

Opinnäytetyö (AMK)

Bio- ja kemiantekniikka

2023

Ida Mattila

# Artesaanitilaamon panimoprosessin kehittäminen



Opinnäytetyö (AMK) | Tiivistelmä

Turun ammattikorkeakoulu

Bio- ja kemiantekniikka

2023 | 61+12 sivua

Ida Mattila

## Artesaanitisolaamon panimoprosessin kehittäminen

Opinnäytetyön toimeksi antajana toimi Turun tislaamo Oy. Opinnäytetyön tavoitteena oli tutkia, miten vodkan valmistuksen alussa tehtävän raaka-aineen jauhatuksen ja mäsäyksen parametrien muuttaminen vaikuttaa sokeri- eli uutesaantoon ja siten käymisen jälkeiseen alkoholipitoisuuteen. Mikäli käymisen jälkeistä alkoholipitoisuutta saataisiin nykyisestä nostettua, lyhentyisi tislauksen kesto ja 96 tilavuusprosenttisen alkoholin saanto paranisi.

Eri parametrien vaikutusta selvitettiin tekemällä mäsäyksiä kolmella eri jauhatusteella eri lämpötiloissa, minkä lisäksi tutkittiin mäsäyksen keston ja ohjelmoidun infuusiomäsäyksen eli portaittaisen mäsäyksen vaikutusta uutesaantoon. Mäsäyksissä muodostunut vierre käytettiin hiivan avulla ja käymisen jälkeinen alkoholipitoisuus tutkittiin kaasukromatografian avulla. Kokeiden suunnittelussa ja suorituksessa otettiin mahdollisimman hyvin huomioon tislaamon toimintatavat ja heidän laitteistonsa mahdollisuudet.

Saatujen tulosten mukaan uutesaantoa saatiin parannettua optimoimalla jauhatuste, suorittamalla mäsäys tarpeeksi korkeassa lämpötilassa ja huolehtimalla riittävän tehokkaasta sekoituksesta. Mäsäyksen keston pidentäminen yli tuntiin tai ohjelmoidun infuusiomäsäyksen käyttäminen ei näyttänyt tuovan lisäarvoa prosessiin.

Asiasanat:

Vodka, panimoprosessi, kehitys, jauhatus, mäsäys

Bachelor's Thesis | Abstract

Turku University of Applied Sciences

Biotechnology and Chemical Engineering

2023 | 61+12 pages

Ida Mattila

## Development of Artisan Distillery Brewing Process

This thesis project was carried out for Turku Distillery Ltd. The aim was to find out how changing the parameters of the milling and mashing at the beginning of the vodka manufacturing process affects the sugar yield and thus the alcohol content after fermentation. If the alcohol content after fermentation could be improved, the duration of distillation would be reduced and the yield of 96 % alcohol would be improved.

The effect of the various parameters was assessed by performing mashing with three different grist sizes at different temperatures. Also, the effect of the mashing duration and programmed infusion mash, i.e. step-mash, on the sugar yield was examined. The wort formed in the mashing was fermented with yeast and the alcohol content was assessed using gas chromatography. In the planning and execution of the experiments, the operating methods of the distillery and the capabilities of their equipment were taken into account as much as possible.

According to the obtained results, the sugar yield can be improved by optimizing the grist size, by performing mashing at a high enough temperature and by ensuring a sufficiently efficient mixing. Extending the duration of the mashing to more than one hour or using a programmed infusion mash does not seem to add value to the process.

Keywords:

Vodka, brewing process, development, milling, mashing

# Sisältö

<b>Käytetyt lyhenteet tai sanasto</b>	<b>8</b>
<b>1 Johdanto</b>	<b>10</b>
1.1 Toimeksiantaja	11
<b>2 Vodka</b>	<b>12</b>
2.1 Lainsäädäntö	12
2.2 Mistä vodkaa voi valmistaa	13
<b>3 Vodkan valmistusprosessi</b>	<b>14</b>
3.1 Jyvien jauhatus	15
3.2 Mäskäys	15
3.3 Käyminen	16
3.4 Tislaus	17
3.4.1 Pannutislaus	18
3.4.2 Kolonnitislaus	19
3.5 Suodatus	20
3.6 Laimennus	21
<b>4 Jauhatuksen ja mäskäyksen vaikutus uutensaantoon ja käymisen jälkeiseen alkoholipitoisuuteen</b>	<b>22</b>
4.1 Jyvän rakenne	22
4.1.1 Tärkkelysjuväset	23
4.1.2 Amyloosi ja amylopektiini	24
4.1.3 Tärkkelyksen gelatinoituminen	25
4.2 Jyvien jauhatus	26
4.2.1 Jauhatusaste	27
4.2.2 Myllyn vaikutus jauhatukseen	27
4.3 Mäskäys	28
4.3.1 Olosuhteiden vaikutus	29
4.3.2 Mäskäysmenetelmät	31
4.3.3 Entsyymit ja niiden toiminta	32

4.3.4 Muodostuvat sokerit	35
4.3.5 Hiivan toiminta	36
<b>5 Panimoprosessin kehittäminen</b>	<b>37</b>
5.1 Mäskäys kolmessa eri lämpötilassa kolmella eri jauhatusteella	38
5.2 Mäskäyksen keston vaikutus	40
5.3 Ohjelmoitu infuusiomäskäys	40
<b>6 Analyysit</b>	<b>42</b>
6.1 Perusanalyysit	42
6.2 Alkoholipitoisuuden määrittäminen	42
6.3 Sikunaöljyn ja muiden kongeneerien tunnistus	44
6.4 Sokerien määrittäminen	45
6.5 Rouheiden partikkelikoon määrittäminen	46
<b>7 Tulokset ja pohdinta</b>	<b>47</b>
7.1 Uutesaanto	47
7.1.1 Mäskäyksen lämpötilan ja jauhatusteiden vaikutus uutesaantoon	47
7.1.2 Mäskäyksen keston vaikutus uutesaantoon	48
7.1.3 Ohjelmoidun infuusiomäskäyksen vaikutus uutesaantoon	49
7.2 Alkoholipitoisuus	50
7.3 Sikunaöljy ja muut kongeneerit	51
7.4 Sokerit	52
7.5 Jauhatusteiden partikkelikojakauma	53
<b>8 Loppupäätelmät</b>	<b>55</b>
<b>Lähteet</b>	<b>57</b>

## **Liitteet**

Liite 1. Alkoholipitoisuuksien GC-FID analyysissä käytetty laitteisto ja parametrit.

- Liite 2. Sikunaöljyn ja muiden kongeneerien GC-FID määrittelyssä käytetty laitteisto ja parametrit.
- Liite 3. Sokerien UHPLC-ELSD määrittelyssä käytetty laitteisto ja parametrit.
- Liite 4. Perusanalyysien tulokset.
- Liite 5. Alkoholipitoisuusanalyysien tulokset.
- Liite 6. Sikunaöljyn ja muiden kongeneerien määritysten tulokset.
- Liite 7. Vierteen sokerien pitoisuudet tutkituissa näytteissä.
- Liite 8. Sokerien määritysten tulokset: näyte T3R2, vierre.
- Liite 9. Sokerien määritysten tulokset: näyte T3R2.K1, vierre.
- Liite 10. Sokerien määritysten tulokset: näyte T3R2.K1, vierre.
- Liite 11. Sokerien määritysten tulokset: näyte PR2, vierre.
- Liite 12. Seula-analyysin tulokset.

## Kuvat

Kuva 1. Vodkan valmistusprosessi (Karlsten 2007; muokattu).	14
Kuva 2. Pannutislauslaitteisto (Kosar 2010).	18
Kuva 3. Kolonnitisluslaitteisto (Karlsten 2007; muokattu).	20
Kuva 4. Vehnän jyvän rakenne (Surget & Barron 2005).	23
Kuva 5. Amyloosin ja amylopektiinin rakenteet (Lamberg 2016).	25
Kuva 6. Tärkeimmät käymiskelpoiset mono- ja disakkaridit (Enari & Mäkinen 2014).	35
Kuva 7. Braumeister-mäskäyslaitteisto (Speidel 2016; muokattu).	38

## Kuviot

Kuvio 1. Uutesaannot mäskäyksille kolmessa eri lämpötilassa kolmella eri jauhatustasolla.	48
Kuvio 2. Mäskäyksen keston (80, 60 ja 120 min) vaikutus uutesaantoon.	49
Kuvio 3. Ohjelmoidun infuusiomäskäyksen ja muiden puolikarkealla rouheella 80 °C:ssa tehtyjen mäskäysten uutesaannot.	50

Kuvio 4. Näytteiden alkoholipitoisuudet käymisen jälkeen.	51
Kuvio 5. Vierteen sokerien pitoisuudet tutkituissa näytteissä.	52
Kuvio 6. Eri jauhatusasteiden partikkelikokojakaumat.	53

## **Taulukot**

Taulukko 1. Koesuunnitelma erijauhatusasteiden mäsikäyksille kolmessa erilämpötilassa.	39
Taulukko 2. Koesuunnitelma eri pituisille mäsikäyksille.	40
Taulukko 3. Koesuunnitelma ohjelmoituun infuusiomäsikäykseen.	41
Taulukko 4. Alkoholipitoisuuden määrityksissä käytettyjen standardiliuosten valmistus.	43
Taulukko 5. Kongeneerien määrityksessä käytetyt yhdisteet ja niiden pitoisuudet.	44
Taulukko 6. Sokerien määrityksissä käytettyjen standardiliuosten valmistus.	45

## Käytetyt lyhenteet tai sanasto

Amorfinen	Kiinteä aine, jolla ei ole säännöllistä kiderakennetta (BeMiller & Whistler 2009)
Atseotrooppinen seos	Nesteseos, josta muodostuvan höyryn koostumus on sama kuin nesteseoksen koostumus (Pielech-Przybylska ym. 2018)
Dekstriini	Tärkkelyksen pilkkoutumisessa muodostuvia alle kymmenen glukoosiyksikön oligosakkarideja ja yli kymmenen glukoosiyksikön polysakkarideja, jotka voivat olla suoria tai haarautuneita (Sjöo & Nilsson 2017)
Entsyymi	Proteiineja, jotka katalysoivat eli vauhdittavat kemiallisia reaktioita alentamalla reaktion aktivaatioenergiaa (De Schepper ym. 2021)
Hemiselluloosa	Ainakin kahdesta erilaisesta polysakkaridista muodostuva heteropolymeeri, jota esiintyy esimerkiksi viljan soluseinissä (Faltermaier ym. 2014)
Hydrolyysi	Vettä lisättäessä yhdisteen kovalenttiset sidokset katkeavat ja yhdiste hajoaa lähtöaineikseen (Serna-Saldivar & Barbosa-Canovas 2010)
Ionisaatio	Molekyyli tai atomi muuttuu positiivisen tai negatiivisen varauksen omaavaksi ioniksi luovuttamalla tai vastaanottamalla elektroneja (Nagodawithana & Reed 1993)
Kongeneeri	Vierteen käymisprosessissa hiivan tuottamia haihtuvia ja haihtumattomia yhdisteitä, jotka vaikuttavat makuun (Pauley & Maskell 2017)



Pentosaani	Pentooseista muodostuva polysakkaridi. Pentoosit ovat monosakkarideja, joiden rakenteessa on viisi hiiliatomia (Bogdan & Kordialik-Bogacka 2017)
Sikunaöljy	Käymisen aikana muodostuvia korkeampia alkoholeja eli niiden rakenteessa on useampi kuin kaksi hiiliatomia (Gibson & Newsham 2018)
Substraatti	Yhdiste, johon entsyymi kiinnittyy ja saa aikaan reaktion, jossa muodostuu lopputuote (De Schepper & Courtin, 2022)

# 1 Johdanto

Opinnäytetyössä pyritään selvittämään, miten vodkan valmistusprosessin alussa tehtävän raaka-aineen jauhatuksen ja mäsäyksen parametreja muuttamalla voidaan vaikuttaa uutesaantoon ja siten käymisen jälkeiseen alkoholipitoisuuteen. Opinnäytetyö perustuu toimeksiantajan tarpeeseen kehittää vodkan valmistuksen panimoprosessia.

Toimeksiantaja käyttää vodkan valmistuksessa vehnää, jolloin uutesaantoon vaikuttavat etenkin raaka-aineen jauhatustaso ja mäsäyksen olosuhteet. Riittävän hienon jauhatustason avulla vehnän sisältämä tärkkelys saadaan tehokkaasti pilkottua sokereiksi mäsäyksen aikana, kunhan olosuhteet ovat oikeat. Hyvä uutesaanto takaa sen, että käymisvaiheeseen saadaan riittävästi käymiskelpoisia sokereita, joista hiiva saa tuotettua alkoholia. Riittävän korkea alkoholituotto on tärkeää etenkin tislauksen kannalta. Tislaus on vodkan valmistuksessa erittäin tärkeä työvaihe lopputuotteen kannalta, mutta se on kestoltaan suhteellisen pitkä prosessi ja samalla se kuluttaa paljon energiaa. Mikäli käymisen jälkeistä alkoholipitoisuutta saataisiin nykyisestä nostettua, lyhentyisi tislauksen kesto ja siitä saatavan 96 tilavuusprosenttisen alkoholin määrä lisääntyisi.

Opinnäytetyössä perehdytään kirjallisuuden kautta vodkan valmistusprosessiin ja käydään tarkemmin läpi jauhatuksen ja mäsäyksen vaikutus uutesaantoon ja käymisen jälkeiseen alkoholipitoisuuteen. Kokeellisen osuuden tulosten on tarkoitus kehittää tislauksen prosessia, minkä vuoksi kokeissa otetaan huomioon mahdollisimman hyvin tislauksen toimintatavat ja heidän laitteistonsa mahdollisuudet.

Tutkimuskysymykseen lähdetään etsimään vastauksia tekemällä mäsäyksiä erilaisilla jauhatustasoilla eri lämpötiloissa, minkä lisäksi tutkitaan mäsäyksen keston ja ohjelmoidun infuusiomäsäyksen eli portaittaisen mäsäyksen vaikutusta uutesaantoon. Mäsäyksissä muodostunut vierre käytetään hiivan avulla ja sen alkoholipitoisuus tutkitaan. Opinnäytetyön kokeellisen osuuden ulkopuolelle jäävät kuitenkin käymisprosessiin vaikuttavat asiat.

## 1.1 Toimeksiantaja

Opinnäytetyön toimeksiantajana on artesaanitislaamo Turun tislaamo Oy eli Turku Distillery Ltd. Tislaamo on perustettu vuonna 2021 ja sillä on oma tuotantolaitos Raisiossa. Tislaamon pääasiallisena tuotteena on tällä hetkellä käsityönä luomusyysvehnästä ja lähdevedestä valmistettu maustamaton ja suodattamaton Kaiho™ Vodka. Turun tislaamo Oy valmistaa itse vodkaan tarvittavan 96,0 tilavuusprosenttisen etanolin ja erottuu sillä valtaosasta vodka- ja gin-valmistajia. Heidän tuotteensa valmistetaan Varsinais-Suomen alueelta tulevista raaka-aineista ja tislaamon toiminnassa tärkeinä arvoina ovatkin paikallisuus, jäljitettävyyys ja vastuullisuus.

## 2 Vodka

Vodka on kirkas ja väritön alkoholijuoma, jossa ei ole selvästi havaittavaa makua tai hajua. Vodkan syntypaikasta ei ole täyttä selvyyttä, mutta sen valmistuksen historia ulottuu Venäjällä ja Puolassa jopa 500 vuoden päähän. Ensimmäiset valmistetut vodkat maustettiin useimmiten yrteillä ja muilla mausteilla. Kun 1800-luvun lopussa otettiin käyttöön kolonnitislusmenetelmä, alkoi myös vodka muotoutua lähemmäs nykypäivänä nautittavaa kirkasta ja maultaan neutraalia juomaa. (Herlihy 2012, 7; Pulkkinen 2014, 34–35.)

### 2.1 Lainsäädäntö

Euroopan unionin määritelmän mukaan vodka on väkevä alkoholijuoma, joka on valmistettu maatalousperäisestä raaka-aineesta, kuten perunasta tai viljasta. Näistä raaka-aineista saadaan etyylialkoholia eli etanolia, joka on saatu käyttämällä raaka-aine hiivalla. Etanoli tislataan, jotta raaka-aineista peräisin olevat aistinvaraiset ominaisuudet ja käymisen sivutuotteita saadaan vähennettyä. Tuote voidaan tislata useampaan kertaan, se voidaan käsitellä apuaineilla ja se voidaan suodattaa. Tislauksen jälkeen alkoholipitoisuuden tulisi olla 96,0 tilavuusprosenttia ja siinä ei saa olla muuta havaittavaa makua kuin raaka-aineesta peräisin oleva maku. Vodkaan voidaan lisätä luontaisia aromiaineita tai aromivalmisteita. Tämän lisäksi vodkaa voidaan hieman makeuttaa maun pyöristämiseksi, mutta sitä ei saa värjätä. Euroopan unioni on asettanut vodkan minimi alkoholipitoisuudeksi 37,5 tilavuusprosenttia. (Asetus (EU) 2019/787.)

Maustettu vodka eroaa maustamattomasta siinä, että sitä voidaan värjätä, makeuttaa, maustaa ja kypsytää. Maustetussa vodkassa hallitsevana makuna on yleensä jokin muu kuin raaka-aineen maku. Myös maustetun vodkan minimi alkoholipitoisuus on 37,5 tilavuusprosenttia. (Asetus (EU) 2019/787.)

## 2.2 Mistä vodkaa voi valmistaa

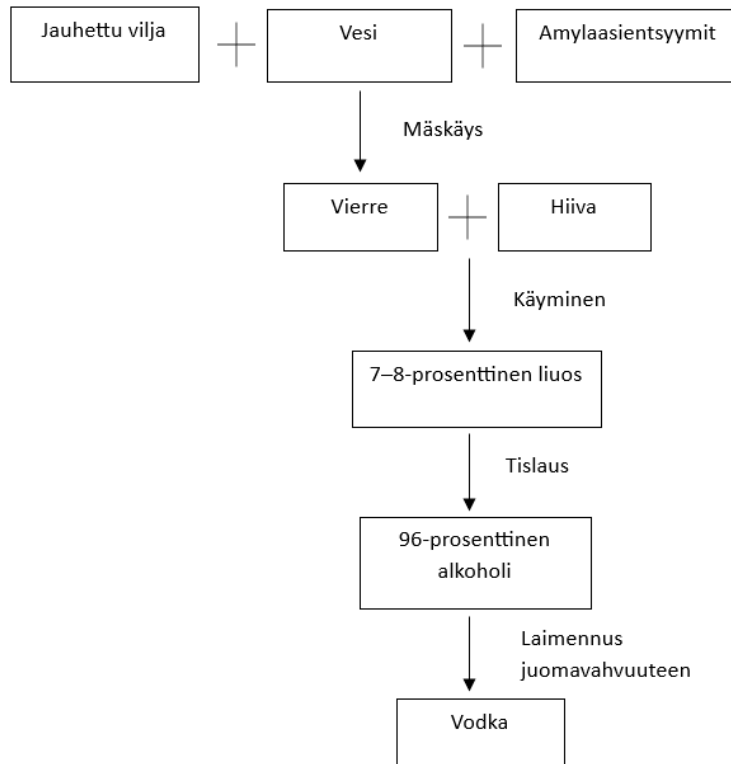
Vodkaa voidaan valmistaa monipuolisesti eri maatalousperäisistä raaka-aineista. Perinteisesti vodkaa on valmistettu pääosin perunasta ja viljoista. Ne sopivatkin vodkan valmistukseen etenkin makunsa puolesta. Valmistuksessa voidaan kuitenkin käyttää myös muita tärkkelystä ja sokeria sisältäviä maatalousperäisiä tuotteita. Tällaisia ovat esimerkiksi sokerijuurikkaat, maissi ja hedelmät. Raaka-aineen valintaan vaikuttavat useimmiten hinta, saatavuus ja maantieteellinen sijainti. Itä-Euroopassa suositaan useimmiten perunaa ja vehnää, kun taas Yhdysvalloissa ja Kanadassa vodka valmistetaan useimmiten sokerijuurikkaasta ja melassista. Kaikille raaka-aineille on kuitenkin yhteistä se, että ne sisältävät tärkkelystä ja sokereita, jotka voidaan käymisprosessi muuttaa hiivan avulla alkoholiksi. Valitun raaka-aineen laatu on vodkan valmistuksessa avainasemassa, sillä mahdollinen mikrobikontaminaatio vaikuttaa käymisen tehokkuuteen ja siten alentavat alkoholin muodostumista. (Herlihy 2012, 7–12; Pauley & Maskell 2017; Hutkins 2018, 507; Asetus (EU) 2019/787.)

