

Sanni Tobiasson

# **Härkäpaputuotteen kemialliset analyysit prosessin eri vaiheissa**

Opinnäytetyö

Syksy 2021

SeAMK Ruoka

Insinööri (AMK), Bio- ja elintarviketekniikka

SEINÄJOEN AMMATTIKORKEAKOULU

## Opinnäytetyön tiivistelmä

Koulutusyksikkö: SeAMK Ruoka

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

Suuntautumisvaihtoehto: Elintarviketeknologia

Tekijä: Sanni Tobiasson

Työn nimi: Härkäpapatuotteen kemialliset analyysit prosessin eri vaiheissa

Ohjaaja: Sarita Ventelä

Vuosi: 2021

Sivumäärä: 45

Liitteiden lukumäärä: 2

---

Opinnäytetyön tavoitteena oli tutkia härkäpavun ravinnollisia ominaisuuksia kemiallisten kokeiden avulla sekä kerätä kirjallisuutta härkäpavusta. Toimeksiantajana toimi Seinäjoen ammattikorkeakoulu. Opinnäytetyöstä saatu materiaali menee EQVEGAN-hankkeen käyttöön. Hankkeen tavoitteenam on saada uutta opetusmateriaalia kasvisruokatuotannon opetusta varten.

Näytteinä työssä oli härkäpapatuote sen kolmessa eri prosessivaiheessa. Prosessivaiheet olivat alku-, väli- ja lopputuote. Näytteistä tutkittiin proteiinin, rasvan, kuiva-aineen, tuhkan ja aktiivisen veden määrää. Jokaisesta näytteestä tehtiin yhdeksän määrittystä. Kemialliset analyysit suoritettiin Seinäjoen ammattikorkeakoulun kemian analyysilaboratoriossa.

Tutkimuksissa saatiin selville, että tuotteen ravintoarvot muuttuvat prosessoitaessa. Kokeissa ei suuria eroja tullut samojen näytteiden välille, mutta tuloksia pitää silti tarkastella kriittisesti. Eniten eroja syntyi rasvan määrittämisessä, jossa tulokset vaihtelivat varsinkin näytteessä 3 eli valmiissa tuotteessa. Härkäpapu sisältää runsaasti proteiinia, vähän rasvaa, reilusti kuitua sekä tärkeitä kivennäisaineita.

Teoriaosassa materiaalia kerättiin härkäpavun prosessoinnista ja käytöstä maailmalla kuten myös Suomessa. Suomen kannalta keskityttiin kaupoista löytyviin tuotteisiin, kun taas maailman tilannetta katsottiin härkäpavun käytön perusteella. Opinnäytetyössä tehtävät analyysit käytiin läpi teoreettisesti.

Asiasanat: härkäpapu, elintarvikeprosessi, kemiallinen analyysi

SEINÄJOKI UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

## **Thesis abstract**

Faculty: SeAMK Food and Agriculture

Degree programme: Bachelor of Engineer (AMK), Food Processing and Biotechnology

Specialisation: Food technology

Author: Sanni Tobiasson

Title of thesis: Chemical Analyses of a Broad Bean Product at Different Stages of the Process

Supervisor: Sarita Ventelä

Year: 2021      Number of pages: 45      Number of appendices: 2

---

The aim of the thesis was to study the nutritional values of broad bean with the use of chemical experiments and to collect literature on broad bean. The client of the study was Seinäjoki University of Applied Sciences. The material obtained through the study will be used by the EQVEGAN project. The aim of the project is to create new material for vegetarian food production education.

The sample to be studied was a broad bean product in its three different process stages. Process stages were primary, intermediate and final product. The samples were examined for protein, fat, dry matter, ash and active water content. Nine determinations were performed on each sample. Chemical analyzes were performed at the Chemistry Analysis Laboratory of Seinäjoki University of Applied Sciences.

The studies showed that the nutritional value of a product changes during the process. There were no major differences between the same samples in the study, but the results still need to be viewed critically. The greatest differences were in the determination of fat, where the results varied especially in the finished product. Broad beans are rich in protein, low in fat, high in fiber, and also important minerals.

In the theoretical part, material was collected on the processing and use of broad beans around the world and in Finland. From Finland's point of view, the focus was on the products found in stores, while the world situation was examined on the basis of the use of broad beans. The chemical analyzes used in the thesis were reviewed in theory.

Keywords: Broad bean, food process, chemical analyses

## SISÄLTÖ

Opinnäytetyön tiivistelmä .....	2
Thesis abstract .....	3
SISÄLTÖ .....	4
Kuva-, kuvio- ja taulukkoluettelo.....	6
Käytetyt termit ja lyhenteet .....	8
1 JOHDANTO .....	9
1.1 Työn tausta .....	9
1.2 Työn tavoitteet .....	9
1.3 Työn rakenne .....	10
2 HÄRKÄPAPU .....	11
2.1 Härkäpavun ominaisuudet .....	11
2.2 Härkäpavun käyttö maailmalla.....	12
2.3 Härkäpavun käyttö Suomessa.....	13
3 HÄRKÄPAVUN PROSESSOINTI .....	15
4 HÄRKÄPAVUN KEMIALLISET ANALYYSIMENETELMÄT .....	18
4.1 Proteiinin määrittäminen Kjeldahl-menetelmällä.....	18
4.1.1 Poltto.....	18
4.1.2 Tislaus .....	18
4.1.3 Titraus.....	19
4.1.4 Proteiinipitoisuuden laskeminen .....	19
4.2 Rasvapitoisuuden määrittäminen Mojonnier-menetelmällä .....	20
4.3 Kuiva-ainepitoisuuden määrittäminen.....	21
4.4 Aktiivisen veden määrittäminen $a_w$ -mittarilla .....	21
4.5 Tuhkapitoisuuden määrittäminen.....	22
5 KOKEELLINEN OSIO .....	24
5.1 Proteiinin määrittäminen .....	25
5.2 Rasvapitoisuuden määrittäminen.....	26
5.3 Kuiva-ainepitoisuuden määrittäminen.....	26
5.4 Aktiivisen veden määrittäminen $a_w$ -mittarilla .....	27
5.5 Tuhkapitoisuuden määrittäminen.....	28

6	TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU .....	31
6.1	Proteiini .....	31
6.2	Rasva .....	33
6.3	Kuiva-aine .....	34
6.4	Aktiivinen vesi .....	37
6.5	Tuhka .....	38
7	JOHTOPÄÄTÖKSET JA POHDINTA .....	41
	LÄHTEET .....	42
	LIITTEET .....	45

## Kuva-, kuvio- ja taulukkoluettelo

Kuva 1. Härkäpavun palko.....	11
Kuva 2. Härkäpavun prosessointitavat. ....	15
Kuva 3. Härkäpapunäytteet 1, 2 ja 3. ....	24
Kuva 4. Näytteet ennen (vasemmalla) ja jälkeen (oikealla) polttojen. ....	25
Kuva 5. Näytteitä lämpöhauteessa. ....	26
Kuva 6. Näyte 2 vasemmalla märkänä ja oikealla kuivana.....	27
Kuva 7. Aw-mittauksen näytteet. ....	28
Kuva 8. Muhveliuuni. ....	29
Kuva 9. Muhveliuuniin pöllähtäneet näytteet. ....	29
Kuva 10. Tuhkatut näytteet.....	30
Kuva 11. Näytteiden muutokset titrauksessa. Kuvassa vasemmalta näyte 1, näyte 2 ja näyte 3. ....	32
Kuva 13. Näytteitä 2 ja 3 kuivattuna. ....	36
Kuva 14. Näytteen tuhkauksesta saatu tuhka. ....	40
Kuvio 1. Proteiinin määrä.....	32
Kuvio 2. Rasvan määrä. ....	34
Kuvio 3. Kuiva-aineen määrä.....	35
Kuvio 4. Aktiivisen veden määrä.....	38
Kuvio 5. Tuhkan määrä.....	39

Taulukko 1. Esimerkkejä arvoissa kasvavista mikro-organismeista. ....	22
Taulukko 2. Proteiinin määrittämisen tulokset. ....	31
Taulukko 3. Rasvan määrittämisen tulokset. ....	33
Taulukko 4. Kuiva-aine määrittämisen tulokset. ....	35
Taulukko 5. Aw-määrittämisen tulokset. ....	37
Taulukko 6. Tuhkan määrittämisen tulokset. ....	39

## Käytetyt termit ja lyhenteet

### **Eksikaattori**

Astia, joka on suunniteltu näytteiden säilytykseen ja kuivana pitämiseen. Tiivis rakenne suojaa näytteitä ilman kosteudelta ja kontaminaatioilta. Astian pohjalla on kuivausmassaa, joka imee kosteuden itseensä.

### **Kivennäisaineet**

Kivennäisaineet jäävät tuhkaan, kun esimerkiksi ruoka poltetaan. Kivennäisaineet jaetaan makrokivennäisiin (esim. kalsium ja magnesium) ja mikrokivennäisiin (esim. rauta ja sinkki). Kivennäisaineita tarvitaan mm. kudosten rakennusaineeksi, kudosten paineen säätelyyn ja hormonien säätelyyn.



# 1 JOHDANTO

## 1.1 Työn tausta

Opinnäytetyön toimeksiantajana toimi Seinäjoen ammattikorkeakoulu (SeAMK). Opinnäytetyö on osa kansainvälistä EQVEGAN-hanketta. Hanke on osa Erasmus+-ohjelmaa. Hanke alkoi joulukuussa 2020 ja sen olisi tarkoitus päättyä marraskuussa 2023. Hanketta koordinoidaan Portugalista ja mukana on 11 maata Euroopasta. Mukana hankkeessa on eri maiden korkeakouluja, järjestöjä, viranomaisia sekä elintarviketurvallisuusliittoja. (SeAMK 2021.) Samaan hankkeeseen tehtiin toista opinnäytetyötä samaan aikaan. Työskentelimme yhdessä laboratoriossa ja teimme opinnäytetöitä rinnakkain.

Kasvispohjainen ruokavalio on yleistynyt kuluttajien keskuudessa. Kasvisperäisten tuotteiden kysyntä ja käyttö on kasvanut, mutta teknologinen kehitys ja koulutus ei ole pysynyt muutoksen mukana. Hankkeen tavoitteena on saada uusia opetusmateriaaleja kasvisruokatuotannon opetusta varten. Tarkoituksena on kehittää uutta innovatiivista koulutusta, laadunvarmistusta, sertifioivintia ja ohjeita. (SeAMK 2021.)

Opinnäytetyöhön kuuluu käytännön osa, jossa suoritettiin viisi kemiallista analyysiä. Analyyseissä määritettiin tuotteiden proteiinipitoisuus Kjeldahl-menetelmällä, rasvapitoisuus Mojonnier-menetelmällä, aktiivisen veden määrä, kuiva-aineen määrä sekä kivennäisaineiden määrää tuhkapitoisuuden määrittämisellä. Näytteenä oli härkäpaputuote sen kolmessa eri prosessin vaiheessa: alkutuote eli kuivattu härkäpapu, härkäpaputuotteen välivaihe ja valmis tuote. Opinnäytetyön kokeellinen osa suoritettiin Seinäjoen ammattikorkeakoulun kemian analyysilaboratoriossa maaliskuussa 2021.

## 1.2 Työn tavoitteet

Tässä työssä härkäpapua tutkittiin yleisesti, tarkasteltiin härkäpavun prosessoitavuutta ja käytettävyyttä sekä kemiallisten kokeiden avulla perehdyttiin härkäpavun ravinnollisiin ominaisuuksiin. Markkinatilanteeseen perehdyttiin tutkimalla, millaisia

härkäpaputuotteita on tarjolla kuluttajille Suomessa ja maailmalla. Opinnäytetyön tavoitteena oli tutkia, millainen härkäpavun ravintosisältö on sekä miten härkäpavun ravinnolliset ominaisuudet muuttuvat härkäpapua prosessoitaessa. Opinnäytetyön on tarkoitus toimia materiaalin lähteenä kasvisruokatuotannon opetusmateriaalien kehittämisessä.

### **1.3 Työn rakenne**

Opinnäytetyö koostuu seitsemästä luvusta. Luvussa kaksi tarkastellaan härkäpavun ominaisuuksia ja historiaa sekä sitä, kuinka härkäpapu rantautui Suomeen. Luvussa käydään läpi myös härkäpavun käyttötarkoituksia kotimaassa sekä muualla maailmassa. Yleisesti tutustutaan härkäpapua käyttäviin tuotteisiin ja resepteihin. Syvemmin luvussa pohditaan Suomen markkinatilannetta sekä tarkastellaan kaupoista löytyviä tuotteita. Härkäpavun prosessointiin ja prosessien vaikutukseen keskitytään luvussa kolme. Luvussa käsitellään yleisimmät prosessointimuodot ja miksi ne ovat tärkeitä lopputuotteen kannalta. Luku neljä esittelee teoriassa opinnäytetyössä olevat kemialliset analyysit. Luvussa viisi keskitytään siihen, kuinka kemialliset analyysit suoritettiin ja millaisia onnistumisia ja ongelmia niitä tehdessä kohdattiin. Luku viisi pohjautuu omaan kerrontaan analyysien suorittamisesta. Tuloksia käydään läpi luvussa kuusi. Tässä luvussa pohditaan tuloksien paikkaansa pitävyyttä ja vertaillaan tuloksia jo olemassa oleviin tutkimuksiin. Luvussa pohditaan myös tuloksien luotettavuutta, sekä pohditaan tuloksiin vaikuttaneita asioita. Viimeisessä luvussa seitsemän käydään läpi opinnäytetyön johtopäätökset. Luvussa tarkastellaan myös opinnäytetyötä kokonaisuudessa.

## 2 HÄRKÄPAPU

Härkäpapu on yksi maailman vanhimmista viljelykasveista. Härkäpapu on kotoisin Itä-Aasiasta, josta se on tullut Etelä-Eurooppaan rautakauden aikana. Pohjois-Eurooppaan härkäpapu levittyi roomalaisten sekä katolisten munkkien tuomina. Suomen ensimmäiset maininnat ovat vuodelta 1234, jolloin härkäpavun viljelijöille määrättiin vero. 1700-luvulla herne otti valtaa ja härkäpavun viljely kohdistui Karjalaan, jossa sitä on viljelty yhtäjaksoisesti pisimpään. 1960-luvulla härkäpavun viljelyn suosio nousi taas. 2000-luvulla härkäpapua on pääsääntöisesti viljelty Varsinais-Suomessa, Pirkanmaalla, Uudellamaalla ja Kaakkois-Suomessa. (Lassila 2007, 18.)

