%)	Rasva (%)
Mittaus 1	8,07	0,63
Mittaus 2	8,02	0,62
Mittaus 3	8,02	0,61
Mittaus 4	8,04	0,61
Mittaus 5	8,03	0,62
Mittaus 6	8,03	0,62
Mittaus 7	8,09	0,62
Mittaus 8	8,03	0,63
Mittaus 9	8,03	0,63
Mittaus 10	7,99	0,62
Mittaus 11	8,02	0,62
Mittaus 12	8,06	0,64
Mittaus 13	8,04	0,62
Mittaus 14	8,02	0,63
Mittaus 15	8,03	0,63
Mittaus 16	8,05	0,63
Mittaus 17	8	0,64
Mittaus 18	8,1	0,62
Mittaus 19	8,03	0,62
Mittaus 20	8,03	0,64
Keskiarvo	8,04	0,63
Keskihajonta	0,03	0,01
RSD %	0,33	1,39
Otos	20	20

OG 2018

	Kuiva-aine (%)	Rasva (%)
Mittaus 1	13,57	0,83
Mittaus 2	13,55	0,84
Mittaus 3	13,7	0,81
Mittaus 4	13,64	0,86
Mittaus 5	13,67	0,85
Mittaus 6	13,71	0,86
Mittaus 7	13,66	0,83
Mittaus 8	13,66	0,86

Mittaus 9	13,71	0,84
Mittaus 10	13,79	0,83
Mittaus 11	13,4	0,82
Mittaus 12	13,53	0,83
Mittaus 13	13,51	0,82
Mittaus 14	13,58	0,86
Mittaus 15	13,63	0,87
Mittaus 16	13,56	0,84
Mittaus 17	13,75	0,85
Mittaus 18	13,72	0,84
Mittaus 19	13,82	0,84
Mittaus 20	13,53	0,83
Keskiarvo	13,63	0,84
Keskihajonta	0,10	0,02
%RSD	0,75	1,86
Otos	20	20

Vanukas 2018

	Kuiva-aine (%)	Rasva (%)
Mittaus 1	18,57	1,46
Mittaus 2	18,59	1,43
Mittaus 3	18,63	1,43
Mittaus 4	18,69	1,44
Mittaus 5	18,45	1,46
Mittaus 6	18,78	1,5
Mittaus 7	18,62	1,46
Mittaus 8	18,49	1,46
Mittaus 9	18,69	1,48
Mittaus 10	18,61	1,44
Mittaus 11	18,62	1,46
Mittaus 12	18,63	1,47
Mittaus 13	18,65	1,49
Mittaus 14	18,66	1,42
Mittaus 15	18,67	1,48
Mittaus 16	18,72	1,45
Mittaus 17	18,74	1,47
Mittaus 18	18,68	1,44
Mittaus 19	18,61	1,46
Mittaus 20	18,65	1,47
Keskiarvo	18,64	1,46

Keskiha- jonta	0,08	0,02
RSD %	0,40	1,39
Otos	20	20

Jogurtti 2018

	Kuiva-aine (%)	Rasva (%)
Mittaus 1	12,08	2,43
Mittaus 2	12,07	2,45
Mittaus 3	12,11	2,44
Mittaus 4	12,03	2,51
Mittaus 5	12,11	2,49
Mittaus 6	12,01	2,43
Mittaus 7	12,24	2,46
Mittaus 8	12,19	2,49
Mittaus 9	11,98	2,38
Mittaus 10	12,32	2,52
Mittaus 11	12,07	2,47
Mittaus 12	11,99	2,44
Mittaus 13	12,04	2,46
Mittaus 14	11,97	2,43
Mittaus 15	12,04	2,43
Mittaus 16	12,14	2,5
Mittaus 17	12,12	2,47
Mittaus 18	12,14	2,48
Mittaus 19	12,13	2,48
Mittaus 20	12,11	2,44
Keskiarvo	12,09	2,46
Keskihajonta	0,09	0,03
%RSD	0,71	1,34
N	20	20

Jogurtti Rton 2018

	Kuiva-aine (%)	Rasva (%)
Mittaus 1	12,76	0,38
Mittaus 2	13,03	0,37
Mittaus 3	13,09	0,45
Mittaus 4	12,98	0,37

