



SEINÄJOEN AMMATTIKORKEAKOULU
SEINÄJOKI UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Mira Björkbacka

Karjunhajun tutkiminen massaspektrometrillä

Opinnäytetyö

Syksy 2024

Insinööri (AMK), Bio- ja elintarviketekniikka



SEINÄJOEN AMMATTIKORKEAKOULU

Opinnäytetyön tiivistelmä

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

Tekijä: Mira Björkbacka

Työn nimi alaotsikoineen: Karjunlihan hajun tutkiminen massaspektrometrillä

Ohjaaja: Ilmari Äijö

Vuosi: 2024

Sivumäärä: 49

Liitteiden lukumäärä: 0

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää, voiko karjunlihan hajua tunnistaa massaspektrometrilaitteella. Opinnäytetyön toimeksiantaja oli Atria Suomi Oy. Työ on hyvin ajankohtainen, koska uusi eläinten hyvinvointilaki (693/2023) lisää porsaiden hyvinvointia edesauttavia tekijöitä, mutta luo myös muutoshasteita alkutuotannoille ja teurastamoille. Merkittävin muutos koskee kirurgisesta kastraatiosta luopumista vuoteen 2035 mennessä.

Ilman kastraatiota karjujen lihassa saattaa esiintyä epämiellyttävää hajua, joka muistuttaa ulosteen tai virtsan hajua. Hajun aiheuttavat rasvaliukoiset yhdisteet skatoli ja androstenoni, joita esiintyy karjujen suolistossa ja kiveksissä. Kastraatio poistaa hajuongelman, mutta se on tutkimusten mukaan kivulias toimenpide karjuporsaille.

Opinnäytetyön teoriaosassa käydään läpi, mistä karjunhaju johtuu ja mitä vaikutuksia hajulla on teurastamoiden toimintaan. Kaikki kastroimattomat karjut eivät eritä hajua ja hajua ei voida ennustaa etukäteen, vaan se ilmenee vasta lihaa kuumennettaessa. Teoriassa esitellään karjunhajun tutkimiseen käytettyjä menetelmiä. Menetelmistä tarkempaan tarkasteluun otettiin massaspektrometrin toiminta ja käyttö

Tässä työssä suoritettiin tutkimuksia käytännössä massaspektrometrillä, minkä avulla pyrittiin selvittämään: voiko karjunhajua tunnistaa Seinäjoen ammattikorkeakoulun (SeAMK) massaspektrometrillä. Tutkimuksia varten saatiin rasva- ja öljynäytteitä Atrialta. Työssä käytetyt menetelmät sovellettiin SeAMK:n massaspektrometrille sopivaksi.

Saatujen mittaustulosten perusteella voitiin todeta, että massaspektrometrillä voi löytää skatolia ja androstenonia karjunlihanäytteistä. SeAMK:n massaspektrometrillä löydettiin viitteitä hajuyhdisteistä moolimassojen perusteella. Mittauksia suoritettiin eri näytteistä useita, mutta mittausten toistuvuudesta huolimatta massaspektrometrin tuloksia ei kuitenkaan voi täysin vahvistaa luotettavasti. Laitteen heikentyneen toimintakunnon vuoksi tutkimuksen loppuosassa ilmeni rajoitteita mittauskertojen lisäämiselle ja mittaustarkkuuden vahvistamiselle. Opinnäytetyön perusteella voidaan suositella jatkotutkimuksien tekemistä, tämän tyylisten näytteiden tutkimiseen tarkoitetulla massaspektrometrillä.

¹ Asiasanat: karju, haju, massaspektrometri

SEINÄJOKI UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Thesis abstract

Degree programme: Bachelor of Engineering, Food Processing and Biotechnology

Author/s: Mira Björkbacka

Title of thesis: Investigation of Boar Taint Using a Mass Spectrometer

Supervisor(s): Ilmari Äijö

Year: 2024

Number of pages: 49

Number of appendices: 0

The aim of this thesis was to investigate whether the smell of boar taint can be detected by a mass spectrometer. The thesis was commissioned by Atria Finland Oy. This research is highly relevant as the new Animal Welfare Act (693/2023) changes the welfare factors of pigs, but also makes it difficult for slaughterhouses and producers to operate. The most significant change occurs in surgical castration for pigs until 2035.

Without castration the smell of the boar taint may be unpleasant. The smell is reminiscent of feces or urine. The odor is caused by fat-soluble compounds: skatole and androstenone. Skatole is found in the intestines of boars, and androstenone is in the boar's testicles. Castration is a solution to the problem, but it is a painful procedure for pigs.