### 2.1 Härkäpavun ominaisuudet

Härkäpapu (*Vicia faba*) on palkokasvi, joka ei nimestään huolimatta ole papu. Härkäpapu kuuluu virnojen (*Vicia*) sukuun ja hernekasvien heimoon. Härkäpapu kasvaa 50–100 cm korkeaksi. Sen lehtihankoihin kehittyy ensin kukkia ja myöhemmin 10–15 cm pitkiä palkoja, joissa härkäpavun siemenet ovat. (Kekkilä, [viitattu 28.1.2021].) Kuvassa 1 on härkäpavun palko avattuna. Kuvasta näkee, kuinka härkäpavun siemenet kasvavat muokaten palkoa.



Kuva 1. Härkäpavun palko. (Käyttäjätunnus: johndavi.)

Härkäpapu kasvaa aurinkoisella kasvupaikalla. Kasvumaan tulisi olla ravinteikasta, vettä pitävää ja syvämultaista. (Kekkilä, [viitattu 28.1.2021].) Härkäpavun yksi suu-

rimmista eduista on sen hyvät viljelyominaisuudet muihin palkokasveihin verrattaessa. Härkäpavulla on kyky kasvaa monenlaisissa ilmasto- ja maaperäolosuhteissa. Sillä on myös ominaisuus sitoa itseensä ilmakehän tyypeä juurisolmukkeiden symbioosissa *Rhizobium*-bakteerin kanssa. Tämä vähentää tarvittavien keinotekoisien lannoitteiden määrää. (L'Hocine ym. 2020, 28.) Kasvin juuret ulottuvat syvälle maaperään, josta se ottaa tarvittavat ravinteet. Juuristo muodostaa huokosverkoston, joka parantaa maaperän ilmavuutta. Härkäpapu sopii hyvin maankiertyön maaperän laadun parantamiseksi. (Kekkilä, [viitattu 28.1.2021].)

Härkäpavulla on hyvät ravinnolliset ominaisuudet. Se sisältää runsaasti proteiinia, hitaasti imeytyviä hiilihydraatteja, kuitua ja kivennäisaineita. Sillä on myös kolesterolia alentava vaikutus. (Härkäpapu 2016.) Tuore härkäpapu sisältää proteiinia 8,8 g, hiilihydraatteja 13,1 g, rasvaa 0,6 g, energiaa 102 kcal ja kuitua 4,2 g (Fineli, [viitattu 11.5.2021]).

## 2.2 Härkäpavun käyttö maailmalla

Maailmalla härkäpapua tuotetaan eniten Kiinassa ja Etiopiassa. Muita suuria tuottajamaita ovat Australia, Iso-Britannia ja Saksa. Ympäri maailmaa härkäpapua käytetään monissa ruokalajeissa sekä eläinten ravintona. Härkäpavulla on myös tärkeä tehtävä maaperän parantajana useissa maissa. (Merga, Egigu, & Wakgari 2019.) Härkäpapua käytetään niin kotitalouksissa kuin teollisuudessakin. Yleisimmin härkäpapu haudutetaan, keitetään tai paistetaan.

Kiina tuottaa maailman kaikesta härkäpavusta yli 30 %. Kiinassa härkäpapua käytetään pääosin tuoreena, mutta myös paahdetut härkäpavut ovat suuressa suosiossa. Paahdettuja härkäpapua maustetaan mitä erilaisimmilla mausteilla. Härkäpavusta valmistetaan myös kuuluisaa doubanjiang-tahnaa, jossa härkäpapu on pääraaka-aineena. Härkäpapujen annetaan fermentoitua, jonka jälkeen siihen lisätään muut raaka-aineet. Parhaimpien tahnojen annetaan fermentoitua jopa vuosia. Kiinassa on muitakin tunnettuja annoksia, joissa pääraaka-aineena on härkäpapu. (Loh 2018.)

Etiopiassa härkäpapu on yksi maan tärkeimmistä kasveista. Sillä on tärkeä rooli ravitsemuksellisessa ja ympäristöllisessä merkityksessä. Se on monen köyhän tärkein proteiinin lähde. Härkäpavulla saadaan korvattua lihan käyttö, sillä siitä saadaan kaikki tarvittavat ravinteet. (Merga, Egigu, & Wakgari 2019.)

Härkäpapu on pääraaka-aine etiopialaisessa Ful medames -annoksessa. Se on aamiaisannos, jossa maustettuja ja soseutettuja härkäpapuja tarjoillaan tomaatin, kananmunan, jalapenojen ja fetan kanssa. Annosta valmistetaan myös Egyptissä ja Lähi-Idässä, mutta maiden versiot eroavat hieman etiopialaisesta versiosta. (Ethiopian ful medames, [viitattu 11.10.2021].)

### **2.3 Härkäpavun käyttö Suomessa**

Härkäpavun suurin etu Suomessa on sen kotimaisuus. Sen avulla on saatu korvattua esimerkiksi soijan käyttöä. Härkäpapu raaka-aineena on tullut tutummaksi suomalaisille sekä tuotteiden saatavuus Suomessa on kasvanut. Tähän ovat vaikuttaneet suuresti uudet innovaatiot. Kuitenkin Suomessa härkäpavun kuluttajamarkkinat koostuvat pääosin yhden yrityksen tuotteista. Kauppojen valikoimista löytyy myös pienempien yritysten tuotteita sekä eri verkkosivuilta voi tilata tuotteita pienyrityksiltä.

Suomessa suurimman osan härkäpaputuotteista valmistaa kauhavalainen Verso Food, joka on osa Raisio-konsernia. Yritys alkoi kehittämään tuotteita kotimaisesta härkäpavusta vuonna 2010. Tuotekehityksen tulokset tulivat kauppoihin vuonna 2016, jolloin he lanseerasivat Härkis®-tuotteet. Vuonna 2019 tuli kauppoihin yrityksen seuraavat hittituotteet, Beanit® Härkäpapusuikaleet. Yritys myös vie tuotteitaan ulkomaille. (Yrityksemme, [viitattu 9.5.2021].)

Verso Food valmistaa härkäpavusta sekä maustamattomia että maustettuja käyttövalmiita rouheita ja suikaleita ruuanlaittoon. Heidän tuotteistaan löytyy myös laaja valikoima erilaisia valmisaterioita. Härkäpaputuotteita löytyy myös kuivattuna granolana ja rouheseoksena. (Tuotteemme, [viitattu 9.5.2021].)

Pienemmät yritykset valmistavat laaja-alaisesti tuotteita härkäpavuista. Härkäpapua on saatavilla esikypsytettynä, jauhona, pastana, kuivattuna, granolana, rouheena ja

murskana. Härkäpapua on käytetty myös makeisen raaka-aineena esimerkiksi lakritsissa ja suklaassa.

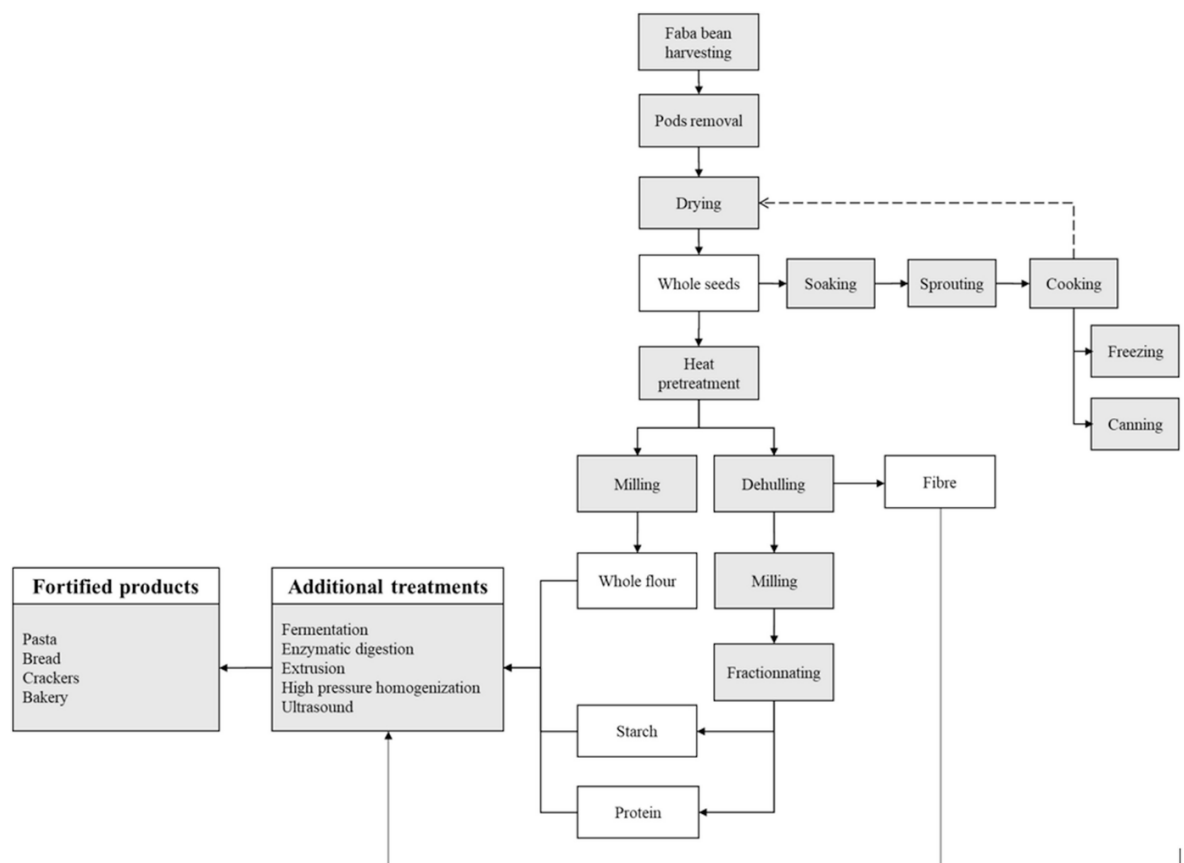
Suomalainen yritys Tarhurin papu Oy on myös tehnyt oman menestyneen innovaation härkäpavusta. Yritys valmistaa käyttövalmiita fermentoituja härkäpaputuotteita ravintoloihin, lounaskeittiöihin, julkiselle ruokahuollolle ja cateringtoimijoille. Esimerkiksi Kotipizzojen pizzoista voi löytää tämän tuotteen. (Kankaansydän 2019; Tarhurin Papu, [viitattu 23.5.2021].)

Tuotetta lähdettiin suunnittelemaan muutama vuosi sitten. Sopivan valmistustavan ja bakteerikannan etsiminen vei pari vuotta. Lopuksi saatiin tuote, jonka koostumus muistuttaa hieman jauhelihaa. Tuote on käsittelemättömänä pehmeä ja kostea, mutta kuumentamalla sitkistyy lihamaiseksi. Tuotteessa on vahva umamin maku. (Kankaansydän 2019; Tarhurin Papu, [viitattu 23.5.2021].)

### 3 HÄRKÄPAVUN PROSESSOINTI

Härkäpapua täytyy käsitellä ennen syömistä. Sitä ei voi syödä sellaisenaan sillä ne sisältävät ihmisille haitallisia aineita kuten proteaasi-inhibiittoreita, lektiinejä, visiiniä ja konvisiinia. Myös tanniinit ja oligosakkaridit niin sanotut papusokerit voivat häiritä joidenkin ihmisten ruoansulatusta. Tämän takia kaikki ruoaksi käytettävä härkäpapu tulee kypsentää. (Rokka ym. 2018, 12.)

Härkäpapua voidaan prosessoida monella tapaa ja hyödyntää läpi vuoden. Siitä voidaan esimerkiksi tehdä jauhoa, säilykkeitä, proteiinivalmisteita, leipää ja pastaa. Kuviossa 2 esiteltynä, kuinka härkäpavun prosessointi etenee ja millaisiksi lopputuotteiksi se päättyy. (L'Hocine ym. 2020, 29-31.)



Kuva 2. Härkäpavun prosessointitavat (L'Hocine ym. 2020, 30.)

Härkäpapu voidaan korjata jo hieman epäkypsänä ja myydä sellaisenaan. Tällöin säilyvyys on kuitenkin huono. Useimmiten härkäpavun sato korjataan kypsänä, kun se on ravintorikkaimmillaan. Tämän jälkeen härkäpavut kuivataan ja varastoidaan.

Kuivaustekniikoita on monenlaisia. Tehokas ja edullinen tapa kuivata härkäpapu on ilmasuspensiokuivaus, jossa alta tuleva lämmin ilmavirta kuivaa härkäpavun siemenet. Siementen kosteutta tulee tarkkailla kuivauksen aikana. Optimaalinen kosteus varastointiin on alle 14 % 25 celsiusasteen lämpötilassa. Liiallinen kosteus voi vaikuttaa makuun ja laatuun sekä täysin pilata siemenet varastoinnin aikana. (L'Hocine ym. 2020, 29-31.)

Kuivattujen härkäpapujen liotus on tärkeää, jotta vesi palautuu uudelleen härkäpapuun. Liotus vähentää siementen kovuutta, vähentää kypsennysaikaa sekä parantaa kypsennetyn tuotteen laatua ja tekstuuria. (L'Hocine ym. 2020, 31.) Kuivia härkäpapuja on hyvä liottaa ennen keittämistä noin 8 - 12 tuntia. Silti kypsennykseen tarvitaan melko pitkä aika. Tuoreita papuja ei välttämättä tarvitse liottaa eikä niiden kypsennys tarvitse yhtä paljon aikaa. Tuoreet härkäpavut voidaan säilöä myös pakastamalla. Tällöin härkäpapuja tulisi keittää muutaman minuutin ennen pakastamista (Rokka ym. 2018, 12-13.)

Idättämistä käytetään ravintoarvojen ja aistinvaraisten ominaisuuksien parantamiseksi. Tämä voi myös vähentää pilaantumiseriskiä ja käsittelyaikaa. Idättäminen tapahtuu liotuksen jälkeen pimeässä ja kosteissa olosuhteissa noin 24-72 tuntia. Itäminen ei muunna ravintoaineiden sisältöä, mutta muokkaa härkäpavun rakennetta kuten tärkkelyksen pilkkoutumista. Idättämisellä on myös huomattu olevan vaikutusta mineraalien imeytymiseen. Idättämisen jälkeen härkäpapu kypsennetään. (L'Hocine ym. 2020, 31.)