Mittaus 5	12,83	0,47
Mittaus 6	13,24	0,41
Mittaus 7	13,17	0,39
Mittaus 8	13,13	0,45
Mittaus 9	13,13	0,45
Mittaus 10	13,3	0,45
Mittaus 11	13,22	0,42
Mittaus 12	13,02	0,41
Mittaus 13	13,08	0,4
Mittaus 14	13,12	0,41
Mittaus 15	13,16	0,37
Mittaus 16	13,05	0,38
Mittaus 17	13,06	0,41
Mittaus 18	13,19	0,45
Mittaus 19	13,25	0,42
Mittaus 20	13,13	0,42
Keskiarvo	13,10	0,41
Keskihajonta	0,13	0,03
%RSD	0,99	7,38
N	20	20

T-testit

H0 = tulokset eivät eroa tilastollisesti merkitsevästi toisistaan 95 % luottamustasolla

H1 = tulokset eroavat tilastollisesti merkitsevästi toisistaan 95 % luottamustasolla

$$t_{lask} = \frac{|\bar{d}|}{s_d/\sqrt{n}}$$

t_{lask} = testisuure

\bar{d} = referenssitulosten ja smart tulosten erotusten keskiarvo

s_d = referenssitulosten ja smart tulosten erotusten keskihajonta

n = otos

t.kriittinen laskettiin Excel-funktiolla =T.KÄÄNT(1- α /2;n-1)

Jos $t_{lask} > t_{krit}$, H0 hylätään

Maito 2018

Kirjausnumero	Näyte	Referenssi kuiva- aine (%)	Smart kuiva- aine (%)	Ero- tus	Referenssi rasva (%)	Smart rasva (%)	Erotus
Oma näyte 1	Luomu Täysmaito	12,65	12,62	- 0,03	4,02	4,02	0,00
LV 562	LV-maito	10,90	10,94	0,04	1,57	1,56	-0,01
18-056416-03	Arkimaito 1%	9,92	9,93	0,01	1,05	1,10	0,05
18-056416-04	Arkimaito 1,2%	10,04	10,02	- 0,02	1,20	1,22	0,02
18-056416-05	Arkimaito 1,5%	10,42	10,40	- 0,02	1,60	1,61	0,01
18-060162-01	4C jogurttimaito	17,22	17,24	0,02	2,28	2,25	-0,03
Oma näyte 2	Täysmaito EILA	9,95	9,98	0,03	2,97	2,91	-0,06
Oma näyte 3	Kahvimaito	11,11	11,20	0,09	1,92	1,93	0,01
18-083284-01	LV-maito	10,74	10,76	0,02	1,92	1,93	0,01
18-090152-02	Kevytmaito, Eila	8,54	8,67	0,13	1,52	1,55	0,03
18-090152-03	Täysmaito EILA	9,97	10,04	0,07	3,02	3,00	-0,02
			Keskiarvo	0,03		Keskiarvo	0,00
			Keskihajonta	0,05		Keskihajonta	0,03
			n	11		n	11

Maito 2018 t-testi

	\bar{d}	Sd	N	t.lask	t.krit
Kuiva-aine	0,03	0,05	11	2,17	2,23
Rasva	0,00	0,03	11	0,18	2,23

Maito Rton 2018

Kirjausnumero	Näyte	Referenssi kuiva-aine (%)	Smart kuiva- aine (%)	Erotus	Referenssi rasva (%)	Smart rasva (%)	Erotus
18-056416-01	Arkimaito 0%	9,04	9,06	0,02	0,06	0,06	0,00
18-056416-02	Arkimaito 0,5%	9,46	9,48	0,02	0,55	0,52	-0,03
18-056416-03	Arkimaito 1%	9,92	9,93	0,01	1,05	1,03	-0,02
18-060586-01	Rasvaton maito	9,40	9,43	0,03	0,06	0,04	-0,02
Oma näyte 4	Rasvaton EILA	7,06	7,26	0,20	0,07	0,06	-0,01
Oma näyte 5	Rasvaton kotimainen	9,24	9,37	0,13	0,07	0,07	0,00
18-060598-01	UF-maitoproteiiniiviste	19,15	19,09	-0,06	0,10	0,12	0,02
18-060601-01	Laktoosiiviste	20,53	20,61	0,08	0,02	0,03	0,01
18-060606-01	Luomumaito-proteiinijae	8,46	8,55	0,09	0,09	0,07	-0,02
Oma näyte 5	Rasvaton kotimainen	9,24	9,34	0,10	0,07	0,06	-0,01
18-060602-01	RO-suolatiiviste	2,06	1,86	-0,21	0,02	0,04	0,02
18-090152-01	Rasvaton EILA	6,99	7,15	0,16	0,06	0,11	0,05
			Keskiarvo	0,05		Keskiarvo	0,00
			Keskihajonta	0,11		Keskihajonta	0,02
			n	12		n	12

