

# SOKERITTOMAN ENERGIAJUOMAN ANALYSOINTIMENETELMÄT



Ammattikorkeakoulututkinnon opinnäytetyö

Bio- ja elintarviketekniikka, Hämeenlinnan korkeakoulukeskus

Kevät, 2022

Johanna Teräs

Bio- ja elintarviketekniikka

Tekijä Johanna Teräs

Työn nimi Sokerittoman energiajuoman analysointimenetelmät

Ohjaaja Susanna Peltonen

Tiivistelmä

Vuosi 2022

---

Opinnäytetyössä selvitetään laadunvarmistuksen tueksi erilaisia analyysimenetelmiä tiiviste-, kofeiini- ja sukraloosipitoisuuden analysointiin laadunvarmistuksen näkökulmasta.

Toimeksiantaja, Nokian Panimo Oy, on lanseerannut uuden sokerittoman Be Sharp-energiajuoman. Oikean maun ja tiivistepitoisuuden varmistukseksi, etsitään

tiivistepitoisuuden mittaamenetelmiä tukemaan aistinvaraista arviointia. Työssä selvitetään tutkimuksellisesti erilaisten energiajuomien sisältävien ainesosien mittaamenetelmiä ja niiden hyödynnettävyyttä tiivistepitoisuuden mittaamiseen. Opinnäytetyössä verrataan valmiita laitteistoja laboratoriossa suoritettaviin töihin, jossa otetaan huomioon laitteeseen investoitava hinta, hyödyt, haitat ja tuloksen tarkkuus.

Opinnäytetyössä selvitettävä tulos saadaan selville erilaisia analyysimenetelmiä vertaamalla.

Tarkoituksena on löytää erilaisia mittaamenetelmiä sokerittomalle juomalle. Sokeriton

energiajuoma vaatii laitteelta tarkan tiheyden mittauksen luonteensa vuoksi. Tässä

opinnäytetyössä selvitetään, että yksi sopiva prosessiin liitettävistä laitteistoista olisi Anton

Paarin valmistama Cobrix-järjestelmä (5500 ja 5600), joka mittaavat tiheyttä, sokeri- ja

makeutusainepitoisuutta ja alkoholia. Prosessiin liitettävän laitteen avulla voidaan tutkia

juoman ominaisuuksia prosessin aikana. Laboratorioon voidaan myös hankkia valmis

digitaalinen tai mekaaninen mittalaite näiden ominaisuuksien mittaamiseksi.

Avainsanat energiajuoma, sokeriton, tiivistepitoisuus

Sivut 29 sivua

Degree Programme in Biotechnology and Food Engineering  
Author Johanna Teräs  
Subject Analysing methods of sugar free energy drink  
Supervisor Susanna Peltonen

Abstract  
Year 2022

---

The aim of this thesis was to clarify and find suitable methods for analysing the concentration, caffeine and sucralose contents of a sugar free energy drink from a quality assurance point of view. The commissioner of the thesis Nokian Panimo Oy, (a brewery) has launched a new sugar-free energy drink called Be Sharp. To ensure proper taste and concentration, suitable methods of measuring concentration were sought to support sensory evaluation.

The focus was on the methods for measuring concentration. The study was conducted by comparing ready-made equipment with measurements carried out in the laboratory, which took into account the price invested in the equipment related to the benefits, eventual disadvantages and also the accuracy of the test result.

As a result of the study, a sugar-free energy drink requires an accurate measurement of density due to its nature. Therefore, the recommendation was to use the Cobrix system (5500 and 5600) manufactured by Anton Paar, which measures density, sugar and sweetener content and alcohol. Thus, by using an appropriate device connected to the process to achieve and guarantee uniform quality, it is possible for the commissioner Nokian Panimo to measure the characteristics of other than sugar-free beverages, too.

Keywords Energy drink, sugar free, concentration  
Pages 29 pages

## Sisällys

1	Johdanto .....	1
2	Panimossa valmistettavat juomat .....	2
3	Energiajuoman raaka-aineet .....	3
4	Energiajuoman valmistusprosessi .....	7
5	Menetelmät.....	9
6	Sukraloosin määrittäminen .....	10
6.1	HPLC-menetelmä .....	10
6.2	UV-Spektrofotometrinen menetelmä.....	11
7	Kofeiinipitoisuuden määrittäminen .....	12
7.1	Nestekromatografinen menetelmä .....	12
7.2	Kofeiinin määrittäminen .....	13
8	Happamuuden määrittäminen.....	13
9	Kuiva-aineen määrittäminen .....	14
10	Tiheyden määrittäminen .....	15
11	Tutkimuksen tavoite, tarkoitus ja tutkimustehtävät.....	16
12	Tulokset ja niiden tarkastelu .....	17
12.1	Cobrix 5600-laite .....	18
12.2	Työn tulos.....	18
13	Pohdinta ja johtopäätökset .....	22
	Lähteet.....	26

## 1 Johdanto

Opinnäytetyö tehdään Nokian panimolle, jossa valmistetaan olutta, siideriä, virvoitusjuomia, mocktaileja. Yritys on tuonut markkinoille uutuutena jo suosituksi tulleen sokerittoman energiajuoman, Be Sharp. Opinnäytetyössä selvitetään millä keinolla pystytään varmistamaan energiajuoman oikea tiivistepitoisuus kvantitatiivisin tuloksin aistinvaraisen arvioinnin tueksi, jotta voidaan seurata tuotteen tasalaatuisuutta. Toimeksiantaja haluaa työssä selvitettävän, millä eri menetelmillä voidaan varmistaa kyseisen tuotteen tiivistepitoisuus. Tiivistepitoisuus halutaan selvittää valmiista energiajuomasta, joka sisältää hiilihappoja ja on valmis tölkytykseen. Opinnäytetyön tavoite on saada yritykselle selville, miten saadaan kvantitatiivisia lukuja ja varmistetaan tuotteen tasalaatuisuus jatkossa. Brix-lukua ei voida määrittää, sillä juoma on sokeriton. Energiajuoman ainesosaluettelossa mainitaan sukraloosi, joten tutkitaan, millä menetelmillä saadaan mitattua sukraloosipitoisuutta. Opinnäytetyössä käsitellään myös muita tapoja, joilla voidaan laboratoriossa laskea ainesosien pitoisuutta. Tiivistepitoisuutta voidaan päätellä juoman kofeiinipitoisuuden avulla.

Opinnäytetyön tutkimuskysymyksiä ovat:

- Mitä mitataan, jotta saadaan tiivistepitoisuus mitattua?
- Millä menetelmällä sukraloosipitoisuus saadaan määritettyä?
- Saadaanko juoman happamuutta mittaamalla selville tiivistepitoisuus?

Selvitys tehdään laadunvarmistuksen vuoksi, jotta tuote säilyy tasalaatuisena ja sen tiivistepitoisuudesta on dataa. Opinnäytetyössä selvitetään erilaisia analyysimenetelmiä energiajuoman ainesosille yritykselle laadunvarmistuksen tueksi. Analyysimenetelmiä löytyy prosessiin liitettävänä mittalaitteina tai laboratoriossa tehtävinä analyysineinä.

Ainesosaluettelon avulla määritellään, mitkä tekijät ovat laadunvarmistuksessa oleellisia tiivistepitoisuuden mittaamiseksi. Eri raaka-aineille on erilaisia määrittämenetelmiä ja opinnäytetyössä selvitetään, mikä voisi sopia parhaiten toimeksiantajalle laadunvarmistukseen. Tiivistepitoisuuden määrittämiseksi on monia tapoja, joten siksi työssä vertaillaan myös mekaanisesti suoritettavia laboratoriotutkimuksia ja valmiita mittalaitteita, jotka antavat nopean vastauksen esimerkiksi juoman tiheydestä ja pystyvät

mittaamaan muidenkin juomien kuin energiajuoman ominaisuuksia. Energiajuomissa on tyypillisesti alhainen pH-arvo, eli ne ovat happamia. Työssä käsitellään myös sitä, voidaanko juoman happamuuden perusteella päätellä tiivistepitoisuutta. Opinnäytetyö on luonteeltaan tutkimuksellinen ja tarkoituksena oli ottaa selville erilaisia mittausmenetelmiä sokerittomalle tuotteelle, jossa hyödynnettiin kirjallisuutta, johon kuului erilaisia tutkimuksia ja tietoa Anton Paar- mittalaitteistoista saatiin tekniseltä myyjältä.

## **2 Panimossa valmistettavat juomat**

Opinnäytetyössä käsiteltävistä menetelmistä osaa voi hyödyntää muiden kuin sokerittoman energiajuoman raaka-aineiden määrittämiseen. Nokian panimolla valmistetaan runsaasti erilaisia juomia erilaisille kohderyhmille. Valikoimasta löytyy olutta, joista osa on alkoholittomia, siidereitä, virvoitusjuomia ja energiajuomia. Kuten Nokian panimolla, useissa panimossa valmistetaan alkoholipitoisten juomien lisäksi virvoitusjuomia. Oluen myynti on laskenut ja virvoitusjuomien juonti on kasvanut. Virvoitusjuomien myynti on kasvanut jopa 8,1 % vuonna 2021. (Panimoliitto, n.d.-a)

Olut on suosituin alkoholipitoinen juoma maailmalla. Se on sellaisenaan nautittava ja käy ruoka- ja seurustelujuomana. Suomessa suosituin oluttyyppi on vaalea lager-olut, mutta tummemmat oluet ovat löytäneet suosionsa. Oluen ainesosat ovat luonnontuotteita ja sisältävät mallasta, humalaa, hiivaa ja vettä. Oluet luokitellaan joko pintahiivaoluiksi tai pohjahiivaoluiksi. Pintahiivaoluita ovat esimerkiksi vehnäoluet ja IPAt (India Pale Ale) ja pohjahiivaoluita ovat lagerit ja pilsnerit. (Panimoliitto, n.d.-b)

Siideri on alkoholipitoinen juoma, jonka alkoholi saadaan fermentoimalla hedelmistä, kuten päärynästä ja omenasta. Siiderin suurin myyntityyppi on kirkkaana hiilihappopitoisena, kevytkaraisena juomana pullossa tai tölkissä, sisältäen alkoholia 1,2 – 8,5 %.. Yhä useammin lisätään sokeria ja siirappia ennen käymistä, omenasta peräisin olevan hiilihydraatin täydentämiseksi. Nykyisin siidereissä saattaa olla vain 30 – 50 prosenttia omenamehua. Juomateollisuudessa on runsaasti uutta tuotekehitystä, joka näkyy erilaisten raaka-aineiden käytössä ja suuremmissa alkoholipitoisuuksissa. Siideri on lähinnä oluen, erityisesti lager-tyylisten, kilpailija. (Bamforth, 2005, s. 111)