Erilaisilla kuumennusmetodeilla saadaan parannettua lopullisen tuotteen makua, ravinnollisia ominaisuuksia sekä koostumusta. Keittäminen on proteiinin ja tärkkelyksen pilkkoutumisen kannalta tärkeää. Myrkyllisiä yhdisteitä saadaan vähennettyä keittämällä siemeniä tunnin ajan 95 ° C:ssa. Optimaalista keittoaikaa ei ole, vaan se pitää määrittää jokaiselle tuotteelle erikseen. Keittämällä voidaan parantaa myös



säilykkeiden säilyvyyttä. Lisäämällä EDTA tai NaCl-liuosta keittoveteen pidennetään säilykkeiden ikää, vaikuttamatta kuitenkaan koostumukseen. (L'Hocine ym. 2020, 33.)

Paahtamista ja mikroaaltomenetelmää käytetään ennen kuivajauhatusta. Paahtaminen tapahtuu yli 100 ° C: ssa. Mikroaaltouunin voimakkuutena käytetään 950 wattia ja aikana 1,5 minuuttia. Molemmilla tekniikoilla saadaan vähennettyä myrkyllisiä yhdisteitä, parannettua ravinnollisia ominaisuuksia sekä lopputuotteen laadullisia ominaisuuksia. Mikroaaltouunikäsittelyn etuja on sen tehokas prosessi, mutta haittana on epätasainen laatu. (L'Hocine ym. 2020, 33-34.)

Jauhettua härkäpapua käytetään sellaisenaan tai sitä lisätään proteiinin, tärkkelyksen ja kuidun lähteenä muihin tuotteisiin. Siemenet voidaan jauhaa suoraan tai yllä olevien käsittelyjen jälkeen. Siemenistä pystytään jauhatuksessa erottamaan tärkkelys, proteiini ja kuitu osat. Tämä tehdään joko märkä- tai kuivafraktiointiprosesseissa riippuen halutuista ominaisuuksista. (L'Hocine ym. 2020, 34-38.)

Erotetuilla osilla pystytään parantamaan tietyn tuotteen määriteltyjä ominaisuuksia kuten proteiini- tai kuitupitoisuutta. Tämä ei ole kuitenkaan täysin ongelmaton, sillä lisätty jauho saattaa vaikuttaa joillekin suolistohäiriöitä. Myös lopputuotteen rakenne voi muuttua merkittävästi. (Härkäpapua hapattamalla 2018.) Jauhojen fermentoinnilla on myös katsottu olevan hyviä ominaisuuksia ravinnollisten ominaisuuksien ja yksittäisten osien parantamisessa (L'Hocine ym. 2020, 34-38).

Fermentoinnilla katsotaan olevan muitakin etuja. Esimerkiksi härkäpavusta syntyviä vatsavaivoja ei näyttäisi syntyvän fermentoimisen avulla. Fermentoinnilla myös härkäpapua saadaan käsiteltyä lisäämättä siihen juurikaan muita aineita. Prosessointivaiheet jäävät myös minimaalisiksi. Fermentointi on vanha tapa säilöä elintarvikkeita. Se perustuu hapattamiseen maitohappobakteereilla. Bakteerit pilkkovat hiilihydraatteja orgaanisiksi hapoiksi ja muiksi käymistuotteiksi. Fermentoinnin avulla härkäpavun ravintoaineet säilyvät hyvin. (Ervasti 2017; Kankaansydän 2019).

## 4 KHÄRKÄPAVUN KEMIALLISET ANALYYSIMENETELMÄT

### 4.1 Proteiinin määrittäminen Kjeldahl-menetelmällä

Kjeldahl-menetelmää käytetään typpiyhdisteiden pitoisuuksien määrittämiseen. Tanskalainen kemisti Johan Kjeldahl kehitti kjeldahl-menetelmän 1800-luvulla. Työskennellessään Carlsbergin olutpanimon laboratoriossa hänen tehtävänä oli löytää nopea ja helposti toistettava keino typen määrittämiseen. Menetelmän avulla pystyttäisiin määrittämään viljan jyvien proteiinipitoisuus. Kjeldahl-menetelmään kuuluu kolme osaa: poltto, tislauk ja titraus. Poltto on näistä kaikkein tärkein ja haastavin osuus. (Persson 2008, 11.)

#### 4.1.1 Poltto

Polton tarkoituksena on hajottaa näytteen orgaaninen typpi ammoniumioneiksi. Rikkihappo hapettaa orgaanisen aineen hiilidioksidiksi, vedeksi ja ammoniakiksi. Hiilidioksidi, vesi ja rikkihappo haihtuu polton aikana pois. Ammoniakki sitoutuu ammoniumsulfaatiksi rikkihappoliuoksessa. (Typen ja proteiinin määrittäminen.)

Poltoissa hajottamiseen käytetään rikkihappoa. Rikkihappoa käytettäessä kiehumispiste nousee 338 asteeseen. Kiehumispisteen nostamiseksi käytetään suolaa (Kalium  $K_2SO_4$ ) ja katalyyttia (Kupari  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ), jotta kaikki ainesosat hajoavat, poltto nopeutuu ja tehostuu. (Persson 2008, 18.)

#### 4.1.2 Tislauk

Näytteen tulee jäähtyä ennen tislaukta. Tämän jälkeen näyte laimennetaan vedellä. Tislauksen aikana ammoniumionit muuttuvat ammoniakiksi lisäämällä natriumhydroksidia. Ammoniakki johdetaan höyryn avulla vastaanottoastiassa olevaan boorihappoon, johon ammoniakki sitoutuu. (Nitrogen determination [Viitattu 29.3.2021], 3.)

### 4.1.3 Titraus

Titraukseen voidaan käyttää kahta menetelmää: takaisin titrausta tai suoraa titrausta. Titraustyyppin valinta riippuu valitusta vastaanottoliuoksesta. (Labconco 1998, 5.)

Suorassa titrauksessa boorihappo-ammoniakki titrataan suolahapolla. Titrausta jatketaan värinmuutokseen asti. Kulutetun hapon avulla lasketaan typen määrä, joka muutetaan raakaproteiiniksi valitun kertoimen avulla. (Labconco 1998, 5.)

Takaisin titrauksessa vastaanottoliuoksena käytetään rikkihappoliuosta. vastaanottoliuoksessa olevan hapon alhaisen määrän takia väri ei muutu. Rikkihappoliuos titrataan tunnetulla emäksellä värin muutokseen asti. (Labconco 1998, 5.)

### 4.1.4 Proteiinipitoisuuden laskeminen

Proteiinipitoisuuden laskentaan käytetään seuraavia kaavoja: (Typen ja proteiinin määrittäminen.)

Typen määrä lasketaan kaavasta 1

$$m = M \cdot c \cdot V \quad (1)$$

missä

m = typen määrä, mg

M = typen atomimassa, 14 mg/mmol

c = suolahapon konsentraatio, 0,1 mmol/ml

V = suolahapon kulutus - nollanäytteen kulutus

Typen määrä prosentteina lasketaan kaavasta 2

$$\% \text{typpeä} = \frac{\text{typen määrä (mg)}}{\text{näytteen paino (mg)}} \cdot 100 \quad (2)$$

Näytteen proteiinipitoisuus lasketaan kaavasta 3

$$\text{Proteiini \%} = \text{typpeä \%} \cdot \text{muuntokerroin } 6,25 \quad (3)$$

Muuntokerroin perustuu olettamukseen, että elintarvikkeiden proteiinit sisältävät 16 % typpeä. Tällöin  $100 / 16 = 6,25$ . *Elintarviketieto-opas elintarvikevalvojille ja elintarvikealan toimijoille* mukaan proteiinin määrä lasketaan käyttämällä kaavaa proteiini = Kjeldahl-kokonaistyyppi  $\times$  6,25.

#### 4.2 Rasvapitoisuuden määrittäminen Mojonnier-menetelmällä

Mojonnier-menetelmä perustuu rasvan uuttamiseen. Liuottimien avulla rasva uuteaan. Liuotin haihdutetaan pois, jonka jälkeen rasva kuivataan ja punnitaan. Määrittämisessä käytetään vahvaa HCL-happoa ja etanolia. Uuttamiseen käytetään dietyyli- ja petroolieetteriä sekä niiden sekoitusta. (Nielsen 2017, 125.)

Mojonnier-menetelmässä etanoli toimii hyytymisen estäjänä. Etanoli myös auttaa erottelemaan eetteri-vesifaasin. Vahva HCL-happo liuottaa rasvahappoja näytteestä. Dietyyli- ja petroolieetteriä käytetään rasvan uuttamiseen liuoksesta. Eetterit toimivat lipidiliuottimina. Petroolieetteri myös vähentää veden liukoisuutta eetterifaasiin. (Nielsen 2017, 125-126.)

Rasvan määrä lasketaan kaavasta 4

$$x = \frac{(a-b)}{c} * 100 \quad (4)$$

missä

x = Näytteen rasvapitoisuus, g/100 g

a = kuivan näytteen + erlenmeyerin massa, g

b = erlenmeyerin massa, g

c = punnitun näytteen massa, g

### 4.3 Kuiva-ainepitoisuuden määrittäminen

Kuiva-ainepitoisuuden määrittäminen perustuu kosteuden haihtumiseen näytteestä. Haihtuttamisen jälkeen jäljelle jää vain kuiva sisältö. Elintarvikkeissa olevat ravintoaineet ovat osa kuiva-ainepitoisuutta. (Nennich 2019.)

Kuiva-ainepitoisuuden määrittäminen tapahtuu lämpökaappimenetelmällä. Näytettä kuivataan lämpökaapissa 60-130 °C:ssa tuntien ajan, riippuen näytteestä. Näytteistä saattaa veden lisäksi haihtua öljyjä, lyhytketjuisia rasvahappoja, etikkahappo, etanoli sekä sokerit saattavat hajota. Nämä voivat vaikuttaa lopputulokseen. Kuivauksen lopputulokseen voi myös vaikuttaa esimerkiksi ilmankosteus, näytteiden lukumäärä ja punnitusastian muoto. Veden haihtumista voidaan edistää lisäämällä näytteen sekaan kvartsihiekkaa tai etanolia. Menetelmä on helppo ja edullinen, mutta luotettavan tuloksen saamiseksi tarvitsee työtapojen standardointia. (Mattila ym. 2001, 46-48.)

Kuiva-aineen määrä ilmoitetaan prosentteina määrän massan painosta.

Kuiva-ainepitoisuus lasketaan kaavasta 5 (Nennich 2019.)

$$x = \frac{(k-c)}{m} * 100 \quad (5)$$

missä

x = kuiva-aineen määrä, %

k = kuivan näytteen + astian paino, g

c = astian paino, g

m = alkuperäisen näytteen paino, g

### 4.4 Aktiivisen veden määrittäminen $a_w$ -mittarilla

Aktiivisen veden eli  $a_w$ -arvon määrittäminen perusteella pystytään päättämään elintarvikkeen mikrobiologinen pilaantuvuus sekä kemiallinen ja fysikaalinen vakaus.  $A_w$ -arvolla kerrotaan, kuinka paljon vettä on sitoutumattomana elintarvikkeessa. Ei

halutut mikro-organismit pääsevät käyttämään sitoutumatonta vettä, joka voi olla vaikuttavana tekijänä elintarvikkeen pilaantumiselle.

Veden aktiivisuusarvo vaihtelee välillä 0.0 - 1.0. Taulukossa 1 esiteltynä missä elintarvikkeissa mitkään mikro-organismit kasvavat ja millaisella  $A_w$ -arvolla. Mitä enemmän sitoutumatonta vettä elintarvikkeessa on, sitä helpommin se pilaantuu. Arvon ollessa lähellä nollaa, on vesi sitoutuneena elintarvikkeeseen eikä vapaata vettä juuri ole. Elintarvikkeella on tällöin pitkä säilymisaika. Veden aktiivisuuden ollessa lähellä yhtä, on elintarvikkeessa paljon sitoutumatonta vettä, joten tuote on helposti pilaantuva. Puhtaan veden  $a_w$ -arvo on yksi. (Levi 2016.)

Taulukko 1. Esimerkkejä arvoissa kasvavista mikro-organismeista. (Levi 2016.)

<b><math>A_w</math>-arvo</b>	<b>Mikro-organismeja</b>	<b>Ruokia tällä välillä</b>
<b>1.00 - 0.95</b>	E. coli-, Bacillus-, Clostridium perfringens-bakteerit sekä jotkut hiivat	maito, liha, kala, vihannekset
<b>0.95 - 0.91</b>	Salmonella, Clostridium botulinum, jotkut hiivat	juusto, leipä, kinkku
<b>0.91 - 0.87</b>	Useimmat hiivat	mehutiivisteet, hillot, siirapit, hyytelöt
<b>0.87 - 0.80</b>	Useimmat homeet	salami, margariini
<b>0.80 - 0.75</b>	halofiiliset bakteerit	marmeladi, marsipaani
<b>0.75 - 0.65</b>	osa homeista	kuivatut hedelmät, pähkinät, välipalapatukat
<b>0.65 - 0.60</b>	osa hiivoista	toffeet, karkit, hunaja
<b>0,60 - 0,00</b>	Ei mikrobista lisääntymistä	kuivattu pasta, murot, riisi, jauhot

#### 4.5 Tuhkapitoisuuden määrittäminen

Tuhkapitoisuudella kuvataan näytteen kivennäisainepitoisuutta. Tuhkapitoisuutta selvitetessä elintarvikemassasta poltetaan kaikki orgaaninen aine pois. Jäljelle jää

vain näytteen epäorgaaninen osa. Määrityksen avulla saadaan selville elintarvikkeen ravinteellisia, mikrobiologisia ja laadullisia ominaisuuksia. Tuhkapitoisuuden voi määrittää märkä- tai kuiva tuhkaamisella. (Käyttäjätunnus: Selvaprakashnavaneethan 2017.)

Kuivatuhkaamisessa näytettä poltetaan muhveliunissa noin 600 °C. Vesi haihtuu näytteestä pois ja jäljelle jäävä osa palaa. Kuivatuhkaamisen huonona puolena on näytteiden mahdollinen vaurioituminen palamisprosessin aikana, joka saattaa johtaa virheellisiin tuloksiin. (Käyttäjätunnus: Selvaprakashnavaneethan 2017.)

Kosteatusuhkaamista käytetään pääasiassa tiettyjen mineraalianalyysi näytteiden valmisteluun. Tämä rikkoo mineraalien ympärillä olevaa rakennetta, jättäen mineraalit vesiliuokseen. Kosteatusuhkaamisessa näytettä punnitaan astiaan, jossa on happoja ja hapettimia. Tämän jälkeen näytettä kuumennetaan, kunnes orgaaninen aine on täysin rikkoutunut. Kuumennuksen lämpötilana käytetään useimmiten noin 350 °C ja aikaa kuluu 10 minuutista pariin tuntiin. (Käyttäjätunnus: Selvaprakashnavaneethan 2017.)