Raaka-aineen lisäksi vodkan valmistuksessa tärkeässä asemassa on myös vakioinnissa eli laimennuksessa käytettävä vesi, sillä se vaikuttaa merkittävästi valmiin vodkan makuun. Monet suuret vodkan valmistajat käyttävät laimennuksessa kemiallisesti puhdistettua vettä, josta on deionisaation avulla poistettu mahdolliset epäpuhtaudet. Deionisaatiossa vedestä poistetaan positiivisesti ja negatiivisesti varautuneet ionit, kuten rauta, kalsium, kloridi ja sulfaatti. Kemiallisesti puhdistetun veden sijaan laimennuksessa voidaan käyttää myös esimerkiksi lähdevettä. (Karlsten 2007, 187; Serna-Saldivar & Barbosa-Canovas 2010, 453.)

### 3 Vodkan valmistusprosessi

Kun vodkan valmistuksen raaka-aine on valittu, se jauhetaan tai hienonnetaan muulla tavalla ja laitetaan mäskäyskattilaan veden kanssa. Seosta kuumennetaan, jolloin raaka-aineessa oleva tärkkelys turpoaa veden vaikutuksesta eli gelatinoituu. Tämä johtaa tärkkelyksen rakenteen muuttumiseen niin, että entsyymit pystyvät pilkkomaan sen sokereiksi. Valmistunut vierre jäädytetään ja sen joukkoon lisätään hiiva, jolloin vierteen sokereista saadaan käytettyä alkoholia. Käymisen jälkeen neste tislataan, jolloin etanoli saadaan erotettua muista yhdisteistä ja vedestä. Tislauksen jälkeen alkoholipitoisuuden tulee olla 96,0 tilavuusprosenttia. Alkoholipitoinen neste voidaan vielä suodattaa, jotta tuotteeseen ei jää epäpuhtauksia tai ei-toivottuja makuja, hajuja tai värejä. Lopuksi alkoholi laimennetaan haluttuun pitoisuuteen, jonka on oltava vähintään 37,5 tilavuusprosenttia. (Herlihy 2012, 12–19.)

Vodkan valmistusprosessi on esitetty kuvassa 1.



Kuva 1. Vodkan valmistusprosessi (Karlsten 2007; muokattu).

### 3.1 Jyvien jauhatus

Viljapohjaisen vodkan valmistus alkaa jyvien jauhatuksella. Jauhatus on yksi tärkeimmistä valmistusprosessin vaiheista, sillä se vaikuttaa hyvin paljon seuraaviin vaiheisiin, kuten sokerien muodostumiseen ja vierteen erottamiseen mäskestä sekä lopputuotteen laatuun (Faltermaier ym. 2014, 7). Jauhatuksen tavoitteena on saada jyvä pienemmiksi palasiksi, jolloin sen sisällä oleva tärkkelyspitoinen jauhojedin eli endospermi paljastuu. (Serna-Saldivar & Barbosa-Canovas 2010, 203). Jauhatuksessa jauhojedinissä olevien tärkkelysjyvien rakenne vaurioituu, jolloin tärkkelys absorboi paremmin vettä, liisteröityminen eli gelatinoituminen tapahtuu nopeammin ja amylaasientsyymit pääsevät pilkkomaan tärkkelystä sokereiksi. (Simpson ym. 2012, 595).

Jauhatus tapahtuu useimmiten kuivarouhemyllyn avulla, jossa valssit jauhavat jyvät rouheeksi. Se kuinka hienoa rouhetta halutaan, on täysin valmistajan mieltymyksestä ja laitteiston suorituskyvystä kiinni. Yleisesti voidaan sanoa, että mitä hienompaa rouhe on, sitä paremmin sen sisältämä tärkkelys saadaan pilkkottua eli hydrolysoitua käymiskelpoisiksi sokereiksi mäskestävaiheessa. Jyvien jauhatusteeseen voidaan vaikuttaa muun muassa myllyn valssiväliä säätämällä, valssien pyörimisnopeudella ja valssien määrällä. (Mousia ym. 2004, 2213–2219; Serna-Saldivar & Barbosa-Canovas 2010, 203.)

### 3.2 Mäskestä

Mäskestässä jauhetuista jyvistä saatu rouhe sekoitetaan lämpimän veden joukkoon, jolloin jyvien tärkkelys alkaa gelatinoitua ja se pilkkoutuu käymiskelpoisiksi sokereiksi sekä dekstriineiksi entsyymien aikaan saamaan hydrolyysireaktion avulla. Tärkeimmät tärkkelystä pilkkovat entsyymit mäskestässä ovat  $\alpha$ -amylaasi ja  $\beta$ -amylaasi. (Serna-Saldivar & Barbosa-Canovas 2010, 449.) Mäskestän kesto ja käytetty lämpötila voivat vaihdella käytetyn raaka-aineen ja entsyymien sekä mäskestämenetelmän mukaan. Mäskestän tuloksena on sokeripitoinen vierre. (Nagodawithana & Reed 1993, 441.) Vodkaa valmistettaessa vierrettä ei kiehauteta mäskestän lopuksi, kuten

oluen valmistuksessa. Tämän vuoksi amylaasientsyymit jatkavat toimintaansa vielä käymisenkin aikana. Näin suurempi osa dekstriinejä hydrolysoidaan yksinkertaisemmiksi sokereiksi, joita hiiva pystyy käyttämään. (Serna-Saldivar & Barbosa-Canovas 2010, 451.)

### 3.3 Käyminen

Mäskäyksessä valmistettu vierre jäädytetään ja sen joukkoon lisätään hiiva. Alkoholin valmistuksessa yleisin käytetty hiivakanta on *Saccharomyces cerevisiae*. (Serna-Saldivar & Barbosa-Canovas 2010, 450–452.) Käymisen alussa hiiva aktivoituu, kuluttaa kaiken saatavilla olevan hapen ja alkaa lisääntyä. Hapen loputtua alkoholikäyminen voi alkaa. Hiiva käyttää vierteen käymiskelpoisia sokereita, kuten glukoosia, sakkaroosia, maltoosia ja maltotriooseja. Pidemmät sokeriketjut, joissa on neljä tai useampi glukoosiyksikkö jäävät hiivalta käyttämättä. Useimmiten käymisen tuloksena saadaan alkoholipitoisuudeksi 7–8 tilavuusprosenttia, sillä yli 10 tilavuusprosentin pitoisuus estää useimpien hiivojen toiminnan. (Serna-Saldivar & Barbosa-Canovas 2010, 450–452; Sjöo & Nilsson 2017, 643–644.)

Vodkan valmistuksessa suositellaan käytettävän hiivaa, joka kestää korkeita etanolipitoisuuksia ja tuottaa vain vähän makuun vaikuttavia kongeneereja eli sivutuotteita, kuten esterejä, aldehydejä, karbonyyliyhdisteitä, orgaanisia happoja ja sikunaöljyä. Sikunaöljyä muodostuu etenkin silloin, kun raaka-aineena käytetään viljaa, sillä ne sisältävät suhteellisen runsaasti proteiineja. Tutkimuksissa onkin todettu, että etenkin käytetty raaka-aine vaikuttaa käymisen aikana muodostavien kongeneerien laatuun. Raaka-aineen lisäksi yhdisteiden muodostumiseen ja niiden laatuun vaikuttaa isolta osalta myös käytetty hiivakanta sekä vierteen koostumus ja käymisolosuhteet. (Enari & Mäkinen 2014, 120–122; Pauley & Maskell 2017; Pielech-Przybylska ym. 2018, 29.)

Käymisprosessin onnistuminen ja sen aikana muodostuvan etanolin määrä riippuu useista tekijöistä. Siihen vaikuttavat etenkin käytetty hiivakanta, vierteen



sokeripitoisuus, vapaan aminotyypen määrä, kesto ja lämpötila.

Käymiskelpoisten sokerien lisäksi hiiva tarvitsee kasvuun ja käymisreaktiossa tapahtuvaan metaboliaan riittävän määrän vapaata aminotyyppiä (engl. *free amino nitrogen, FAN*), jota se käyttää omien entsyymaattisten ja rakenteellisten proteiiniensa valmistukseen. (Buglass 2011, 72–86; Enari & Mäkinen 2014, 133–136; Bogdan & Kordialik-Bogacka 2017, 4; Pauley & Maskell 2017; Hutkins 2018, 365.)

### 3.4 Tislaus

Käymisprosessin jälkeen alkoholipitoisuus on vielä suhteellisen matala, mutta tislauksen avulla se saadaan konsentroitua. Tislauksessa käymisestä saatu neste lämmitetään, jolloin siinä olevat yhdisteet höyrystyvät. Jokaisella yhdisteellä on oma höyrystymispisteensä. Etanolin höyrystymispiste on 78,2 °C:ta. Muodostunut höyry otetaan talteen, jäähdytetään ja tiivistetään, jolloin saadaan korkeaprosenttista alkoholia. Etanolin lisäksi tislatessa muodostuu erilaisia kongeneereja. Jotkin näistä tuotteista voivat olla haitallisia, mutta osa niistä antaa juomalle sille ominaisen maun ja tuoksun.

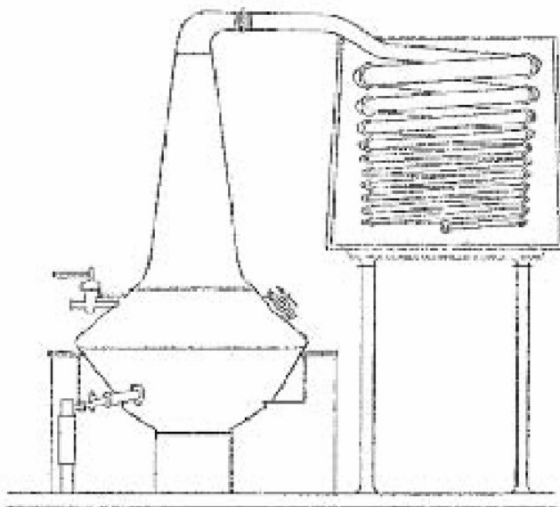
Kolonnitislausmenetelmällä valmistetuissa hyvin puhtaissa alkoholeissa näitä yhdisteitä ei ole kovinkaan paljon, mutta pannutislausmenetelmällä niitä jää valmiiseen tuotteeseen enemmän. (Karlsten 2007, 11–12; Gibson & Newsham 2018, 400–402.)

Tislausprosessi koostuu kolmesta vaiheesta ja jokaisesta niistä saadaan oma tisle. Ensimmäisessä tislausvaiheessa saadaan esitisleä (engl. *heads*). Se sisältää voimakkaan makuisia ja haitallisia yhdisteitä, kuten aldehydejä, asetonia, estereitä ja metanolia. Toisessa vaiheessa saadaan tisleä, jota kutsutaan sydämeiksi (engl. *heart*). Sydän on juuri se osa tisleestä, joka halutaan saada talteen, sillä se sisältää miellyttävän makuisia hedelmäisiä ja kukkaisia estereitä. Viimeisessä vaiheessa tulee häntä (engl. *tails*) eli tisle, jossa on rikkaimmat aromit. Tässä tisleessä on muun muassa proteiineja, hiilihydraatteja ja sikunaöljyä, kuten propanolia, butanolia ja pentanolia. Sikunaöljyn muodostavien yhdisteiden höyrystymispisteet vaihtelevat 82,3

°C:sta jopa 225 °C:seen. Ne voivat muodostaa atseotrooppisen seoksen veden, etanolin ja muiden haihtuvien yhdisteiden kanssa, jolloin muodostuvalla höyryllä on sama koostumus kuin nesteseoksella. Tällöin sikunaöljyä on aina jonkin verran läsnä tisleissä, jotka on valmistettu maatalousperäisistä raaka-aineista. (Pulkkinen 2014, 29–30; Gibson & Newsham 2018, 400–402; Pielech-Przybylska ym. 2018, 29.)

### 3.4.1 Pannutislaus

Pannutislausta käytetään vielä joidenkin vodkien valmistuksessa, sillä sen avulla juomaan voidaan saada tietynlaista pehmeyttä. Pannutislauksessa tislattava neste on suljetussa pannussa, joka kapenee ylöspäin. Pannua aletaan kuumentamaan, jolloin nesteessä oleva etanoli höyrystyy. Höyry siirtyy pannun yläosassa olevaan putkeen, jonka päässä olevassa jäähdyttimessä höyry tiivistyy takaisin nesteeksi. Jäähdyttimessä olevan putken kautta neste kerätään astiaan. Pannutislauksessa ei saavuteta heti ensimmäisellä tislauksella 96,0 tilavuusprosentin alkoholia. Tislaus joudutaankin suorittamaan vielä kaksi tai kolme kertaa, jolloin jokaisella kerralla alkoholipitoisuus kasvaa ja ei-toivottuja yhdisteitä saadaan poistettua. (Karlsten 2007, 12–15; Pulkkinen 2014, 29–30.) Kuvassa 2 on esitetty pannutislauslaitteiston rakenne.

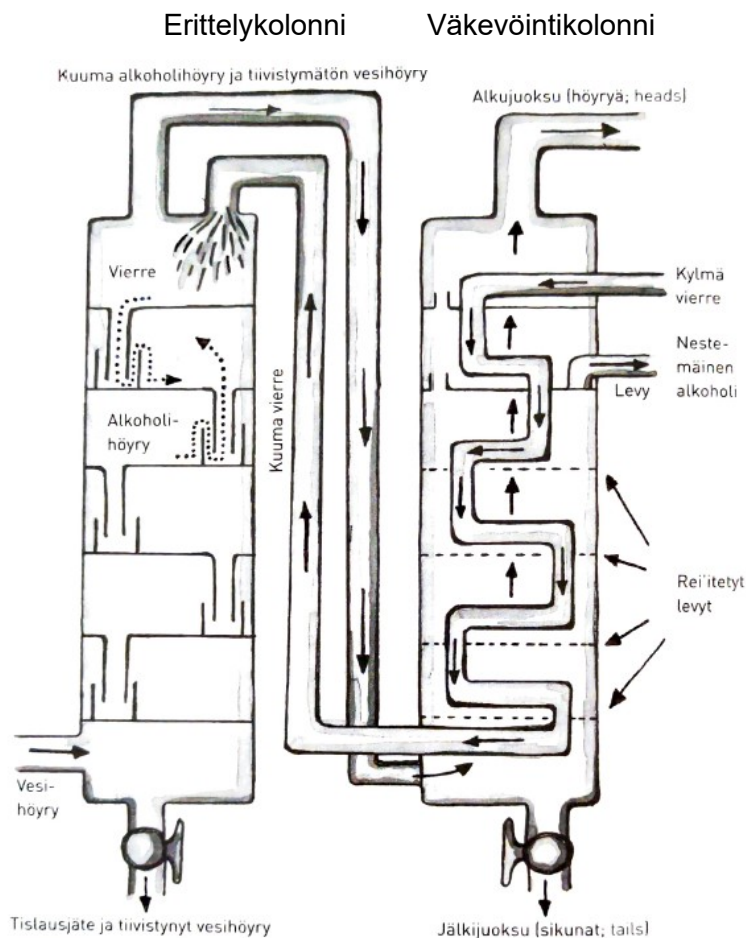


Kuva 2. Pannutislauslaitteisto (Kosar 2010).

### 3.4.2 Kolonnitislauus

Nykyään kirkkaiden alkoholijuomien tislauksessa käytetään pääosin kolonnitislauusta eli jatkuvaa tislauusta, koska sen avulla saadaan vahvempi ja puhtaampi tuote. Kolonnitislauus perustuu yhdisteiden erilaisiin höyrystymispisteisiin, jolloin nesteessä olevat yhdisteet saadaan eroteltua toisistaan tehokkaasta niiden noustessa kolonnissa ylöspäin. Kolonnitislauus onkin pannutislauusta paljon tehokkaampi menetelmä aineiden erottamiseen toisistaan ja lopputuloksena on mahdollista saada 96,0 tilavuusprosenttista alkoholia, jossa on vain vähäisessä määrin maku-, haju- ja väriyhdisteitä. (Karlsten 2007, 15–18.)

Kolonnitislauuslaitteistoja on monenlaisia, mutta yleensä ne koostuvat kahdesta toisiinsa liitetystä kolonnista, jotka ovat erittelykolonni ja väkevöintikolonni. Ensimmäisessä kolonnissa neste jakautuu yhdisteikseen ja toisessa tapahtuu höyryjen tiivistyminen ja puhdistuminen. Kolonnitislauksessa käymisprosessissa saatu alkoholipitoinen neste johdetaan väkevöintikolonnin yläosaan, josta se valuu lämmitettyä putkea pitkin alaspäin ja lämpenee itse samalla. Lämmennyt neste syötetään erittelykolonnin yläosassa olevaan altaaseen, jonka täytyessä neste alkaa valua pisaroina alaspäin kolonnissa olevien rei'itettyjen levyjen läpi. Erittelykolonniin johdetaan alhaalta kuumaa höyryä, joka nousee ylöspäin ja kohtaa laskeutuvan nesteen. Nesteessä oleva etanoli höyrystyy kuuman höyryn vaikutuksesta ja liikkuu kuuman höyryn mukana kolonnissa ylöspäin. Neste jatkaa laskeutumista ja se kohtaa lisää höyryä, joka ottaa nesteestä mukaansa lisää etanolia. Muodostuva etanolipitoinen höyry nousee ylös kolonnissa ja se johdetaan väkevöintikolonniin, jossa se jäähtyy. Jäähtynyt höyry tiivistyy takaisin nesteeksi ja se otetaan talteen. (Karlsten 2007, 15–18; Pulkkinen 2014, 29–30.) Kolonnitislauuslaitteiston rakenne on esitetty kuvassa 3.



Kuva 3. Kolonnitisluslaitteisto (Karlsten 2007; muokattu).

### 3.5 Suodatus

Vodkan valmistuksessa halutaan yleensä päästä eroon kaikista epäpuhtauksista, kuten sivutuotteina muodostuvista kongeneereistä, joilla voi olla vaikutusta makuun, hajuun ja väriin. Tämän vuoksi tislauksen jälkeen alkoholipitoinen neste usein vielä suodatetaan. Suodatuksessa käytettävissä materiaaleissa on suurta vaihtelua vodkan valmistajien kesken, mutta tehokkain ja käytetyin menetelmä on aktiivihillen läpi suodattaminen. Jotkin valmistajat suosivat myös suodattamista keraamisten levyjen läpi. Kaikki vodkan valmistajat eivät kuitenkaan halua suodattaa tuotettaan, vaan tarkoituksella jättävät vodkaan hitusen raaka-aineen omaa makua. (Karlsten 2007, 188; Herlihy 2012, 14; Hutkins 2018, 507.)

### 3.6 Laimennus

Tislauksen jälkeen vodkan alkoholipitoisuuden tulisi olla EU-asetuksen mukaan 96,0 tilavuusprosenttia. Tuote kuitenkin laimennetaan eli vakioidaan vedellä niin, että sen alkoholipitoisuudeksi tulee vähintään 37,5 tilavuusprosenttia. Moni vodkan valmistaja laimentaa tuotteensa noin 40,0 tilavuusprosenttiin, mutta myös korkeammat pitoisuudet ovat mahdollisia. Laimennus tapahtuu vakiointitankissa ja siinä käytettävä vesi tulisi valita huolellisesti, koska myös se vaikuttaa vodkan makuun. Monesti suurissa tislaamoissa vedeksi valitaan kemiallisesti puhdistettu vesi. Jotkin valmistajat taas suosivat makunsa ja puhtautensa vuoksi lähdevettä tai jotain erikoisempaa, kuten jäätiköiden sulamisvettä. (Karlsten 2007, 187; Serna-Saldivar & Barbosa-Canovas 2010, 453.)

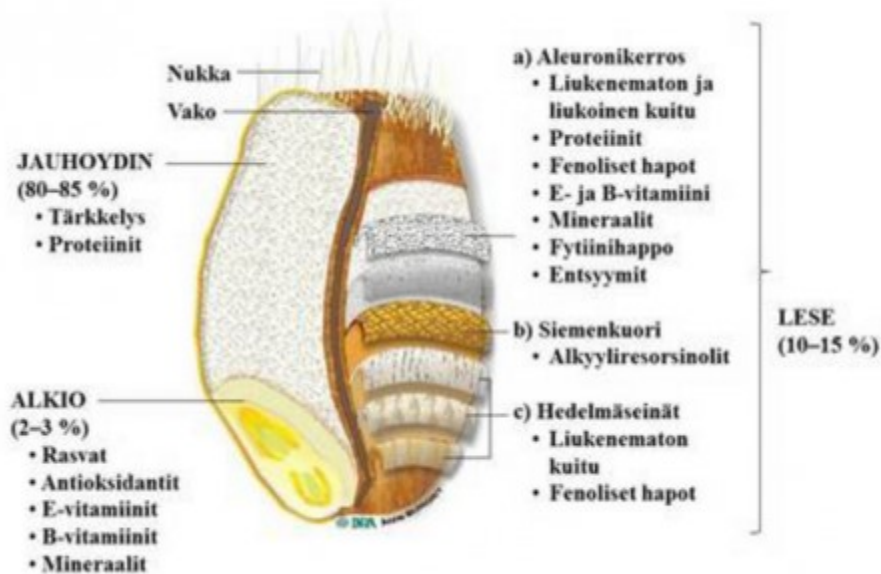
## 4 Jauhatuksen ja mäskäyksen vaikutus uutensaantoon ja käymisen jälkeiseen alkoholipitoisuuteen

Vodkan valmistus alkaa raaka-aineen jauhamisella ja sen mäskäyksellä. Näiden kahden vaiheen avulla varmistetaan riittävä sokerien määrä käymisprosessiin menevässä vierteessä ja siten käymisen jälkeinen korkea alkoholipitoisuus. Alkoholipitoisuus vaikuttaa tislauksen keston ja siitä saatavan 96 tilavuusprosenttisen etanolin määrään.