Virvoitusjuomalle ei ole yksikäsitteistä määritelmää, mutta se mielletään veteen pohjautuvaksi juomaksi, joka voi sisältää mehua, uutteita, aromeja, happoja ja värejä. Virvoitusjuomia voidaan jakaa ulkonäön tai koostumuksen mukaan. Hiilihapottomia virvoitusjuomia kutsutaan stilljuomiksi. Ne voivat olla mehuja sisältäviä juomia, hedelmien ja kasvien uutteita sisältäviä juomia tai emulsioihin ja aromiaineisiin perustuvia juomia. (Saarela ym., 2010, s. 197)

Energiajuomateollisuus on kokenut kovaa kasvua, jonka ennustetaan jatkuvan. Segmentillä on ollut suuri määrä innovaatioita ja globaalisti energiajuomamarkkinat olivat yli 5,6 miljardia litraa vuonna 2013. Yksi keskeisistä nousevista teemoista energiajuomakategoriassa on luonnollinen energia ja lisääntyneiden kasviuutteiden käyttö, kuten tee ja guarana. (Ashurst, 2016, s. 36)

### **3 Energiajuoman raaka-aineet**

Energiajuoman tyypillisiä kuluttajia ovat nuoret ja yleistä sen käyttö on 15 – 18-vuotiailla. 18 – 65-vuotiaista 30 prosenttia ilmoitti nauttineen energiajuomia viimeisen vuoden aikana. Liikunnan yhteydessä energiajuomien käyttö on myös yleistynyt. (Ruokavirasto, n.d.-b)

Energiajuomissa käytetään monia eri raaka-aineita, joista tärkeimmät ovat vesi, sokeri tai makeutusaineet, happamudensäätöaineet, uutteet, aromit, väri, hiilidoksidi ja säilöntäaineet. Niissä voi käyttää myös stabilointi- ja sakeuttamisaineita, erilaisia suoloja ja hapettumisenestoaineita, eli antioksidantteja. (Saarela ym., 2010, ss. 198 – 199.) Työssä tutkittavan energiajuoman ainesosaluettelo löytyy tölkin lisäksi myös heidän nettisivuiltaan (Nokian Panimo, n.d.): ”Vesi, hiilidioksidi, guaranauute, aromit (mm. kofeiini), makeutusaine (sukraloosi), happamuudensäätöaine (sitruunahappo, omenahappo), safloriuute, C-vitamiini, säilöntäaine (kaliumsorbaatti)”.

Vettä käytetään energiajuomatuotannossa pääasiassa käsittelyyn, puhdistukseen, laimentamiseen, jäädytykseen, tuotteen kuljettamiseen ja höyryntuotantoon sekä itse tuotteisiin sisällytettyihin veteen. Käytetyn veden suhde sen sisältöön myydyssä juomassa voi olla jopa 10:1. Vedessä ei saisi olla runsaasti mineraalisuoloja, makua tai hajua tai

orgaanista materiaalia. Sen tulisi olla kirkasta, väritöntä, vapaata liuenneesta hapesta ja steriiliä. (Ashurst, 2016, s. 93)

Vesi on energiajuoman tärkein raaka-aine ja veden tulee täyttää lainsäädännön määrittelemän talousvedelle asetetut laatuvaatimukset. Mikäli vesi ei täytä laatuvaatimuksia, tulee se käsitellä soveltavaksi käyttötarkoitukseensa, joka tehdään yleensä suodatusmenetelmällä. (Saarela ym., 2010, s. 198)

Karbonaatio on nesteen kyllästämistä hiilidioksidikaasulla. Hiilidioksidi on myrkytön kaasu, joka on mauton, helposti saatava kohtuullisin kustannuksin. Hiilidioksidi liukenee nesteisiin ja voi esiintyä kaasuna, nesteenä tai kiinteänä aineena. Liuetessa veteen, se muodostaa hiilihappoa, joka tuottaa virvoitusjuomaan happaman ja purevan maun. Tietyn karbonaatiotason yläpuolella se tuottaa säilöntäominaisuuden, joka on hyvä lisä sen käytöstä. (Ashurst, 2016, s. 177)

Guarana on Brasiliasta kotoisin oleva kasvi, jonka uskotaan parantavan suoritusta, polttavan rasvaa, ehkäisevän sairauksia, virkistävän aivotoimintaa ja kohottaa potenssia. Vaikutukset perustuvat siihen, että kasvilla on korkea kofeiini- ja tanniinipitoisuus. Guaranauutteesta 3,5 – 5 prosenttia on kofeiinia. Vaikutukset ovat samat kuin muilla kofeiinipitoisilla tuotteilla. (Ruokavirasto, 2019-a)

Aromit ovat energia- ja virvoitusjuomissa tärkeä osa, sillä juomien aistinvaraiset ominaisuudet perustuvat niihin. Ne voivat olla keinotekoisesti tai luontaisesti valmistettuja. Nykyinen lainsäädäntö ei määrittele erikseen luontaisia aromeja, mutta luontaisten aromien käyttö on tullut trendikkääksi. Aromit voidaan sisällyttää energia- ja virvoitusjuomatiivisteisiin, jotka ovat valmiita tiivisteitä yritysten käyttöön. (Saarela ym., 2010, s. 199)

Kofeiinia kuluttaa arviolta 80 prosenttia maailman väestöstä. Kofeiinia on esimerkiksi kahvissa, teessä ja virvoitusjuomissa. Tyypillinen kuppi pikakahvia (240 ml) sisältää noin 100 mg kofeiinia, joka on noin kaksi kertaa enemmän kuin kupillisessa teetä. 30 gramman suklaapatukassa voi olla kofeiinia yhtä paljon, kuin puolessa kupillisessa teetä. Suun kautta nautitusta kofeiinista imeytyy 99 prosenttia ja sen piristävät vaikutukset saavutetaan 15 – 45 minuutissa. Kofeiini voidaan liuottaa veteen ja öljyyn. (Chambers, 2008, s. 7)



Markkinoilla sokerin korvaaminen ei ole enää vain taloudellinen kannustin elintarvikkeissa ja juomissa. Ainesosien käytöllä voidaan vaikuttaa elintarvikkeen ravitsemustilan parantamiseen ja se on tuotekehityksen merkittävimmistä liikkeellepanevista voimista, jonka arvellaan jatkuvan pitkälle tulevaisuuteen. Korkean intensiteetin makeutusaineet, vähäkaloriset makeutusaineet ja täyteaineet ovat vaihtoehtoja sokerille. Näitä voidaan käyttää toiminnallisina ainesosina tai keinona parantaa tuotteiden hiilihydraatti- ja ravitsemusprofiilia. (Mitchell, 2006, s. 15)

Sukraloosi on yksi tuoreimmista korkean tehon makeutusaineista, joka on elintarviketeollisuuden käytössä. Se on monipuolinen makeutusaine, jota voidaan käyttää monenlaisissa elintarvikkeissa ja juomissa, joka mahdollistaa hyvämakuisia ja vähäkalorisia ruokia, mukaan lukien leivonnaisia. Sukraloosi on sakkaroosista kemiallisella menetelmällä valmistettu makeutusaine, joka lisää makeutta sokerimaista makua säilyttäen. Jälkimmäinen ominaisuus tekee siitä sopivan käytettäväksi matalan pH-arvon, neutraalien tuotteiden ja lämpöprosessoitujen elintarvikkeiden kanssa. Tämä makeutusaine on hyväksytty käytettäväksi elintarvikkeissa useissa maissa ympäri maailman, josta on tullut suosittu elintarvike- ja juomateollisuudessa. (O'Donnell & Kearsley, 2012, s. 167)

Sukraloosi valmistetaan korvaamalla selektiivisesti kolme sakkaroosimolekyylin hydroksyyliiryhmää kolmella klooriatomilla, jolloin saadaan 1,6-dikloori-1,6-dideoksi-betaD-fruktofuranosyyli-4-kloori-4-deoksi-alfaD-galaktopyronosidi. Perusprosessi on olennaisten hydroksyyliiryhmien selektiivinen suoja, jota seuraa klooraus, purkaminen ja puhdistus. Sukraloosi voidaan kiteyttää vesiliuoksesta ja sitä voidaan valmistaa korkealle puhtaudelle ja sakeudelle. (Mitchell, 2006, ss. 131–132)

Happamuudensäätöaineen tehtävä elintarvikkeessa on ylläpitää tiettyä pH-arvoa. Ne auttavat myös säilyttämään elintarvikkeen alkuperäisen maun ja värin. (Conto, 2017) Sitruunahappoa käytetään hapettumisenestoaineena. Se valmistetaan melassistai tai glukoosista bioteknisesti homesientien avulla. Sitruunahappoa voi käyttää melkein kaikkiin elintarvikkeisiin, joissa lisäaineiden käyttö on sallittu. Sitruunahapolla ei ole hyväksyttävää päivittäistä enimmäissaantia, sillä se ei ole tarpeen. (Ruokavirasto, n.d.-e)

Omenahappo on säilöntäaine ja happamuudensäätöaine, joka on luonnossa yleisesti esiintyvä happo, mutta voidaan valmistaa kemiallisin menetelmin. Omenahappoa voidaan

käyttää lähes kaikkiin elintarvikkeisiin, joissa lisäaineiden käyttö on sallittua.