Tuhkapitoisuus on määritetty laskemalla elintarvikkeen tuhkapitoisuus prosentteina.

Tuhkan määrä lasketaan kaavasta 6 (Tuhkan määrittäminen elintarvikkeesta, Viitattu 9.5.2021.)

$$x = \frac{(a-d)}{(b-d)} * 100 \quad (6)$$

missä

x = Näytteen tuhka %, g/100 g

a = upokkaan ja tuhkan massa, g

b = upokkaan ja näytteen massa, g

c = tyhjän upokkaan massa, g

## 5 KOKEELLINEN OSIO

Näytteinä oli kuivattu härkäpapu, härkäpaputuotteen välivaihe ja valmis tuote. Jokaisesta näytteestä oli kolme rinnakkaisnäytettä eli yhteensä yhdeksän näytettä. Kaikista rinnakkaisnäytteistä tehtiin kolme rinnakkaismäärittystä. Näytteiden tuotetta tai nimeä ei tulla enempää avaamaan tässä opinnäytetyössä.

Tuotteista härkäpaputuotteen välivaihe sekä valmis tuote olivat pakastettuina. Näytteet murskattiin sileäksi massaksi morttelissa kokeita varten.  $A_w$ -mittaukseen käytettiin näistä alkuperäisessä koostumuksessa olevaa tuotetta, joka murskattiin sormin näytekuppiin. Kuivattu härkäpapu jauhettiin kahvimyllyllä hienoksi jauhoksi. Jauhoa säilytettiin kuivassa paikassa tiiviissä rasiassa. Kuivatun härkäpavun osalta kaikki kokeet suoritettiin jauholla.

Näyte 1 on kuivattu härkäpapu, näyte 2 on härkäpaputuotteen välivaihe ja näyte 3 on valmis tuote. Töitä esitettäessä puhutaan tuotteista nimillä näyte 1, 2 ja 3. Kuvassa 3 kuvattuna näytteet alkuperäisessä muodossaan. Vasemmalla näyte 1, keskellä näyte 2 ja oikealla näyte 3.



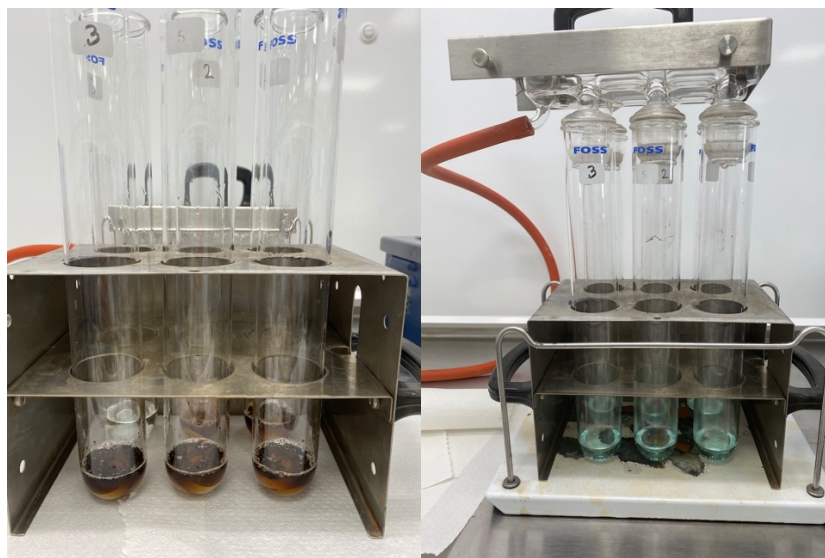
Kuva 3. Härkäpapunäytteet 1, 2 ja 3.



## 5.1 Proteiinin määrittäminen

Kjeldahl-poltot tehtiin Seinäjoen ammattikorkeakoulun kemian töiden ohjeen mukaan. Ohje opinnäytetyön lopussa liitteenä 1. Ohjeesta poiketen käytettiin katalyytin ja suolan tilalla kjeldahl-tabletteja. Tabletit olivat VWR Chemicalsin kjeldahl-tabletteja. Yksi tabletti sisältää kaliumsulfaattia 3,5 g ja kuparisulfaattia 0,4 g. Näitä tabletteja laitettiin yhteen polttoputkeen kaksi kappaletta.

Alussa tehtiin harjoitusnäytteillä kokeiluja laitteella ja samalla määritettiin tableteilla polttoon tarvittava aika. Näytteitä poltettiin yksi tunti. Tämä määritettiin tarkkailemalla värienvaihdosta poltossa. Väriin tuli muuttua tummasta sinertäväksi / vihertäväksi ja kirkkaaksi. Kuvassa 4 näkyy, kuinka väri on muuttunut polton aikana tummasta kirkkaaksi.



Kuva 4. Näytteet ennen (vasemmalla) ja jälkeen (oikealla) polttojen.

Koe suoritettiin yhdeksän kertaa. Jokaisella kerralla saatiin viisi tulosta yhdestä näytteestä. Saaduista tuloksista kolme valittiin vertailuun.

Poltot suoritettiin maaliskuussa 2021. Haasteena alussa oli polttolaitteen toimivuus. Laite ei annostellut tislaukseen käytettävää NaOH-liuosta vaan tislauksiliuos jouduttiin annostelemaan käsin alussa. Tälläkään tavalla ei saatu paikkaansa pitäviä tuloksia. Lopulta laite saatiin kuntoon. Laitteen toimivuus tarkistettiin tekemällä määriksiä tuotteilla, joiden proteiinipitoisuus tiedettiin ennalta. Tislaukseen käytettiin 35% NaOH-liuosta.

Liuoksia ei tehty jokaiselle työkerralle uusia, vaan sitä mukaan, kun vanhat kuluivat, valmistettiin uusia liuoksia.

## 5.2 Rasvapitoisuuden määrittäminen

Kokeet suoritettiin liitteessä 2 olevalla ohjeella. Koe suoritettiin yhdeksän kertaa. Jokaisella kerralla samaan aikaan tehtiin kolmea määrittystä samasta näytteestä, samassa altaassa (kuva 5).



Kuva 5. Näytteitä lämpöhauteessa.

Liuoksia ei tehty jokaiselle työkerralle uusia, vaan sitä mukaa kun vanhat kuluivat, valmistettiin uusia liuoksia.

## 5.3 Kuiva-ainepitoisuuden määrittäminen

Kuiva-ainepitoisuus määritettiin kuivattamalla näytteitä lämpökaapissa. Näytteitä kuivatettiin 105 °C:ssa lämpökaapissa neljä tuntia. Näyteastioiden painot vakioitiin ensin kuumentamalla niitä uunissa 105 °C:ssa, jonka jälkeen astiat jäähdytettiin eksikaattorissa ennen punnitsemista.

Näytteitä punnittiin astiaan noin 5 grammaa. Tämän jälkeen näytteet laitettiin lämpökaappiin neljäksi tunniksi kuivumaan. Kuivaamisen jälkeen näytteet laitettiin eksikaattoriin puoleksi tunniksi jäähtymään ennen punnitsemista. Näyte muuttui huomattavasti kuivauksen aikana (kuva 6), joten kuivumista oli helppo seurata.

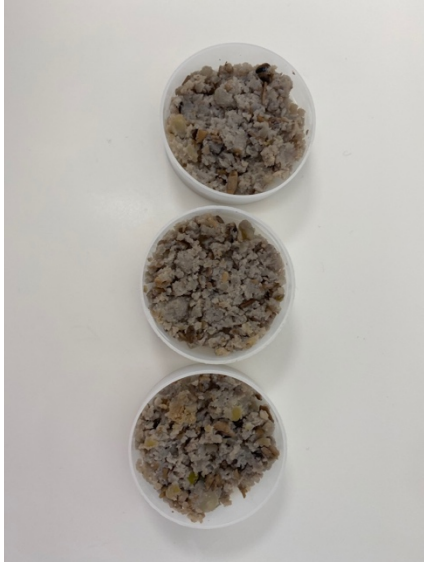


Kuva 6. Näyte 2 vasemmalla märkänä ja oikealla kuivana.

Näytteiden kuivaamiseen käytettävä aika todettiin kuivaamalla näytettä ensin neljä tuntia, jonka jälkeen näyte jäähdytettiin ja punnittiin. Tämän jälkeen näytettä kuivatettiin uudelleen puoli tuntia lämpökaapissa, jonka jälkeen tehtiin jäähdytys eksikaattorissa ja punnitus. Punnitustuloksesta tarkasteltiin, oliko paino muuttunut. Kuivaus olisi suoritettu niin monta kertaa, että paino ei enää olisi laskenut tai paino olisi lähtenyt nousemaan. Minkään näytteen kohdalla näin ei tapahtunut, vaan kaikille näytteille riitti neljän tunnin kuivaus. Tarkastus suoritettiin vain, kun näytettä kuivatettiin ensimmäistä kertaa.

#### **5.4 Aktiivisen veden määrittäminen aw-mittarilla**

Aktiivisen veden määrä mitattiin Novasinan LabMaster-analysaattorilla. Näytteiden annettiin lämmitä huoneenlämpöön ennen mittaamista. Mitattavaa näytettä murennettiin sormilla pyöreään muoviseen mittausastiaan. Mittausastia täytettiin silmämääräisesti noin puolilleen (kuva 7).



Kuva 7. Aw-mittauksen näytteet.

Tämän jälkeen astia asetettiin laitteen mittauskammioon ja laitteen kansi suljettiin. Laite tasasi lämpötilan mittauksessa 25 °C:een. Kun mittaus oli valmis, laite ilmoitti mittaukseen kestäneen ajan ja tuloksen.

### 5.5 Tuhkapitoisuuden määrittäminen

Tuhkapitoisuus määritettiin polttamalla näytettä muhveliuunissa 4 tuntia 600 °C:ssa. Näyteastioiden painot vakioitiin ensin kuumentamalla niitä uunissa 600 °C:ssa, jonka jälkeen astiat jäähdytettiin eksikaattorissa ennen punnitsemista. Kuvassa 8 uuni, jossa tuhkan määritykset tehtiin.



Kuva 8. Muhveliuuni.

Näytteelle 2 ja 3 tuhkaus suoritettiin samalla tavalla. Näytteitä punnittiin astiaan noin 5 grammaa. Tämän jälkeen näytteet laitettiin uuniin neljäksi tunniksi tuhkautumaan. Tuhkaamisen jälkeen näytteet laitettiin eksikaattoriin puoleksi tunniksi jäähtymään ennen punnitsemista.

Jauhettua härkäpapua eli näytettä 1 punnittiin astiaan noin 3 grammaa, sillä ensimmäisellä kerralla näytteet pöllähtivät uuniin (kuva 9).



Kuva 9. Muhveliuuniin pöllähtäneet näytteet.

Näyte 1 laitettiin uuniin, kun uuni ei ollut vielä täysin lämmennyt, noin 10 minuuttia uunin päälle laittamisesta. Tarkoituksena oli estää näytteiden palaminen ja pölläh-

täminen uuniin. Näytteet saivat lämmetä pikkuhiljaa tarvittavaan lämpötilaan ja eivät ne näin ollen palaneet ja pöllähtäneet uuniin. Polttoon käytetty kokonaisaika pysyi kuitenkin samana kuin muilla näytteillä.

Uunin tavoitelämpötila oli 600 °C. Uunin lämpötilaa pystyi säätämään, mutta ei tarkastamaan uunin todellista lämpötilaa. Tästä syystä tarkkaa lämpötilaa näytteiden uuniin laittamisesta ei tiedetä eikä sitä vaihteliko uunin lämpötila tuhkauksen aikana. Uunin annettiin lämmetä puoli tuntia ennen näytteiden laittamista uuniin, jonka jälkeen näytteet olivat uunissa neljä tuntia. Tämän jälkeen näytteet jäähdytettiin eksikaattorissa ja punnittiin.

Näytteiden tuhkaamiseen käytettävä aika todettiin tuhkaamalla näytettä ensin neljä tuntia, jonka jälkeen näyte jäähdytettiin ja punnittiin. Kuvassa 10 tuhkatut näytteet. Tämän jälkeen näytettä tuhkattiin uudelleen puoli tuntia muhveliuunissa, jonka jälkeen tehtiin jäähdytys eksikaattorissa ja punnitus. Punnitustuloksesta tarkasteltiin, oliko paino muuttunut. Tuhkaus olisi suoritettu niin monta kertaa, että paino ei enää olisi laskenut tai paino olisi lähtenyt nousemaan. Minkään näytteen kohdalla näin ei tapahtunut, vaan kaikille näytteille riitti neljän tunnin tuhkaus. Tarkastus suoritettiin vain, kun näytettä tuhkattiin ensimmäistä kertaa.



Kuva 10. Tuhkatut näytteet.

## 6 TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU

Näyte 1 on kuivattu härkäpapu, näyte 2 on härkäpaputuotteen välivaihe ja näyte 3 on valmis tuote. Tuloksia esitettäessä puhutaan tuotteista nimillä näyte 1, 2 ja 3.

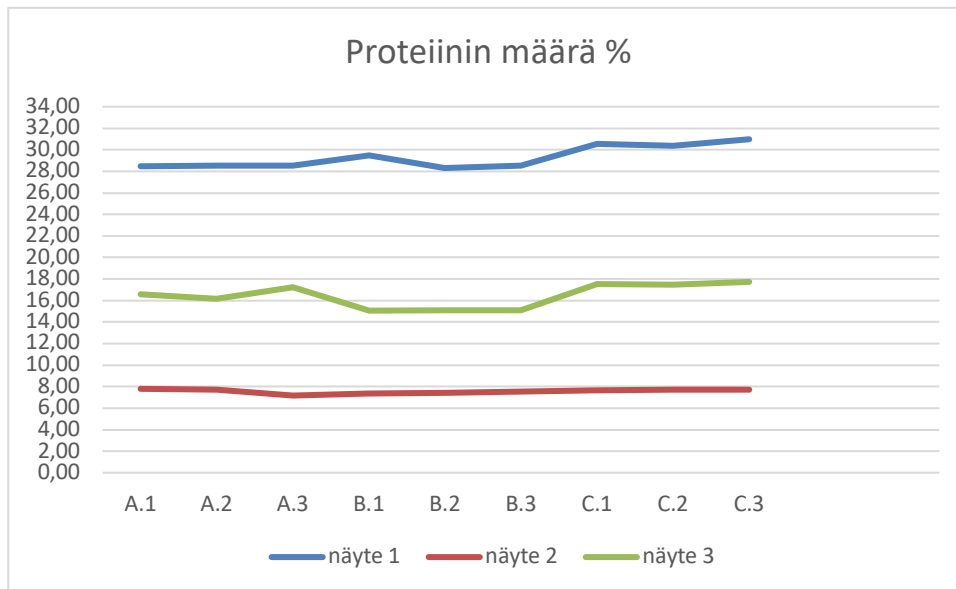
### 6.1 Proteiini

Taulukossa 2 on esitelty proteiinin määrittämisestä saadut tulokset.