Maito Rton 2018 t-testi

	\bar{d}	Sd	N	t.lask	t.krit
Kuiva-aine	0,05	0,11	12	1,56	2,20
Rasva	0,00	0,02	12	0,30	2,20

OG 2018

Kirjausnu- mero	Näyte	Referenssi kuiva-aine (%)	Smart kuiva- aine (%)	Erotus	Referenssi rasva (%)	Smart rasva (%)	Erotus
18-056467-02	OG gurtti	13,56	13,54	-0,02	0,88	0,88	0,00
18-056467-01	OG gurtti	13,37	13,33	-0,04	0,84	0,86	0,02
18-056467-03	OG gurtti	13,13	13,03	-0,10	0,81	0,86	0,05
18-072687-02	ND1 massa	14,38	14,43	0,05	0,96	0,94	-0,02
18-072687-03	ND1 massa	14,61	14,49	-0,12	0,97	0,97	0,00
18-076167-02	kauragurtti	13,71	13,77	0,06	0,86	0,90	0,04
18-076167-04	kauragurtti	13,94	13,97	0,03	0,76	0,82	0,06
18-076167-01	kauragurtti	13,39	13,39	0,00	0,81	0,83	0,02
18-081767-06	OG gurtti	13,59	13,63	0,04	0,82	0,84	0,02
18-086194-01	OG kaakaojuoma	13,94	13,79	-0,15	1,26	1,25	-0,01
18-086194-02	OG kaakaojuoma	13,70	13,68	-0,02	1,25	1,23	-0,02
18-081767-05	OG kaurajuoma	10,92	10,84	-0,08	1,21	1,23	0,02

			Keskiarvo	-0,03		Keskiarvo	0,02
			Keskihajonta	0,07		Keskihajonta	0,03
			n	12		n	12

OG 2018 t-testi

	\bar{d}	Sd	N	t.lask	t.krit
Kuiva-aine	-0,03	0,07	12	1,37	2,20
Rasva	0,02	0,03	12	2,04	2,20

Vanukas 2018

		Referenssi kuiva-aine (%)	Smart kuiva- aine (%)	Erotus	Referenssi rasva (%)	Smart rasva (%)	Erotus
18-075051-01	Kuppivanukas Tummasuklaa	21,14	21,01	-0,13	1,47	1,39	-0,08
18-075051-02	Kuppivanukas Suklaakookos	20,68	20,82	0,14	1,42	1,37	-0,05
18-075051-03	Kuppivanukas Kermakaramelli	19,47	19,49	0,02	1,41	1,37	-0,04
18-074744-02	SMP EILA, proteiinivanukas	25,37	25,21	-0,16	1,57	1,58	0,01
18-074744-01	SMP, proteiinivanukas	31,00	30,68	-0,32	1,49	1,61	0,12
18-074744-03	SMP EILA Sweet, proteiinivanukas	29,71	29,81	0,10	1,47	1,49	0,02
18-074744-04	MPC, proteiinivanukas	21,15	21,08	-0,07	1,47	1,47	0,00
18-089660-01	Profeel, minttusuklaa	18,28	18,16	-0,12	1,44	1,38	-0,06
18-093138-02	Proteiinivanukas, mokkapala	18,60	18,64	0,04	1,50	1,46	-0,04
			Keskiarvo	-0,06		Keskiarvo	-0,01
			Keskihajonta	0,14		Keskihajonta	0,06
			n	9		n	9

Vanukas 2018 t-testi

	\bar{d}	Sd	N	t.lask	t.krit
Kuiva-aine	-0,06	0,14	9	1,16	2,31
Rasva	-0,01	0,06	9	0,69	2,31