Enimmäismäärärajoitus omenahapolle on vain ananasmehussa. Hyväksyttävää päivittäistä enimmäissaanti ei ole tarpeen määrittää. (Ruokavirasto, n.d.-d)

Uutteet tuovat elintarvikkeisiin makua ja värejä. Bioaktiivisten yhdisteiden tai muiden komponenttien uuttamisvaiheet ovat erilaisia riippuen materiaalista ja uuttamismenetelmästä. On olemassa monia uuttamismenetelmiä, jotka ovat käytettävissä laboratorioissa ja teollisuudessa. (Tiwari, 2013, s. 190)

Be Sharp- energiajuomassa on safloriuutetta. Saflori on monikäyttöinen kukkakasvi, josta saa laadukasta öljyä ja monityydyttömiä rasvahappoja. Saflori tuottaa värillisiä kukkia, joita käytetään luonnollisten väriaineiden lähteenä elintarvikkeisiin ja kankaisiin. (Gupta, 2015, ss. 149 – 150)

Vitamiinit ovat monimutkaisia orgaanisia yhdisteitä, jotka ovat välttämättömiä normaalille aineenvaihdunnalle ja niiden puute ruokavaliossa aiheuttaa puutossairauksia. Niitä tarvitaan pieniä määriä (mikrogrammoista milligrammoin päiässä) edistämään terveyttä, kasvua ja lisääntymistä. Vitamiinit eivät ole yhteydessä toisiinsa, kuten proteiinit, hiilihydraatit ja rasvat. Niiden luokittelu ei riipu kemiallisista ominaisuuksista vaan toiminnasta. Esimerkiksi askorbiinihappoa voidaan syntetisoida monista eläinlajeista. Syntetisointi ei onnistu, mikäli ne ovat nuoria tai stressaavissa olosuhteissa. (McDowell, 2020, s. 3)

C-vitamiini eli askorbiinihappo on mehuissa ja virvoitusjuomissa yleisimmin käytetty vitamiini. Sitä esiintyy myös luontaisesti useissa hedelmissä, mutta hajoaa ajan kuluessa. (Saarela ym., 2010, s. 193) Askorbiinihappo on valkoisen tai keltaisen väristä kiteistä jauhetta. Se kiteytyy vesiliuoksessa ja liukenee lievästi asetoniin ja alempiin alkoholeihin. 0,5-prosenttinen askorbiinihapon liuos vedessä on voimakkaasti hapan, koska pH-arvo on 3. Vitamiini on vakaampi hapossa kuin emäksisessä aineessa. Sitä ei löydy kuivista elintarvikkeista, ja se tuhoutuu herkästi keittämällä, erityisesti silloin, kun pH on emäksinen. Keittöhäviötä aiheuttaa myös C-vitamiinin liukoisuus. Useat kemialliset aineet, kuten ilman epäpuhtaudet, teolliset toksiinit, raskasmetallit, tupakansavu ja useat farmakologisesti aktiiviset yhdisteet, muun muassa jotkut masennuslääkkeet ja diureetit, ovat antagonistisia C-vitamiinin kanssa ja voivat johtaa tarpeeseen lisätä vitamiinia. (McDowell, 2020, s. 601)

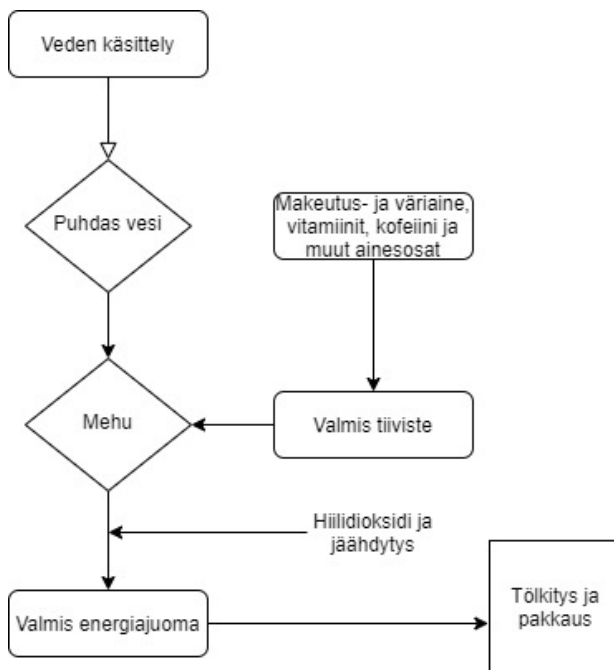
Elintarviketeollisuus pyrkii tarjoamaan kuluttajille turvallisempia, ravitsevampia ja laadukkaampia tuotteita. Elintarvikkeiden mikrobikontaminaatio aiheuttaa vakavia sairauksia ja johtaa taloudellisiin menetyksiin. (Bevilacqua, ym., 2010, s. 182) Elintarvikkeista poistetaan usein mikrobiologisia vaaroja steriloimalla niitä kuumentamalla 60 – 100 °C-asteen välillä. Tämän menetelmän aikana suuri määrä energiaa siirtyy elintarvikkeisiin, joka voi aiheuttaa ei-toivottuja muutoksia aistinvaraisesti, ulkonäöllisesti tai ravitsemuksellisesti. Lämpökäsittelyjen vaihtoehtona voidaan käyttää säilöntäaineita. (Bevilacqua ym., 2010, s. 1)

Kaliumsorbaatti on säilöntäaine, joka valmistetaan kemiallisesti. Tätä käytetään hiivoja, homeita ja bakteereja vastaan happamissa ja lievästi happamissa elintarvikkeissa. Kaliumsorbaattia voi käyttää esimerkiksi juomiin, hilloihin ja mehuihin. Hyväksyttävä päivittäinen enimmäissaanti on 25 mg/kg/vrk. (Ruokavirasto, n.d.-c)

#### **4 Energiajuoman valmistusprosessi**

Osa opinnäytetyössä selvitettävistä analyysimenetelmistä on prosessiin liitettäviä. Selvitettyssä analyysimenetelmässä voi prosessin aikana tutkia juoman ominaisuuksia. Kuvassa 1 sivulla 8 on kuvattu tyypillinen energiajuoman valmistusprosessi, joka on samanlainen kuin monien virvoitusjuoman vuokaavio. Vuokaavio kuvataan opinnäytetyössä, jotta voidaan selvittää prosessiin liitettävän mittalaitteen mahdollinen sijainti prosessissa.

Kuva 1. Energiajuoman vuokaavio. (Singh ym. n.d.)



Energia- ja virvoitusjuoman valmistusmenetelmät ovat hyvin samanlaiset. Molemmat ovat alkoholittomia ja hiilihapollisia juomia, mutta ero löytyy kofeiinipitoisuuseroista. Kuvassa 1 nähdään energiajuoman valmistuksen vuokaavio. Vesi käsitellään puhtaaksi esimerkiksi pilaajamikrobeista ja mineraalisuoloista. Energiajuoman tiiviste valmistetaan halutuista raaka-aineista ja sekoitetaan veteen. Tästä syntyy mehu, joka jäähdytetään, lisätään hiilidioksidi ja tästä saadaan valmis energiajuoma tölkitettäväksi. (Singh ym. n.d.)

Juoman uuttoprosessin yksityiskohdat riippuvat raaka-aineesta, mutta tyypillisesti uutossa hedelmiä jauhetaan, kuumennetaan ja sekoitetaan entsyymien kanssa sen hajottamiseksi. Mehua erotetaan esimerkiksi separoimalla sentrifugilla tai tiivistetään haihduttamalla vesi. Monet virvoitusjuomat valmistetaan erikoistoimittajan tuottamista tiivisteistä, jonka virvoitusjuomavalmistaja tilaa erikseen. (Ashurst, 2016, s. 213)

Ainesosat yleensä sekoitetaan yhteen isossa eräsäiliössä, missä sekoitetaan vesi, hiilidioksidi, tiiviste, makeutusaine tai sokeri ja lisäaineita. Irtoainekset voidaan mitata tai punnita varastossa. Pienet ainekset yhdistetään usein pienemmässä esisäiliössä ennen pääsekoitussäiliöön lisäämistä. Sekoitus- ja esisäiliöihin on saatavilla erilaisia sekoittimia. (Ashurst, 2016, ss. 215–216)

Ainesosien sekoittamisen jälkeen voidaan tehdä aseptisen täytön pakkaukseen. Aseptisen täytön onnistumiseen tarvitaan puhtaat säiliöt, tuote, ympäristö ja muut välineet.

Suositteluaan, että täyttölaitte sijaitsee erillisessä huoneessa, joka on ylipainettu puhtaalla suodatetulla ilmalla. Tölkkien ja pullojen täyttö tapahtuu yleensä ilman kosketusta ja tuote punnitaan tai mitataan tilavuudeltaan. (Ashurst, 2016, ss. 219–220)

## 5 Menetelmät

Elintarviketeollisuudessa on käytössä monia laitteistoja, joilla voidaan mitata sukraloosia. Teollisuus voi ostaa prosessiin liitettävän tai laboratoriossa käytettävän laitteiston. Esimerkiksi Anton Paar ja Hach Lange valmistavat sopivia laitteita elintarviketeollisuuteen. Erilaisia mittalaitteita tutkitaan opinnäytetyössä, tarkoituksena on löytää Nokian Panimolle laite, joka palvelee heidän prosessiaan.

Anton Paar valmistaa sekä laboratorioon, että prosessiin liitettäviä laitteita. Monissa heidän nykyaikaisissa digitaalisissa tiheysmittareissa on mittausanturi, joka on borosilikaattilasista tai metallista valmistettu U-muotoinen putki. Se mittaa esimerkiksi makeutusainepitoisuutta värähtelemällä sen ominaistajuudella, joka on suoraan verrannainen näytteen tiheyteen. Hiukkaset ja kuplat havaitaan luotettavasti ja mittatuloksen tarkkuus on jopa  $0,000007 \text{ g/cm}^3$ . Mittauskennon rakenteen vuoksi ulkoiset tekijät, kuten usein vaihtuvat mittaushenkilöt, joilla on erilaiset täyttötavat, eivät vaikuta tuloksiin. Myös laitteisto osaa varoittaa, mikäli ympäristössä ei ole optimaaliset olosuhteet, kuten lämpötila ja kosteus. (Anton Paar, n.d.-a)

Anton Paar valmistaa laitetta, jonka nimi on Soft Drink Analyzer M, jossa käytetään edellä mainittua U-putkea. Se on erityisesti tehty virvoitusjuomien analysointiin ja mittaa siitä sokeripitoisuutta sekä tiheyttä. Tätä laitetta voidaan käyttää laboratoriossa prosessin jälkeen laadunvarmistamiseksi tai prosessin aikana, jos siitä voidaan ottaa näyte ja viedä laboratorioon. Tiheys mitataan pulssiherätemenetelmällä ja äänennopeudella, joka on hyvä väline hiilihapollisten virvoitusjuomien mittaamiseen. (Anton Paar, n.d.-b)

Soft Drink Analyzer M on hyvä mittalaite laboratorioon, jos laatua halutaan varmistaa prosessin jälkeen tai juuri ennen tölkitystä. Panimoalalla hyödynnetään usein erilaisia prosessiin liitettäviä analyysilaitteita, joilla pystytään tarkkailemaan oleellisia laadunvarmistukseen vaikuttavia ominaisuuksia. Tällöin on mahdollista reagoida, mikäli

esimerkiksi tuotteen tiheys ei ole haluttu. Cobrix 5600- laite on juoman tölkitysprosessiin liitettävä ja se kertoo tuotteen sokeri-, makeutusaine- ja hiilidioksidipitoisuudesta. Cobrix 5600- laitteella voidaan mitata myös alkoholi- ja happipitoisuutta ja juoman väriä, jotka ovat olennaisia oluen laadunvarmistuksen kannalta. Oluen korkea happipitoisuus voi aiheuttaa etikkahappobakteerien luomia etikkaisia virhemakuja. (Anton Paar, n.d.-c ; Enari & Mäkinen, 2014, ss. 235–236.)