### 4.1 Jyvän rakenne

Viljan jyvä muodostuu kuorikerroksesta, aleuronikerroksesta, jauhoystimestä eli endospermistä ja alkiosta. Kuorikerros koostuu hedelmäseinästä ja siemenkuoresta. Aleuronikerros ympäröi jauhoystintä ja se sisältää paljon proteiineja, lipidejä, vitamiineja ja mineraaleja. Alkiossa on alkeissilmu, alkeisjuuri ja alkiokilpi, joka erittää ja valmistaa ravintoaineita pilkkovia entsyymejä. (Eskin & Shahidi 2012, 4–5.)

Jyvän tärkein osa alkoholijuomien valmistuksen kannalta on jauhoystin, joka muodostaa yli 80 % jyvän painosta. Se sisältää mineraaleja, proteiinia ja tärkkelystä. (Eskin & Shahidi 2012, 4–5.) Jauhoystimen tärkkelyspitoisuus muodostuu tärkkelysjyväsistä, jotka ovat proteiinien muodostamassa verkostossa. Vehnässä verkoston muodostaa pääosin gluteeni, joka on vehnän varastoproteiini. (Liu & Rosentrater 2011, 46–48; Faltermaier ym. 2014, 6–7; Yu ym. 2020, 297.) Viljan kasvuolosuhteet, kuten ilmasto, lannoitus ja maan ominaisuudet, vaikuttavat viljan tärkkelys- ja proteiinisältöön. Alkoholijuomien valmistuksessa suositaan usein viljoja, joissa on paljon tärkkelystä ja vähän proteiineja. (Faltermaier ym. 2014, 7.) Vehnän jyvän rakenne ja sen sisältämät yhdisteet on kuvattu kuvassa 4.



Kuva 4. Vehnän jyvän rakenne (Surget & Barron 2005).

Vehnän aleuronikerroksen soluseinissä on jonkin verran  $\beta$ -glukaania, joka muodostuu glukoosista. Vehnän jyvissä  $\beta$ -glukaania on kuitenkin hyvin vähän verrattuna muihin viljoihin, kuten kauraan ja ohraan, minkä lisäksi se ei liukene hyvin veteen säännöllisen molekulaarisen rakenteensa takia. Tämän vuoksi vehnän  $\beta$ -glukaani ei vaikuta suuresti vierreeseen viskositeettiin. (Khan 2009, 319; Bogdan & Kordialik-Bogacka 2017; 6; Alfeo ym. 2021.) Sen sijaan etenkin vehnän jauhoitimen soluseinän sisältämä hemiselluloosa arabinoksyylaani voi lisätä viskositeettia mäskäyksen aikana. Jauhoitimen soluseinän puutteellinen hajoaminen voi vaikuttaa mäskäyksessä alentavasti uutusaantoon. Arabinoksyylaanin vapautumista vierreeseen säätelee mäskäyksen lämpötila ja rouheen hienous. (Faltermajer ym. 2014, 7.)

#### 4.1.1 Tärkkelysjyväset

Viljan jyvän hiilihydraateista noin 60–75 % on tärkkelystä. Jyvien tärkkelys sijaitsee tärkkelysjyväsissä, jotka ovat rakenteeltaan tiheitä ja osittain kiteytyneitä, mutta niissä esiintyy myös amorfisia alueita. Amorfinen alue muodostuu enimmäkseen amylopektiinin haarautuneista kohdista ja

amyloosista. Kiteinen osa on rakentunut amylopektiinin kaksoisspiraaleista. Tärkkelysjyvästen rakenteeseen vaikuttaa myös  $\alpha$ -1,4- ja  $\alpha$ -1,6-glykosididosten yleisyys ja järjestys. (BeMiller & Whistler 2009, 201–204; Khan 2009, 303.)

Jyväset jaetaan usein kahteen eri kokoluokkaan. Suurempien eli "A" jyvästen muoto on linssimäinen ja niiden halkaisija on 10–40  $\mu\text{m}$ . Pienempien eli "B" jyvästen halkaisija on yleensä alle 8  $\mu\text{m}$  ja niiden muoto vaihtelee palikkamaisesta melkein pyöreään. Suurten ja pienten jyvästen lisäksi voi olla myös hyvin pieniä eli "C" jyväsiä, joita esiintyy viileissä ilmanaloissa kasvaneissa vehnissä. (Khan 2009, 303; Faltermaier ym. 2014, 6–7.)

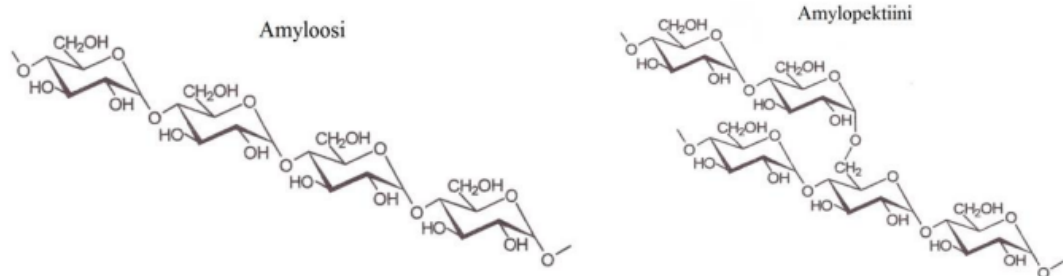
Tärkkelyksen pilkkoutumiseen sokereiksi vaikuttaa suuresti tärkkelyksen rakenne, sillä sen amorfiset alueet ovat helpommin entsyymien saavutettavissa kuin kiteiset. (Mousia 2004, 2214.) Suuret jyväset muodostavat noin 3–4 % tärkkelysjyväsistä ja ne ovat rakenteeltaan tiiviimpiä sekä sisältävät pieniä jyväsiä enemmän lyhyitä ja keskipitkiä tärkkelysketjuja. Tämä johtaa erikokoisten tärkkelysjyvästen erilaiseen käyttäytymiseen mäsäyksen aikana. Pienet jyväset esimerkiksi turpoavat enemmän vedessä, sillä rakenteensa vuoksi ne pystyvät sitomaan enemmän vettä. Toisaalta pienten jyvästen liukoisuus ei ole yhtä hyvä korkeissa lämpötiloissa kuin suurten jyvästen. (Yu ym. 2020, 297.)

#### 4.1.2 Amyloosi ja amylopektiini

Tärkkelysjyvästen sisältämä tärkkelys on polysakkaridi, joka koostuu tuhansista glukoosimolekyyleistä. Tärkkelyksen rakenneyksiköjä ovat makromolekyylit amyloosi ja amylopektiini. Amyloosi on rakenteeltaan suoraketjuinen polymeeri, mutta siinä voi esiintyä vähäisessä määrin haarautuneisuutta. Tärkkelyksessä amyloosi on vasemmalle kiertyvänä spiraalina. Amylopektiini on kooltaan paljon suurempi polymeeri kuin amyloosi ja siinä on useita lyhytketjuisia haarautumia. Haarautuneisuutensa takia sen fysikaaliset ja biologiset ominaisuudet eroavat amyloosin vastaavista. Amylopektiini on tärkkelyksessä kaksoisspiraalina.



(BeMiller & Whistler 2009, 201–204; Serna-Saldivar & Barbosa-Canovas 2010, 84–85.) Amyloosin ja amylopektiinin kemialliset rakenteet on esitetty kuvassa 5.



Kuva 5. Amyloosin ja amylopektiinin rakenteet (Lamberg 2016).

Molemmat makromolekyylit koostuvat useista  $\alpha$ -D-glukopyranoosiyksiköistä, jotka ovat sitoutuneet toisiinsa  $\alpha$ -1,4-glykosidisilla sidoksilla. Tämän lisäksi amylopektiinissä on haarautuneissa kohdissa myös  $\alpha$ -1,6-glykosidisidoksia. Täykkelyksestä noin 72–75 % on amylopektiiniä ja loput 25–28 % amyloosia. Amylopektiinin ja amyloosin rakenteelliset ominaisuudet ja niiden määrien suhde voivat vaikuttaa täykkelyksen fysiokemiallisiin ominaisuuksiin, kuten gelatinoitumiseen. (BeMiller & Whistler 2009, 201–204; Serna-Saldivar & Barbosa-Canovas 2010, 84–85; Li ym. 2023.)

#### 4.1.3 Täykkelyksen gelatinoituminen

Täykkelyksen rakenne on hyvin kestävä amylaasientsyymien toimintaa vastaan, minkä vuoksi täykkelyksen tulee ensin gelatinoitua eli liisteröityä, jotta entsyymit voivat pilkkoa sen sokereiksi. Täykkelyksen gelatinoituminen saadaan aikaan veden ja lämmön avulla, minkä seurauksena täykkelysjyvät turpoavat ja niiden sisältämät yhdisteet, kuten amyloosi ja amylopektiini, liukenevat ulos jyvästä. Seoksen lämmitys saa aikaan ensin viskoosin nesteen ja lämmityksen jatkaminen johtaa gelatinoitumiseen, kun täykkelyksen kiteinen rakenne hajoaa. (Simpson ym. 2012, 595; Enari & Mäkinen 2014, 85–86.)

Jokaisella viljalajilla on oma gelatinoitumislämpötilansa. Lämpötilaan vaikuttaa esimerkiksi tärkkelyksen muodostavien amyloosin ja amylopektiinin määrien suhde, tärkkelysjyvästen koko ja muoto sekä jyvän kosteuspitoisuus. Eri viljojen gelatinoitumislämpötilat vaihtelevat 60–85 °C:n välillä ja esimerkiksi vehnällä gelatinoituminen alkaa noin 60 °C:ssa. (Simpson ym. 2012, 595; Enari & Mäkinen 2014, 85–86.)

Lämpötilan lisäksi gelatinoitumiseen vaikuttavat aika, rouhekkoko ja jyvien proteiinipitoisuus, jonka ollessa korkea gelatinoitumislämpötila yleensä nousee. Jyvien jauhaminen rouheeksi vaurioittaa tärkkelyksen rakennetta, minkä seurauksena gelatinoitumislämpötila laskee, tärkkelys pystyy absorboimaan enemmän vettä ja entsyymien toiminta helpottuu. Mikäli gelatinoitumisolosuhteet eivät ole optimaaliset, osa tärkkelysjyväsistä voi jäädä gelatinoitumatta ja sokerien määrä vierteessä vähenee. Mäskäyksessä tärkkelyksen tulisi gelatinoitua nopeasti ja täydellisesti. (Mousia 2004, 2214; BeMiller & Whistler 2009, 201–204; Faltermaier ym. 2014, 7; Yu ym. 2020, 301, 304.)

#### 4.2 Jyvien jauhatus

Jauhatuksessa jyvä jauhetaan rouheeksi, jolloin jauhoitimen sisältämä tärkkelys pääsee kosketuksiin kuuman veden ja entsyymien kanssa. Eri viljalajien jyvät käyttäytyvät eri tavoin jauhatuksessa, sillä ne ovat koostumukseltaan ja rakenteeltaan hieman erilaisia. Vehnän jyvä on mallastamattomana erittäin kova ja sen jauhatukseen vaikuttaa tärkkelyspitoisen jauhoitimen rakenne, jonka avulla vehnät voidaan luokitella koviksi tai pehmeiksi. Kovassa vehnässä jyvän jauhoitimen hajoaa yleensä solurajojen mukaisesti, kun taas pehmeässä se hajoaa satunnaisella tavalla. Vodkan valmistuksessa suositaan yleensä pehmeää syysvehnää. Jauhoitimen rakenteen lisäksi jyvän rikkoutumiseen jauhatuksessa vaikuttaa leseiden eli kuorikerrosten tiiviys, paksuus, koostumus ja sitkeys. (Khan 2009, 84, 306, 337; Liu & Rosentrater 2011, 53–55.)

#### 4.2.1 Jauhatusaste

Jauhatusasteeseen, eli kuinka hienoa rouhetta jyvistä jauhetaan, vaikuttaa moni asia. Monesti rouheesta halutaan hyvin hienojakoista, sillä mäskäyksessä tärkkelyksen pilkkoutuminen sokereiksi on sitä tehokkaampaa mitä hienojakoisempaa rouhe on. Hienojakoisessa rouheessa jyvän jauhoedin on rikottu hienoksi, jolloin suuri pinta-ala pääsee kosketuksiin veden kanssa ja entsyymien toiminta helpottuu. (Mousia 2004, 2216–2218; Viader ym. 2021.)

Hyvin hienojakoinen rouhe voi kuitenkin aiheuttaa ongelmia esimerkiksi mäskin ja vierteen erottamisen kanssa sekä suodatuksessa. Sopivan jauhatusasteen valintaan vaikuttaakin myös mäskäysprosessissa käytettävä laitteisto. (Enari & Mäkinen 2014, 83–84; Hutkins 2018, 357.) Jauhatusasteessa tulee myös huomioida käytettävä viljalajike ja sen ominaisuudet. Vehnä sisältää esimerkiksi runsaasti pentosaaneja, jotka lisäävät mäskäyksessä vierteen viskositeettia. Tämän vuoksi vehnän kohdalla voi olla paikallaan suosia hieman karkeampaa rouhintaan, jotta voidaan välttyä suodatusongelmilta. (Bogdan & Kordialik-Bogacka 2017, 2–3.)

#### 4.2.2 Myllyn vaikutus jauhatukseen

Jyvät voidaan jauhaa kuivana joko valssimyllyllä eli kuivarouhemyllyllä tai vasaramyllyllä, mutta myös märkärouhinta on mahdollista. Useimmiten jauhatuksessa käytetään valssimyllyä, sillä se on helppo käyttää, se sopii erikokoisten tislamojen tarpeisiin ja sen asetuksia muuttamalla saadaan helposti vaikutettua jauhatusasteeseen. (Serna-Saldivar & Barbosa-Canovas 2010, 203).

Valssimyllyssä jauhintelojen muodostamat valssiparit huolehtivat jyvien jauhamisesta rouheeksi. Valssiparien ominaisuuksien avulla voidaan vaikuttaa hyvinkin paljon siihen kuinka hienoa tai karkeaa rouhetta saadaan aikaiseksi. Suurin vaikutus on valssiparien määrällä ja niiden välisellä valssivälillä. Myllyssä voi olla valssipareja yhdestä kolmeen, jolloin useampi valssisessa myllyssä

jauhaantunut rouhe jatkaa matkaa alemmalle valssiparille ja rouhe jauhaantuu entisestään. (Khan 2009, 131–132; Enari & Mäkinen 2014, 96.) Valssiväliä pienentämällä saadaan aikaiseksi hienompaa rouhetta ja sitä suurentamalla taas karkeampaa rouhetta. Näiden lisäksi jauhatusteeseen voidaan vaikuttaa valssien pyörimisnopeuden, valssien halkaisijan, valssien pinnan ominaisuuksien ja jyvien syöttönopeuden avulla. (Mousia 2004, 2216–2218; Viader ym. 2021.) Suurella pyörimisnopeudella ja valssien halkaisijaa kasvattamalla saadaan aikaiseksi hienoa rouhetta. Valssien pinnan ominaisuudet, kuten uurteet, vaikuttavat rouhintaan ja ne voidaan optimoida jyvän koon ja kovuuden mukaan sekä lopputuotteen ominaisuuksien mukaan. (Khan 2009, 131–132.)

Kuivarouhintaa käytettäessä myllyn asetukset, eli minkälaista partikkelikokoa mylly tuottaa, voidaan tarkistaa jauhoseulojen avulla tehdyn seula-analyysin avulla. Yleisesti voidaan todeta, että yli 1,0 mm kokoinen rouhe on karkeaa, 0,600–0,250 mm kokoinen rouhe on hienoa ja alle 0,250 mm rouhe on jauhoa. Partikkeleiden olisi hyvä olla suurimmillaan noin 1,0 mm kokoisia. Jauhatuste tulee kuitenkin säätää oman prosessin kannalta optimaaliseksi, jotta se on riittävän hienoa hyvän uutensaannon kannalta, mutta esimerkiksi huuhtelu ja suodatus eivät saa liiaksi vaikeutua. (Enari & Mäkinen 2014, 83–84.)

### 4.3 Mäskäys

Mäskäyksessä rouhitut jyvät sekoitetaan kuumaan veteen. Mäskäyksen aikana tärkkelys gelatinoituu ja entsyymien toiminnan vaikutuksesta tärkkelyksestä syntyy sokereita, joita käyttämällä hiiva muodostaa alkoholia käymisprosessissa. (Yu ym. 2020, 297.) Tämän vuoksi onkin tärkeää, että valmistuneessa vierteessä on riittävästi käymiskelpoisia sokereita hiivalle. Mäskäyksen onnistumiseen, eli tärkkelyksen pilkkoutumiseen, vaikuttaa moni asia. Näitä ovat esimerkiksi entsyymien aktiivisuus, käytettävän rouheen jauhatuste, rouheen ja veden määrän suhde, pH, mäskäyksen kesto ja lämpötila. (Enari & Mäkinen 2014, 76; Sjöo & Nilsson 2017, 640.)

### 4.3.1 Olosuhteiden vaikutus

Mäskäyksessä käytettävät olosuhteet vaikuttavat etenkin tärkkelyksen gelatinoitumiseen sekä entsyymien toimintaan ja siten vierteeseen muodostuvien sokereiden määrään ja laatuun. Olosuhteisiin voidaan vaikuttaa lämpötilan, pH:n, keston sekä rouheen ja veden suhteen avulla.

#### Lämpötila

Mäskäyksessä käytettävä lämpötila on yksi merkittävimmistä tekijöistä, jotta viljan tärkkelyksestä saadaan pilkottua käymiskelpoisia sokereita. Lämpötilan tulee olla riittävän korkea tärkkelyksen gelatinoitumiseen ja entsyymien aktiiviseen toimintaan, mutta ei kuitenkaan niin korkea, että entsyymit inaktivoituvat liian aikaisin. Oikean lämpötilan valinta voikin olla vaikeaa. Tärkeimmät mäskäyksessä toimivat entsyymit,  $\beta$ -glukanaasi sekä  $\alpha$ - ja  $\beta$ -amylaasi, toimivat kaikki hieman eri lämpötiloissa, minkä lisäksi viljalla on oma gelatinoitumislämpötilansa. Mallastetussa viljassa  $\beta$ -glukanaasi toimii parhaiten 30–50 °C:n lämpötilassa, kun taas  $\beta$ -amylaasin optimi on 62–65 °C:ta ja  $\alpha$ -amylaasi kestää jopa 65–78 °C:n lämpötiloja. Kaupallisissa entsyymivalmisteissa suositeltu lämpötila voi olla hieman korkeampi kuin mallastetun viljan kanssa käytettävä lämpötila. Myös raaka-aineiden gelatinoitumislämpötilat vaihtelevat ja esimerkiksi vehnälle se on 60–85 °C:ta. Suuri lämpötilaväli johtuu siitä, että suuret tärkkelysryväset gelatinoituvat noin 60 °C:ssa, mutta pienemmät ryväset vaativat korkeamman lämpötilan. (Enari & Mäkinen 2014, 85–88; Sjöo & Nilsson 2017, 640–641; De Schepper ym. 2021.)

#### Liuoksen pH

Toinen huomioon otettava tekijä on mäskäyksen aikainen pH. Liuoksen pH säätelee etenkin entsyymien toimintaa vaikuttamalla esimerkiksi substraatin ionisaatioon. Tällä on suuri merkitys entsyymien aktiivisuuteen, vakauteen, sitoutumiseen ja reaktion tasapainoon. Kaupallisissa entsyymeissä pH optimi voi vaihdella sen mukaan, mistä lähteestä entsyymi on eristetty. Esimerkiksi sienistä peräisin olevat entsyymit suosivat hapanta pH:ta, kun taas hiivoista

peräisin olevat neutraalia pH:ta. Mallastettu vilja vaatii yleensä hieman happaman pH:n, sillä viljassa olevat entsyymit toimivat parhaiten pH:n ollessa noin 5,4–5,7. Liuoksen pH:ta voidaan alentaa lisäämällä joukkoon hieman happoa. Kun mäsikäyksen pH on sopiva entsyymien toiminnan kannalta, saadaan muun muassa sokeroitumisaikaa lyhennettyä, nostettua käymisastetta ja parannettua uutesaantoa. (Nagodawithana & Reed 1993, 39–64; Enari & Mäkinen 2014, 88; Sjöo & Nilsson 2017, 640–641.)