Taulukko 2. Proteiinin määrittämisen tulokset.

Näyte 1	Proteiinin määrä %	Näyte 2	Proteiinin määrä %	Näyte 3	Proteiinin määrä %
1A.1	<b>28,5</b>	2A.1	<b>7,8</b>	3A.1	<b>16,6</b>
1A.2	<b>28,5</b>	2A.2	<b>7,7</b>	3A.2	<b>16,2</b>
1A.3	<b>28,6</b>	2A.3	<b>7,2</b>	3A.3	<b>17,3</b>
1B.1	<b>28,9</b>	2B.1	<b>7,3</b>	3B.1	<b>15,1</b>
1B.2	<b>27,7</b>	2B.2	<b>7,4</b>	3B.2	<b>15,1</b>
1B.3	<b>27,9</b>	2B.3	<b>7,5</b>	3B.3	<b>15,1</b>
1C.1	<b>30,5</b>	2C.1	<b>7,6</b>	3C.1	<b>17,5</b>
1C.2	<b>30,4</b>	2C.2	<b>7,7</b>	3C.2	<b>17,5</b>
1C.3	<b>31,0</b>	2C.3	<b>7,7</b>	3C.3	<b>17,7</b>
keskiarvo	<b>29,1</b>	keskiarvo	<b>7,6</b>	keskiarvo	<b>16,4</b>

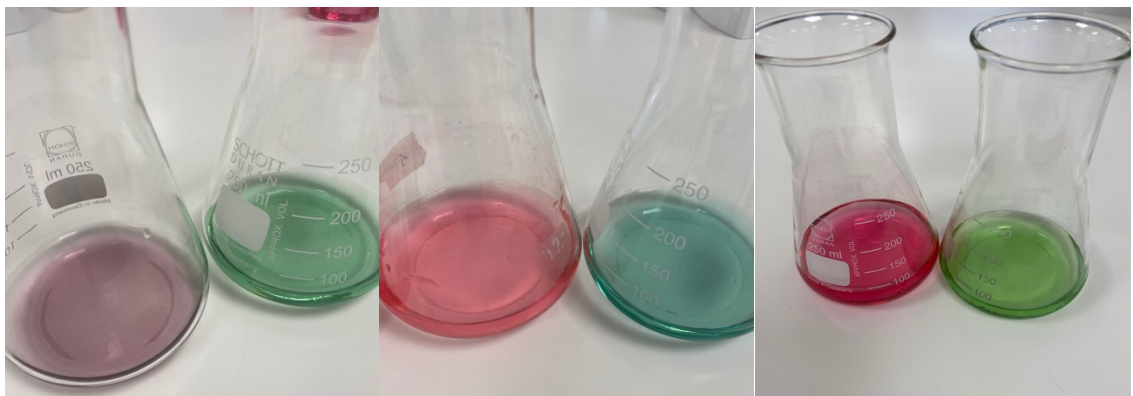
Näytteen 1 keskiarvoksi saatiin 29,1 % proteiinia. Tulokset ovat linjassa finelistä saamien tulosten mukaan. Finelin mukaan kuivatun härkäpapuruheen proteiinipitoisuus on 28,5 g / 100 g. Mattilan ym. (2018, 110) mukaan kuivattu härkäpapu sisältää 31,2 %. *Määrä* on määritetty Kjeldahl- menetelmällä. Näytteen 2 keskiarvoksi saatiin 7,6 %. Prosessointi on siis vaikuttanut ja hävittänyt osan tuotteen proteiinista. Näytteen 3 keskiarvoksi määritettiin 16,4 %.



Kuvio 1. Proteiinin määrä.

Kuvio 1 osoittaa hyvin, kuinka proteiinin määrä vaihtelee tuotteen eri prosessointi vaiheissa. Kuvaajasta näkee, kuinka paljon vaihtelua tuloksissa on saman näytteen kesken. Näytteellä 2 ei vaihtelua juuri ole. Näytteellä 1 on pieni notkahdus ja pienimmän ja suurimman tuloksen ero on 3,3. Näytteen 3 B näytteet ovat pienemmät kuin A ja C näytteiden tulokset. Näytteellä kolme pienimmän ja suurimman tuloksen ero on 2,7. Suuria vaihteluja ei saman näytteen rinnakkaisnäytteillä kuitenkaan ole. Rinnakkaisnäytteet olivat eri eristä, joten pieniä vaihteluja eri erien välillä voi ilmentua.

Eri prosessin vaiheiden välillä syntyi värieroja. Alla olevassa kuvassa 11 esiteltynä näytteiden välillä syntyneitä värieroja. Värit vaihtelivat eri punertavan ja vihertävän sävyjen välillä. Vihreä näyte on ennen titrausta ja punainen titrauksen jälkeen.



Kuva 11. Näytteiden muutokset titrauksessa. Kuvassa vasemmalta näyte 1, näyte 2 ja näyte 3.



Laboratoriotulosten perusteella tuotteen proteiinipitoisuus vaihtelee tuotteen prosessoinnin eri vaiheissa. Eniten proteiinia sisältää näyte 1 eli lähtötuote. Vähiten taas prosessin välivaiheessa oleva näyte 2. Tuloksista saa selvän käsityksen mikä proteiinipitoisuus milläkin tuotteella on missäkin prosessinvaiheessa. Kokeet onnistuivat hyvin ja ovat saman suuntaisia.

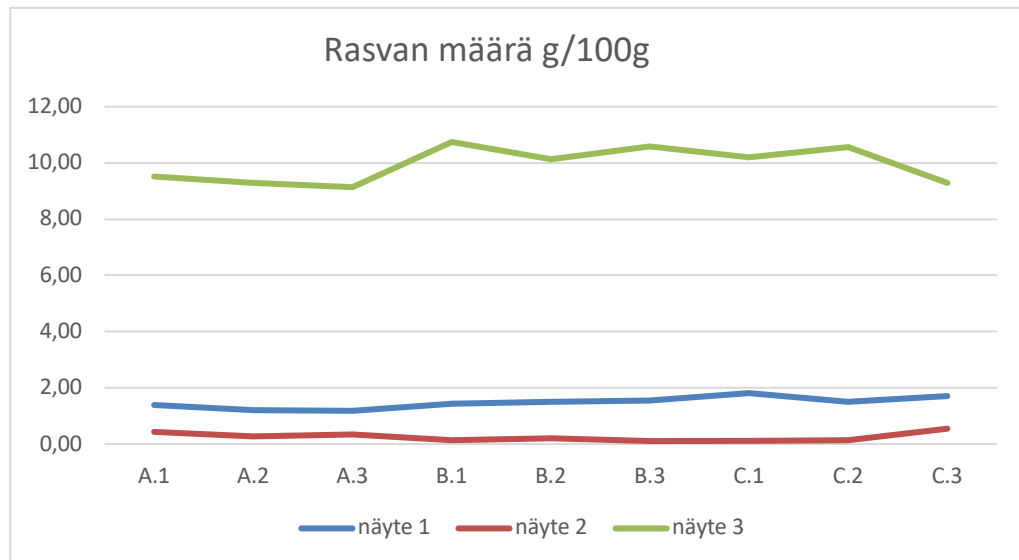
## 6.2 Rasva

Taulukossa 3 on esitetty rasvan määrittämisestä saadut tulokset.

Taulukko 3. Rasvan määrityksen tulokset.

Näyte 1	Rasvan määrä	Näyte 2	Rasvan määrä	Näyte 3	Rasvan määrä
1A.1	1,4	2A.1	0,4	3A.1	9,5
1A.2	1,2	2A.2	0,3	3A.2	9,3
1A.3	1,2	2A.3	0,4	3A.3	9,1
1B.1	1,4	2B.1	0,1	3B.1	10,8
1B.2	1,5	2B.2	0,2	3B.2	10,1
1B.3	1,6	2B.3	0,1	3B.3	10,6
1C.1	1,8	2C.1	0,1	3C.1	10,2
1C.2	1,5	2C.2	0,2	3C.2	10,6
1C.3	1,7	2C.3	0,6	3C.3	9,3
keskiarvo	1,5	keskiarvo	0,3	keskiarvo	9,9

Näytteen 1 keskiarvoksi saatiin 1,5 g / 100 g. Finelin mukaan samantapaisen tuotteen rasvan määrä on 1,9 g /100 g. Tulosten vaihteluväli on 0,6. Näytteen 2 keskiarvo on 0,3 g /100 g. Suurimman ja pienimmän tuloksen ero on 0,4. Näyte 2 sisältää vähiten rasvaa, kun taas näyte 3 sisältää eniten rasvaa ja sen keskiarvoksi saatiin 9,9 g /100 g. Tulosten vaihteluväli on 1,6. Tällä näytteellä on suurin vaihteluväli. Kuviosta 2 saa käsityksen, kuinka näytteen 3 tulokset vaihtelivat.



Kuvio 2. Rasvan määrä.

Rasvan määrittämisessä eroja syntyi jonkin verran. Varsinkin näytteellä 3. Jotta tuloksia voitaisiin pitää luotettavina tulisi osa kokeista suorittaa uudelleen. Erot voivat syntyä pienistä asioista. Näin pienillä tuloksilla punnitustulosten tarkkuus on todella tärkeää. Vesihautteet eivät myöskään lämmittäneet jokaista kohtaa täysin samalla tavalla, joten näytteiden haihdutuksessa on saattanut olla eroja. Liuokset ja eetterit myös vaihtuivat kokeita tehdessä. Myös mitattaessa liuoksia ja eettereitä käytettiin mittaamiseen vain mittalasi tarkkuuta.

Tuloksista saa kuitenkin kuvan siitä, kuinka rasvan määrä vaihtelee prosessin eri vaiheissa. Prosessoitaessa tuotetta rasvaa häviää, mutta lopputuotteeseen on kuitenkin oletettavasti lisätty rasvaa, sillä siinä rasvan määrä on lisääntynyt. Yleisesti ottaen härkäpapu on kuitenkin hyvin vähärasvainen tuote. Rasvan määrää määritettiin vain Mojonnier-menetelmällä. Jollakin toisella menetelmällä tulokset voisivat olla tarkempia.

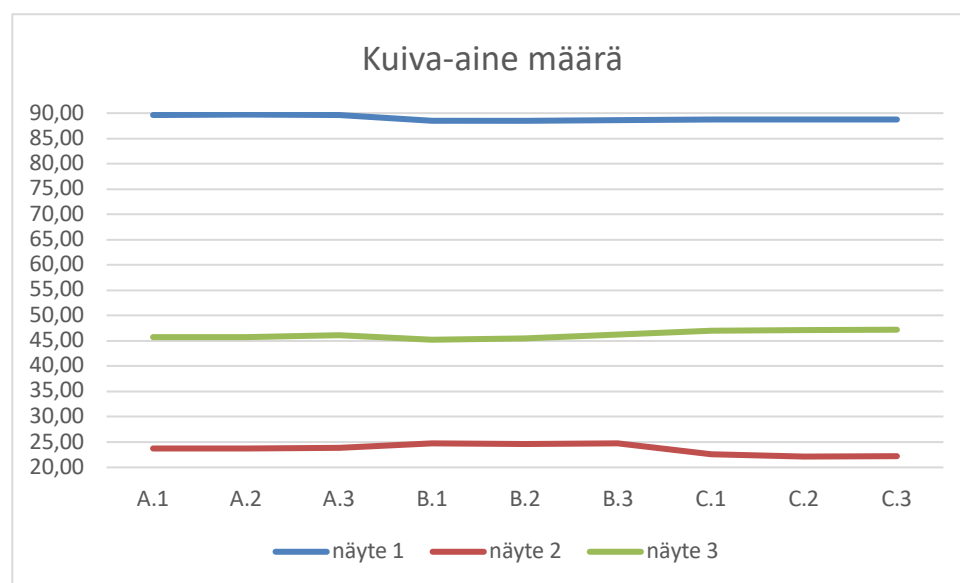
### 6.3 Kuiva-aine

Taulukossa 4 esitelty kuiva-aineen määrittämisestä saadut tulokset.

Taulukko 4. Kuiva-aine määrittelyn tulokset.

Näyte 1	Kuiva-aine %	Näyte 2	Kuiva-aine %	Näyte 3	Kuiva-aine %
1A.1	<b>89,6</b>	2A.1	<b>23,7</b>	3A.1	<b>45,8</b>
1A.2	<b>89,7</b>	2A.2	<b>23,8</b>	3A.2	<b>45,7</b>
1A.3	<b>89,7</b>	2A.3	<b>23,9</b>	3A.3	<b>46,1</b>
1B.1	<b>88,5</b>	2B.1	<b>24,7</b>	3B.1	<b>45,2</b>
1B.2	<b>88,5</b>	2B.2	<b>24,6</b>	3B.2	<b>45,4</b>
1B.3	<b>88,6</b>	2B.3	<b>24,8</b>	3B.3	<b>46,3</b>
1C.1	<b>88,8</b>	2C.1	<b>22,5</b>	3C.1	<b>47,0</b>
1C.2	<b>88,8</b>	2C.2	<b>22,1</b>	3C.2	<b>47,2</b>
1C.3	<b>88,8</b>	2C.3	<b>22,3</b>	3C.3	<b>47,2</b>
keskiarvo	<b>89,0</b>	keskiarvo	<b>23,6</b>	keskiarvo	<b>46,2</b>

Näytteen 1 keskiarvoksi saatiin 89,0 %. Tulosten vaihteluväli on 1,2. Mattilan ym. (2018, 110) mukaan kuivatun härkävavun kosteuspiitoisuus on 11,9 %. Tällöin ajatellen kuiva-ainepitoisuus olisi 88,1 %, joka on samaa suuruusluokkaan saatujen tulosten mukaan. Näytteellä 2 keskiarvo on 23,6 % ja vaihteluvälillä 2,2. Näytteen 3 keskiarvo on 46,2 % vaihteluvälillä 2,0.