Erilaisia menetelmiä on olemassa kyseisen energiajuoman tiivistepitoisuuden tutkimiseen. Voidaan mitata esimerkiksi sukraloosi- tai kofeiinipitoisuutta laboratoriossa tölkitysprosessin jälkeen. Toimeksiantaja on kiinnostunut juoman tölkitysprosessiin liitettävästä laitteesta, jota seurataan ennen tuotteen tölkitystä, eivätkä laboratoriomittaukset ole opinnäytetyön lopputuloksen näkökulmasta välttämättömiä. Tämän vuoksi ne rajataan työn ulkopuolelle. Anton Paar-mittalaittevalmistajalta löytyy laaja valikoima mittalaitteita, jotka sopisivat Nokian Panimon tarpeisiin. Laitteen tulisi antaa tarkka mittaustulos tuotteen tiheydestä, sillä sokerittomassa energiajuomassa tiheyserot ovat pieniä. Laitteiston on myös otettava huomioon se, että tuotteessa on jo hiilidioksidia ennen tölkitystä.

Sokeriton Be Sharp- energiajuoma sisältää ainesosia, josta voidaan selvittää juoman tiivistepitoisuutta. Kun tiedetään paljonko on esimerkiksi sukraloosia tai kofeiinia 100 millilitrassa, voidaan laboratoriotutkimuksilla saada selville, onko tiivistepitoisuus haluttu. Tämä tapahtuu vertaamalla saantoa ja sitä, mitä tuotteen ravintosisältö sisältää.

## **6 Sukraloosin määrittäminen**

Be Sharp- energiajuoma sisältää sukraloosia, jonka sukraloosipitoisuuden määrittäminen voidaan tehdä laboratoriossa. Sukraloosia voidaan mitata HPLC-menetelmällä sekä UV-spektrofotometrisellä menetelmällä. Sukraloosin määrittäminen on erilainen analyysi, kuin sokerin.

### **6.1 HPLC-menetelmä**

Korkean suorituskyvyn nestekromatografia (HPLC) on tärkeä analyttinen menetelmä, jota käytetään yleisesti nestemäisten näytteiden komponenttien erottamiseen ja kvantifiointiin.

Tässä tekniikassa liuos (ensimmäinen faasi) pumpataan pylvään läpi, joka sisältää pienten huokoisten hiukkasten pakkauksen, jonka toinen faasi on sidottu pintaan.

Näytekomponenttien erilaiset liukoisuudet toisessa faasissa aiheuttavat komponenttien liikkumisen sarakkeen läpi erilaisilla keskimääräisillä nopeuksilla, mikä luo näiden komponenttien erottamisen. Pumpattua liuosta kutsutaan liikkuvaksi faasiksi, kun taas pylvään vaihetta kutsutaan kiinteäksi faasiksi. (JoVE Science Education Database, 2021)

HPLC-analyysiä tehdessä RI-detektorilla voidaan määrittää sukraloosia elintarvikkeista. Vesipohjaisia tuotteita voidaan analysoida tällä menetelmällä suoraan, mutta hilihapot on poistettava ennen analyysiä. Sukraloosi voidaan myös uuttaa polaaraisella liuottimella, kuten vedellä tai metanolilla. Yleensä ennen analyysiä tulee poistaa mahdollisia häiritseviä ainesosia, joka saavutetaan usein kiinteän faasin uuttosylinteriampullien avulla. Tehokkaimmiksi osoittautuneet patruunapakkaukset ovat C 18-käänteisvaihe ja alumiinioksidi. (O'Donnell & Kearsley, 2012, s. 179)

HPLC-laitetta ostaessa, tulee ottaa huomioon se, että laitteet ovat monimutkaisia. Laitteistoa valitessa voi olla monia eri komponenttivalintoja, joista täytyy valita se, joka sopii omiin tarpeisiin parhaiten. Laitteen käyttö tarvitsee hyvän opastuksen. Käytetyn HPLC-laitteiston hinta voi vaihdella noin 30 000€:n ja 50 000€:n välillä. Valmiita listahintoja ei käyttämättömille tuotteille yleensä löydy, sillä HPLC-laitteistoa ostaessa tutkimuksen aiheuttamat tarpeet voivat aiheuttaa muutoksia hinnoissa. (Conquer Scientific, n.d.)

## 6.2 UV-Spektrofotometrinen menetelmä

Sukraloosin analyysi spektrofotometrinen menetelmien avulla on vaikeaa, koska siitä puuttuu sopiva kromofori. Sukraloosia voidaan mitata UV-spektrofotometrian avulla 254 nanometrissä määrittämällä ftohajoavaa tuotetta. Näyte vaatii säteilytystä pH-arvossa 12 noin tunnin ajan. Sukraloosi hapettuu todennäköisesti fotokemiallisesti UV-aktiiviseksi karbonyyliyhdisteeksi, jolle on tunnusomaista maksimaalinen absorbanssi 270 nanometrissä. (Idris ym., 2013, ss. 603–605)

Menetelmä on yksinkertainen, edullinen ja nopea. Sitä voidaan käyttää esimerkiksi prosessilaboratorioissa sukraloosin määrittämiseksi kaupallisista makeutusaineista. Tätä

menetelmää voidaan käyttää sukraloosin määrittämiseen virvoitusjuomista. (Idris ym, 2013, s. 603–605) Laboratoriotarvikkeiden lisäksi tähän menetelmään tarvitaan spektrofotometri joka käyttää ultraviolettispektroskopiaa. Tämä laite voi maksaa noin 1500 €. (M&A INSTRUMENTS INC., n.d.)

## **7 Kofeiinipitoisuuden määrittäminen**

Euroopan parlamentin ja neuvoston asetuksen EU N:o 1169/2011 9 artiklassa on säädös kofeiinipitoisuuksien merkitsemisestä elintarvikepakkaukseen, jossa on korkea kofeiinipitoisuus tai lisättyä kofeiinia. Näissä on varoitukset raskaana oleville, imettäville ja lapsille. Tuotteessa tulee olla kerrotuna kofeiinipitoisuus ja suositus vuorokautisesta käyttömäärästä. (Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus (EU) N:o 1169/2011, 2011)

### **7.1 Nestekromatografinen menetelmä**

Kofeiinia voidaan määrittää esimerkiksi nestekromatografisella menetelmällä. Kofeiini on kiteistä ja valkoista ainetta, jonka sulamispiste on 238 °C. Juomanäyte liuotetaan metanoliin, josta kofeiini määritetään nestekromatografisesti UV-valaisimella ja käänteisfaasikolonilla. Näytteitä uutetaan vedellä ja metanolilla ja standardit suodatetaan ja ilmastetaan. Yhdisteiden erottuminen saadaan selville C-18 käänteisfaasikolonissa. Eluenttina käänteisfaasitekniikassa toimii kolonnimateriaalina pooliton hiilivety ja polaarinen liuotin. Yhdisteet havaitaan UV-detektorin avulla 273 nm:n aaltopituudella. Tämä työ vaatii standardiliuosten ja näyteliuoksen valmistuksen. Näistä poistetaan ilma ultraäänihauteella ja suodatetaan. (Opetushallitus, n.d.)

Erilliselle millimetripaperille piirretään standardisuora. X-akseli kertoo kofeiinipitoisuudesta ja y-akseli piikkien pinta-alasta. Piikeistä lasketaan pinta-ala ja suoralta katsotaan laimennetun näytteen kofeiinipitoisuus. Sitten voidaan laskea näytteen kofeiinipitoisuus ja laimennuskerroin. (Opetushallitus, n.d.)



## 7.2 Kofeiinin määrittäminen

Kofeiinia voidaan määrittää eristämällä juomasta. Juomaa keitetään aluksi absestiverkolla 10 – 15 minuuttia samalla sekoittaen. Seos suodatetaan kuumana, käyttäen imua ja suppiloa.

Suodokseen lisätään kaliumkarbonaattia ja jäähdytetään huoneenlämpöiseksi.

Kaliumkarbonaatin tehtävä on erottaa faasit etyyliasetaattiuutossa ja suolata kofeiini irti vedestä. (Helsingin yliopisto, n.d.)

Jäähtynyt seos kaadetaan erotussuppiloon ja siihen lisätään asteittain etyyliasetaattia, jonka avulla faasi alkaa erottua. Tämä toimenpide toistetaan vielä kaksi kertaa ja lopuksi sekoitetaan kuivausaineeseen. Kofeiinin etyyliasetaattiliuoksen annetaan kuivua ja suodatetaan. Etyyliasetaatti poistetaan tislamalla esimerkiksi vesihauteella ja keittolevyllä. Tislaus jatkuu, kunnes nestettä ei ole paljoa jäljellä. Lopuksi haihdutetaan loput etyyliasetaatit nesteestä pois. Jäljelle jää epäpuhdas kofeiini, joka puhdistetaan sublimoimalla. Vaalea kofeiinikerros saadaan raaputettua pois. (Helsingin yliopisto, n.d.)

Tämän menetelmän avulla ei voida laskea teoreetista saantoa, mutta voidaan laskea prosentuaalinen saalis. Esimerkiksi oletetaan, että energiajuoman tiheys on sama kuin veden, saadaan 0,33 litran tölkestä nestettä 329,274 grammaa. 329,274 grammasta kofeiinia saadaan 180 mg, saanto on  $(0,18 / 329,274) \times 100 = 0,05 \%$ . (Helsingin yliopisto, n.d.)