### Kesto

Mäsikäyksen kestolla on myös suuri vaikutus sen onnistumiseen. Sopiva mäsikäyssaika takaa sen, että viljan tärkkelys ehtii gelatinoitua kunnolla ja entsyymien toiminnalle on riittävästi aikaa. Tällöin tärkkelys saadaan pilkottua sokereiksi mahdollisimman täydellisesti. Näin vierteeseen saadaan suurempi määrä käymiskelpoisia sokereita ja siten voidaan vaikuttaa myös suotuisasti alkoholipitoisuuteen käymisen jälkeen. (Enari & Mäkinen 2014, 89–91.)

### Vilja-vesi-suhde

Viljan ja veden määrän suhde mäsikäyksessä vaikuttaa etenkin entsyymien toimintaan. Viljan määrä vedessä säätelee muodostuvan mäskin paksuutta, jolla on vaikutusta muun muassa entsyymien, kuten  $\alpha$ - ja  $\beta$ -amylaasin, toimintaan ja mäskin sekoittumiseen. Mäskin paksuus vaikuttaa esimerkiksi lämpötilaan, jossa entsyymi aktivoituu ja toimii parhaiten. Kun mäsikäyksessä käytetään vähemmän vettä, muodostuva mäski on paksumpaa ja entsyymit pystyvät toimimaan vielä suhteellisen korkeissakin lämpötiloissa. Tämä johtuu siitä, että entsyymi pysyy stabiilimpana, kun se on sitoutuneena tärkkelyksessä olevaan substraattiinsa. Entsyymi kohtaa substraatteja enemmän paksummassa mäsikissä kuin ohuessa. Viljan ja veden suhde vaikuttaa myös uutesaantoon. Suhdetta kasvattamalla mäsikäyksen uutesaanto alkaa vähitellen laskea ja käymiskelvottomien sokerien määrä vierteessä alkaa lisääntyä, sillä tärkkelys ei pilkkoudu niin tehokkaasti. (De Schepper & Courtin, 2022.)

### 4.3.2 Mäskäysmenetelmät

Mäskäyksessä käytettävä lämpötilaohjelma vaikuttaa suuresti mäskäyksen aikana tapahtuviin entsyymaattisiin reaktioihin. Mäskäys suoritetaan useimmiten joko infuusiomäskäyksellä vakioämpötilassa tai ohjelmoidulla monivaiheisella mäskäyksellä. Molemmilla menetelmillä on omat hyvät ja huonot puolensa, minkä lisäksi käytettävän menetelmän valintaan voivat vaikuttaa esimerkiksi käytettävissä oleva laitteisto ja raaka-aine. (Enari & Mäkinen 2014, 89–91.)

#### Infuusiomäskäys vakioämpötilassa

Vakioämpötilassa tapahtuvassa infuusiomäskäyksessä mäskäys suoritetaan yhdessä lämpötilassa, joka on yleensä suhteellisen korkea, noin 60–80 °C:ta, ja kestää yhdestä kahteen tuntiin. Menetelmän avulla tärkkelys gelatinoituu nopeasti, mutta entsyymien aktiivisuus saattaa laskea korkean lämpötilan vuoksi. Entsyymeistä vain  $\alpha$ -amylaasi kestää korkeita lämpötiloja pidempään ja tällä on vaikutusta muodostuvien sokereiden määrään ja laatuun. Mäskäyksen aikana muodostuukin käymiskelpoisia sokereita, mutta myös hyvin paljon käymiskelvottomia dekstriinejä, jotka ovat seurausta tärkkelyksen puutteellisesta hydrolyysistä. (Enari & Mäkinen 2014, 85–86; Sjöo & Nilsson 2017, 640–641; Yu ym. 2020, 300–301.)

#### Ohjelmoitu infuusiomäskäys

Ohjelmoidussa infuusiomäskäyksessä käytetään portaittaista lämpötilan nosta, jotta jokainen entsyymi ehtii toimimaan omalla optimilämpötila-alueellaan. Mäskäyksessä voidaan pitää myös proteolyysi- ja sokeroitumistauko noin 55 ja 67 °C:ssa. Alussa lämpötila on noin 50 °C:ta, jolloin  $\beta$ -glukanaasi pystyy pilkkomaan jyvän jauhoytimen soluseinissä olevaa  $\beta$ -glukanaania. Tämän jälkeen lämpötila nostetaan 65 °C:seen. Tässä lämpötilassa  $\alpha$ - ja  $\beta$ -amylaasi pystyvät pilkkomaan tärkkelystä pienemmiksi sokereiksi. Lopuksi lämpötila nostetaan 78 °C:seen. Tässä lämpötilassa  $\alpha$ -amylaasi pystyy vielä pilkkomaan tärkkelystä, mutta  $\beta$ -amylaasi inaktivoituu. Lämpötila myös vähentää vierteen viskositeettia ja mikro-organismien mahdollista kontaminaatiota. Lämpötiloja ja niiden

pitoaikoja muuttamalla voidaan vaikuttaa uutensaantoon joko positiivisesti tai negatiivisesti. (Enari & Mäkinen 2014, 89–91; Hutkins 2018, 358; Yu ym. 2020, 300.)

#### 4.3.3 Entsyymit ja niiden toiminta

Mäskäyksen aikana entsyymien pääasiallisena tehtävänä on hydrolyysireaktion avulla pilkkoa tärkkelystä, jauhoitimen soluseinien yhdisteitä ja proteiineja pienemmiksi yksiköiksi, jotka vaikuttavat vierteen koostumukseen ja käymisreaktioon. Mäskäyksen aikana tärkein hydrolyysireaktio on gelatinoituneen tärkkelyksen pilkkoutuminen käymiskelpoisiksi sokereiksi. Reaktiossa amyloosista ja amylopektiinistä muodostuu dekstriinejä sekä pienempiä mono- ja disakkarideja, mitä hiiva pystyy hyödyntämään käymisreaktiossa. Tämän reaktion lisäksi entsyymit pilkkovat proteiineja vapaiksi aminohapoiksi ja peptideiksi sekä soluseinissä olevat  $\beta$ -glukaanin ja arabinoksylaanin vähemmän viskoosisiksi yhdisteiksi. (Yu ym. 2020, 300–301; Li ym. 2023.)

Tärkeimmät mäskäyksen aikana vaikuttavat entsyymit ovat  $\alpha$ - ja  $\beta$ -amylaasi sekä  $\beta$ -glukaanasi. Näiden lisäksi on myös muita entsyymejä, kuten glykoamylaasi, joka pilkkoo tärkkelystä ja dekstriinejä yksinkertaisemmiksi sokereiksi, proteinaaseja, jotka pilkkovat proteiineja sekä ksylanaaseja, joiden tehtävänä on pilkkoa jauhoitimen soluseinän arabinoksylaaneja. (Pauley & Maskell 2017; Alfeo ym. 2021.) Mallastetuissa viljoissa esiintyy entsyymiaktiivisuutta omasta takaa mallastuksessa tapahtuneen idätyksen seurauksena. Mikäli käytetään mallastamatonta viljaa, tulee mäskäyksessä käyttää kaupallisia entsyymejä. (Nagodawithana & Reed 1993, 130–131; Mousia 2004, 2213; Bogdan & Kordialik-Bogacka 2017, 2.) Seuraavaksi esitellään oleellisimpia tärkkelyksen pilkkoutumiseen vaikuttavia entsyymejä.



## $\alpha$ - ja $\beta$ -amylaasi

$\alpha$ - ja  $\beta$ -amylaasi ovat tärkeimmät tärkkelyksen hydrolyysiin osallistuvat entsyymit. Molempien toiminta keskittyy tärkkelyksen  $\alpha$ -1,4-glykosidisiin sidoksiin, mutta ne pilkkovat sidoksia tärkkelyksen eri osissa.  $\alpha$ -amylaasin toiminta on keskittynyt tärkkelyksen sisäosiin, kun taas  $\beta$ -amylaasi pilkkoo sidoksia tärkkelyksen ulko-osissa eli ei-pelkistävästä päästä. Näin ollen molempia entsyymejä tarvitaan tärkkelyksen pilkkomiseen käymiskelpoisiksi sokereiksi. (BeMiller & Whistler 2009, 238–248.)

$\alpha$ -amylaasi pystyy toimimaan tärkkelysjuvästen amorfisissa ja kiteisissä rakenteissa, missä se pilkkoo amyloosia ja amylopektiiniä niiden sisäosissa satunnaisista kohdista. Hydrolyysireaktion alussa  $\alpha$ -amylaasi tuottaa erilaisia maltodekstriinejä, kuten maltotriooseja ja maltotetrooseja. Myöhempinä tuotteina ovat tärkeimpinä glukoosi ja maltoosi. Glukoosi ei siis ole  $\alpha$ -amylaasin ensisijainen tuote, vaan sitä muodostuu, kun maltotriooseja, maltotetrooseja ja muut haaroittuneet dekstriinit pilkkoutuvat edelleen. (Kandra 2003; BeMiller & Whistler 2009, 238–248; Sjöo & Nilsson 2017, 640–641.)  $\alpha$ -amylaasi pystyy yksinään hydrolysoimaan noin 50–60 %:a tärkkelyksen sisältämistä glykosidista sidoksista (Tiwari ym. 2015, 1887).

$\beta$ -amylaasi vaikuttaa merkittävästi käymiskelpoisten sokerien muodostumiseen mäsäyksen aikana. Entsyymi hydrolysoi joka toisen  $\alpha$ -1,4-glykosidisen sidoksen, jolloin muodostuu pääasiassa maltoosia. Tämän lisäksi  $\beta$ -amylaasin toiminta tuottaa jonkin verran glukoosia, maltotriooseja ja pieniä haarautuneita dekstriinejä. (Hutkins 2018, 358; De Schepper ym. 2021.) Toimintatapansa vuoksi  $\beta$ -amylaasi pystyy pilkkomaan amyloosin suoraketjuisen rakenteen kokonaan maltoosiksi.  $\beta$ -amylaasin toiminta kuitenkin pysähtyy amylopektiinin haarautuneissa kohdissa oleviin  $\alpha$ -1,6-glykosidisiin sidoksiin, jolloin jäljelle jää erilaisia dekstriinejä. Yhdessä toimiessaan  $\alpha$ -amylaasi avaa tärkkelyksessä uusia ketjunpäitä  $\beta$ -amylaasille, jolloin amylopektiini pystytään hydrolysoimaan hyvinkin tehokkaasti, mutta ei kuitenkaan täydellisesti. (BeMiller & Whistler 2009, 238–248; Enari & Mäkinen 2014, 24, 85–86; Sjöo & Nilsson 2017, 113.)

## $\beta$ -glukanaasi

$\beta$ -glukanaasit voidaan jakaa endo- ja ekso- $\beta$ -glukanaaseihin, jotka pilkkovat jauhoitimen soluseinän  $\beta$ -glukaaneja eri kohdista.  $\beta$ -glukaani on rakenteeltaan polysakkaridi, jossa glukoosiyksiköt ovat kiinni toisissaan  $\beta$ -glykosididoksilla. Endo- $\beta$ -glukanaasit pystyvät hydrolysoimaan  $\beta$ -glukaanin  $\beta$ -1,4-glykosididoksia mistä kohtaa tahansa. Ekso- $\beta$ -glukanaasit taas hydrolysoivat  $\beta$ -1,4-glykosididoksia ei-pelkistävästä päästä. (Enari & Mäkinen 2014, 20, 28–29.)

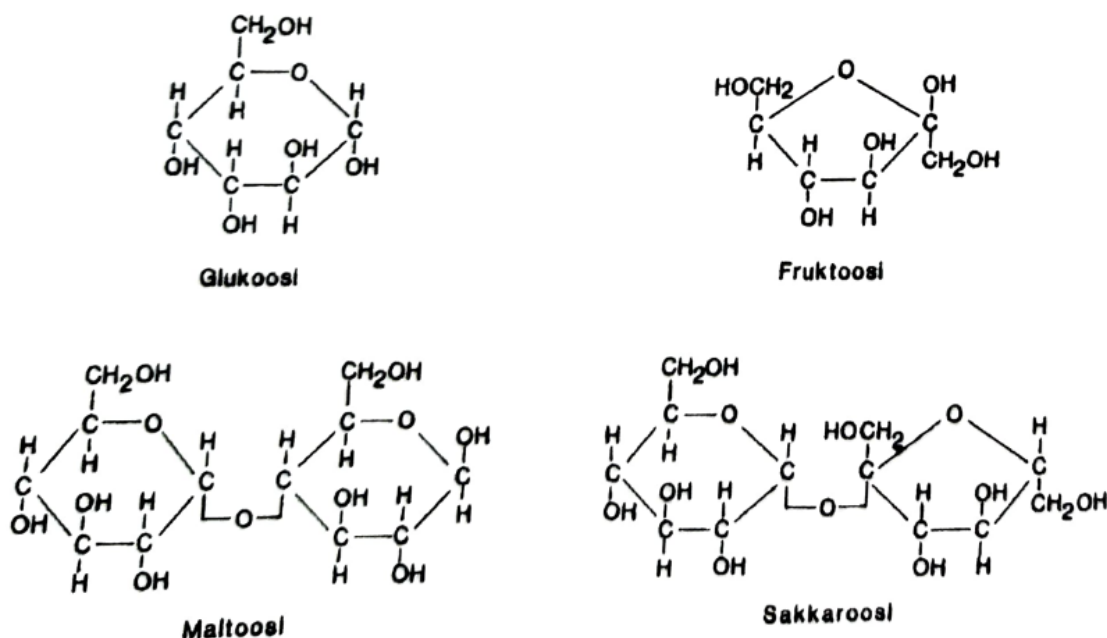
$\beta$ -glukanaaseja käytetään mäsikäyksessä etenkin vierteen viskositeetin pienentämiseen.  $\beta$ -glukanaasien tarpeellisuus viskositeetin pienentäjänä mäsikäyksessä vaihtelee viljalajeittain, esimerkiksi vehnässä esiintyy vain vähäisessä määrin  $\beta$ -glukaaneja, jolloin niiden vaikutus vierteen viskositeettiin on vähäinen.  $\beta$ -glukanaasien käyttö mäsikäyksessä voi kuitenkin auttaa amylaasientsyymien toimintaa, sillä niiden aikaan saama  $\beta$ -glukaanien pilkkoutuminen jauhoitimen soluseinissä tekee tärkkelyksestä helpommin saavutettavaa amylaasientsyymeille. (Khan 2009; Enari & Mäkinen 2014, 88; 404; Alfeo ym. 2021.),

## Glykoamylaasi

Glykoamylaasi pystyy hydrolysoimaan tärkkelyksen ulko-osissa esiintyviä  $\alpha$ -1,4- ja  $\alpha$ -1,6-glykosididoksia sekä dekstriinejä, jolloin muodostuu glukoosia. Glykoamylaasi pystyykin pilkkomaan tärkkelyksen melkein täydellisesti glukoosiksi, jos olosuhteet ovat entsyymien toiminnan kannalta optimaaliset. Entsyymi toimii parhaiten noin 30 °C:ssa, hieman happamassa ja reaktio kestää kolmesta neljään päivään. Happamassa ei-haluttujen sokerien muodostuminen vähenee ja glukoosia saadaan mahdollisimman paljon. Reaktion keston vuoksi glykoamylaasi voidaan lisätä vierteeseen käymisvaiheessa. (Nagodawithana & Reed 1993, 125; (BeMiller & Whistler 2009, 238–248; Tiwari ym. 2015, 1887.)

#### 4.3.4 Muodostuvat sokerit

Vierteen pääkomponenttina ovat hiilihydraatit, jotka muodostavat siitä valtaosan veden lisäksi. Suurin osa hiilihydraateista on mäsäyksen aikana muodostuneita sokereita, jotka ovat tärkkelyksen hydrolyysituotteita. Tuotteina muodostuu käymiskelpoisia sokereita, kuten glukoosia, maltoosia ja maltotrioosea. Näiden lisäksi esiintyy yleensä myös jonkin verran dekstriinejä, joita hiiva ei pysty käyttämään. (Enari & Mäkinen 2014, 77; Sjöo & Nilsson 2017, 640–641.) Tärkeimpiä käymiskelpoisia mono- ja disakkarideja on esitetty kuvassa 6.



Kuva 6. Tärkeimmät käymiskelpoiset mono- ja disakkaridit (Enari & Mäkinen 2014).

Vierteessä olevien sokerien määrään ja laatuun vaikuttaa etenkin entsyymien toiminta. Mikäli mäsäyksen aikana  $\alpha$ - ja  $\beta$ -amylaasi ovat yhdessä pilkkoneet tärkkelystä sokereiksi, on käymiskelpoisista sokereista vierteessä eniten maltoosia (43–45 %), jonka jälkeen tulee maltotrioosea (11–13 %) ja glukoosi (10–15 %). Myös muita sokereita esiintyy jonkin verran, kuten sakkaroosia ja fruktoosia, mutta niiden osuus sokereista on hyvin pieni. Dekstriinejä vierteessä

on yleensä noin 20–30 %. Muodostuneiden sokerien määrä ja laatu voi kuitenkin vaihdella, jos esimerkiksi  $\alpha$ -amylaasi on mäsäyksen aikana toiminut pääosin yksin. Tällöin vierteessä on yleensä enemmän dekstriinejä ja vähemmän glukoosia ja maltoosia. (Simpson ym. 2012, 628–630; Enari & Mäkinen 2014, 133–134; Bogdan & Kordialik-Bogacka 2017, 3–4.)

#### 4.3.5 Hiivan toiminta

Käymisprosessissa hiiva metaboloii vierteen sokereita, joten niiden laatu ja määrä vaikuttaa hyvinkin paljon hiivan kasvuun ja käymisen onnistumiseen. Hiiva hyödyntää vierteen sokerit tietyssä järjestyksessä. Ensisijaisina käymissokereina ovat sakkaroosi, glukoosi ja fruktoosi. Viimeisenä hiiva käyttää maltoosin ja maltotriiosin. (Enari & Mäkinen 2014, 133–134; Bogdan & Kordialik-Bogacka 2017, 3–4.)

Ensisijaisten käymissokereiden alkaessa loppua vierteestä, hiiva siirtyy muihin sokereihin. Etenkin glukoosin määrällä on suuri vaikutus muiden sokerien käyttöön. Kun noin 60 % vierteen glukoosista on käytetty, alkaa hiiva käyttämään maltoosia. Maltotriiosin hyödyntämiseen taas vaikuttavat glukoosin ja maltoosin korkeat pitoisuudet. Hyödyntääkseen maltoosia ja maltotriiosia hiivan täytyy muodostaa maltoosipermeaasi entsyymiä, joka kuljettaa sokerit solun sisälle. Glukoosi inhiboi kyseisen entsyymin toimintaa ja maltoosi taas indusoi sitä. Tämän vuoksi maltoosin käyttö alkaa vasta, kun vierteen glukoosipitoisuus on hyvin matala. (Enari & Mäkinen 2014, 133–134; Bogdan & Kordialik-Bogacka 2017, 3–4.)

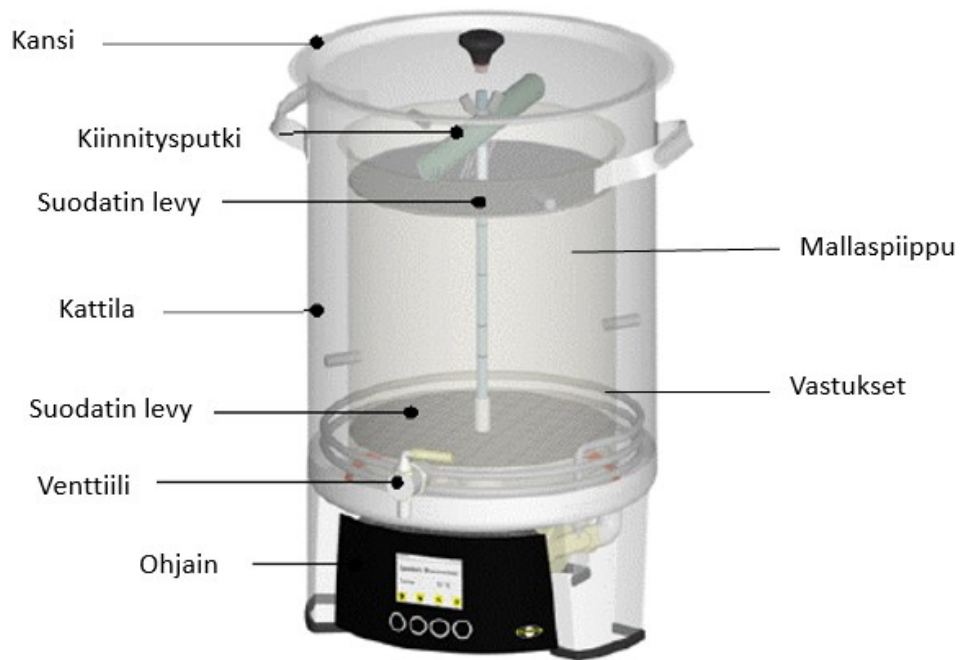
Käymiskelpoisten sokerien lisäksi vierteessä on myös dekstriinejä, jotka jäävät useimmilta hiivakannoilta käyttämättä. On kuitenkin myös olemassa hiivakantoja, kuten *Saccharomyces diastaticus*, jotka pystyvät hyödyntämään käymisprosessissaan vierteessä olevia dekstriinejä. Tämä johtuu siitä, että ne erittävät itse glykoamylaasia, joka pilkkoo dekstriinit glukoosiksi. (Eskin & Shahidi 2012, 299–300; Simpson ym. 2012, 628–630.)