Kuvio 3. Kuiva-aineen määrä.

Saman näytteen tulokset ovat samaa suuruusluokkaa. Pieniä vaihteluja kuitenkin löytyy. Suurin vaihtelu on näytteellä 2, jossa pienin tulos on 22,1 % ja suurin 24,6 %. Saman näytteen eri määrittelyillä kuitenkin tulokset ovat hyvin lähellä toisiaan esimerkiksi kaikki näytteen 2C tulokset ovat noin 22 % kuiva-ainetta. Näyte 2 on selkeästi kostein näytteistä, kun taas näyte 1 on kuivin. Koska näyte 2 on kostein, oletus on, että siihen lisätään kosteutta prosessin aikana. Näin tuote saa tarvittavan koostumuksen lopputuotetta ajatellen.



Kuva 12. Näytteitä 2 ja 3 kuivattuna.

Samaan aikaan lämpökaapissa saatettiin kuivata monia eri näytteitä. Kaappia välillä avattiin, kun sinne lisättiin tai otettiin pois kuivattavia astioita tai näytteitä. Kuvassa 13 esiteltynä kuivattuja näytteitä 2 ja 3. Kuvassa vasemmalla näyte 3 ja oikealla näyte 2. Näytteet ovat kuivattu samaan aikaan. Kuivatuissa näytteissä 2 ja 3 ei juuri näy eroja, sillä molemmat näytteet olivat kosteita ja kuivattuina näyttävät samalta. Lämpökaapin avaaminen saattoi vaikuttaa tuloksiin, sillä kaapin lämpötila laski ja

kaapissa oleva ilmankosteus saattoi muuttua. Kaapissa kuivattiin samaan aikaan muitakin näytteitä sekä töissä käytettäviä astioita.

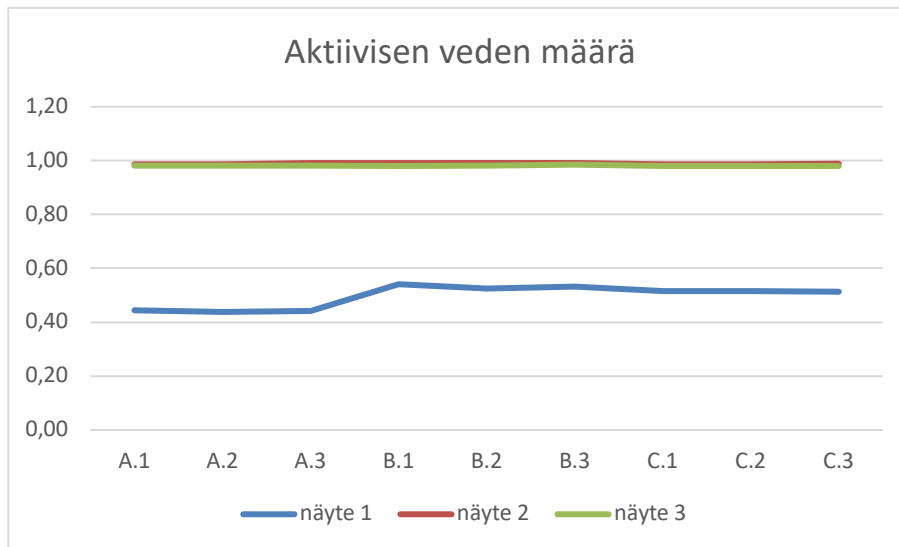
#### 6.4 Aktiivinen vesi

Aktiivisen veden määrä on esitetty alla olevassa taulukossa 5.

Taulukko 5. Aw-määrittelyn tulokset.

Näyte 1	AW-määrä	Näyte 2	AW-määrä	Näyte 3	AW-määrä
1A.1	<b>0,45</b>	2A.1	<b>0,99</b>	3A.1	<b>0,98</b>
1A.2	<b>0,44</b>	2A.2	<b>0,99</b>	3A.2	<b>0,98</b>
1A.3	<b>0,44</b>	2A.3	<b>0,99</b>	3A.3	<b>0,98</b>
1B.1	<b>0,54</b>	2B.1	<b>0,99</b>	3B.1	<b>0,98</b>
1B.2	<b>0,53</b>	2B.2	<b>0,99</b>	3B.2	<b>0,98</b>
1B.3	<b>0,53</b>	2B.3	<b>0,99</b>	3B.3	<b>0,99</b>
1C.1	<b>0,52</b>	2C.1	<b>0,99</b>	3C.1	<b>0,98</b>
1C.2	<b>0,52</b>	2C.2	<b>0,99</b>	3C.2	<b>0,98</b>
1C.3	<b>0,51</b>	2C.3	<b>0,99</b>	3C.3	<b>0,98</b>
keskiarvo	<b>0,50</b>	keskiarvo	<b>0,99</b>	keskiarvo	<b>0,98</b>

Näytteelle 1 keskiarvoksi saatiin 0,5. Tämä tarkoittaa sitä, että tuotteella ei ole paljon vapaata vettä ja näin ollen sillä on hyvä säilyvyys. Näytteen 2 keskiarvoksi saatiin 0,99. Näytteen 3 keskiarvo on 0,98. Molemmat tuotteet ovat siis helposti pilaantuvia.



Kuvio 4. Aktiivisen veden määrä.

Kuviosta näkee kuinka samantapaisia näytteiden tulokset ovat. Ainut vaihtelu on näytteellä 1A, mutta siinäkin rinnakkaismääritykset ovat saman suuruisia. Näytteet tulivat eri eristä, joten tästä syystä on voinut tulla eriäviä tuloksia. Näytteiden 2 ja 3 tulokset eivät vaihdelleet toisistaan.

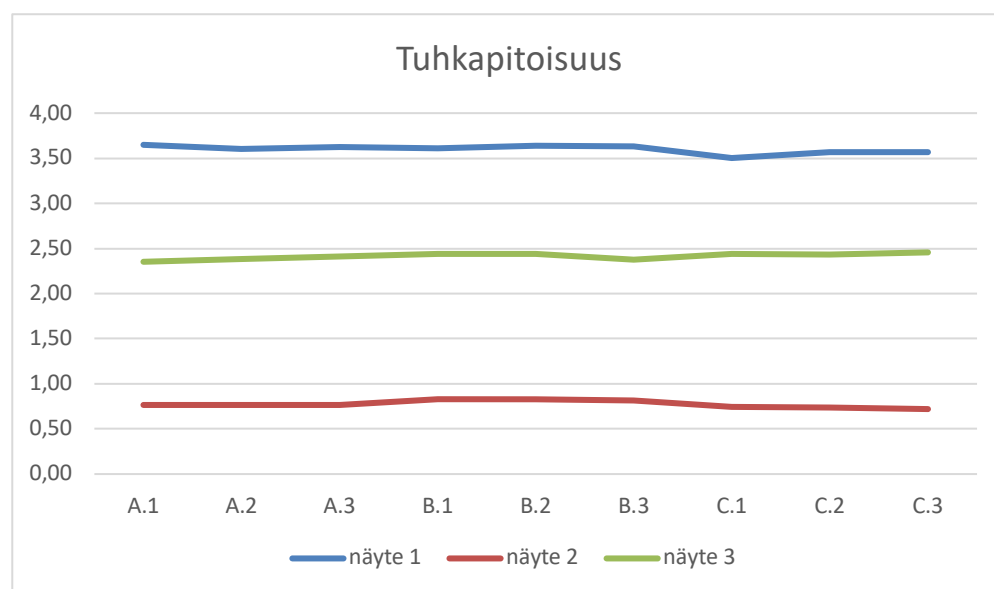
## 6.5 Tuhka

Taulukossa 6 esiteltynä tuhkan määrittämisestä saadut tulokset.

Taulukko 6. Tuhkan määrittämisen tulokset.

Näyte 1	Tuhkapi- toisuus	Näyte 2	Tuhkapi- toisuus	Näyte 3	Tuhkapi- toisuus
1A.1	3,7	2A.1	0,8	3A.1	2,4
1A.2	3,6	2A.2	0,8	3A.2	2,4
1A.3	3,6	2A.3	0,8	3A.3	2,4
1B.1	3,6	2B.1	0,8	3B.1	2,4
1B.2	3,6	2B.2	0,8	3B.2	2,4
1B.3	3,6	2B.3	0,8	3B.3	2,4
1C.1	3,5	2C.1	0,7	3C.1	2,4
1C.2	3,6	2C.2	0,7	3C.2	2,4
1C.3	3,6	2C.3	0,7	3C.3	2,5
keskiarvo	3,6	keskiarvo	0,8	keskiarvo	2,4

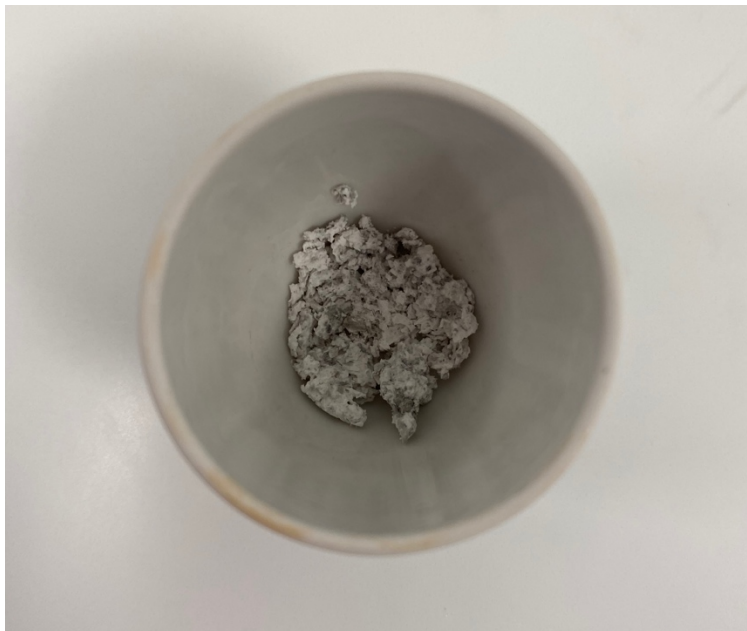
Tuhkapiitoisuuden keskiarvoksi näytteelle 1 saatiin 3,6 %. Mattilan ym. (2018, 110) mukaan kuivatun härkämpävun tuhkapiitoisuus on 3,4 %. Tulokset ovat saatu tuhkaamalla härkämpäpua 500 °C:ssa 17 tuntia. Tulosten vaihteluväli on 0,2. Näytteen 2 keskiarvo on 0,8 %. Tulosten vaihteluväli on 0,1. Näytteen 3 keskiarvo on 2,4 %. Vaihteluväli on 0,1.



Kuvio 5. Tuhkan määrä.

Tulokset ovat saman näytteen kesken hyvin yhteneväisiä. Kuvio 5 osoittaa tulosten tasaisuuden. Suurin tuhkapitoisuus on näytteellä 1. Näytteessä 2 on pienin tuhkapitoisuus. Näyte 1 siis sisältää eniten luontaisia kivennäisaineita. Näytteeseen 3 on täytynyt lisätä kivennäisaineita tuotetta valmistettaessa.

Kokeen samankaltaiset tulokset osoittavat kokeiden onnistuneen hyvin. Koetilanteet olivat hyvin samankaltaiset kaikille ja koetilanteissa pyrittiin siihen, että samat näytteet tuhkataan saman aikaisesti. Kaikkien näytteiden lopputuhka oli hopeanharmaata ja todella hienojakoista kuten kuvasta 14 näkyy.



Kuva 13. Näytteen tuhkauksesta saatu tuhka.

Tuhkauksessa pyrittiin siihen, ettei uunin luukkua avata tuhkauksen ollessa käynnissä, varsinkaan ensimmäisen tunnin aikana. Tuhkauunista tuli ensimmäisen tunnin aikana hieman savua ja pelkona oli myös, että tuhkattavat näytteet pöllähtävät ilman virtauksesta.



## 7 JOHTOPÄÄTÖKSET JA POHDINTA

Härkäpapu on monipuolinen elintarvike ja kasvavassa suosiossa kuluttajien keskuudessa. Sen kotimaisuus kiinnostaa kuluttajia. Kuluttajat ovat löytäneet härkäpaputuotteet ja ne ovat jääneet osaksi kauppojen hyllyjä.

Työn tavoitteena oli kerätä tietoa härkäpavun ravintosisällöstä ja niiden muutoksista prosessoitaessa. Analyseissä selvisi, että tuotteen ravintosisältö eroaa toisistaan prosessin eri vaiheissa. Tuotetta muokataan prosessin aikana hyvinkin erilaiseksi. Alkutuote on ravintorikkain kaikista näytteistä. Näyte 2 sisälsi vähiten ravinteita. Näytteeseen 3 on oletettavasti tuotu lisää kivennäisaineita, proteiinia ja rasvaa, jotta ravintosisältöä ollaan saatu korotettua.

Laboratoriossa saatuja tuloksia tulee tarkastella kriittisesti. Mittaamista tulee tarkistaa, sillä tuloksissa syntyi vaihteluita. Kokeiden tulisi olla vielä samankaltaisempia toistensa kanssa. Esimerkiksi samoihin näytteisiin olisi pitänyt käyttää samoja liuoksia. Nyt näin ei tehty. Jokainen määrittäminen tehtiin vain yhdellä menetelmällä. Tulosten luotettavuuden kannalta olisi hyvä kokeilla muitakin menetelmiä ja vertailla tuloksia.

Itse tavoitteet täyttyivät, materiaalia syntyi, mutta täyden opetusmateriaalin saamiseksi pitää vielä tehdä töitä. Itse ainakin opin valtavasti tätä opinnäytetyötä tehdessä. Edellisestä laboratoriokerrasta oli jonkin aikaa, joten laboratoriotyöskentely vaati aluksi harjoittelua. Matkan varrelle osui virheitä, jotka opettivat paljon. Tätä työtä tehtiin rinnakkain toisen opinnäytetyön kanssa, joka auttoi haasteiden selvittämisessä. Yhdessä pohdimme, autoimme ja tsemppasimme toisiamme.

Opinnäytetyön tavoitteena oli tutkia, millainen härkäpavun ravintosisältö on sekä miten härkäpavun ravinnolliset ominaisuudet muuttuvat härkäpapua prosessoitaessa. Tämä tavoite täyttyi. Opinnäytetyön on tarkoitus toimia materiaalin lähteenä kasvisruokatuotannon opetusmateriaalien kehittämisessä.