## 8 Happamuuden määrittäminen

Juoma luokitellaan happamaksi, jos sen pH on 2.85 – 3.11 välillä. Energiajuoman happamuutta voidaan mitata mittaamalla sen pH-arvoa, joka on helposti mitattavissa käsikäyttöisellä pH-mittarilla. Useat energiajuomat ovat happamia ja niiden pH-arvo on ollut 2.85 ja 3.11 välillä. pH:n ollessa alle 7, se luokitellaan happamaksi. Happamuuteen vaikuttaa hiilidioksidi ja muut hapot, kuten fosfori-, omena-, askorbiini-, sitruuna- ja viinihappo, joita käytetään säilöntäaineina, estämään ei-toivottujen mikrobien kasvua. Näitä mikrobeja voivat olla esimerkiksi bakteerit, home ja sienet. Juomien happamuutta on tutkittu ja huomattu, että ne tuottavat hammaskiilteen eroosiota. (Hossain ym, 2015)

Energiajuoman happamuutta mittaamalla voidaan todeta, onko nesteessä tarpeeksi tiivistettä vertaamalla veden pH-arvoon. Veden normaali pH-arvo on 6,5 ja 8,5 välillä. (Water

research center, n.d.) Energiajuoman tiivistepitoisuuden voidaan olettaa olevan liian matala, mikäli sen arvo taittaa neutraalimpaan suuntaan.

Happamuuden mittaukseen pH-mittari voidaan ostaa edullisesti. Vedenkestävä digitaalinen pH-mittari voidaan ostaa edullisestikin, mutta mittarin täytyy olla kalibroitu ja mittauksen tarkkuuden tulee olla tarpeeksi tarkka. Arvon saa, kun tuotteen lämpötila on -5 – 60 °C. Mittari tarvitsee kuitenkin säännöllistä kalibrointia, mutta sisältää takuun ja mittatuloksen saa suhteellisen nopeasti. (Lappo.fi, n.d.)

## 9 Kuiva-aineen määrittäminen

Elintarvikkeen tuhkasta määritellään kivennäisaineita, jossa orgaaniset aineet ovat poltettu. Tuhkassa on kationeja, kuten natriumia, kalsiumia, kaliumia ja magnesiumia. Vähäisissä määrin esiintyy myös alumiinia, rautaa, kuparia ja seleeniä. Anioneita ovat fosfaatit, sulfaatit, silikaatit, kloridit ja oksidit. Tuhkapitoisuudesta saadaan selville elintarvikkeen puhdistuminen. Esimerkiksi pitkälle puhdistetussa sokerissa tuhkaa ei ole juuri lainkaan. Orgaanisen aineksen tuhkaus voidaan tehdä kuivapolttona muhveliuumissa 550 celsius asteen lämpötilassa tai märkäpolttona hapettavien reagenssien kanssa. (Mattila ym, 2003) Suoraa näyttöä ei ole sokerittoman virvoitusjuoman kuiva-ainepitoisuuden tutkimisesta, mutta sokerilla makeutettujen on. Täytyy myös ottaa huomioon, että tavallisessa juomavedessä on myös kiintoaineita, mutta reilusti vähemmän. (Enam ym, 2014.) Taulukossa 1 nähdään erilaisten juomanäytteiden kuiva-ainepitoisuuksia.

Taulukko 1. Tunnettujen brändien juomien kuiva-ainemääriä. (Enam ym, 2014).

Näyte	Kuiva-ainemäärä, ppm
Coca-Cola	590,33
Red Bull	832,33
Evian, lähdevesipullo	234,00

## 10 Tiheyden määrittäminen

Tiheyseroja voidaan mitata esimerkiksi laittamalla valmis energiajuomatölkki veteen. Nopealla kokeilulla voidaan huomata, että sokerittoman energiajuoman tiheys on pienempi kuin veden, sillä tölkki jäisi kellumaan veden pinnalle. Vastaava sokeria sisältävä energiajuoma uppoaisi pohjaan. Sokerilisäys juomaan tekee sen tiheydestä suuremman. (Cox, 2021)

Tiheysmittausten avulla voidaan tarkistaa näytteen puhtaus ja konsentraatio, antaen käsityksen mitattavan parametrin koostumuksesta. Tiheyden mittaaminen on tärkeää eri toimialoilla ja raaka-aineiden että valmiiden tuotteiden laadun varmistamiseksi. Tiheys on fyysikaalinen parametri, joka antaa tietoa näytteen massasta jaettuna sen tilavuudella. Toisin sanoen, tiheys kertoo kuinka tiukasti aineen molekyylit ovat pakkautuneet yhteen yhdessä tilassa. Tiheyttä edustaa yleensä kreikkalainen kirjain rho " $\rho$ ". (Mettler Toledo, n.d.)

On olemassa fyysikaalisia ja digitaalisia menetelmiä tiheyden mittaamiseen. Esimerkiksi uppovaaka, jonka lasirunko asetetaan näytteeseen ja se kelluu tietyllä tasolla, riippuen näytteen tiheydestä, kertoo näytteen tiheyden. Se on edullinen, nopea ja yksinkertainen käyttää, mutta antaa käyttäjältä riippuvaiset tulokset, tarvitsee suuren näytetilavuuden ja on vaikea puhdistaa. Digitaalisten mittalaitteiden edut ovat siinä, että ne ovat helppokäyttöisiä, antavat tarkkaa dataa, mutta ovat huomattavasti kalliimpia. Lämpötilalla on suuri rooli tiheyttä mitattaessa, sillä lämmin neste voi saada molekyylit liikkumaan ja antaa virheellisen ja liian alhaisen mittatuloksen. (Mettler Toledo, n.d.)

Tarkkojen kvantitatiivisten lukujen saamiseksi, digitaaliset mittalaitteet käyttävät tiheyden mittaamiseen äänennopeutta ultraäänipulssien etenemisajan avulla. Mikäli mitataan hiilihappoja sisältävästä juomasta dataa, otetaan huomioon myös ne ja tehdään niille mittaaminen, jotta tiheysmittaustulokseen ei tule virheitä. (Anton Paar, n.d.)

Mitatessa nesteessä oleva ilmakupla tai epäpuhtaudet voivat aiheuttaa suuren eron sen tiheydelle ja johtaa väärään tiheysarvoon. Sama koskee digitaalista tiheysmittaria, joka perustuu U-putken mittauseräilyperiaatteeseen tiheyden määrittämiseksi. Nykyaikaisissa digitaalisissa tiheysmittareissa on kuitenkin parametri, joka huomioi mahdolliset

näytteeseen päässeet ilmakuplat, joka tukee käyttäjää tiheyden mittausten aikana.  
(Mettler Toledo, n.d.)

## **11 Tutkimuksen tavoite, tarkoitus ja tutkimustehtävät**

Nokian panimo Oy on aloittanut sokerittomien energiajuomien valmistuksen ja opinnäytetyön tarkoitus on löytää panimolle menetelmä, jolla saadaan selville juoman tiivistepitoisuus aistinvaraisen arvioinnin tueksi. Aihe valikoitui, sillä Brix-pitoisuutta ei voida mitata sokerittomasta tuotteesta. Tutkimus on tehty syksyllä 2021 vuoden 2022 alkuun asti. Tilaajan kanssa kommunikointi tapaamisilla sekä sähköpostein. Tietoa erilaisista menetelmistä saadaan lukemalla kansainvälisiä tutkimuksia sekä ottamalla yhteyttä mittalaittevalmistajiin.

Opinnäytetyön tutkimuksen tavoitteena on se, että selvitetään keinoja sokerittoman energiajuoman tiivistepitoisuuden mittaamiseen. Otetaan selville, että mitä ainesosaa mittaamalla tiivistepitoisuutta voidaan mitata ja miten tyypillisesti happaman energiajuoman happamuutta mittaamalla, saadaan selville tiivistepitoisuus. Työssä keskitytään selvittämään valmiin energiajuoman tiivistepitoisuutta, jossa on jo lisätty tiiviste, vesi ja hiilihappo. Toimeksiantaja on kiinnostunut selvittämään sitä laadunvarmistuksen kannalta, jotta saadaan kvantitatiivisia tuloksia ja tasalaatuinen tuote, turvautumatta pelkästään aistinvaraiseen arviointiin.

Tarkoituksena on vertailla erilaisia menetelmiä, jotka ovat sopivia sokerittoman energiajuoman mittaamiseen. Opinnäytetyössä vertaillaan erilaisten analyysien hintatasoa, asennushelpoutta, mittaustarkkuutta sekä henkilökunnan työllistämistä. Selvitetään, että mitä täytyy tehdä tiettyjen mittalaitteistojen asennuttamiseksi. Osa menetelmistä tarvitsee näytehangan asennuksen tai valmiin juomatölkin, mutta prosessiin liitettävä laitteisto vaatii mittausanturin asennuksen putkistoon. Mittausanturi tulisi asentaa putkistoon, jossa kulkee valmis energiajuoma. Tutkimustehtävissä tuodaan esille erilaisia mittalaitteistoja, jotka sopivat panimon käyttöön sokerittoman energiajuoman analysointiin. Tutkimuskysymyksiin vastataan taulukon avulla, jossa kerrotaan eri menetelmien mittaamista arvoista, niiden tarkkuudesta, hinnasta ja hyvistä että huonoista puolista.

## 12 Tulokset ja niiden tarkastelu

Kansainvälisistä tiedonhakulähteistä, kuten Researchgatesta ja Sciencedirectistä löytyy erilaisia mittausten menetelmiä laboratorioon, kuten sukraloosin määrän löytäminen UV-lamppua käyttäen. Olosuhteiden ja aikataulun vuoksi sukraloosia ei lähdetty mittaamaan Hämeen ammattikorkeakoulun laboratorioon. Tietoperustana päätettiin käyttää paljon kansainvälisiä lähteitä, sillä suomen kielellä tutkimuksia löytyi hyvin vähän. Erilaisia tutkimuksia sukraloosin mittaamisesta löytää Researchgatesta ja Sciencedirectistä.

Otettiin moniin mittalaittevalmistajiin yhteyttä ja yritykselle parhaiten palvelevan laitteen tarjoaa Anton Paar. Muilla mittalaittevalmistajilla ei ollut tarjota prosessiin liitettävää laitteistoa, jonka toimeksiantaja toivoo löytävänsä. Yrityksen tekninen myyntiedustaja suosittelee prosessiin liitettävää mittalaitteistoa. (Hannus, henkilökohtainen tiedonanto, 15.12.2021) Cobrix 5600- laite mittaa esimerkiksi virvoitusjuomista, oluesta ja muista juomista toimeksiantajaa kiinnostavia ominaisuuksia. Sillä saadaan selville Brix-arvo, hiilidioksidi, alkoholi, lämpötila ja keinotekoisien makeutusaineiden pitoisuus. Laitteelle voidaan asettaa tiettyjä raja-arvoja ja kun ne menevät hyväksyttävän alueen ulkopuolelle, laite laukaisee joko äänellä tai visuaalisesti laukeavan hälytyksen. Tiivistepitoisuutta mitattaessa, mitataan makeutusainepitoisuutta laitteen avulla, joka käyttää äänennopeutta. Tämän tuotteen kohdalla makeutusaine on sukraloosi.