## 5 Panimoprosessin kehittäminen

Tislaamon panimoprosessia lähdettiin kehittämään miettimällä, miten prosessiin voidaan vaikuttaa jauhatuksen ja mäsäyksen parametreja muuttamalla. Tämän vuoksi haluttiin tutkia eri jauhatusasteiden, mäsäyslämpötilojen ja -keston sekä ohjelmoidun infuusiomäsäyksen eli portaittaisen mäsäysohjelman vaikutusta uutensaantoon sekä käymisen jälkeiseen alkoholipitoisuuteen. Ensimmäiseksi päätettiin testata kolmen eri jauhatusasteen käyttäytymistä kolmessa eri mäsäyslämpötilassa. Kokeista saatujen tulosten perusteella valittiin lupaavin yhdistelmä seuraavaan kokeeseen, jossa testattiin normaalia pidempää ja lyhyempää mäsäyksen kestoa. Viimeisenä kokeena tutkittiin vielä, miten  $\beta$ -glukanaasin käyttö  $\alpha$ -amylaasin ohella vaikuttaa ohjelmoidussa infuusiomäsäyksessä uutensaantoon ja alkoholipitoisuuteen, kun käytössä on saman jauhatusasteen rouhe kuin toisessa kokeessa.

Mäsäyskokeet suoritettiin Turun ammattikorkeakoulun koekeittiössä, jossa kaikki mäsäykset ja käymiset tehtiin samalla tavalla samoissa olosuhteissa. Mäsäyksessä ja käymisessä jäljiteltiin tislaamon olosuhteita ja toimintatapoja mahdollisimman tarkasti. Tislaamon käyttämä viljan ja veden suhde 1:3,5 jouduttiin kuitenkin pienentämään suhteeseen 1:6,5, sillä muuten viljarouhetta olisi pitänyt käyttää enemmän kuin mitä mäsäyslaitteen sallittu enimmäismäärä olisi ollut. Kokeissa käytettiin tislaamon jauhamaa mallastamatonta vehnää. Mallastamattoman viljan takia mäsäyksissä ja käymisessä käytettiin tislaamon prosessin mukaisesti kaupallisia entsyymejä.

Mäsäykset tehtiin Speidelin 20 litran Braumeister-mäsäyslaitteella ja 10 litran mallaspiipulla. Käymisastioina oli Speidelin 30 litran hanalliset ja vesilukolliset astiat. Kaupallisina entsyymeinä käytettiin Lallemandin Distilazyme AA  $\alpha$ -amylaasia, Distilazyme GA glykoamylaasia ja Distilazyme BG  $\beta$ -glukanaasia. Hiivana oli Lallemandin Distilamax HT hiiva. Kokeissa käytetty mäsäyslaitteisto ja sen osat on esitetty kuvassa 7.



Kuva 7. Braumeister-mäskäyslaitteisto (Speidel 2016; muokattu).

Kokeista saatujen näytteiden analyysit tehtiin Turun ammattikorkeakoulun koekeittiössä ja kemiantekniikan laboratoriossa sekä Turun yliopiston elintarviketieteen laitoksen laboratoriossa. Jokaisesta tehdystä mäskäyksestä otettiin näytteitä vierteestä ja käymisessä muodostuneesta liuoksesta joditesttiin, pH- ja ominaispainomittauksiin sekä käymiskelpoisten sokerien, kongeneerien ja alkoholipitoisuuden määrittämiin.

### 5.1 Mäskäys kolmessa eri lämpötilassa kolmella eri jauhatusteella

Mäskäyskokeilla haluttiin vastata asetettuun tutkimuskysymykseen selvittämällä, millä jauhatusteella ja lämpötilalla saadaan aikaiseksi paras uutensaanto. Testattavaksi valittiin kolme eri jauhatustetta, jotka olivat karkea (R1), puolikarkea (R2) ja hieno (R3). Lämpötiloiksi päätettiin valita 65, 70 ja 80 °C:ta (T1, T2 ja T3). Valittuihin lämpötiloihin vaikutti entsyymien toimittajalta saadut tiedot, joiden mukaan heidän valmistamansa  $\alpha$ -amylaasi toimii parhaiten

lämpötilavälillä 75–80 °C:ta. Tämän lisäksi haluttiin myös energiansäästösyistä selvittää miten entsyymien toimintaan, ja mäsäyksen onnistumiseen vaikuttavat hieman alhaisemmat lämpötilat eli 65 ja 70 °C:ta. Kaikki kolme jauhatustasetta testattiin kolmessa eri lämpötilassa. Mäsäyksen kestoksi valittiin tislaamon käyttämä 80 minuuttia. Kaikissa kokeissa käytettiin entsyyminä Lallemandin Distilazyme AA  $\alpha$ -amylaasia. Koesuunnitelma on esitetty taulukossa 1.

Taulukko 1. Koesuunnitelma eri jauhatustasteiden mäsäyksille kolmessa lämpötilassa.

Aika (min)	Lämpötila (°C)	Jauhatustaste	Näyte
80	65	Karkea	T1R1
	70		T2R1
	80		T3R1
80	65	Puolikarkea	T1R2
	70		T2R2
	80		T3R2
80	65	Hieno	T1R3
	70		T2R3
	80		T3R3

Mäsäykset aloitettiin lisäämällä Braumeister-mäsäyslaitteeseen 12 litraa kylmää vettä. Vesi lämmitettiin haluttuun lämpötilaan, jonka jälkeen laitteen sisälle koottiin mallaspiippu. Piippuun lisättiin 2,4 kg rouhetta ja  $\alpha$ -amylaasia 0,75 ml:aa rouhekiloa kohti, minkä jälkeen mäsäysprosessi aloitettiin. Mäsäyksen jälkeen mallaspiippu nostettiin ylös ja kaiken sokerin talteen saamiseksi mäskiä huuhdeltiin 3,6 litralla noin 95 °C:ta vettä. Lopuksi vierre jäähdytettiin vesikiertoisen jäähdytyskierukan avulla 30 °C:seen. Vierteestä otettiin näytteet analyyseihin ja loput siirrettiin käymisastiaan, jossa sen joukkoon lisättiin 36 °C:ssa vedessä herätettyä hiivaa 0,35 g:aa vierrelittraa kohti. Hiivauksen jälkeen odotettiin kaksi tuntia, jonka jälkeen käymisastiaan lisättiin hiivaravinnetta 0,05 ml:aa vierrelittraa kohti ja glykoamylaasientsyymiä 0,75 ml:aa rouhekiloa kohti. Liuoksen annettiin käydä viisi päivää huoneenlämmössä.

## 5.2 Mäskäyksen keston vaikutus

Mäskäyksen keston vaikutusta uutensaantoon tutkittiin mäskäämällä puolikarkeaa rouhetta 80 °C:n lämpötilassa 60 minuutin ja 120 minuutin ajan. Puolikarkearouhe ja 80 °C:ta valittiin kokeisiin, sillä kyseisen yhdistelmän avulla oli saatu hyviä tuloksia ensimmäisessä mäskäyskokeessa ja se vastasi hyvin tislauksessa käytettävää yhdistelmää. Mäskäyksen kestoiksi valittiin 60 ja 120 minuuttia, koska haluttiin selvittää päästäisiinkö lyhyemmällä mäskäysajalla samaan uutensaantoon kuin 80 minuutissa ja olisiko uutensaanto huomattavasti parempi, kun mäskäys kestäisi puolet pidempään eli 120 minuuttia. Pidemmässä mäskäyksen kestossa otettiin huomioon myös ohjelmoidun infuusiomäskäyksen pituus, joka olisi myös noin 120 minuuttia. Näin saataisiin samalla selvillä, miten paljon uutensaantoon vaikuttaa mäskäyksen kesto ja miten paljon taas portaittainen lämpötilan nosto ja  $\beta$ -glukanaasin käyttö mäskäyksessä  $\alpha$ -amylaasin lisäksi. Mäskäysten koesuunnitelma on esitetty taulukossa 2.

Taulukko 2. Koesuunnitelma eri pituisille mäskäyksille.

Aika (min)	Lämpötila (°C)	Jauhatusaste	Näyte
60	80	Puolikarkea	T3R2.K1
120	80	Puolikarkea	T3R2.K2

Mäskäys ja käyminen suoritettiin samoin kuin ensimmäinen mäskäyskoe, jossa mäskättiin eri jauhatusasteita kolmessa eri lämpötilassa. Ainoana erona ensimmäiseen kokeeseen oli mäskäyksen keston muuttaminen.

## 5.3 Ohjelmoitu infuusiomäskäys

Portaittaisen lämpötilannoston vaikutusta uutensaantoon tutkittiin suorittamalla ohjelmoitu infuusiomäskäys, jossa käytettiin  $\alpha$ -amylaasin lisäksi myös  $\beta$ -glukanaasia. Myös tähän kokeeseen valittiin puolikarkearouhe ja ohjelma



rakennettiin entsyymitoimittajan Lallemandin ohjeiden pohjalta. Ohjelma on esitetty taulukossa 3.

Taulukko 3. Koesuunnitelma ohjelmoidulle infuusiomäskäykselle.

Aika (min)	Lämpötila (°C)	Jauhatusaste	Näyte
-	30		
60	65	Puolikarkea	PR2
60	80		

Mäskäys aloitettiin lisäämällä puolikarkearouhe 30 °C:seen veteen. Tämän jälkeen lämpötila nostettiin 65 °C:seen ja joukkoon lisättiin  $\alpha$ -amylaasia 0,75 ml:aa ja  $\beta$ -glukanaasia 0,6 ml:aa rouhekiloa kohti. Lisättävien entsyymien määrät olivat niin pieniä, että molemmat liuotettiin ensin 50 ml:aan vettä dekantterilasissa, jotta niiden tasainen lisääminen mäskäyslaitteistoon olisi helpompaa. Lämpötilan annettiin olla 65 °C:ssa tunnin ajan, minkä jälkeen lämpötila nostettiin vielä 80 °C:seen tunniksi. Mäskäyksen jälkeen mäskin annettiin valua ja sitä huuhdeltiin kuumalla vedellä, kuten aiemmissa mäskäyksissä. Lopuksi vierre jäädytettiin 30 °C:seen, suoritettiin hiivaus ja kahden tunnin kuluttua lisättiin hiivaravinne sekä glykoamylaasi.

## 6 Analyysit

Analyysejä varten jokaisesta mäsäyksestä otettiin näytteitä sekä vierteestä että käymisessä muodostuneesta liuoksesta. Näytteille tehtiin perusanalyysinä joditesti, pH-mittaus sekä ominaispainon mittaukset. Käymisen jälkeinen alkoholipitoisuus ja kongeneerit määritettiin kaasukromatografian (GC) avulla ja vierteen sekä käyneen liuoksen sokerit analysoitiin korkean erotuskyvyn nestekromatografilla (UHPLC). Eri jauhatustasojen partikkelikoot määritettiin seula-analyysin avulla.

### 6.1 Perusanalyysit

Perusanalyysien avulla tutkittiin heti mäsäyksen ja käymisen jälkeen, miten prosessin vaiheet olivat onnistuneet. Joditestin avulla saatiin selville, oliko vierteeseen mahdollisesti jäänyt pilkkoutumatonta tärkkelystä mäsäyksen jälkeen ja oliko glykoamylaasi onnistunut käymisen aikana pilkkomaan vierteessä olevat dekstriinit pienemmiksi sokereiksi. pH-mittaus tehtiin, jotta voitiin nähdä miten hyvin mäsäyksen ja käymisen aikainen pH vastasivat entsyymeille ja hiivalle ilmoitettuja optimiarvoja. Ominaispainomittarilla otettiin mäsäyksen jälkeen vierteestä OG-arvo (*original gravity*) ja käymisen jälkeen FG-arvo (*final gravity*). OG-arvon avulla arvioitiin mäsäyksen uutesaantoa eli vierteessä olevien sokerien määrää ja FG-arvo taas kertoi, kuinka hyvin hiiva oli käymisen aikana käyttänyt sokereita. Arvoja hyödyntäen laskettiin arvio näytteiden alkoholipitoisuudesta.

### 6.2 Alkoholipitoisuuden määrittäminen

Alkoholipitoisuudet määritettiin käymisen jälkeen kaikista näytteistä kaasukromatografian avulla. Pohjana analyyseille käytettiin sovellettua EBC:n ohjetta 9.2.4 Ethanol in beer by gas chromatography – 2007.

Mittauksia varten valmistettiin ensin standardiliuokset, joiden etanolipitoisuudet tunnettiin. Ominaispainojen eli OG- ja FG-arvojen perusteella arvioitiin, että näytteiden alkoholipitoisuudet olisivat 1–4 tilavuusprosentin välillä. Sen perusteella valittiin standardiliuosten pitoisuuksiksi 1–8 tilavuusprosenttia. Liuokset valmistettiin 20 tilavuusprosenttisesta kantaliuoksesta, joka tehtiin >99,5 m-%:ta Etax Aa etanolista. Kantaliuos valmistettiin pipetoimalla 5 ml:aa Etax Aa:ta 25 ml:n mittapulloon, joka täytettiin merkkiin MilliQ-vedellä. Standardiliuokset analysoitiin kaasukromatografilla ja saatujen tulosten avulla saatiin muodostettua standardisuora. Standardiliuosten valmistus on kuvattu taulukossa 4 ja kaasukromatografilaitteiston tiedot sekä käytetyt parametrit ovat liitteessä 1.

Taulukko 4. Alkoholipitoisuuden määrittämisessä käytettyjen standardiliuosten valmistus.

Liuos	Standardin pitoisuus (%)	Pipetoitava tilavuus (ml)	Kokonaistilavuus (ml)	Kantaliuoksen pitoisuus (%)
1	1,0	0,5	10	20
2	2,0	1	10	20
3	3,0	1,5	10	20
4	4,0	2	10	20
5	5,0	2,5	10	20
6	6,0	3	10	20
7	8,0	4	10	20

Standardiliuosten jälkeen jokaisesta näytteestä tehtiin neljä rinnakkaista mittausta. Näytteet valmistettiin kaasukromatografianalyysiin sulattamalla ne ensin 20 °C:ssa vedessä, jonka jälkeen niistä poistettiin mahdolliset kaasut ultraäänihautteessa. Näytteet suodatettiin 0,45 µm:n suodattimen läpi näytevialeihin. Ajon tuloksena näytteille saatiin kromatogrammit, joista laite laski muodostuneen etanolipiikin pinta-alan. Standardisuoran yhtälön ja etanolipiikin pinta-alan avulla saatiin laskettua jokaisen näytteen alkoholipitoisuus.

### 6.3 Sikunaöljyn ja muiden kongeneerien tunnistus

Sikunaöljyn ja muiden kongeneerien määrittäminen tehtiin myös kaasukromatografilla. Määrittämiseen valittiin ensimmäisen määrittämiskokeen lupaavin yhdistelmä eli 80 °C:ssa määritetyn puolikarkean rouheen käynyt liuos (T3R2). Kromatografilaitteiston tiedot ja käytetyt parametrit ovat liitteessä 2.

Yhdisteiden tunnistamista varten valmistettiin kolme erilaista seosta, joissa jokaisessa oli kolme eri yhdistettä. Seosten koostumukset ovat taulukossa 5. Kyseiset yhdisteet valittiin tunnistukseen, sillä perusteella, että niitä useimmiten esiintyy etanolin lisäksi käymisteitse valmistetuissa alkoholijuomissa. Seokset valmistettiin kolmeen 10 ml:n mittapulloon, jotka täytettiin merkkiin MilliQ-vedellä. Jokaiselle seokselle saatiin oma kromatogrammi, jossa yhdisteiden muodostamat piikit erottuivat toisistaan niiden retentioajan perusteella. Näiden tietojen avulla tunnistettiin varsinaisessa näytteessä olevat yhdisteet. Analyysissä ei määritetty kyseisten yhdisteiden tarkempaa pitoisuutta.

Taulukko 5. Kongeneerien määrittämisessä käytetyt yhdisteet ja niiden pitoisuudet.

Seos 1	Seos 2	Seos 3
Metanoli (2 %)	3-metyyli-1-butanoli (5 %)	Etyyliasettaatti (2 %)
1-propanoli (5 %)	Etikkahappo (1 %)	1-butanoli (1 %)
1-pentanololi (1 %)	Metyyliasettaatti (2 %)	Asetaldehydi (4 %)

Tutkittava näyte valmistettiin analyysiin sulattamalla se noin 20 °C:ssa vedessä, jonka jälkeen sitä sentrifugoitiin 10 minuutin ajan kierrospeudella 4500 rpm, jotta mahdolliset kiintoaineet saatiin laskeutumaan näyteputken pohjalle. Tämän lisäksi näyte vielä suodatettiin 0,2 µm:n suodattimen läpi näytevialeihin. Näytteestä tehtiin kolme rinnakkaista määrittämistä.

## 6.4 Sokerien määrittäminen

Näytteissä olevat sokerit määritettiin erittäin korkean erotuskyvyn nestekromatografilla eli UHPLC-ELSD:llä. Laitteiston tiedot ja käytetyt parametrit ovat liitteessä 3. Määrittämiseen valittiin analysoitavaksi näytteet vierteestä ja käyneestä liuksesta puolikarkealle rouheelle tehdyistä määrittämissä 80 °C:ssa, jotka olivat kestäneet 80, 60 ja 120 minuuttia (T3R2, T3R2.K1 ja T3R2.K2). Näiden lisäksi määrittäminen tehtiin myös ohjelmoidussa infuusiomäärittämissä saadulle vierrenäytteelle (PR2). Analysoitaviksi sokereiksi valittiin glukoosi, fruktoosi, sakkaroosi, maltoosi ja maltotriooosi, sillä ne ovat pääasialliset käymiskelpoiset sokerit.

Määrittämissä varten valmistettiin sokereista ensin kantaliuos punnitsemalla analyysiväällä kaikkia sokereita 200 mg ja lisäämällä ne samaan 20 ml:n mittapulloon, joka täytettiin merkkiin 50:50 vesi-asetonitriliseoksella. Kantaliuoksen avulla valmistettiin analyysissä käytetyt standardiliuokset. Standardit valmistettiin 10 ml:n mittapulloihin, jotka täytettiin merkkiin 50:50 vesi-asetonitriliseoksella. Standardiliuosten valmistus on esitetty taulukossa 6.

Taulukko 6. Sokerien määrittämissä käytettyjen standardiliuosten valmistus.

Liuos	Standardin pitoisuus (mg/ml)	Pipetoitava tilavuus (ml)	Kokonaistilavuus (ml)	Kantaliuoksen pitoisuus (mg/ml)
10	0,2	5	10	0,3
9	0,3	5	10	0,6
8	0,6	5	10	1,25
7	1,0	1	10	10
6	1,25	5	10	2,5
5	2,0	2	10	10
4	2,5	5	10	5
3	3,0	3	10	10
2	4,0	4	10	10
1	5,0	5	10	10

Näytteet valmistettiin analyysiin sulattamalla ne noin 20 °C:ssa vedessä ja laimentamalla vierrenäytteet suhteeseen 1:100 ja käyneet näytteet 1:10. Laimennuksessa käytettiin myös 50:50 vesi-asetonitriliseosta. Laimennokset

tehtiin eppendorf-putkiin, jotka sekoitettiin ravistelemalla. Lopuksi näytteet suodatettiin 0,2 µm:n suodattimen läpi näytevialeihin. Kaikista näytteistä tehtiin kolme rinnakkaista määrittystä.