## LÄHTEET

- Ervasti, A.-E. 2017. Hapatettu ruoka buustaa suoliston bakteerikantaa ja saattaa vaikuttaa jopa mielialaan – Miksi hapattaminen on niin terveellistä?. [Verkkoartikkeli]. Helsinki: Helsingin Sanomat. [Viitattu 23.5.2021]. Saatavana: Helsingin sanomien verkkosivuilta. Vaatii käyttöoikeuden.
- Ethiopian ful medames. Ei päiväystä. [Verkkosivu]. Great British Chefs. [Viitattu 11.10.2021]. Saatavana: <https://www.greatbritishchefs.com/recipes/ethiopian-ful-medames-recipe>
- Fineli. Ei päiväystä. [Verkkosivu]. Helsinki: Terveiden ja hyvinvoinnin laitos (THL). [Viitattu 11.5.2021]. Saatavana: <https://fineli.fi>
- Härkäpapu. 13.8.2016. [Verkkosivu]. Helsinki: Satokausi Media Oy. [Viitattu 11.5.2021]. Saatavana: <https://satokausi.fi/harkapapu/>
- Härkäpapua hapattamalla syntyy monipuolisia elintarvikkeita. 26.10.2018. [Verkkopublication]. Helsinki: Helsingin yliopisto. [Viitattu 23.5.2021]. Saatavana: <https://www.sttinfo.fi>
- Kankaansydän, A. 2019. Hittipapu jalostui: Kun härkäpavun hapattaa, vatsa nauttii ja suolisto saa hyviä probiootteja. [Verkkoartikkeli]. Hämeenlinna: Hämeen Sanomat. [Viitattu 23.5.2021]. Saatavana: Hämeen Sanomien verkkosivuilta. Vaatii käyttöoikeuden.
- Kekkilä. Ei päiväystä. Härkäpapu. [Verkkosivu]. [Viitattu 28.1.2021]. Saatavana: <https://www.kekkila.fi/kasvikirjasto/harkapapu/>
- Käyttäjätunnus: johndavi. [valokuva]. [Viitattu 14.12.2021]. Saatavana: <https://pixabay.com/fi/photos/palkokasvit-palkki-vihannes-ruokaa-3106259/>
- Käyttäjätunnus: Selvaprakashnavaneethan. 29.10.2017. Methods and techniques in ashing. [Slideshare-esitys]. Julkaistu Slideshare-nettisivulla. [Viitattu 9.5.2021]. Saatavana: <https://www.slideshare.net/Selvaprakashnavaneethan/ashing-techniques>
- L'Hocine, L., Martineau-Côté, D., Achouri, A., Wanasundara, J., & Arachchige, G. W. L. H. 2020. Broad Bean (Faba Bean). Teoksessa: A. Manickavasagan & P. Thirunathan. (toim.) Pulses: Processing and Product Development. [Verkkokirja]. Cham: Springer [Viitattu 22.5.2021]. Vaatii käyttöoikeuden.
- Labconco, C. 1998. A guide to Kjeldahl nitrogen determination methods and apparatus. [verkkokirja]. Houston: Labconco Corporation. [Viitattu 29.3.2021]. Saatavana: <http://www.expotechusa.com/catalogs/labconco/pdf/KJELDAHL-guide.PDF>

- Lassila, A. 2007. Härkäpapu luomuviljelyssä. Teoksessa: H. Koskimies, T. Ketola, U. Leskinen, E. Partanen, R. Käki, & A. Peltomäki. Luomutilan valkuaiskasviopas. [Verkkokirja]. Helsinki: Luomuliitto. [Viitattu 25.1.2021]. Saatavana: <https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/tietoa-meista/asiointi/oppaat-ja-lomakkeet/viljelijat/tuet-ja-rahoitus/oppaat-ja-esitteet/luomutilan-valkuaiskasviopas-2007.pdf>
- Levi, H. 14.11.2016. Scientific gear Blog: What is water activity? [Blogikirjoitus]. [Viitattu 30.4.2021]. Saatavana: <https://www.scientificgear.com/blog/what-is-water-activity>
- Loh P. D. 8.5.2018. The mighty broad bean. [Verkkoartikkeli]. Hong Kong: China Daily. [Viitattu 22.5.2021]. Saatavana: <https://www.chinadailyhk.com/articles/184/111/2/1525748137600.html>
- Mattila, P., Mäkinen, S., Eurola, M., Jalava, T., Pihlava, J. M., Hellström, J., & Pihlanto, A. 2018. Nutritional value of commercial protein-rich plant products. Teoksessa: Octavio Paredes-López Plant Foods for Human Nutrition. [Verkköjulkaisu]. Cham: Springer. Osa 73 numero 2. 108–115. [Viitattu 19.5.2021]. Saatavana: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11130-018-0660-7#Sec5>
- Mattila, P., Piironen, V. & Ollilainen, V. 2001. Elintarvikekemian ja -analytiikka. Helsinki: Yliopistopaino.
- Merga, B., Egigu, M. C., & Wakgari, M. 2019. Reconsidering the economic and nutritional importance of faba bean in Ethiopian context: [Verkkolehtiartikkeli]. Cogent Food & Agriculture 5 (1). [Viitattu 11.10.2021]. Saatavana: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/23311932.2019.1683938>
- Nennich, T. 16.8.2019. Dry matter determination. [Verkkoartikkeli]. Dairexnet. [Viitattu 23.5.2021]. Saatavana: <https://dairy-cattle.extension.org/dry-matter-determination/>
- Nielsen, S.S. 2017. Food Analysis Laboratory Manual. 3. Painos. [Verkkokirja]. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers. Cham: Springer. [Viitattu 15.4.2021]. Saatavana Academia-palvelusta. Vaatii käyttöoikeuden.
- Nitrogen Determination by Kjeldahl Method. Ei päiväystä. [pdf-tiedosto]. [Viitattu 29.3.2021]. Saatavana: [https://www.itwreagents.com/uploads/20180114/A173\\_EN.pdf](https://www.itwreagents.com/uploads/20180114/A173_EN.pdf)
- Persson, J. Å. 2008. Handbook for Kjeldahl Digestion: a recent review of the classical method with improvements developed by FOSS. [Verkkokirja]. Denmark: Foss. [Viitattu 29.3.2021]. Saatavana Scribd-palvelusta. Vaatii käyttöoikeuden.
- Rokka S., Heikkilä J., Hellström J., Järvenpää E., Kahla M., Keskitalo M., Kuoppala K., Manni K., Mäkinen K., Mäkinen S., Pihlava J., & Tahvonen R. 2018.

Palkokasvit elintarvikkeena. [Verkkajulkaisu]. Helsinki: Luonnonvarakeskus, Luke. [Viitattu 22.5.2021]. Saatavana: <https://jukuri.luke.fi/handle/10024/541513>

Elintarviketieto-opas elintarvikevalvojille ja elintarvikealan toimijoille. [Verkkajulkaisu]. Ruokaviraston ohje 17068/2. Helsinki: Ruokavirasto. [Viitattu 16.5.2021]. Saatavana: <https://www.ruokavirasto.fi>

SeAMK on mukana EQVEGAN-hankkeessa, jossa aiheena on kasviruokatuotannon opetuskokonaisuuksien kehittäminen. 2021. [Verkkolehtiartikkeli]. Verkkolehti SeAMK. [Viitattu 18.5.2021]. Saatavana: <https://lehti.seamk.fi>

Tarhurin Papu. Ei päiväystä. Parempaa kotimaista hyvän olon papua uudelle sukupolvelle. [Verkkosivu]. [Viitattu 23.5.2021]. Saatavana: <https://www.tarhurin-papu.fi/>

Tridge. Ei päiväystä. Top Producing Countries of Broad Bean. [Verkkosivu]. [Viitattu 22.5.2021]. Saatavana: <https://www.tridge.com/intelligences/broad-bean/production>

Tuhkan määräys elintarvikkeesta. Ei päiväystä. [Verkkosivu]. Helsinki: Opetushallitus. [Viitattu 9.5.2021]. Saatavana: [http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/elintarvikeanalyysit\\_tuhka.html](http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/elintarvikeanalyysit_tuhka.html)

Tuotteemme. Ei päiväystä. [Verkkosivu]. Espoo: Verso Food Oy. [Viitattu 9.5.2021]. Saatavana: <https://www.beanit.fi/fi/tuotteet/>

Typen ja proteiinin määräys polttolaitteistolla ja höyrytislauksella Kjeldahl-menetelmällä. Kemian työt: työohje. Seinäjoen ammattikorkeakoulu. SeAMK Ruoka, Bio- ja elintarviketekniikka. Julkaisematon.

Yrityksemme. Ei päiväystä. [Verkkosivu]. Espoo: Verso Food Oy. [Viitattu 9.5.2021]. Saatavana: <https://www.beanit.fi/fi/yrityksemme/>

## LIITTEET

Liite 1. Työohje: Kjeldahl-menetelmä

Liite 2. Työohje: Mojonnier-menetelmä

**Liite 1. Työohje: Kjeldahl-menetelmä**

SEINÄJOEN AMMATTIKORKEAKOULU

Kemian työt

Elintarvike ja maatalous

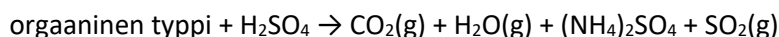
Bio- ja elintarviketekniikka

**TYÖ: TYPEN JA PROTEIININ MÄÄRITYS POLTTOLAITTEISTOLLA JA HÖYRYTISLAUKSELLE KJELDHAL-MENETELMÄLLÄ**JOHDANTOA:

Kjeldahl -menetelmällä määritetään elintarvikkeen kokonaisproteiinipitoisuus ns. raakaproteiinipitoisuus laskemalla se näytteen kokonaistyyppipitoisuudesta muuntokertoimen avulla. Proteiinit koostuvat runsaasti tyypeä sisältävistä aminohapoista. Koska elintarvikkeessa on mukana myös muita tyyppipitoisia yhdisteitä, tulevat ne mukaan tässä määrittäksessä ja siksi tulosta sanotaan raakaproteiiniksi.

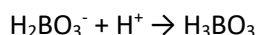
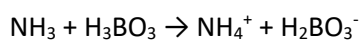
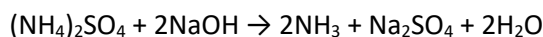
Menetelmän työvaiheita ovat *poltto, vesihöyrytislous ja titraus*.

Menetelmässä kokonaistyyppi määritetään polttamalla näytteen orgaaninen aines pois ja muuttamalla orgaaninen typpi ammoniumtypeksi. Orgaaninen aine hapetetaan rikkihapolla hiilidioksidiksi, vedeksi ja ammoniakiksi. Ammoniakki sitoutuu rikkihappoliuoksessa ammoniumsulfaatiksi ja hiilidioksidi ja vesi sekä rikkidioksidi haihtuvat polton aikana pois.



Koska näytteen kaikki komponentit eivät hajoa väkevän rikkihapon kiehumispisteessä (337 °C), täytyy kiehumispistettä nostaa suolalla, tässä tapauksessa kaliumsulfaatilla (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Katalyyttinä käytetään kuparia (CuSO<sub>4</sub>\*5H<sub>2</sub>O).

Tislauksessa ammoniakki vapautetaan ammoniumsulfaatista lisäämällä näytteeseen väkevää natriumhydroksidia. Vapautunut ammoniakki sidotaan tislaukslaitteen etuastiassa olevaan boorihappoon. Tämän jälkeen ammoniakki titrataan boorihappoliuoksesta vetykloridihapolla (suolahapolla). Titraukseen kuluneen vetykloridihapon määrän perusteella näytteessä olleen typen määrä voidaan laskea.



Ravintoarvo/Näringsvärde	g / 100 g
Energiaa/Energi	1031 kJ / 248 kcal
Rasvaa/Fett	20,0 g
ista tyydyttynyttä rasvaa / arav mättat fett	6,5 g
Hiihihydraatteja /Kolhydrat	6,0 g
joista sokereita / varav sockerarter	0,7 g
Proteiinia/Protein	11,0 g
Suolaa/Salt	2,0 g
Laktosia/Laktos:	0 g / 100 g

Liite 4 Kalibrointiohje 23(24)

Kuva 1. Vasemmalla: Nakkipaketin nakkien proteiinipitoisuudeksi on ilmoitettu 11,0g /100g.

#### REAGENSIT:

**Polttoliuos:** Väkevä rikkihappo ( $H_2SO_4$ ), 95-96-massaprosenttista, tiheys  $1,84 \text{ kg/dm}^3$  eli  $1,84\text{g/mL}$

**Katalyytti ja suola:** Jokaiseen polttoputkeen punnitaan  $7\text{g } K_2SO_4$  ja  $0,8\text{g } CuSO_4 \cdot 5H_2O$

**Vastaanottoliuos:** 0,4% boorihappo

Liutetaan 4 g boorihappoa 0,5-0,6 litraan kuumaa, tislattua vettä. Sekoitetaan ja lisätään tislattua vettä niin, että lopputilavuus on 0,9 litraa

**Indikaattoriliuos:** bromokresolinvihreä / metyyliipunaindikaattori

- Liutetaan 10 mg bromokresolinvihreää 10 mL:aan metanolia
- Liutetaan 10 mg metyyliipunaa 10 mL:aan metanolia
- Sekoitetaan 10 mL:aa bromokresolinvihreän liuosta ja 7 mL:aa metyyliipunan liuosta. Laimennetaan litraksi ionivaihdetulla vedellä ja sekoitetaan varovasti. Säilytetään tummassa pullossa.