Mittalaitteiston tulee huomioida se, että tuote sisältää valmiiksi hiilidioksidia ennen kun se tölkitetään. Laitteen tulisi tiivistepitoisuuden lisäksi mitata samanaikaisesti hiilidioksidia, jotta valmis laite osaa laskea tiiviste- ja hiilidioksidipitoisuuden erikseen. Mikäli laite ei laskisi hiilidioksidipitoisuutta, se voisi antaa väärää mittaustuloksia tiheyden tai makeutusainepitoisuuden suhteen.

Juoman happamuutta mittaamalla saadaan selville, että onko juomassa tarpeeksi tiivistettä. Energiajuomat ovat usein happamia, joten kun sen pH-arvo lähenee veden arvoa, voidaan olettaa, että se on laimeampaa, kuin sen odotetaan olevan. Tähän pätee myös se, että valmiin juoman ollessa liian hapan, siitä löytyy liikaa tiivistettä. Tätä varten on tehtävä tietyt raja-arvot ja mittaukset, kun tuote on aistinvaraisesti ja ulkonäöllisesti sellainen kuin haluttu, mittausta on hyvä tehdä ja seuraavia tuotteita verrata siihen.

## 12.1 Cobrix 5600-laite

Koska Cobrix 5600-laite laskee tiheyden, makeutusaine- ja hiilidioksidipitoisuuden, se olisi prosessiin sopiva laite. Tölkitysprosessissa tiiviste virtaa tölkityskoneelle, jossa lisätään vesi ja hiilidioksidi, josta neste menee hetkellisesti puskuritankkiin. Mittausjärjestelmän sijoitus tulee olla siinä, missä juoma on valmis ja ennen tölkitystä, jotta saadaan pidettyä huoli siitä, ettei tölkkiin mene liian laimeaa tai vahvaa energiajuomaa.

Kun laitteen sijainti on valittu ja halutaan ottaa laite käyttöön, tulee siihen asettaa putkistossa erilaisten tuotteiden toivotut tiheys-, alkoholi-, hiilidioksidi- tai makeutusainepitoisuus. Laite toimii siten tarkoituksensa mukaisesti ja estää vääränlaisen tuotteen tölkityksen. Mikäli tuotteeseen tulee virhe eikä se täytä valittuja kriteereitä, tulee suunnitella miten prosessi etenee. Virheellistä tuotetta voidaan ajaa esimerkiksi hävikkiin ja korjata tiivistepitoisuuden lisäys.

Opinnäytetyössä viestiteltiin sähköpostitse Anton Paarin teknisen myyjän, Paavo Hannuksen kanssa. Anton Paarin Cobrix- laitteista löytyy kaksi erilaista versiota, Cobrix 5600 ja 5500. Laitteiden ero on se, että Cobrix 5500 edellyttää vuosittaista huoltoa. Cobrix 5600 on kalliimpi ja huoltovapaa, mutta maksaa laitteiden hinnan erotuksen myöhemmin takaisin. Näiden laitteiden listahinnat vaihtelevat 27 000€:n ja 31 000€:n välillä, riippuen laitekokonaisuudesta ja sisältäen molemmat laitteet. Laitteiden hinta ei kuitenkaan ole aina täsmälleen listasta otettava tieto. (Hannus, henkilökohtainen tiedonanto, 15.12.2021.) Laitteen hyötyinä ovat ne, että laite mittaa jatkuvasti prosessia, on mahdollisesti huoltovapaa ja estää vääränlaisen tuotteen pääsyn markkinoille. Haittana on se, että laitteisto on hintava ja voi tarvita säännöllistä vuosittaista huoltoa.

## 12.2 Työn tulos

Taulukossa 2. verrataan opinnäytetyössä aiemmin tutkittuja mittausmenetelmiä energiajuoman tiivistepitoisuuden mittaamiseen. Tiivistepitoisuutta voidaan päätellä siitä, paljonko raaka-ainetta on saatu esimerkiksi 100 ml kohti ja verrata sitä reseptiin. Sukraloosipitoisuutta voidaan mitata HPLC- ja UV-Spektrofotometrisellä menetelmällä ja

Cobrix 5600-laitteella, joka mittaa makeutusaineen määrän. Happamuutta mittaamalla voidaan päätellä, onko tiivistettä juomassa tarpeeksi.

Taulukko 2. Erilaiset mittausmenetelmät taulukossa. (Conquer Scientific, n.d.) (O'Donnell & Kearsley, 2012, s. 179) (Opetushallitus, n.d.) (Lappo, n.d.) (Hannus, henkilökohtainen tiedonanto 15.12.2021) (Anton Paar, n.d.) (M&A INSTRUMENTS INC., n.d.) (Idris ym., 2013, ss. 603–605)

Laite	Hinta	Mittaustulos	Tuloksen tarkkuus	Hyödyt	Haitat
HPLC-laitteisto	Käytetty laitteisto 30 000 - 50 000 €	Sukraloosi- ja kofeiinipitoisuus	- Konsentraatio kahden desimaalin tarkkuudella - Kofeiini prosentteina	- Tietokone-ohjattava - Molempia ainesosia voidaan määrittää samanaikaisesti	- Hidas - Reagenssien hankinta - Työllistävä - Ei yhtäaikaista pitoisuuksien analysointia
pH-mittari	~ 70 €	pH-arvo.	Tulos on suhteellisen tarkka	- Edullinen - Nopea - Helppokäyttöinen	- Tiukkojen raja-arvojen selvitys
Anton Paar – Cobrix 5500 ja 5600	27 000 – 31 000 €, laitekoko- naisuudesta riippuen	- Alkoholi- - Sokeri- ja - Makeutus- ainepitoisuus	- Tarkka tiheyden mittaus	- Voidaan mitata muiden juomien ominaisuuksia - Reaaliaikainen data - Laitehuolto-mahdollisuus	- Kallis - Vaatii huolellisen asennuksen
UV-Spektrofotometrinen menetelmä	1500 €	Sukraloosi	Konsentraatio 0,1 g / l tarkkuudella	- Yksinkertainen - Edullinen - Nopea	- Voidaan mitata vain sukraloosia

Taulukossa 3 nähdään, millä menetelmillä saadaan selville juoman tiheys ja suraloosi- ja kofeiinipitoisuus. Huomataan, että HPLC-laitteistolla voidaan selvittää energiajuoman sukraloosi- ja kofeiinipitoisuus. Anton Paarilla ei saada selville kofeiinipitoisuutta, mutta se laskee tarkasti tiheyden sekä makeutusainepitoisuuden. UV-Spektrofotometrisellä menetelmällä saadaan selville vain sukraloosipitoisuus. pH-mittarilla saadaan selville vain happamuus, eli voidaan vain päätellä tiivistepitoisuus.

Taulukko 3 osoittaa myös sen, että laitteistojen hinnoissa on eroja. Tarkan tuloksen voi saada sijoittamalla laitteistoon tai edullisemmin UV-spektrofotometrisellä menetelmällä. Cobrix-laitteistot vaativat tuotteiden tietojen syötön, joka voi olla työläs, kun erilaisia tuotteita valmistetaan paljon. Muut laboratoriossa tehtävät tutkimukset tarvitsevat laborantin tekemään työn.

Taulukko 3. Tutkittujen ainesosien mittaus eri menetelmillä ja hinta.

Laite	Tiheyden mittaus	Sukraloosin mittaus	Kofeiinin mittaus	Hinta < 3000 €	Hinta > 3000 €
HPLC-laitteisto		x	x		x
pH-mittari				x	
Anton Paar - Cobrix 5500 ja 5600	x	x			x
UV-Spektrofotometrinen menetelmä		x		x	

Taulukossa 4 huomataan, että pH-mittari ja Cobrix-laitteistot antavat nopeiten dataa. Cobrix-laite mittaa reaaliajassa tuotteen tiheyttä ja makeutusainepitoisuutta. pH-mittari antaa pH-arvon, mutta sen näyte tulee ottaa prosessin aikana esimerkiksi näyتهanasta. Cobrix-laite vaatii henkilön lukemaan tiedon näytöltä, kun pH-mittari tarvitsee esimerkiksi laborantin tai prosessioperaattorin tekemään mittauksen. HPLC-menetelmä on pitkäkestoinen ja vaatii hyvin koulutetun henkilön tekemään sen. UV-spektrofotometrinen menetelmä on nopeampi, mutta vaatii myös oman aikansa. Prosessin tehokkuuden säilyttämiseksi, tuotantoa ei kannata seisauttaa pitkäksi aikaa odottamaan näytteen tulosta.



Taulukko 4. Menetelmien tuloksen saanti ja laboranttien työllistäminen.

Menetelmä	Tulos alle 5 minuutissa	Tulos yli 5 minuutissa	Laborantteja työllistävä
HPLC-laitteisto		x	x
pH-mittari	x		x
Anton Paar - Cobrix 5500 ja 5600	x		
UV- Spektrofotometrinen menetelmä		x	x

Menetelmiä on erilaisia. Näytettä voidaan suoraan lähettää laboratorioanalyysijä tekeväälle yritykselle, joka maksaa. Tämä ei välttämättä ole pitkällä aikajaksolla rahallisesti sopiva valinta, riippuen yrityksen tuotosta, mutta tämänkin sijoituksen voi tehdä oman laitteiston hankintaan ja laboratorion henkilökunnan palkkaamiseen, joka on kannattavampaa, kun analyysijä tarvitsee tehdä monta ja säännöllisesti.

HPLC-laitteiston voi hankkia laboratorioon. Näytteen voi hakea prosessin aikana ja sen jälkeen. Tämä on kuitenkin aikaa vievä metodi, sillä sukraloosi- ja kofeiinipitoisuus täytyy mitata erikseen, jos molempia halutaan mitata. Voidaan myös selvittää, kumpaa näistä raaka-aineista kannattaa mitata mielummin. Laitteiston hankkiminen pelkästään näitä raaka-aineiden mittausta varten voi olla kalliimpi sijoitus kun kalliimman laitteiston, sillä tämän metodin parissa täytyy olla esimerkiksi laborantti.