## 6.5 Rouheiden partikkelikoon määrittäminen

Rouheiden partikkelikoon määrittäminen tehtiin soveltamalla EBC:n ohjetta 3.11.1 Sieving test for barley – 2002. Partikkelikoon määrittämisen avulla saatiin parempi kuva siitä, miten eri jauhatustasot eroavat toisistaan ja minkälainen kokojakauma partikkeleilla on. Määrittäminen suoritettiin seula-analyysin avulla, jossa käytettiin neljän erikokoisen seulan sarjaa sekä pohja levyä. Seulojen silmäko'oksi valittiin 2,0 mm, 1,0 mm, 0,600 mm ja 0,250 mm. Seulat koottiin päällekkäin seulakoneeseen niin, että alimmaiseksi tuli pohjalevy ja sen päälle seulat pienimmästä suurimpaan. Ylimmän seulan päälle punnittiin 100 g:aa rouhetta 0,01 g:n tarkkuudella. Seuloja ravistettiin viiden minuutin ajan keskinopeudella. Sen jälkeen jokaisen seulan päälle jäänyt jae punnittiin 0,01 g:n tarkkuudella ja sen prosenttiosuus laskettiin.

## 7 Tulokset ja pohdinta

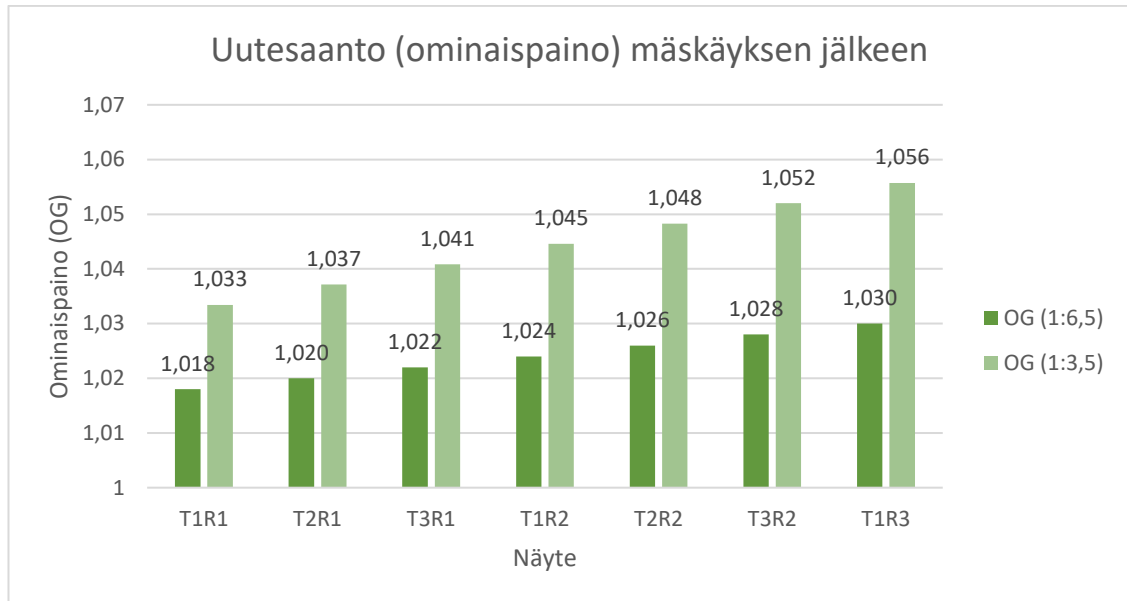
Tehdyissä kokeissa viljan ja veden suhde oli 1:6,5, kun tislaamon normaalisti käyttämä suhde on 1:3,5. Tämän vuoksi tulokset on ilmoitettu suhteelle 1:6,5 ja niiden perusteella on arvioitu, mikä tulos olisi suhteella 1:3,5 eli tulosten ollessa 1,86 kertaisia. Tarkemmat tulokset näytteiden analyyseistä on esitetty liitteissä 4–12.

### 7.1 Uutesaanto

Kokeissa havaittiin, että jauhatustaste ja mäsikäslämpötila vaikuttavat merkittävästi uutesaantoon ja siten myös käymisessä muodostuvan alkoholin määrään. Muilla tekijöillä, kuten mäsikäksen kestolla tai ohjelmoidulla infuusiomäsikäyksellä ei näytä olevan yhtä suurta merkitystä uutesaantoon. Eri mäsikäskokeiden uutesaantoa arvioitiin vierteestä mitatun ominaispainon eli OG-arvon avulla, tulokset löytyvät liitteestä 4.

#### 7.1.1 Mäsikäksen lämpötilan ja jauhatustasteen vaikutus uutesaantoon

Uutesaannon havaittiin paranevan tasaisesti, kun mäsikäslämpötilaa nostettiin ja käytettiin hienompaa jauhatustastetta. Uutesaannot jäivät kuitenkin hieman alhaisiksi ja tähän on voinut vaikuttaa monta asiaa. Tärkeimpinä jauhatustaste, käytetyt lämpötilat ja puutteellinen sekoitus. Ensimmäisen mäsikäskokeen tulokset on esitetty kuviossa 1.



Kuvio 1. Uutesaannot mäskäyksille kolmessa eri lämpötilassa kolmella eri jauhatusasteella.

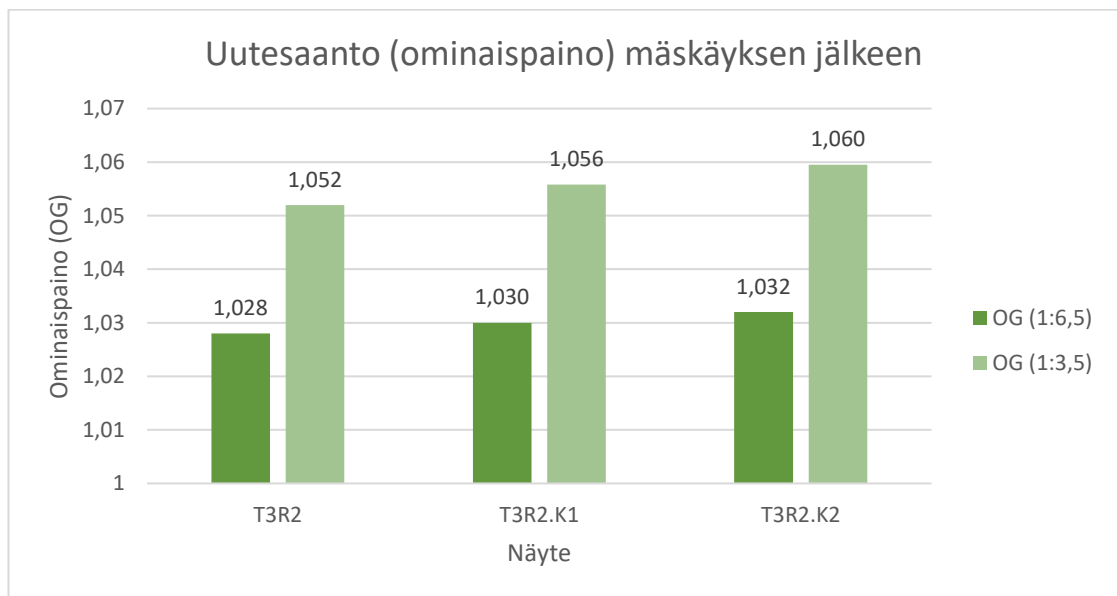
Eri jauhatusasteet käyttäytyivät hyvin eri tavoin mäskäyksen aikana ja eniten ongelmia esiintyi mäskin sekoittumisen ja huuhtelun kanssa. Karkean rouheen (R1) kanssa Braumeister-mäskäyslaitteisto pystyi sekoittamaan mäskiä ja vierrettä tehokkaasti eikä huuhtelukaan tuottanut ongelmia. Puolikarkean (R2) ja hienon (R3) rouheen kanssa sen sijaan esiintyi ongelmia. Molemmat rouheet muodostivat mallaspiippuun tiiviin rouhepatjan, jolloin mäskin ja vierteen sekoittuminen heikkeni huomattavasti mäskäyksen loppua kohti. Mäskäykset oli pakko keskeyttää hienolla rouheella 70 ja 80 °C:ssa, koska rouhe muodosti jo heti mäskäyksen alussa niin tiiviin patjan, ettei sekoittumista tapahtunut lainkaan. Rouheet myös pidättivät runsaasti nestettä ja huuhteluun kului paljon aikaa. Tulosten perusteella seuraaviin mäskäyskokeisiin valikoitui kuitenkin puolikarkea rouhe.

### 7.1.2 Mäskäyksen keston vaikutus uutesaantoon

Mäskäyksen keston lyhentämisellä tai pidentämiselle normaalisti käytetystä 80 minuutista 60 minuuttiin ja 120 minuuttiin ei näyttänyt olevan kovinkaan suurta



vaikutusta uutesaantoon. Uutesaannossa havaittiin pientä nousua mäsikäyksen keston pidentyessä 120 minuuttiin, mutta ero lyhyempiin mäsikäyksiin ei ole merkittävä. Mäsikäyksen keston lyhentäminen sen sijaan 60 minuuttiin näytti tuottavan yhtä hyvän uutesaannon kuin 80 minuutin mäsikäys. Toisen mäsikäyskokeen tulokset on esitetty kuviossa 2.

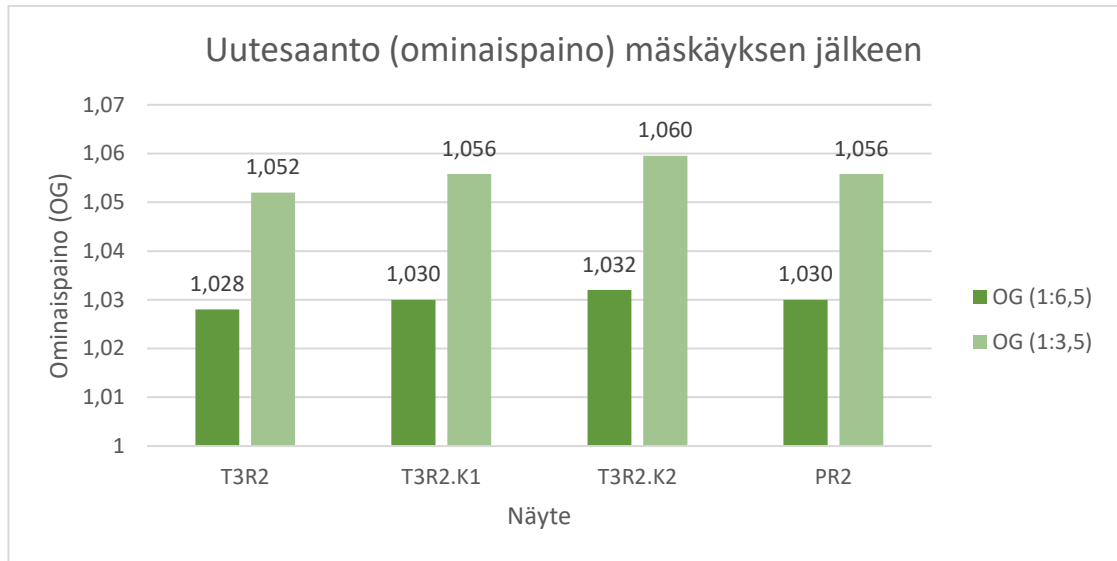


Kuvio 2. Mäsikäyksen keston (80, 60 ja 120 min) vaikutus uutesaantoon.

Saatujen tulosten perusteella vaikuttaa siltä, että entsyymit pilkkoivat tärkkelystä sokereiksi parhaiten mäsikäyksen alussa, kun sekoitus oli tehokkainta. Mäsikäyksen kesto pidentämällä ei todennäköisesti saavuteta merkittävää uutesaannon kasvua, jos sekoitus on puutteellista.

### 7.1.3 Ohjelmoidun infuusiomäsikäyksen vaikutus uutesaantoon

Ohjelmoidulla infuusiomäsikäyksellä (PR2) saadut tulokset olivat samansuuruisia kuin muissa 80 °C:ssa tehdyissä mäsikäyksissä puolikarkealla rouheella. Ohjelmoitu infuusiomäsikäys kesti hieman yli 120 minuuttia, mutta sen uutesaanto jäi kuitenkin pienemmäksi kuin vakioämpötilassa tehdyllä 120 minuutin mäsikäyksellä. Kolmannen mäsikäyskokeen tulokset on esitetty kuviossa 3.



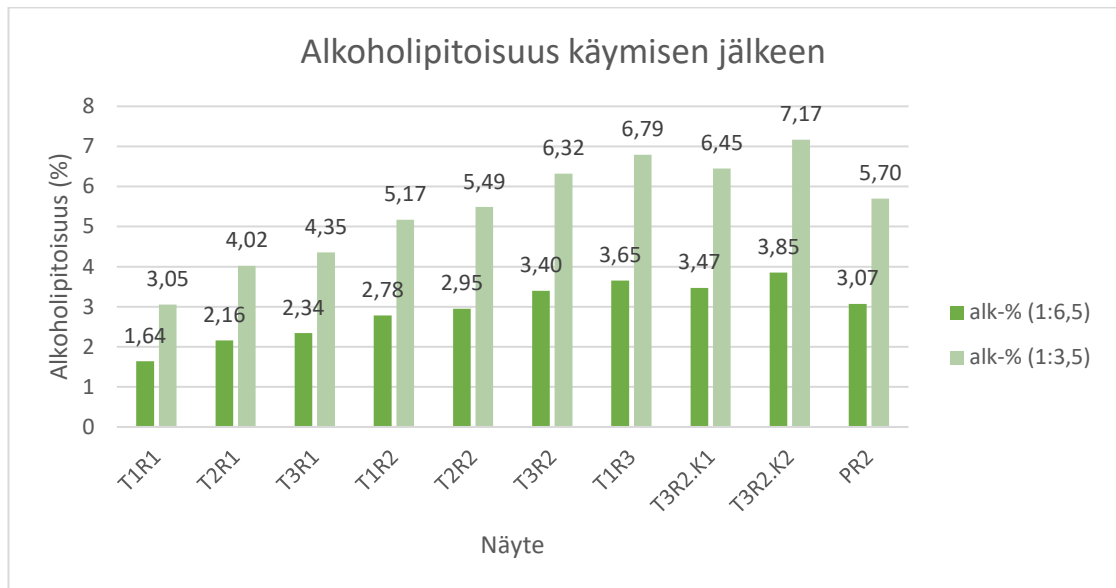
Kuvio 3. Ohjelmoidun infuusiomäsikäyksen ja muiden puolikarkealla rouheella 80 °C:ssa tehtyjen mäsikäysten uutesaannot.

Alhaiseksi jääneeseen uutesaantoon on voinut vaikuttaa se, ettei entsyymejä sekoitettu suoraan rouheen sekaan vaan ne lisättiin veteen mallaspiipun ympärille. Sekoituksen kanssa esiintyi myös ongelmia, jolloin entsyymit eivät välttämättä ole päässeet sekoittumaan kunnolla rouheen joukkoon. Mäsikäyksessä saadussa vierteessä esiintyi enemmän sakkua kuin muissa mäsikäyskokeissa, mikä sai aikaan joditestin positiivisen tuloksen tärkkelykselle.

## 7.2 Alkoholipitoisuus

Kaikkien näytteiden alkoholipitoisuudet määritettiin kaasukromatografian avulla, analyysien tarkemmat tulokset ovat liitteessä 5. Mäsikäyksessä saatu uutesaanto vaikutti odotettavasti hyvin paljon käymisen jälkeiseen alkoholipitoisuuteen. Suurin alkoholipitoisuus saatiin puolikarkealle rouheelle, jota mäsikättiin 80 °C:ssa 120 minuuttia. Seuraavaksi suurin alkoholipitoisuus oli hienolla rouheella, jota mäsikättiin 65 °C:ssa 80 minuuttia ja kolmantena oli puolikarkea rouhe, jota mäsikättiin 80 °C:ssa 60 minuuttia. Melkein yhtä korkeaan alkoholipitoisuuteen ylsi myös puolikarkea rouhe, jota mäsikättiin 80

°C:ssa 80 minuuttia. Kaikkien näytteiden alkoholipitoisuudet on esitetty kuviossa 4.



Kuvio 4. Näytteiden alkoholipitoisuudet käymisen jälkeen.

Kokonaisuudessaan kokeissa saadut alkoholipitoisuudet jäivät matalammiksi kuin oli toivottu. Tähän on voinut vaikuttaa käymisen aikaiset olosuhteet sekä mäsäyksissä käytetyt lämpötilat ja puutteellinen sekoitus. Näiden seurauksena uutensaanto oli jäänyt alhaiseksi, jolloin hiivalla ei ole ollut käytettävänä riittävästi sokereita korkeamman alkoholipitoisuuden aikaansaamiseksi.

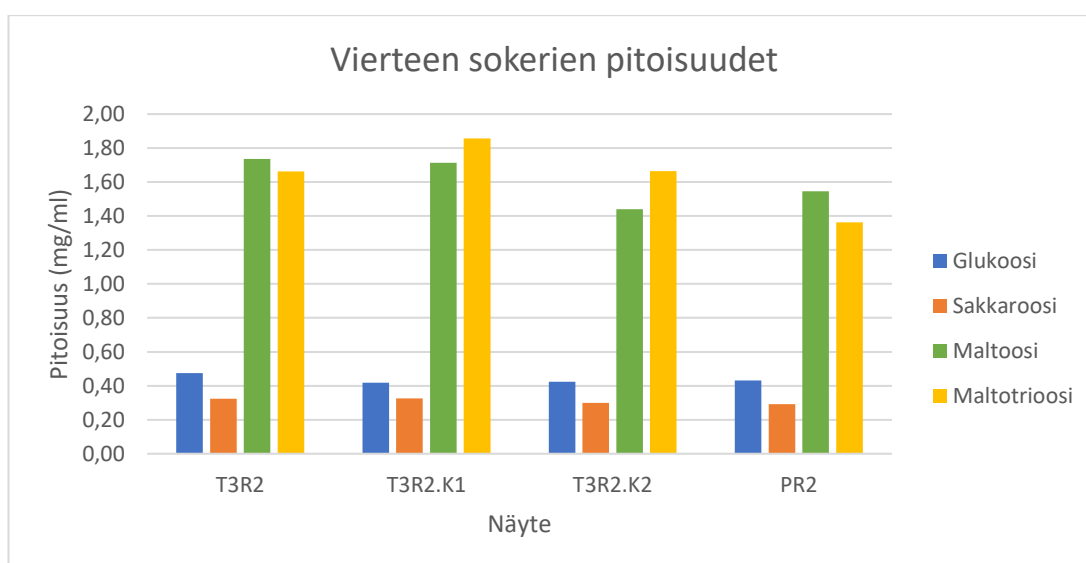
### 7.3 Sikunaöljy ja muut kongeneerit

Puolikarkean rouheen, jota oli mäsäkö 80 °C:ssa 80 minuuttia (T3R2), käymisen jälkeen otetusta näytteestä tutkittiin etanolin lisäksi myös sikunaöljy ja muut tavallisimmin hiivakäymisen avulla valmistetuissa alkoholijuomissa esiintyvät sivutuotteet. Näytteessä havaittiin olevan pääasiassa etanolia, jonka lisäksi löydettiin pieniä määriä 3-metyyli-1-butanolia sekä etikkahappoa. Kromatogrammissa näkyi myös piikki metyyliasetaatille. Kyseinen yhdiste on kuitenkin mitä luultavimmin jäännös ruiskun pesussa käytetystä asetonista ja se

esiintyy usein kyseisellä laitteella tehdyissä alkoholianalyyseissä. Näytteen kromatogrammi on liitteessä 6.

#### 7.4 Sokerit

Osasta näytteitä (T3R2, T3R2.K1, T3R2.K2 ja PR2) määritettiin erittäin korkean erotuskyvyn nestekromatografian (UHPLC) avulla vierteessä ja käyneessä liuoksessa olevia sokereita. Saadut tulokset olivat hyvin yhteneväisiä keskenään ja mäsäyksen kesto tai lämpötilan portaittainen nosto ei näytä vaikuttaneen kovinkaan paljon siihen, minkälaisia sokereita vierteeseen muodostui. Kaikkien tutkittujen näytteiden vierteissä havaittiin olevan enimmäkseen maltoosia ja maltotriosia, mutta niiden pitoisuudet jäivät alle 2,0 mg/ml. Glukoosia ja sakkaroosia näytteissä oli alle 0,5 mg/ml. Fruktoosia ei näytteissä ollut lainkaan. Näiden sokerien lisäksi näytteiden kromatogrammeissa havaittiin piikkejä useamman sokerimolekyylin muodostamille ketjuille, kuten maltotetroosille, maltopentoosille ja maltoheksoosille, mutta niitä ei saatu luotettavasti tunnistettua standardien puuttumisen takia. Tutkittujen näytteiden vierteissä olevien tunnistettujen sokerien pitoisuudet ovat kuviossa 5 ja näytteiden tarkemmat sokeripitoisuudet sekä kromatogrammit ovat liitteissä 7–11.