**Tislausliuos:** 35% w/v NaOH-liuos (valmiina omassa kanisterissaan)

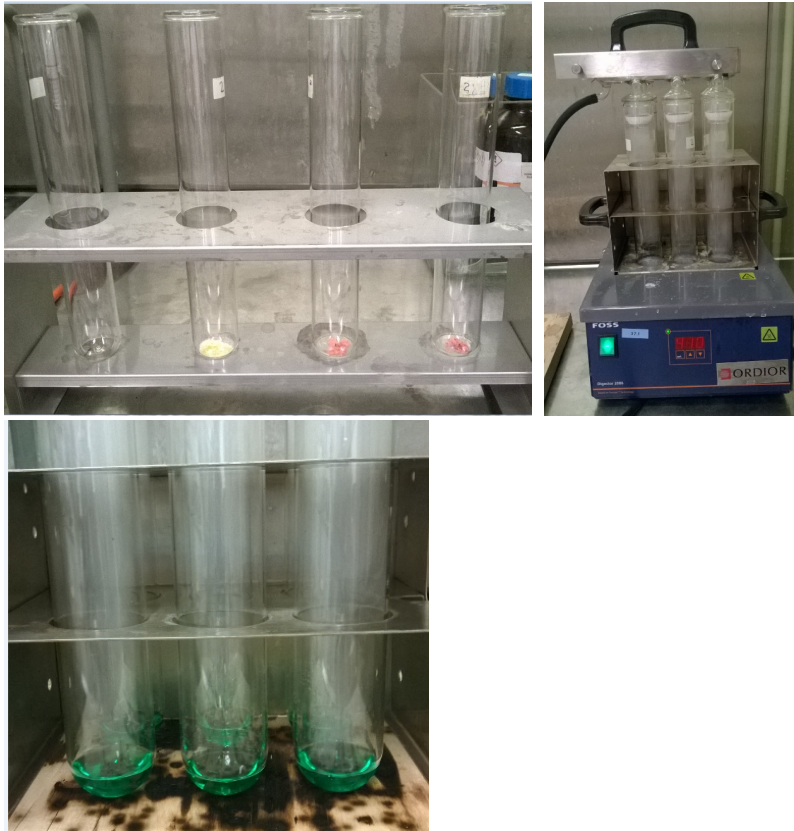
- Punnitaan 350g NaOH ja sekoitetaan varovasti ionivaihdettuun veteen 1000 mL:n mittapullossa. Sekoitetaan varovasti. Annetaan jäähtyä (tunteja) ja täytetään vedellä merkkiin.

**Titrausliuos:** 0,1M HCl (valmistusohje tämän työohjeen lopussa)

#### TYÖN SUORITUS

- Laitetaan polttolaite lämpiämään  $420 \text{ }^\circ\text{C}$  vetokaapissa
- Jauhetaan näytteet (lihanäytteet, esim. makkara) homogeeniseksi huhmareella ja punnitaan näytteitä n. 1g polttoputkeen. Tehdään rinnakkaismääritykset ja merkitään punnitus-tulos ylös  $0,0001\text{g}$  tarkkuudella. Näytteen määrä riippuu sen tyypipitoisuudesta. Jos tiedetään, että näytteessä on paljon proteiinia (esim.  $80\text{g}/100\text{g}$ ) kannattaa näytettä punnita esim.  $0,7\text{g}$ .
- Lisätään polttoputkiin katalyytti ( $CuSO_4$ ) ja suola ( $K_2SO_4$ ). Katalyytin ja suolan voi punnita valmiiksi annoksiksi ennakkoon

- Sekoitetaan näytettä, katalyyttia ja suolaa polttoputkessa varovasti esim. Vortex-sekoittimella
- Nollanäytteeseen punnitaan ainoastaan katalyytti ja suola
- Lisätään kaikkiin putkiin varovasti 12 mL väkevää rikkihappoa (pumpetilla ja lasisella mittapipetillä) vetokaapissa. Käytetään suojahanskoja ja suojalaseja!
- Sekoitetaan varovasti käsin. Putket voi jättää hetkeksi huoneenlämpöön ennen polttolaitteeseen asettamista
- Asetetaan polttoputket polttotelineeseen ja liitetään kaasunpoistokansi putkien päälle, käännetään vesi-imupumppu täysille
- Asetetaan teline ja putket lämmitettyyn polttohauteeseen. Vesi-imupumppu käännetään pienemmälle noin 5 min polton jälkeen. Oikea imunopeus on silloin, kun höyryt juuri ja juuri nousevat poistokanteen
- Jatketaan polttamista kunnes näytteet ovat kirkkaita (sinisen- tai vihreän värisiä, ei sameita). Tämä kestää yleensä n. 60-90 min riippuen näytetyypistä ja määrästä
- Kun näytteet ovat kirkkaita, nostetaan teline putkineen (poistokansi edelleen paikoillaan) pois polttolaitteesta sille varatun alustan päälle, ei suoraan kylmälle metallipinnalle vetokaappiin.
- Annetaan putkien jäähtyä 10-20 min, jäähtytyksen jälkeen poistokansi voidaan poistaa
- Lisätään kuhunkin putkeen 75 mL ionivaihdettua vettä ennen tislausta

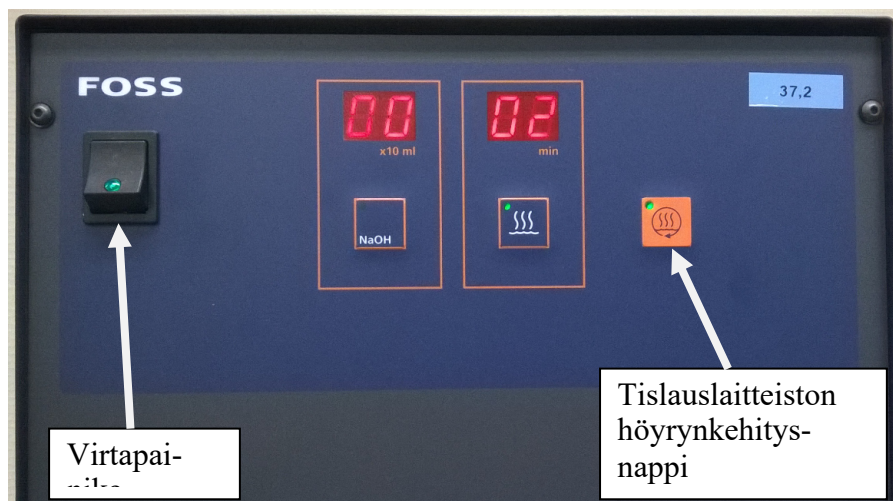


Kuva 2. Punnitut näytteet polttoputkissa, näytteet polttolaitteessa ja näytteiden väri polton jälkeen

### TISLAUS



- Kiinnitetään tisluslaitteisto vesikiertoon (valkoinen letku) ja avataan hana. Laitetaan virta tisluslaitteistoon. Suljetaan hetken kuluttua tisluslaitteiston takana oleva poistoletku mustasta vivusta. Laitteen höyrykehitin täyttyy.
- Asetetaan tislaimen testipolttoputki ja erlenmeyer, joissa molemmissa on pelkkää vettä. Polttoputkessa esim. 75 mL vettä ja erlenmeyerissä 25 mL. Painetaan kerran höyrykehittimen nappia, jolloin laite lämmittää höyryä ja lämpenee. Kun laite on lopettanut toimintansa, jatketaan varsinaisilla näytteillä. Testipolttoputkia voi vesihöyrytlata kaksikin kappaletta, jos edellisestä käyttökerrasta on kulunut aikaa.
- Sekoitetaan vastaanottoliuosta ja indikaattoriliuosta samassa suhteessa kuin liuoksia valmistettiin (0,9:1). Esimerkiksi 90 mL + 100 mL, mittalasi tarkkuudella esim. 250 mL:n mittapullossa. Lisätään tätä seosta 25 mL:aa Erlenmeyer-pulloon ja asetetaan se tislusyksikköön tisleen ulostuloputken kohdalle siten, että putken pää on liuoksen sisällä (käytä leveämpisuisia Erlenmeyer-pulloja, 250 mL). Asetetaan polttoputki tiiviisti tislusyksikköön ja suljetaan ovi.
- Painetaan tisluslaitteiston höyrykehitysnappia kerran. Laitteistoon on ohjelmoitu valmis ohjelma.
- Laitteisto tislää näytettä 4 minuuttia, ja annostelee putkeen 50 mL NaOH-liuosta (5\*10mL). Tänä aikana tislettä kertyy Erlenmeyeriin n. 130-150 mL.



Kuva 3. Tisluslaitteiston painikkeet

- Tislauksen loputtua poistetaan polttoputki. Polttoputki on todella kuuma. Poistetaan myös Erlenmeyer astia.
- Jatketaan tislauksia muilla näytteillä. Suljetaan lopuksi vesihana ja vesikierto, tyhjennetään höyrykehitin avaamalla musta vipu laitteiston takaa
- Pyyhitään tisluslaitteisto huolellisesti

### TITRAUS

- Titraataan Erlenmeyerissä olevat näytteet 0,1M HCl-liuoksella

- Käytetään näytteille 50 mL:n byrettiä, nollanäytteen kulutus tulisi olla vain muutamia tippoja (0,1 mL)
- Ekvivalenttikohdassa liuoksen väri muuttuu vihreästä punaiseksi
- Merkitse muistiin HCl-kulutus byretistä. Ole erityisen huolellinen nollanäytettä titratesasi.



Kuva 4. Liuoksen väri ennen titrausta (vihreä) ja värin muutos ekvivalenttikohdassa (punainen). Titrauksessa käytettävä byretti ja magneettisekoittaja (voi sekoittaa myös käsin).

#### TULOSTEN LASKEMINEN

$$m = M * c * V$$

m = typen määrä mg

V=(näytteen kulutus – nollanäytteen kulutus) mL

c = HCl konsentraatio mol/L (tässä 0,1mmol/mL)

M= typen moolimassa, 14,007mg/mmol

$$\% \text{ typpeä} = \frac{\text{typen määrä}_{mg}}{\text{näytteen_paino}_{mg}} * 100$$

$$\% \text{ proteiinia} = \% \text{ typpeä} * 6,25$$

Typen muuntokerroin proteiiniksi on tässä 6,25.

#### REAGENSSIEN TARVE:

Polttoputkia 6kpl / poltto

$$(\text{H}_2\text{SO}_4) 12\text{mL} \times 6 = 72\text{mL}$$

$$(\text{K}_2\text{SO}_4) 7\text{g} \times 6 = 42\text{g}$$

$$(\text{CuSO}_4) 0,8\text{g} \times 6 = 4,8\text{g}$$

(0,4% boorihappo, vastaanottoliuos) 25mL (0,9/1,9) \*6 = 71,05 mL

(indikaattorioliuos, väriliuos) 25 mL (1,0/1,9)\*6 = 78,95 mL

(35% NaOH) 50mL x 6 = 300 mL + testiputket alussa esim. 2x50 mL

(0,1M HCl) 1-100mL / näyte \* 6 = 60-600 mL, kannattaa valmistaa 1L, jotta voi huuhdella byrettiä

### LISÄTIETOA:

*Miten muuntokertoimet määritetään?*

Esimerkiksi jo 1800-luvun loppupuolella proteiinipitoisuuden laskemiseen on käytetty muuntokerrointa 6,25 perustuen oletukseen, että proteiinit sisältäisivät typpeä 16% ( $100/16=6,25$ ). Nykyään käytetään tuoteryhmäkohtaisia kertoimia, koska proteiinien typpipitoisuudet ovat hyvin erilaisia. Proteiinikerroin lihalle ja kalalle on 6,25. Maidolle ja maitovalmisteille 6,38 ja viljalle ja viljavalmisteille 5,7.

*0,1M HCl-liuoksen valmistaminen:*

Miten valmistetaan 1000 mL 0,1M HCl-liuosta, kun meillä on väkevää vetykloridihappoa (37%) jonka tiheys on 1,18 g/ mL?

Oletetaan, että väkevää vetykloridihappoa on 1000 mL.

Liuoksen massa on tällöin  $m=\rho \cdot V=1,18\text{g/mL} \cdot 1000\text{mL}=1180\text{g}$

Tässä määrässä on vetykloridihappoa 37% eli  $0,37 \cdot 1180\text{g}=436,6\text{g}$

$M(\text{HCl})=1,008+35,453=36,461\text{g/mol}$

$n(\text{HCl})=m/M=(436,6\text{g})/(36,461\text{g/mol})=11,9744\text{mol}$

$c(\text{HCl})=n/V=11,9744\text{mol/L}$

$c_1V_1=c_2V_2 \rightarrow V_1=(c_2V_2)/c_1$

$V_1=\frac{(0,1\text{ mol/L}) \cdot 1\text{L}}{11,9744\text{mol/L}}=0,00835\text{L}=8,35\text{mL}$

Väkevää HCl-liuosta pipetoidaan 8,35mL:aa yhteen litraan ionivaihdettua vettä, jotta saadaan 0,1M vetykloridihappoliuos.

## Liite 2. Mojonnier-menetelmä

SEAMK/KEMIAN LABORATORIOHARJOITUKSET

### Rasvapitoisuuden määrittäminen mojonniermenetelmällä

Näytteenä: **Härkäpapu**

**Välineet:**

- Mojonnier-putkia tulppineen
- Lasisuppiloita
- Mittalaseja
- dekkoja + kellolasit kanneksi

**Reagenssit:**

- etanoli
- HCl- happo (väk. HCl + vesi suhteessa 25:11)
- petrolieetteri
- dietylieetteri
- petroli- ja dietylieetterin seos suhteessa 1:1
- etanoli

### **Työn suoritus:**

1. Punnitse jauhattua kaurahiutaletta Mojonnier-putkeen n. 2-3 g Tarkka lukema ylös.
2. Lisää 10 ml etanolia ja heiluttele putkea siten, että näyte kostuu.
3. Lisää 10 ml HCl- happoa ja sekoita heilutteleamalla putkea laita putket vesihauteelle (65 - 70 °C) n. 45 min.  
Sekoita putkia n. 15 minuutin välein.
4. Nosta putket hauteelta ja anna jäähtyä huoneenlämpöön lisää 25 ml eetteriä ja ravista voimakkaasti 1 minuutti (ennen ravistelua käännä putken suu varovasti alapäin, jotta näet onko tulppa tiiviisti kiinni)
5. Avaa tulppa varovasti, lisää 25 ml petrolieetteriä ja toista ravistelu (1 min.)
6. Anna liuotin kerrosten erottua (n. 10 min.) ja siirrä ylempi, kirkas faasi punnittuun dekkaan lasisuppilon avulla, missä on pieni tупpo pumpulia. Lisää nyt Mojonnier-putkeen eetterien seosta 20 ml ja toista ravistelu, liuotinkerrosten erottuminen ja faasin siirto kolviin (sama, mihin siirsit faasin aiemmin)

7. Tee yllä mainittu vaihe vielä kerran
8. Haihduta liuottimet punnitussa dekassa vesihautteessa
10. Kuivaa dekkaa lämpökaapissa 30 minuuttia, jäähdytä ja punnitse.
11. Toista lämpökaappikuivausta niin monta kertaa, että paino ei enää muutu tai läh-tee nousemaan.
12. Laske rasvan määrä seuraavalla kaavalla:

$$x = \frac{a - b}{c} * 100$$

jossa: x = näytteen  
rasvapitoisuus, g/100 g  
a = kuivatun näytteen + kolvin  
massa, g  
b =dekan massa, g  
c = punnitun näytteen massa, g