Jogurtti 2018

		Referenssi kuiva-aine (%)	Smart kuiva- aine (%)	Erotus	Referenssi rasva (%)	Smart rasva (%)	Erotus
18-059579-01	Juustoportti jog. Mango	13,00	12,95	-0,05	3,20	3,18	-0,02
18-059579-02	Juustoportti jog. Banaani	13,54	13,65	0,11	3,43	3,45	0,02
18-077127-01	Vad-mustikka kerrosjog, turkkilainen	20,89	20,71	-0,18	3,78	3,80	0,02
18-077173-01	Play Vadelma vähäsokeri- nen	15,63	15,34	-0,29	2,09	2,09	0,00
18-077179-01	Play täyteläinen Persikka	18,71	18,70	-0,01	3,36	3,31	-0,05
18-093623-01	Kreikkalainen jogurtti	15,99	16,07	0,08	4,05	3,96	-0,09
18-093623-05	Kreikkalainen jogurtti	15,72	15,65	-0,07	3,85	3,76	-0,09
18-098706-03	Valio Luomu, mton	12,47	12,34	-0,14	2,40	2,40	0,00
18-098706-01	Valio A+ 2,5%, mton	12,23	12,09	-0,14	2,45	2,46	0,01
18-098706-05	Valiojogurtti, mton	11,45	11,17	-0,28	2,21	2,20	-0,01
18-084250-01	A+ 4%	14,22	13,73	-0,49	3,98	3,88	-0,10
18-094086-01	A+	15	14,72	-0,28	3,8	3,61	-0,19
18-094086-02	A+	13,49	13,08	-0,41	3,73	3,60	-0,13
18-094086-03	A+	14,9	14,50	-0,40	3,84	3,69	-0,15
			Keskiarvo	-0,18		Keskiarvo	-0,06
			Keskihajonta	0,18		Keskihajonta	0,07
			n	14		n	14

Jogurtti 2018 t-testi

	\bar{d}	Sd	N	t.lask	t.krit
Kuiva-aine	-0,18	0,18	14	3,81	2,16
Rasva	-0,06	0,07	14	3,07	2,16

Jogurtti Rton 2018

		Referenssi kuiva-aine (%)	Smart kuiva- aine (%)	Erotus	Referenssi rasva (%)	Smart rasva (%)	Erotus
18-071800-02	A+ Hyla 0,4%	11,00	10,83	-0,17	0,45	0,49	-0,04
18-071800-03	A+ Hyla 0,4%	11,21	11,13	-0,08	0,41	0,41	0,00
18-071800-01	A+ Hyla 0,4%	10,86	10,68	-0,18	0,40	0,44	-0,04
18-094087-03	A+ kreikkalainen rasvaton	12,08	12,36	0,28	0,41	0,41	0,00
18-094087-04	A+ kreikkalainen rasvaton	12,38	12,55	0,17	0,44	0,40	0,04
18-094087-05	A+ kreikkalainen rasvaton	12,15	12,15	0,00	0,97	0,95	0,02
18-094087-06	A+ kreikkalainen rasvaton	12,08	12,21	0,13	0,60	0,68	-0,08

18-098706-04	Valio Eila 0,4%, mton	11,76	11,91	0,15	0,39	0,39	0,00
18-098706-07	Luonto + rasvaton, mton	10,33	10,51	0,18	0,16	0,16	0,01
			Keskiarvo	0,05		Keskiarvo	-0,01
			Keskihajonta	0,16		Keskihajonta	0,04
			n	9		n	9

Jogurtti Rton 2018 t-testi

	\bar{d}	Sd	N	t.lask	t.krit
Kuiva-aine	0,05	0,16	9	1,01	2,31
Rasva	-0,01	0,04	9	0,89	2,31

Rahka Rton 2018

		Referenssi kuiva-aine (%)	Smart kuiva- aine (%)	Erotus	Referenssi rasva (%)	Smart rasva (%)	Erotus
18-080296-01	Rahka, mansikka-raparperi (vanha hillo)	17,95	17,96	0,01	0,13	0,14	0,01
18-080296-04	Rahka, maustamaton	13,86	13,67	-0,19	0,16	0,11	-0,05
18-080296-03	Rahka, kuningatar	18,57	18,34	-0,23	0,16	0,14	-0,02
18-080296-02	rahka, mansikka-raparperi (uusi hillo)	17,65	17,57	-0,08	0,17	0,13	-0,04
18-094127-01	Rahka, maustamaton	13,31	13,12	-0,19	0,15	0,12	-0,03
18-094127-02	Rahka, mansikka-raparperi	17,24	17,12	-0,12	0,16	0,14	-0,02
18-094127-03	Rahka, kuningatar	17,58	17,40	-0,18	0,14	0,11	-0,03
18-099181-01	Rahka, maustamaton	14,27	13,74	-0,53	0,02	0,11	0,09
18-099181-02	Rahka, mansikka-raparperi	17,13	16,78	-0,35	0,13	0,12	-0,01
18-099181-05	Rahka, puolukka-vanilja	17,50	17,29	-0,21	0,12	0,11	-0,01
18-080297-01	Pehmeä rahka, 10% prot	15,74	15,22	-0,52	0,12	0,12	0,00
			Keskiarvo	-0,24		Keskiarvo	-0,01
			Keskihajonta	0,16		Keskihajonta	0,04
			n	11		n	11