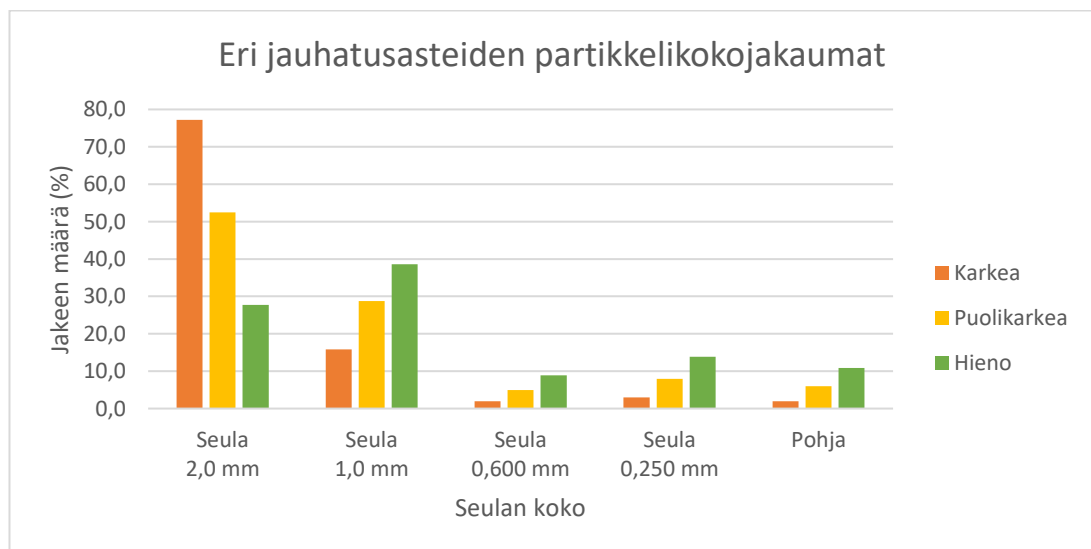


Kuvio 5. Vierteen sokerien pitoisuudet tutkituissa näytteissä.

Sokerit tutkittiin myös käyneistä liuoksista ja tuloksista nähtiin, että käymisvaiheessa lisätty glykoamylaasientsyymi oli pilkkonut vierteissä olleet useamman sokerimolekyylin pituiset ketjut käymiskelpoisiksi sokereiksi. Näytteisiin ei ollut jäänyt käymisen jälkeen analyyseissä käytetyillä kromatografian parametreilla havaittavia sokereita.

### 7.5 Jauhatusasteiden partikkelikokojakauma

Jauhatusasteiden partikkelikokojakaumaa ja sen mahdollista vaikutusta uutesaantoon selvitettiin seula-analyysin avulla, jonka tulokset ovat liitteessä 12. Seula-analyysin tulosten perusteella karkeassa ja puolikarkeassa rouheessa suurin osa partikkeleista oli yli 2,0 mm:n kokoisia. Molemmat jauhatusasteet ovatkin tämän perusteella hyvin karkeita. Hienossa rouheessa oli jo enemmän partikkeleita, jotka osuivat 2,0 ja 1,0 mm:n väliin. Myös hienoja partikkeleita, eli 0,600–0,250 mm:n kokoisia, ja jauhoa oli enemmän hienossa rouheessa kuin karkeassa tai puolikarkeassa. Eri jauhatusasteiden partikkelikokojakaumat on esitetty kuviossa 5.



Kuvio 6. Eri jauhatusasteiden partikkelikokojakaumat.

Jauhatusasteet ovat analyysin perusteella liian karkeita hyvän uutesaannon saamiseksi. Tämä tuli esille etenkin karkean rouheen ja puolikarkean rouheen

kanssa tehdyissä mäsäyksissä. Rouheen karkeudella on todennäköisesti ollut vaikutusta tärkkelyksen gelatinoitumislämpötilaan ja entsyymien toiminnan tehokkuuteen.

## 8 Loppupäätelmät

Opinnäytetyön tavoitteena oli selvittää, miten vodkan valmistusprosessin alussa tehtävän raaka-aineen jauhatuksen ja mäsäyksen parametreja muuttamalla voidaan vaikuttaa uutesaantoon ja siten käymisen jälkeiseen alkoholipitoisuuteen. Tämän lisäksi opinnäytetyössä käytiin läpi vodkan valmistukseen liittyvää lainsäädäntöä ja valmistusprosessin eri vaiheet.

Työn tuloksena onnistuttiin todentamaan jauhatusasteen ja mäsäyslämpötilan merkitys uutesaantoon ja käymisen jälkeiseen alkoholipitoisuuteen. Lisäksi saatiin tietoa mäsäyksen keston merkityksestä ja siitä lisäisikö ohjelmoitu infuusiomäsäys uutesaantoa. Saatuihin tuloksiin vaikutti kuitenkin kokeissa käytetty laitteisto. Se ei täysin vastannut tislaamon käyttämää laitteistoa, minkä vuoksi vilja-vesisuhde jouduttiin pienentämään suhteeseen 1:6,5 suhteesta 1:3,5. Tämän seurauksena tulokset ovat suuntaa antavia.

Saatujen tulosten perusteella on kuitenkin selvää, että uutesaantoon ja siten myös alkoholipitoisuuteen käymisen jälkeen vaikuttaa hyvin moni tekijä. Yksi isoimmista tekijöistä olisi ollut hyvä sekoitus, jota ei suoritetuissa kokeissa saatu aikaiseksi. Hyvä sekoittuminen olisi ollut tärkeä tekijä uutesaannon kannalta, sillä sen avulla tärkkelys ja entsyymit olisivat päässeet paremmin vuorovaikutukseen keskenään, jolloin tärkkelyksen pilkkoutuminen sokereiksi olisi ollut tehokkaampaa. Tällöin käytetystä raaka-aineesta olisi voitu saada mahdollisimman paljon sokereita vierteeseen.

Puutteellisen sekoituksen lisäksi uutesaantoon on todennäköisesti vaikuttanut myös pelkän  $\alpha$ -amylaasin käyttö ja mäsäysten lämpötilat. Pelkän  $\alpha$ -amylaasin käyttö vaikuttaa merkittävästi muodostuvien sokerien laatuun, jolloin vierteessä on pääosin erilaisia oligo- ja polysakkarideja eli dekstriinejä. Uutesaannon perusteella voidaan myös nähdä, että mäsäyksissä käytetyt 65 ja 70 °C:ta olivat liian alhaisia lämpötiloja  $\alpha$ -amylaasin optimaalisen toiminnan kannalta, etenkin karkean ja puolikarkean rouheen kohdalla. Näiden rouheiden kanssa olisi ollut hyvä käyttää ainakin 80 °C:n lämpötilaa. Entsyymintoimittaja

Lallemandilta saadun tiedon mukaan pH:lla ei ole suurta vaikutusta heidän entsyymiensä toimintaan.

Paremmen uutesaannon aikaansaamiseksi tulisi myös optimoida käytettävän rouheen jauhatustaso. Mäskäyksissä käytetyt karkea ja puolikarkea rouhe ovat molemmat partikkelikokojakautuksensa perusteella suhteellisen karkeita. Suuret partikkelit nostavat gelatinoitumis- ja mäskäyslämpötilaa sekä vaikeuttavat entsyymien toimintaa, jolloin uutesaanto pienenee. Käytettävä jauhatustaso olisikin hyvä optimoida siten, että suurin osa partikkeleista olisi 1,0 mm:n tai pienemmän kokoisia. Hienon rouheen kanssa saatujen tulosten perusteella näyttäisi siltä, että optimoidun jauhatustason kanssa voisi olla mahdollista käyttää alhaisempaa mäskäyslämpötilaa sekä pienempää vilja-vesisuhdetta ja silti saada hyvä uutesaanto.

Muodostuneen alkoholipitoisuuden kohdalla tulee uutesaannon lisäksi ottaa huomioon myös käymisprosessi ja sen aikaiset olosuhteet. Käymisessä käytetyn hiivan ja glykoamylaasin optimi lämpötila oli noin 30 °C:ta. Käymisen aikana ei kuitenkaan ollut mahdollista kontrolloida käymisastian lämpötilaa, jolloin käyminen tapahtui huoneenlämmössä. Alhainen lämpötila alentaa hiivan ja glykoamylaasin aktiivisuutta, mikä taas pidentää käymisprosessin kestoa. Näillä tekijöillä on voinut olla uutesaannon lisäksi vaikutusta alhaiseen alkoholipitoisuuteen. Asiaa tulisi kuitenkin tutkia enemmän.



## Lähteet

Alfeo, V.; De Francesco, G.; Sileoni, V.; Blangiforti, S.; Palmeri, R.; Aerts, G.; Perretti, G. & Todaro, A. 2021. Physicochemical properties, sugar profile, and non-starch polysaccharides characterization of old wheat malt landraces. *Journal of Food Composition and Analysis*. Vol. 102, 103997. Viitattu 3.2.2023. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103997>

Asetus (EU) 2019/787. Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus tislattujen alkoholijuomien määritelmistä, kuvauksesta, esittelystä ja merkinnöistä, tislattujen alkoholijuomien nimien käytöstä muiden elintarvikkeiden esittelyssä ja merkinnöissä, tislattujen alkoholijuomien maantieteellisten merkintöjen suojaamisesta, maatalousperäisen etyylialkoholin ja maatalousperäisten tisleiden käytöstä alkoholijuomissa ja asetuksen (EY) N:o 110/2008 kumoamisesta. Euroopan unionin virallinen lehti L 130, 17.5.2019, 1–54. Viitattu 4.1.2023. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FI/TXT/PDF/?uri=OJ:L:2019:130:FULL&from=FI>

BeMiller, J.N. & Whistler, R.L. 2009. *Starch: Chemistry and Technology*. E-kirja ProQuest Ebook Central-kirjapalvelussa. Amsterdam: Elsevier Science & Technology. Vaatii kirjautumisen palveluun. Viitattu 26.1.2023. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/turkuamk-ebooks/reader.action?docID=428579&query=Starch%3A+Chemistry+and+Technology>

Bogdan, P. & Kordialik-Bogacka, E. 2017. Alternatives to malt in brewing. *Trends in Food Science & Technology*. Vol. 65, 1–9. Viitattu 31.1.2023. <https://doi-org.ezproxy.turkuamk.fi/10.1016/j.tifs.2017.05.001>

Buglass, A.J. 2011. *Handbook of Alcoholic Beverages: Technical, Analytical and Nutritional Aspects*. E-kirja ProQuest Ebook Central-kirjapalvelussa. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. Vaatii kirjautumisen palveluun. Viitattu 23.1.2023. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/turkuamk-ebooks/reader.action?docID=661784&query=Handbook+of+Alcoholic+Beverages%3A+Technical%2C+Analytical+and+Nutritional+Aspects>

Cook, D.J. & Bamforth, C.W. 2019. *Food, Fermentation, and Micro-Organisms*. E-kirja ProQuest Ebook Central-kirjapalvelussa. 2., uudistettu painos. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. Vaatii kirjautumisen palveluun. Viitattu

26.1.2023. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/turkuamk-ebooks/reader.action?docID=5683101&query=Food%2C+Fermentation%2C+and+Micro-Organisms>

De Schepper, C.F. & Courtin, C.M. 2022. High mashing thickness negatively influences gelatinization of small and large starch granules and starch conversion efficiency during barley malt brewing. *Food Hydrocolloids*. Vol. 131, 107745. Viitattu 2.3.2023. <https://doi-org.ezproxy.turkuamk.fi/10.1016/j.foodhyd.2022.107745>

De Schepper, C.F.; Michiels, P.; Buvé, C.; Van Loye, A.M. & Courtin, C.M. 2021. Starch hydrolysis during mashing: A study of the activity and thermal inactivation kinetics of barley malt  $\alpha$ -amylase and  $\beta$ -amylase. *Carbohydrate Polymers*. Vol. 255, 117494. Viitattu 18.1.2023. <https://doi-org.ezproxy.turkuamk.fi/10.1016/j.carbpol.2020.117494>

Enari, T-M. & Mäkinen, V. 2014. *Panimotekniikka. 3., uudistettu painos*, Espoo: Oy Panimolaboratorio-Bryggerilaboratorium Ab.

Eskin, N.A. & Shahidi, F. 2012. *Biochemistry of Foods*. E-kirja ProQuest Ebook Central-kirjapalvelussa. 3., uudistettu painos. Amsterdam: Elsevier Science & Technology. Vaatii kirjautumisen palveluun. Viitattu 15.1.2023. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/turkuamk-ebooks/reader.action?docID=1046389&query=Biochemistry+of+Foods>

Faltermaier, A.; Waters, D.; Becker, T.; Arendt, E. & Gastl, M. 2014. Common wheat (*Triticum aestivum* L.) and its use as a brewing cereal – a review. *Journal of The Institute of Brewing*. Vol. 120, No 1, 1–15. Viitattu 31.1.2023. <https://doi.org/10.1002/jib.107>

Gibson, M. & Newsham, P. 2018. *Food Science and the Culinary Arts*. Cambridge: Academic Press.

Herlihy, P. 2012. *Vodka: A Global History*. Lontoo: Reaktion Books Ltd.

Hutkins, R.W. 2018. *Microbiology and Technology of Fermented Foods*. E-kirja ProQuest Ebook Central-kirjapalvelussa. 2., uudistettu painos. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. Vaatii kirjautumisen palveluun. Viitattu 26.1.2023. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/turkuamk-ebooks/reader.action?docID=5509381&query=Microbiology+and+technology+of+fermented+foods>

Kandra, L. 2003.  $\alpha$ -amylases of medical and industrial importance. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*. Vol. 666-667, 487–498. Viitattu 18.1.2023. <https://doi-org.ezproxy.turkuamk.fi/10.1016/j.theochem.2003.08.073>

Karlsten, J. 2007. *Juomista jaloimmat*. Helsinki: Art House Oy.

Khan, K. 2009. *Wheat: Chemistry and Technology*. E-kirja ProQuest Ebook Central-kirjapalvelussa. 4., uudistettu painos. Amsterdam: Elsevier Science & Technology. Vaatii kirjautumisen palveluun. Viitattu 26.1.2023. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/turkuamk-ebooks/reader.action?docID=4558066&query=Wheat%3A+chemistry+and+technology>

Kosar, K.R. 2010. *Whiskey: A Global History*. E-kirja ProQuest Ebook Central-kirjapalvelussa. Lontoo: Reaktion Books Ltd. Vaatii kirjautumisen palveluun. Viitattu 3.6.2023. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/turkuamk-ebooks/reader.action?docID=692192&ppg=1>

Lamberg, H. 2016. *Tärkkelys ja tärkkelysteollisuus*. Pro gradu -työ. Kemian laitos. Soveltavan kemian osasto. Jyväskylä: Jyväskylän yliopisto. Viitattu 10.5.2023. <https://jyx.jyu.fi/bitstream/handle/123456789/48818/1/URN%3ANBN%3Afi%3Aju-201602181601.pdf>

Li, Y.; Cheng, W.; Qiu, X.; Sun, Y.; Xia, X.; Yang, L.; Fan, M.; Wang, L. & Qian, H. 2023. Effects of  $\beta$ -amylase hydrolysis on the structural, physicochemical and storage properties of wheat starch. *Journal of Cereal Science*. Vol. 109, 103605. Viitattu 31.1.2023. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2022.103605>

Mousia, Z.; Balkin, R.C.; Pandiella, S.S. & Webb, C. 2004. The effect of milling parameters on starch hydrolysis of milled malt in the brewing process. *Process Biochemistry*. Vol. 39, No 12, 2213–2219. Viitattu 25.1.2023. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2003.11.015>

Nagodawithana, T. & Reed, G. 1993. *Enzymes in Food Processing*. E-kirja ProQuest Ebook Central-kirjapalvelussa. 3., uudistettu painos. Amsterdam: Elsevier Science & Technology. Vaatii kirjautumisen palveluun. Viitattu 7.2.2023. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/turkuamk-ebooks/reader.action?docID=1817935&query=Enzymes+in+Food+Processing>

- Pauley, M. & Maskell, D. 2017. Mini-Review: The Role of *Saccharomyces cerevisiae* in the Production of Gin and Vodka. *Beverages*. Vol. 3, No 1. Viitattu 3.2.2023. <https://doi.org/10.3390/beverages3010013>
- Pielech-Przybylska, K.; Balcerek, M.; Dziekonska-Kubczak, U.; Patelski, P. & Rozanski, M. 2018. Effect of starch liberation method and initial pH of sweet mashes on higher alcohols content in distillates obtained from different starchy raw materials. *Process Biochemistry*. Vol. 73, 29–37. Viitattu 3.2.2023. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.08.014>
- Pulkkinen, J. 2014. *Kossu - Koskenkorvan ja suomalaisen vodkan historia*. Helsinki: Minerva Kustannus Oy.
- Serna-Saldivar, S.O. & Barbosa-Canovas, G.V. 2010. *Cereal Grains: Properties, Processing, and Nutritional Attributes*. E-kirja ProQuest Ebook Central-kirjapalvelussa. Abingdon-on-Thames: Taylor & Francis Group. Vaatii kirjautumisen palveluun. Viitattu 12.2.2023. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/turkuamk-ebooks/reader.action?docID=1446403&query=Cereal+Grains%3A+Properties%2C+Processing%2C+and+Nutritional+Attributes>
- Simpson, B.K.; Toldrá, F.; Nollet, L.M.; Benjakul, S.; Paliyath, G. & Hui, Y.H. 2012. *Food Biochemistry and Food Processing*. E-kirja ProQuest Ebook Central-kirjapalvelussa. 2., uudistettu painos. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. Vaatii kirjautumisen palveluun. Viitattu 10.2.2023. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/turkuamk-ebooks/reader.action?docID=843662&query=Food+Biochemistry+and+Food+Processing>
- Sjöo, M. & Nilsson, L. 2017. *Starch in Food: Structure, Function and Applications*. E-kirja ProQuest Ebook Central-kirjapalvelussa. 2., uudistettu painos. Amsterdam: Elsevier Science & Technology. Vaatii kirjautumisen palveluun. Viitattu 23.1.2023. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/turkuamk-ebooks/reader.action?docID=5161867&query=Starch+in+Food%3A+Structure%2C+Function+and+Applications>
- Speidel 2016. *Operating/brewing instructions Speidel Braumeister 10/20/50 ltr*. Viitattu 3.6.2023. <https://www.speidels-braumeister.de/en/service/instruction-manuals.html>

Tiwari, S.P.; Srivastava, R.; Singh, C.S.; Shukla, K.; Singh, R.K.; Singh, R.; Singh, N.L. & Sharma, R. 2015. Amylases: An overview with special reference to alpha amylase. *Journal of Global Biosciences*. Vol. 4, No 1, 1886-1901. Viitattu 3.2.2023.