The theory of this thesis aims to examine what causes the smell of boar taint and what effects it has on slaughterhouses. It also presents the methods used to investigate the odour of boars using a mass spectrometer, focusing specifically on the operation and use of the mass spectrometer.

In this thesis, practical experiments were conducted using a mass spectrometer to determine whether boar taint can be detected with SeAMK's mass spectrometer. Fat and oil samples were provided by Atria for the experiments. The methods used were adapted to suit SeAMK's mass spectrometer. The results show that the mass spectrometer can detect skatole and androstenone in boar taint samples. SeAMK's device also detected indications of these compounds. Although several measurements have been conducted, the results cannot be completely verified as accurate. SeAMK's device would have required maintenance, and its operational capacity was no longer sufficient for reliable measurements. However, based on this thesis, it can be recommended that further studies should be carried out. In studies examinations of samples should be carried out with a mass spectrometer designed for this purpose.

¹ Keywords: boars, odour, mass spectrometry

SISÄLTÖ

Opinnäytetyön tiivistelmä	2
Thesis abstract	3
SISÄLTÖ	4
Kuva-, kuvio- ja taulukkuuettelo	6
1 JOHDANTO JA TYÖN TAVOITTEET	7
2 TOIMEKSIANTAJAN ESITTELY	8
3 SIAN KASVATUS, KASTRAATIO JA KARJUNHAJU	9
3.1 Sian kasvatuksen yleispiirteet	9
3.2 Kirurginen kastratio, immunokastratio ja täyskarjukasvatus	10
3.3 Kirurgisesta kastratiosta luopumisen vaikutukset lihateollisuuteen	12
3.4 Karjunhaju	14
3.4.1 Androstenoni	14
3.4.2 Skatoli	15
3.5 Karjunhajun muodostuminen erierotuisilla ja eripainoisilla karjuilla	16
3.6 Karjunhajun tunnistusmenetelmät teurastamossa	18
4 MASSASPEKTROMETRIA JA MASSASPEKTROMETRI	21
4.1 Massaspektrometria	21
4.2 Ionisaatio	22
4.3 Kvardupolianaalysaattori	23
4.4 Massaspekttri	23
4.5 Massaspektrometrin kalibrointi ja suorituskky	24
4.6 Tiedonkäsittely	24
4.7 Molekyylikaava	25
4.8 Seinäjoen ammattikorkeakoulun massaspektrometri	26
5 TUTKIMUKSEN NÄYTTEET JA NÄYTTEIDEN VALMISTELU	28
6 TUTKIMUSMENETELMÄT	30
7 TULOKSET	38
8 YHTEENVETO JA POHDINTA	41

8.1 Tutkimuksen yhteenveto	41
8.2 Tulosten hyödynnettävyys	42
8.3 Pohdinta	43
LÄHTEET	46

Kuva-, kuvio- ja taulukkoluetelo

Kuva 1. Massaspekttri öljynäytteestä 436.....	26
Kuva 2. SeAMK Thermo Prolab- massaspektrometri	27
Kuva 3. Skatoliöljynäytteen massaspekttri.....	33
Kuva 4. Androstenoniöljynäytteen massaspekttri	34
Kuvio 1. Androstenonin rakennekaava	15
Kuvio 2. Skatolin rakennekaava.....	16
Taulukko 1. Sikojen teurastusmäärät vuonna 2023	9
Taulukko 2. Tiedot öljynäytteistä.....	28
Taulukko 3. Rasvanäytteet	29
Taulukko 4. Öljynäytteissä käytetyt määrät.....	29
Taulukko 5. Öljynäytteiden ja lisätyn veden määrät.....	29
Taulukko 6. Öljynäytemittaustulosten yhteenveto.....	38
Taulukko 7. Rasvanäytetulosten yhteenveto	39

1 JOHDANTO JA TYÖN TAVOITTEET

Karjunhaju on lihateollisuudelle Burgeonin ym. (2021) mukaan suuri huolenaihe. Kastroidomassassa karjussa on voimakas ja epämiellyttävä haju, joka ilmenee lihaa lämmitettäessä. Haju johtuu Burgeonin ym. (2021) mukaan karjussa olevasta androstenoni- ja skatolijyhdisteistä. Karjunhajua voidaan teurastamoissa todentaa tällä hetkellä pääasiassa aistinvaraisella arvioinnilla. Heinosen (2021) mukaan lihateollisuus tarvitsee luotettavan ja nopean koneellisen keinon tunnistaa sekä analysoida karjunhajua aiheuttavien yhdisteiden määrää ruhossa.