Rahka Rton 2018 t-testi

	\bar{d}	Sd	N	t.lask	t.krit
Kuiva-aine	-0,24	0,16	11	4,80	2,23
Rasva	-0,01	0,04	11	0,88	2,23

Mittausepävarmuus

x_s = analyysitulosten hajonta

bias = ero referenssitulosten ja Smart mittaustulosten välillä

S_{bias} = mittaustulosten hajonta

$u(C_{ref})$ referenssituloksen mittausepävarmuus/1,96

$u(R_w)$ = arvio menetelmän satunnaisvirheestä

$u(bias)$ = arvio menetelmän systemaattisesta virheestä

u_c = absoluuttinen mittausepävarmuus (MEV)

U = kaksinkertainen absoluuttinen mittausepävarmuus (2MEV) 95 % luottamustasolla (%-yksikköä)

Maito 2018 kuiva-aineen mittausepävarmuus

X_s	R_s	$U(R_w)$	bias	S_{bias}	$u(C_{ref})$	$u(bias)$	u_c (%-yks)	U (%-yks)
0,063	0,0476	0,063	0,05	0,0478	0,051	0,073	0,096	0,19

Maito 2018 rasvan mittausepävarmuus

X_s	R_s	$U(R_w)$	bias	S_{bias}	$u(C_{ref})$	$u(bias)$	u_c (%-yks)	U (%-yks)
0,019	0,0294	0,035	0,02	0,029	0,026	0,034	0,049	0,10

Maito Rton 2018 kuiva-aineen mittausepävarmuus

X_s	R_s	$U(R_w)$	bias	S_{bias}	$u(C_{ref})$	$u(bias)$	u_c (%-yks)	U (%-yks)
0,026	0,1072	0,110	0,05	0,107	0,051	0,078	0,135	0,27

Maito Rton 2018 rasvan mittausepävarmuus

X_s	R_s	$U(R_w)$	bias	S_{bias}	$u(C_{ref})$	$u(bias)$	u_c (%-yks)	U (%-yks)
0,009	0,0228	0,110	0,00	0,023	0,026	0,026	0,036	0,07

OG 2018 kuiva-aineen mittausepävarmuus

X_s	R_s	$U(R_w)$	bias	S_{bias}	$u(C_{ref})$	$u(bias)$	u_c (%-yks)	U (%-yks)
0,102	0,0691	0,124	0,04	0,069	0,153	0,160	0,202	0,40

OG 2018 rasvan mittausepävarmuus

X_s	R_s	$U(R_w)$	bias	S_{bias}	$u(C_{ref})$	$u(bias)$	u_c (%-yks)	U (%-yks)
0,016	0,0260	0,030	0,02	0,026	0,051	0,055	0,063	0,13

Vanukas 2018 kuiva-aineen mittausepävarmuus

X _s	R _s	U(R _w)	bias	S _{bias}	u(C _{ref})	u(bias)	u _c (%-yks)	U (%-yks)
0,075	0,1445	0,163	0,04	0,145	0,153	0,164	0,231	0,46

Vanukas 2018 rasvan mittausepävarmuus

X _s	R _s	U(R _w)	bias	S _{bias}	u(C _{ref})	u(bias)	u _c (%-yks)	U (%-yks)
0,020	0,0592	0,063	0,04	0,059	0,051	0,067	0,092	0,18

Jogurtti 2018 kuiva-aineen mittausepävarmuus

X _s	R _s	U(R _w)	bias	S _{bias}	u(C _{ref})	u(bias)	u _c (%-yks)	U (%-yks)
0,085	0,1787	0,198	0,14	0,179	0,153	0,214	0,292	0,58

Jogurtti 2018 rasvan mittausepävarmuus

X _s	R _s	U(R _w)	bias	S _{bias}	u(C _{ref})	u(bias)	u _c (%-yks)	U (%-yks)
0,033	0,0676	0,075	0,01	0,068	0,051	0,056	0,094	0,19

Jogurtti Rton 2018 kuiva-aineen mittausepävarmuus

X _s	R _s	U(R _w)	bias	S _{bias}	u(C _{ref})	u(bias)	u _c (%-yks)	U (%-yks)
0,129	0,1562	0,203	0,05	0,156	0,153	0,169	0,264	0,53

Jogurtti Rton 2018 rasvan mittausepävarmuus

X _s	R _s	U(R _w)	bias	S _{bias}	u(C _{ref})	u(bias)	u _c (%-yks)	U (%-yks)
0,031	0,0350	0,046	-0,01	0,035	0,051	0,053	0,071	0,14