[https://www.researchgate.net/publication/312948601\\_Amylases\\_an\\_overview\\_with\\_special\\_reference\\_to\\_alpha\\_amylase](https://www.researchgate.net/publication/312948601_Amylases_an_overview_with_special_reference_to_alpha_amylase)

Viader, R.P.; Holmstrom Yde, M.S.; Hartvig, J.W.; Pagenstecher, M.; Carlsen, J.B.; Christensen, T.B. & Andersen, M.L. 2021. Optimization of beer brewing by monitoring  $\alpha$ -amylase and  $\beta$ -amylase activities during mashing. *Beverages*. Vol. 7, No 1. Viitattu 3.2.2023. <https://doi.org/10.3390/beverages7010013>

Yu, W.W.; Zhai, H.L.; Xia, G.B.; Tao, K.Y.; Li, C.; Yang, X.Q. & Li, L.H. 2020. Starch fine molecular structures as a significant controller of the malting, mashing, and fermentation performance during beer production. *Trends in Food Science & Technology*. Vol. 105, 296–307. Viitattu 3.2.2023. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.010>

## Alkoholipitoisuuksien GC-FID mittauksissa käytetty laitteisto ja parametrit

<b>Laitteisto</b>		
GC-FID	Agilent Technologies 7820A GC System, injektorilla 7650A, liekki-ionisaatiodekteri (FID) ja ChemStation ohjelmisto (Agilent Technologies, Yhdysvallat)	
Kolonne	HP-FFAP 19091F-413 (30 m x 0,320 mm x 0,25 µm, Agilent Technologies, Yhdysvallat)	
<b>Parametrit</b>		
Kantajakaasu	Typpi (N <sub>2</sub> ), virtausnopeus 0,8 ml/min	
Injektointi	Split 50:1	
Injektointitilavuus	0,5 µl	
Uuni	Lämpötila	50 °C
	Pitoaika	6 min
Inlet lämpötila	220 °C	
Detektori (FID)	Lämpötila	240 °C
	Vedyn (H <sub>2</sub> ) virtaus	35 ml/min
	Ilman virtaus	350 ml/min

## Sikunaöljyn ja muiden kongeneerien GC-FID määrityksissä käytetty laitteisto ja parametrit

<b>Laitteisto</b>		
GC-FID	Shimadzu Nexis GC-2030 injektorilla AOC-20i, liekki-ionisaatiodetektor (FID) ja LabSolutions ohjelmisto (Shimadzu, Japani)	
Kolonne	HP-INNOWax (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, Hewlett-Packard, Yhdysvallat)	
<b>Parametrit</b>		
Kantajakaasu	Helium (He), virtausnopeus 42 ml/min	
Injektointi	Splitless (1 min)/split, split 1:25	
Injektointilämpötila	220	
Injektointitilavuus	0,2 µl	
Uuni	Lämpötila	40 °C
	Pitoaika	8 min
Inlet lämpötila	240 °C	
Detektor (FID)	Lämpötila	280 °C

## Sokerien UHPLC-ELSD määrittämissä käytetty laitteisto ja parametrit

<b>Laitteisto</b>			
UHPLC-ELSD	Shimadzu UHPLC nestekromatografi, alhaisen lämpötilan haihduttava valonsirontadetektor (ELSD-LT) ja LabSolutions ohjelmistolla (Shimadzu, Japani)		
Kolonne	Acquity premier BEH Amide 1,7 µm (150 mm x 2,1 mm)		
<b>Parametrit</b>			
Injektointitilavuus	1,3 µl		
Virtausnopeus	0,2 ml/min		
Kolonnin lämpötila	35 °C		
Liikkuvan faasin liuottimet	(A) ACN/H <sub>2</sub> O (80:20) + 0,2 % trietyyliamiini		
	(B) ACN/H <sub>2</sub> O (30:70) + 0,2 % trietyyliamiini		
Gradientteliuutio	Aika (min)	A (%)	B (%)
	0	90	10
	15	90	10
	16	70	30
	25	70	30
	25,5	90	10
	30	90	10
Analyysin kesto	30 min		
Detektor (ELSD)	Lämpötila	40 °C	
	Kaasun paine	350 kPa	
	Gain	4	



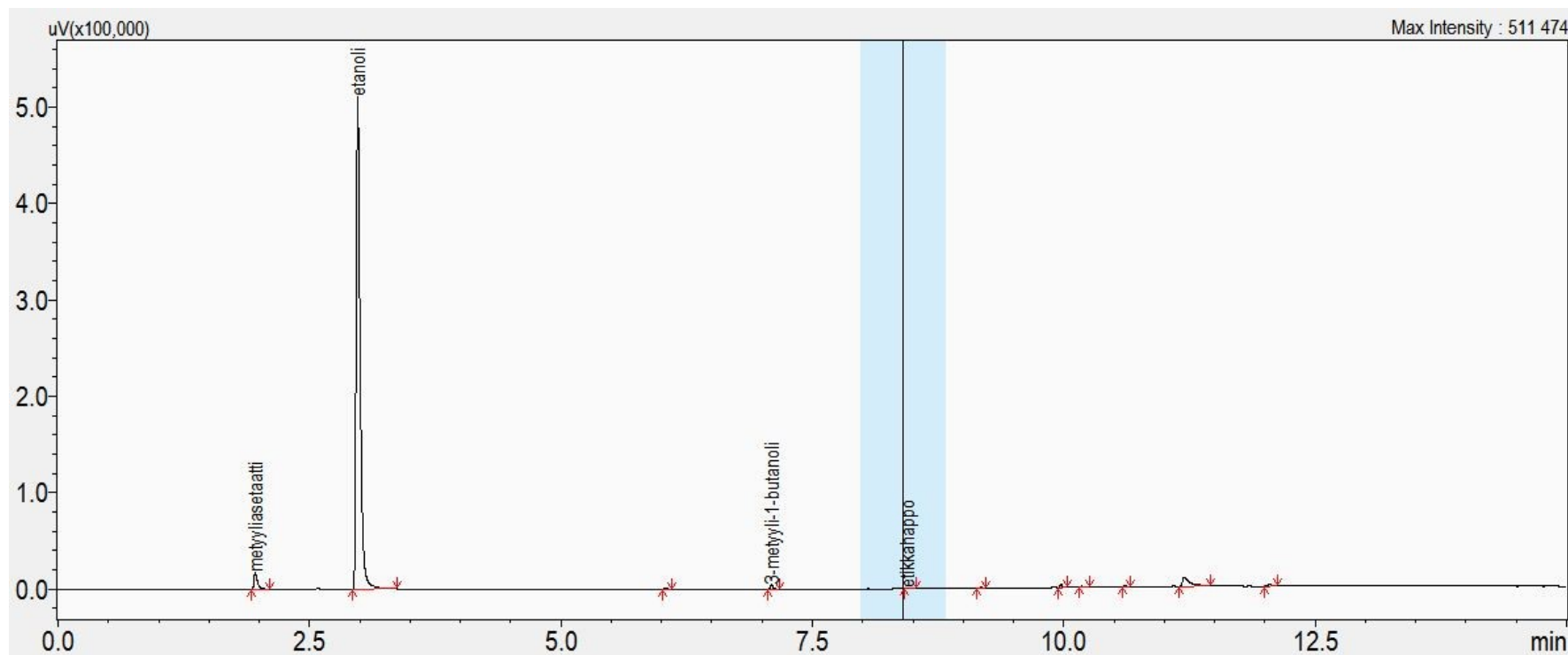
## Perusanalyysien tulokset

Koe	Aika (min)	Lämpötila (°C)	Jauhatusaste	Näyte	OG (1:6,5)	arvio OG (1:3,5)	FG (1:6,5)	joditesti vierteestä	vierteen pH	käymisen jälkeinen pH
Mäskäys kolmessa eri lämpötilassa kolmella eri jauhatusasteella	80	65	Karkea	T1R1	1,018	1,033	1,004	neg	6,30	3,93
		70		T2R1	1,020	1,037	1,000	neg	6,32	3,70
		80		T3R1	1,022	1,041	1,000	neg	6,35	3,79
	80	65	Puolikarkea	T1R2	1,024	1,045	1,000	neg	6,25	3,67
		70		T2R2	1,026	1,048	1,000	neg	6,22	3,52
		80		T3R2	1,028	1,052	1,000	neg	6,26	3,52
	80	65	Hieno	T1R3	1,030	1,056	1,000	neg	6,24	3,54
		70		T2R3	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
		80		T3R3	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Mäskäyksen keston vaikutus	60	80	Puolikarkea	T3R2.K1	1,030	1,056	1,002	neg	6,40	3,55
	120	80		T3R2.K2	1,032	1,060	1,000	neg	6,34	3,54
Portaittainen mäskäys	-	30	Puolikarkea	PR2	1,030	1,056	1,000	pos	6,24	3,73
	60	65								
	60	80								

## Alkoholipitoisuusanalyysien tulokset

Koe	Aika (min)	Lämpötila (°C)	Jauhatusaste	Näyte	alk-% (1:6,5)	arvio alk-% (1:3,5)	alk-% (1:3,5) 95 % virhemarginaali	alk-% (1:3,5) 95 % luottamusväli
Mäskäys kolmessa eri lämpötilassa kolmella eri jauhatusasteella	80	65	Karkea	T1R1	1,64	3,05	0,03	3,02-3,08
		70		T2R1	2,16	4,02	0,05	3,97-4,07
		80		T3R1	2,34	4,35	0,07	4,28-4,42
	80	65	Puolikarkea	T1R2	2,78	5,17	0,04	5,13-5,21
		70		T2R2	2,95	5,48	0,03	5,45-5,51
		80		T3R2	3,40	6,32	0,02	6,30-6,34
	80	65	Hieno	T1R3	3,65	6,79	0,09	6,70-6,88
		70		T2R3	n/a	n/a	n/a	n/a
		80		T3R3	n/a	n/a	n/a	n/a
Mäskäyksen keston vaikutus	60	80	Puolikarkea	T3R2.K1	3,47	6,45	0,12	6,33-6,57
	120	80		T3R2.K2	3,85	7,17	0,06	7,11-7,23
Portaittainen mäskäys	-	30	Puolikarkea	PR2	3,07	5,70	0,04	5,66-5,74
	60	65						
	60	80						

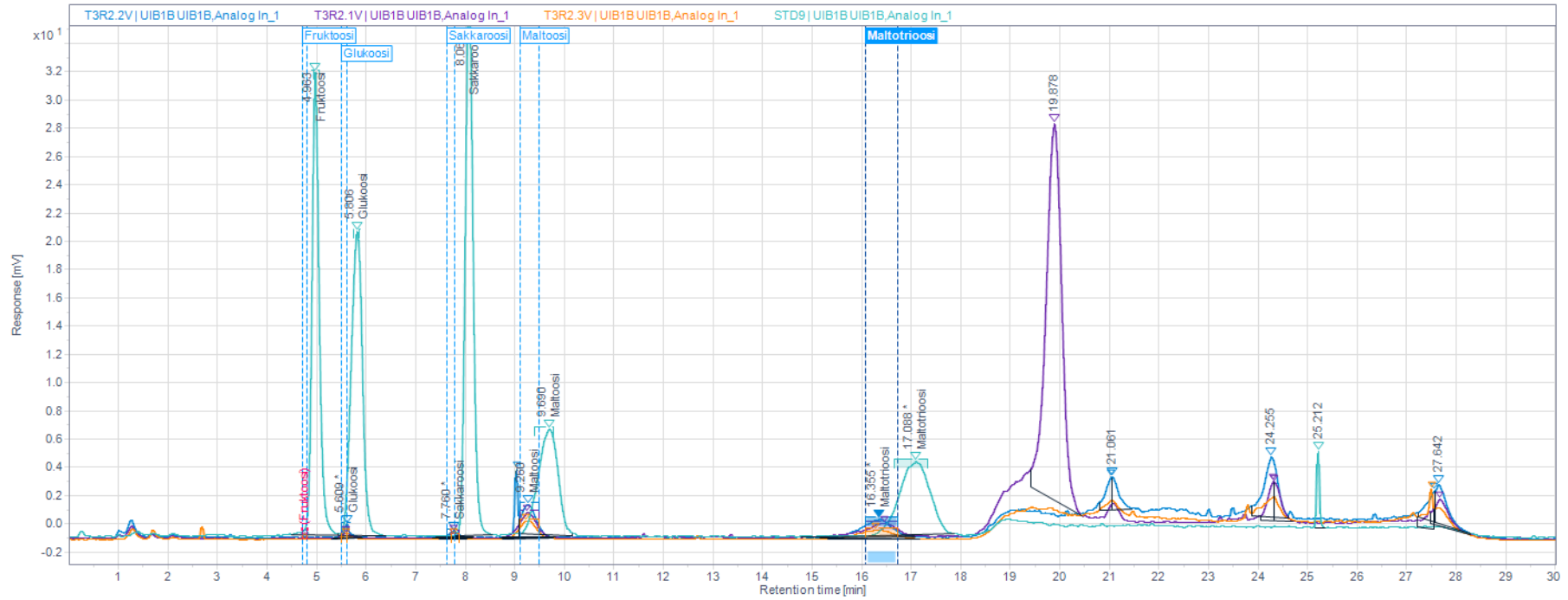
## Sikunaöljyn ja muiden kongeneerien määrittämisen tulokset



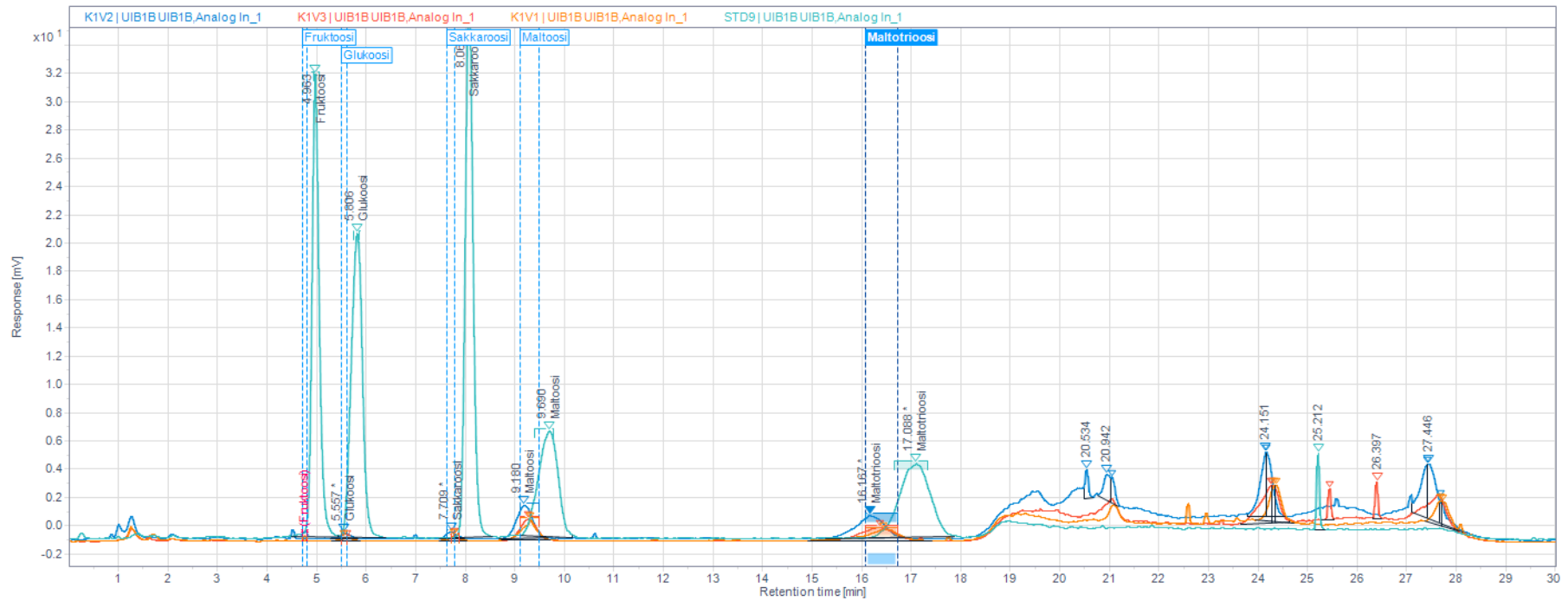
**Vierteen sokerien pitoisuudet tutkituissa näytteissä**

<b>Näyte</b>	<b>Glukoosi (mg/ml)</b>	<b>Sakkaroosi (mg/ml)</b>	<b>Maltoosi (mg/ml)</b>	<b>Maltotriooosi (mg/ml)</b>
T3R2	0,48	0,32	1,74	1,66
T3R2.K1	0,42	0,33	1,71	1,86
T3R2.K2	0,42	0,30	1,44	1,67
PR2	0,43	0,29	1,55	1,36

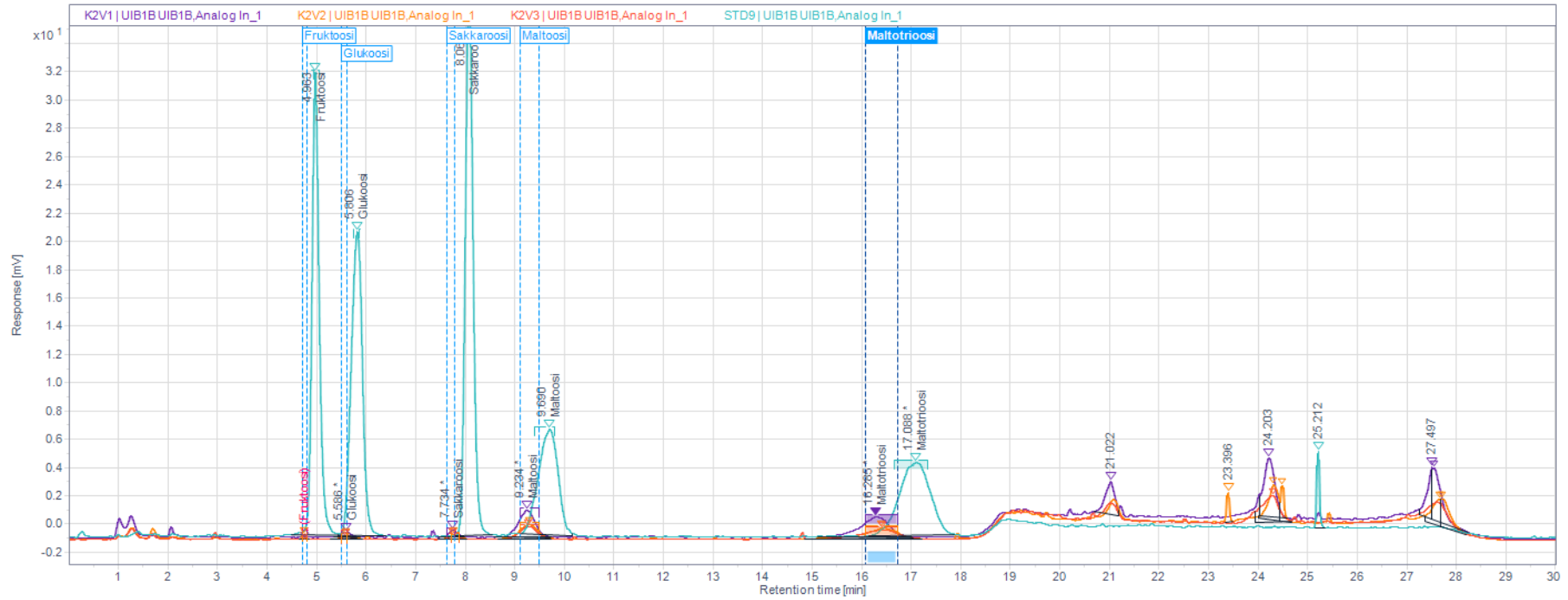
# Sokerien määrittämisen tulokset: näyte T3R2, vierre



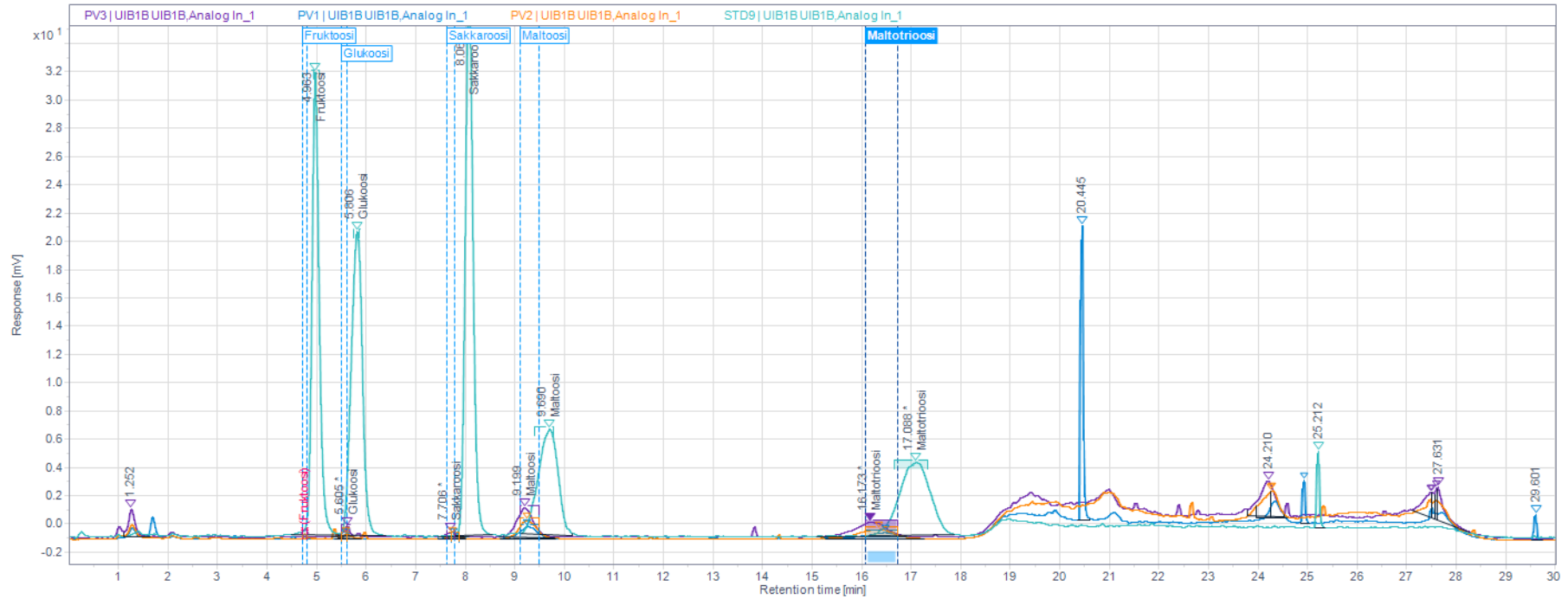
# Sokerien määrittysten tulokset: näyte T3R2.K1, vierre



# Sokerien määrittysten tulokset: näyte T3R2.K2, vierre



# Sokerien määrittysten tulokset: näyte PR2, vierre





## Seula-analyysin tulokset

Jauhatusaste	Seula 2,0 mm (%)	Seula 1,0 mm (%)	Seula 0,600 mm (%)	Seula 0,250 mm (%)	Pohja (%)
Karkea	77,2	15,8	2,0	3,0	2,0
Puolikarkea	52,5	28,7	5,0	7,9	5,9
Hieno	27,7	38,6	8,9	13,9	10,9