Happamuutta mitatessa pH-mittarilla ei välttämättä saada selville tuotteen todellista konsentraatiota, mutta saadaan kuitenkin selville suurin piirtein, onko veteen sekoitettu tarpeeksi tiivistettä. Tämä on edullinen vaihtoehto eikä pH:n mittaukseen kulu paljon aikaa. Tämä voisi kuitenkin olla hyvä apuväline aistinvaraisen arvioinnin tukena.

Cobrix-mittalaitteistot ovat kalliita, mutta niillä on hyvin suuret hyödyt jotka maksavat itsensä takaisin. Nämä laitteet antavat reaaliaikaisia tuloksia kirjaten ylös dataa. Asennettaessa laitetta prosessiin ei tarvitse olla varoa sitä, että tuote sisältää hiilidioksidia, sillä laite ottaa tämän huomioon. Putkistossa kulkiessa muitakin nesteitä, se ottaa ne huomioon. Nokian Panimo voi hyötyä tästä laitteesta, sillä se analysoi myös esimerkiksi oluen happi- ja alkoholipitoisuutta.

UV-Spektrofotometrinen menetelmä tarvitsee UV-lampun sekä spektrofotometrin. Tämä on myös laboratoriossa tehtävä työ, joka tarvitsee aikaa, työn tekijän sekä reagensseja. Laboratoriossa tehtävien töiden hankinta voi olla väärä sijoitus, jos toimeksiantaja on kiinnostunut digitaalisesta prosessiin liitettävästä laitteistosta.

### **13 Pohdinta ja johtopäätökset**

Tämän opinnäytetyön pyrkimyksenä on löytää pienpanimo Nokian Panimolle mittalaitteisto tiivistepitoisuuden mittaamiseen laadun varmistuksen näkökulmasta, jotta saadaan kvantitatiivisia lukemia aistinvaraisen arvioinnin tueksi. Opinnäytetyössä tutustutaan mittausmenetelmiin, jotka voivat olla laboratoriossa suoritettavia menetelmiä ja digitaalisia laitteistoja, jotka on suunniteltu laboratoriotutkimusten välttämiseksi. Työn edetessä saadaan selville sopivia mittalaitteita Nokian Panimon prosessiin ja lisää tietoa sokerittoman tuotteen luonteesta. Laitteiston asennus ja käyttöönotto eivät kuulu työhön. Työssä tutkittiin mitta- ja laboratoriolaitteita, niiden toimimismekanismeja ja niiden tärkeyttä elintarvikkeiden laadunvarmistuksen näkökulmasta.

Helppoin tapa tiivistepitoisuuden varmistamiseksi on hankkia valmis digitaalinen mittalaite, jonka avulla saadaan luotettavasti tiheyttä ja makeutusainepitoisuutta mitattua. Se on myös sijoitus muiden tuotteiden kannalta, myös olutta valmistamalle panimolle. Valmis mittalaitteisto antaa dataa myös muista panimossa valmistettavista juomista, jotka ovat olennaisia laadun valvonnan kannalta. Laboratorioanalyysit voivat olla edullisempi vaihtoehto, mutta virheellisen juoman päästyä tölkkiin, jälkikäteen tehtävä laboratoriotutkimus ei korjaa enää tuotetta. Opinnäytetyön tuloksena selvisi, että laboratoriomittalaitteisto voi tulla kalliimmaksi kuin digitaalinen, esimerkiksi verrattaessa HPLC-laitteiston ja Anton Paarin valmistaman Cobrix-laitteiden välillä. Laboratoriolaitteistot ovat myös työllistäviä ja ne vaativat koulutetun henkilön suorittamaan tutkimukset. Laboratoriossa tehtävässä tutkimuksessa voi olla myös eroja tuloksissa, sillä mittauksen saattaa tehdä eri henkilö. Vaikka kvantitatiivisia tuloksia halutaan, ei silti pidä unohtaa aistinvaraisen laadunvarmistuksen tärkeyttä, sillä kuluttajanäkökulmasta katsoen, tiheydellä ei ole niin suurta merkitystä kuin kuluttajan kokemalla makuelämyksellä.

Opinnäytetyöstä voisi saada jatkotutkimusaiheen laitteen toiminnallisen käyttöönoton parissa. Laitteelle tulisi syöttää halutut parametrit eri tuotteille ja valita sijainti. Laitteen asennus voi koitua liian laajaksi opinnäytetyöaiheena tehtäväksi. Jatkotutkimusaiheena voidaan myös selvittää, onko mahdollista ohjata hävikki prosessissa muuhun hyötykäyttöön. Voidaan pohtia, mitä nesteelle voidaan tehdä, jos se menee tölkityskoneelle väärillä arvoilla. Lähtötankista lähtevä venttiili voidaan laittaa kiinni ja vesityöntää virheellinen tuote säiliöön tai viemäriin. Mikäli tuote työnnetään säiliöön, tulee pohtia virheellisen tuotteen korjausmahdollisuuksia. Voidaan myös selvittää, miten voidaan välttää mahdollista hävikkiä. Jatkotutkimusaihe voisi myös löytyä sen tuotekehityksen parista, jossa tutkitaan sukraloosin vähentämisen merkitystä juomassa. Tällöin voidaan markkinoida energiajuomaa saman makuisena, mutta sisältäisi vähemmän makeutusainetta.

Työssä saatiin selville vastaukset tutkimuskysymyksiin. Aihe on virvoitusjuoma-alalla mielenkiintoinen, sillä virvoitus- ja energiajuomien tiivistepitoisuuden mittaus ei rajoitu pelkästään sokeripitoisuuden mittaukseen, vaan voidaan mitata monia erilaisia raaka-aineita. On ollut myös mielenkiintoista tutustua moniin erilaisiin makeutusaineisiin, sillä ne ovat yhä suosittumia virvoitusjuomateollisuudessa ja tulevaisuudessakin säännöllisesti käytössä tietyillä kohderyhmillä. Tulevaa insinööriuraa ajatellen, on tärkeää tutustua oikeiden mittalaitteiden löytämiseen ja selvittää, mitä dataa on olennaista mitata. Opinnäytetyössä saatiin selville myös laitteiden hintatasoja, mittaussnopeuksia ja analyysien lisäämisen vaikutus henkilökunnan työllistämiseen.

Kun verrataan mittausmenetelmistä edullisinta ja kalleinta vaihtoehtoa, voidaan miettiä, mikä palvelee yritystä parhaiten. Kvantitatiivisia tuloksia halutessaan todella pieni toimija voi käyttää pH-mittaria suuntaa antavana mittalaitteistona. Aistinvarainen arviointi voi kuitenkin olla tarkempi ja nopeampi vaihtoehto kuin pH-mittari. Suurempia määriä valmistava ja kasvava yritys voi hyvin sijoittaa kalliimpaan mittalaitteistoon, joka maksaa itsensä myöhemmin takaisin.

Ensimmäinen tutkimuskysymys kuului ”mitä mitataan, jotta saadaan tiivistepitoisuus mitattua?”. Tästä kyseisestä energiajuomasta voidaan mitata raaka-aineet huomioon ottaen kofeiini-, sukraloosi- ja makeutusainepitoisuutta. Kofeiinia ja sukraloosia voidaan mitata laboratoriossa ja makeutusainepitoisuuden voi kertoa valmis mittalaitteisto, joka mittaa

myös tiheyttä. Kun saadaan selville prosentuaalisia tuloksia, voidaan verrata niitä 100 millilitraan tuotetta. Tiivistepitoisuutta voidaan päätellä pH:n mittauksen avulla, mutta se ei anna tarkkaa dataa. Sukraloosi- tai kofeiinipitoisuuden määrittämisessä on hyvä tietää, kuinka paljon pelkkä tiiviste sisältää kyseisiä ainesosia ja paljonko niitä prosessin lopuksi on valmiissa juomatölkissä. Juoman tiivistepitoisuus voidaan päätellä tiheysmittarin avulla, kun verrataan juoman tiheyttä veden tiheyteen ja kun tiedetään esimerkiksi juoman sisältämän sukraloosin määrä.

Toinen tutkimuskysymys kuului ”millä menetelmällä sukraloosipitoisuus saadaan määritettyä?”. Sukraloosipitoisuus saadaan mitattua HPLC-menetelmällä laboratoriossa tai UV-spektrofotometrisellä menetelmällä. Kyseistä makeutusainetta voidaan mitata Anton Paarin valmistamalla Cobrix 5500 tai 5600-laitteella, mutta yrityksellä on myös tarjota laboratoriossa käytettäviä mittalaitteita, kuten Soft Drink Analyzer M. Sukraloosin määrittäminen tulee olemaan työllistävä Cobrix-laitteella ja laboratoriossa tehävillä mittauksilla. Cobrix-laite tulee ottaa käyttöön, eli syöttää dataa, valita sijainti ja asentaa. Tämä on kuitenkin laitteen hankinnan alkupäässä tehtävä työ, jonka jälkeen laite tekee työnsä ja mittaa juoman ominaisuuksia. Laboratoriossa mitatessa, tuotteen jatkuva mittaaminen muuttuu säännölliseksi. HPLC-menetelmä vaatii kokemusta laboratoriotyöskentelystä ja tietoutta erilaisista HPLC-menetelmässä käytettävistä kolonneista. Kolonneja on erilaisia ja niillä on tehtävänsä eri raaka-aineiden mittaamiseen.

Kolmannessa tutkimuskysymyksessä pohdittiin, ”saadaanko juoman happamuutta mittaamalla selville tiivistepitoisuus?”. Yhtä tarkkaa tiivistepitoisuusmittausta ei happamuuden mittauksella saada, kuin laboratoriossa tai laitteella. Tämä voi kuitenkin olla erinomainen apu vasta aloittavalle yritykselle aistinvaraisen arvioinnin lisäksi, jos asetetaan tarkat raja-arvot pH-arvoille. Tämä on nopea menetelmä eikä vaadi laborantin palkkaamista. Mikäli juoman pH-arvo on veden arvoa reilusti alhaisempi, voidaan päätellä, että juomassa on tiivistettä. PH-arvon lähentyessä veden pH-arvoa, ei tiivistettä ole tarpeeksi. Nopeampi tapa mittaukseen on aistinvarainen arviointi, jossa maistetaan, onko juoma mautonta ja mikäli on käytetty väriaineita tiedetään, milloin se on liian laimean näköistä. Raja-arvoja luodessa tarvitaan apua aistinvaraisesta arvioinnista, jolloin voidaan tutkia makua, hajua sekä tuotteen väriä.

Koska Cobrix-laitteiston asentaminen on suuri työ, johtuen datan siirrosta, sijainnin valitsemisesta ja asennuksesta, voidaan harkita myös Soft Drink Analyzer M- laitetta. Tämä laite voisi sijaita täyttöosaston lähetyillä, jossa helppokäyttöisen laitteiston avulla voidaan tarkistaa virvoitusjuoman tiheys ja makeutusainepitoisuus. Laitteella on mahdollista tutkia myös sokeripitoisuuksia, jotka auttavat panimon muiden sokeripitoisten limonadien laadunvarmistuksessa.

## Lähteet

- Anton Paar. (n.d.-a) *Digital density measurement refined*. [https://www.anton-paar.com/en/density-redefined/?utm\\_source=brochure&utm\\_medium=print&utm\\_campaign=hq\\_gc.density.2019](https://www.anton-paar.com/en/density-redefined/?utm_source=brochure&utm_medium=print&utm_campaign=hq_gc.density.2019)
- Anton Paar. (n.d.-b) *Online Process Measurement in the Soft Drink Industry*. <https://www.anton-paar.com/corp-en/services-support/document-finder/application-reports/beverage-soft-drinks-online-process-measurement-in-the-soft-drink-industry/>
- Anton Paar. (n.d.-c) *Cobrix 5500/5600*. <https://www.anton-paar.com/corp-en/products/details/cobrix-55005600/>
- Ashurst, P. R. (2016). *Chemistry and technology of soft drinks and fruit juices*. John Wiley & Sons, Incorporated.
- Bamforth, C. (2005). *Food, Fermentation and Micro-Organisms*. John Wiley & Sons.
- Bevilacqua, A., Corbo, M. R., & Sinigaglia, M. (2010). *Application of alternative food-preservation technologies to enhance food safety and stability*. Bentham Science Publishers.
- Chambers, K. P. (2008). *Caffeine and health research*. Nova Science Publishers.
- Conquer Scientific. (n.d.) *Liquid Chromatography Equipment (HPLC)*. <https://conquerscientific.com/lab-equipment/hplc-complete-system/>
- Conto, F. (2017). *Acidity Regulators, Preservatives, and Antioxidants*. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118906460.ch1g>
- Cox, T. (8.3.2021). *Density of Diet RedBull [video]*. YouTube. <https://youtu.be/x9QHkRSZFX8>
- De, S., Mondal, S., & Banerjee, S. (2013). *Stevioside : Technology, applications and health*. John Wiley & Sons.
- Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus (EU) N:o 1169/2011. (2011). <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FI/ALL/?uri=CELEX:32011R1169>

Fatima, E., Mehnaz M., Upoma, G., Nirupam, A., Muzahidul, Anik. & Mohidus, K. (2014). *Characterizing Dental Erosion Potential of Beverages and Bottled Drinking Water in Bangladesh.*

[https://www.researchgate.net/publication/279529316\\_Characterizing\\_Dental\\_Erosion\\_Potential\\_of\\_Beverages\\_and\\_Bottled\\_Drinking\\_Water\\_in\\_Bangladesh?channel=doi&linkId=55953eb508ae793d137a2920&showFulltext=true](https://www.researchgate.net/publication/279529316_Characterizing_Dental_Erosion_Potential_of_Beverages_and_Bottled_Drinking_Water_in_Bangladesh?channel=doi&linkId=55953eb508ae793d137a2920&showFulltext=true)

Gupta, S. K. (Ed.). (2015). *Breeding oilseed crops for sustainable production : Opportunities and constraints.* Elsevier Science & Technology.

Helsingin yliopisto. (n.d.). *Kofeiinityö.*

[https://www2.helsinki.fi/sites/default/files/atoms/files/kofeiinin\\_tutkiminen.pdf](https://www2.helsinki.fi/sites/default/files/atoms/files/kofeiinin_tutkiminen.pdf)

Hossain, M., Jahan, I., Shawan, M., Parvin, A., Hasan, M., Uddin, K., Akter, S., Banik, S., Hasan, A., Morshed, M., Rahman, N. & Rahman, B. (2015). *Determination of pH, caffeine and reducing sugar in energy drinks available in Bangladesh.*

[https://www.researchgate.net/publication/273129704\\_Determination\\_of\\_pH\\_caffeine\\_and\\_reducing\\_sugar\\_in\\_energy\\_drinks\\_available\\_in\\_Bangladesh#:~:text=This%20investigation%20was%20carried%20out,local%20market%20in%20Rajshahi%2C%20Bangladesh.&text=Results%20showed%20that%20the%20pH,ranging%20from%202.85%20to%203.11.](https://www.researchgate.net/publication/273129704_Determination_of_pH_caffeine_and_reducing_sugar_in_energy_drinks_available_in_Bangladesh#:~:text=This%20investigation%20was%20carried%20out,local%20market%20in%20Rajshahi%2C%20Bangladesh.&text=Results%20showed%20that%20the%20pH,ranging%20from%202.85%20to%203.11.)

Idris, M., Rao, V., Middha, D., Shukla, S.M. & Baggi, T.R.R. (2013). *Determination of Sucralose by Controlled UV Photodegradation Followed by UV Spectrophotometry.*

<https://doi.org/10.5740/jaoacint.12-143>

JoVE Science Education Database. (2021.) *Analytical Chemistry.* High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). <https://www.jove.com/v/10156/high-performance-liquid-chromatography-hplc>

Lappo.fi. (n.d.) *Digitaalinen pH-mittari Milwaukee Instruments pH55.*

[https://lappo.fi/kauppa/valmistusvalineet/mittaus-ja-laboratorio/ph-mittarit/digitaalinen-ph-mittari-ph55/?qclid=Cj0KCQiA8ICOBhDmARIsAEGl6o2tB\\_DXMIApcUq-IGVOchNI9Ek1PYh\\_CMnD\\_gH41tDdq0IJI9JMD0EaAqH6EALw\\_wcB](https://lappo.fi/kauppa/valmistusvalineet/mittaus-ja-laboratorio/ph-mittarit/digitaalinen-ph-mittari-ph55/?qclid=Cj0KCQiA8ICOBhDmARIsAEGl6o2tB_DXMIApcUq-IGVOchNI9Ek1PYh_CMnD_gH41tDdq0IJI9JMD0EaAqH6EALw_wcB)

M&A INSTRUMENTS INC. (n.d.) UV-5100B UV/VIS Spectrophotometer Ultraviolet Visible Spectrophotometer 190-1000nm Wavelength Range 2nm Bandwidth.

[https://www.amazon.com/dp/B00GXA2TQE/ref=cm\\_sw\\_em\\_r\\_mt\\_dp\\_HG6BFN6HHVZ9Y91QNCY7](https://www.amazon.com/dp/B00GXA2TQE/ref=cm_sw_em_r_mt_dp_HG6BFN6HHVZ9Y91QNCY7)

Mattila, P., Piironen, V. & Ollilainen, V. (2003). *Elintarvikekemian ja analytiikka*.  
Yliopistopaino.

McDowell, L. R. (2000). *Vitamins in animal and human nutrition*. John Wiley & Sons.

Mettler Toledo. (n.d). *What is Density?*

[https://www.mt.com/sg/en/home/applications/Application\\_Browse\\_Laboratory\\_Analytics/Density/density-measurement.html](https://www.mt.com/sg/en/home/applications/Application_Browse_Laboratory_Analytics/Density/density-measurement.html)

Mitchell, H. (2006). *Sweeteners and sugar alternatives in food technology*. John Wiley & Sons.

O'Donnell, K., & Kearsley, M. (2012). *Sweeteners and sugar alternatives in food technology*.  
John Wiley & Sons, Incorporated.

Opetushallitus. (n.d.). Laboratorioanalyysit. Kofeiinin nestekromatografinen  
määrittely. [http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/elintarvikeanalyysit\\_muut\\_aineet\\_kofeiini.html](http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/elintarvikeanalyysit_muut_aineet_kofeiini.html)

Panimoliitto. (n.d.-a). *Kotimaan myyntitilastot*. <https://panimoliitto.fi/tilastot-ja-tutkimus/>

Panimoliitto. (n.d.-b). *Olut valmistetaan luonnon antimista*. <https://panimoliitto.fi/tutustu-meihin/jasenyriykset-ja-tuotteet/olut/>

Ruokavirasto. (2019-a). *Energiajuomien piristävät yhdisteet*.

<https://www.ruokavirasto.fi/henkiloasiakkaat/tietoa-elintarvikkeista/elintarvikeryhmat/energiajuomat/energiajuomien-piristavat-yhdisteet/>

Ruokavirasto. (n.d.-b) *Energiajuomien kulutus EU:ssa*.

<https://www.ruokavirasto.fi/henkiloasiakkaat/tietoa-elintarvikkeista/elintarvikeryhmat/energiajuomat/energiajuomien-kulutus-eussa/>



Ruokavirasto. (n.d.-c). *E202 – Kaliumsorbaatti*.

<https://www.ruokavirasto.fi/yritykset/elintarvikeala/valmistus/yhteiset-koostumusvaatimukset/elintarvikeparanteet/lisaaineet/e-koodit/e202/>

Ruokavirasto. (n.d.-d). *E-296 – Omenahappo*.

<https://www.ruokavirasto.fi/yritykset/elintarvikeala/valmistus/yhteiset-koostumusvaatimukset/elintarvikeparanteet/lisaaineet/e-koodit/e296/>

Ruokavirasto. (n.d.-e). *E-330 – Sitruunahappo*.

<https://www.ruokavirasto.fi/yritykset/elintarvikeala/valmistus/yhteiset-koostumusvaatimukset/elintarvikeparanteet/lisaaineet/e-koodit/e330/>

Saarela, A-M., Hyvönen, P., Määttä, S. ja von Wright, A. (2010). *Elintarvikeprosessit*. Suomen Graafiset Palvelut Oy Ltd.

Singh, A.K., Raju, P. N. & Jana, A. (n.d). *Carbonated beverages*.

<http://ecoursesonline.iasri.res.in/mod/resource/view.php?id=147625>

Tiwari, B. K., Brunton, N. P., Brennan, C., & Tiwari, B. K. (2013). Handbook of plant food phytochemicals : Sources, stability and extraction. John Wiley & Sons.

Water research center. (n.d.). *The pH of water*. <https://www.knowyourh2o.com/indoor-4/the-ph-of-water>