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on selvittää, voiko karjunhajua tunnistaa sianlihanäytteistä Seinäjoen ammattikorkeakoulun (SeAMK) massaspektrometrillä. Opinnäytetyön toimeksiantajana on Atria Suomi Oy. Salassapidon piirissä ovat kaikki Atrian liiketoimintaa koskevat tiedot. Tutkimustyö toteutetaan yhteistyössä SeAMK:n ja Atrian kanssa. Tämä opinnäytetyö on ajankohtainen, koska lihateollisuus ja sikojen kasvattajat ovat uuden haasteen edessä eläinten hyvinvointilain muutoksen vuoksi. Maa- ja metsätalousministeriön (MMM, 2023, s.10) työryhmän mukaan uudistettu eläinten hyvinvointilaki (693/2023) 126 § muuttaa porsaiden kastraatiota koskevia säädöksiä. Säädökset määräävät käytettäväksi kastraatiossa kivunlievitystä 1.1.2024 alkaen, paikallispuudutusta 1.1.2027 alkaen ja lopulta 1.1.2035 kirurgisen kastraation lopettamista kokonaan. Nämä muutokset luovat haasteita sikojen alkutuotantoon, teurastukseen sekä tuotteiden jatkojalostukseen lihateollisuudessa.

Opinnäytetyön teoriaosassa käydään läpi sikojen kasvatukseen liittyviä asioita, mistä karjun haju johtuu sekä miten haju vaikuttaa teurastamon toimintaan. Teoriaosassa käsitellään massaspektrometrin toimintaperiaatetta sekä esitellään SeAMK:n massaspektrometri-laite. Tutkimusosiossa pyritään löytämään massaspektrometrillä sianlihanäytteistä viitteitä niiden epämiellyttävästä hajusta näytteiden erilaisilla käsittelymenetelmillä. Tutkimuksessa käytetään apuna myös skatolia ja androstenonia sisältäviä öljynäytteitä. Karjunhajuun vaikuttaa moni tekijä. Vaihtoehtojen moninaisuuden vuoksi opinnäytetyö on rajattu käsittelemään vain karjunhajun pääsyitä eli skatolia ja androstenonia sekä niiden tutkimista massaspektrometrillä. Opinnäytetyössä ei oteta kantaa tarkemmin sikojen teuraslihan laatuun, jalostukseen, ruokintaan tai yleisesti hoitotoimenpiteisiin.

2 TOIMEKSIANTAJAN ESITTELY

Atria Suomi Oy on vuonna 1903 perustettu suomalainen elintarviketeollisuuden yritys (Atria, 2024). Atrialla on laajaa vientitoimintaa kotimarkkinoiden lisäksi. Atria on yksi johtavista ruoka-alan yrityksistä Pohjois-Euroopassa. Toiminta jakautuu kolmeen liiketoiminta alueeseen, joita ovat Atria Suomi, Atria Ruotsi ja Atria Tanska & Viro. Atria Oyj on arvostettu pörssiyhtiö, josta suurimman osan omistaa Itikka osuuskunta yhdessä Lihakunnan ja Pohjanmaan Lihan kanssa. Atria Suomen tunnetumpia tuotteita ovat erilaiset kypsät ja raat lihatuotteet, valmisruokatuotteet, nakit ja makkarat sekä leikkeleet.

Atrian vahvuutena on alkutuotannon vahva ja yhtenäinen tuotantoketju (Atriatuottajat, i.a.-a). Tuotantoketjun tiedoilla saadaan tärkeää tietoa, jota hyödynnetään mm. hanketoiminnassa. Hanketoiminnan avulla alkutuotannon kilpailukykyä voidaan kehittää ja jatkuvuutta turvata. Etenkin sianlihantuotannon kansainvälisen kilpailukyvyn paineessa, hanketoiminnalla voidaan panostaa mm. sikatilojen kilpailukykyä sekä kannattavuutta.

Atrian sikatuottajille eläinten hyvinvointi ja terveys ovat tärkeitä (Atriatuottajat, i.a.-a). Sikatuottajat ovat sitoutuneet kasvattamaan eläimiä sekä eettisesti, että kestävän kehityksen periaatteiden mukaisesti. Tuottajat ovat työssään sitoutuneet noudattamaan hyvien tuotantotapojen ohjeita. Eettisellä kasvatuksella tarkoitetaan, että tuottajat valvovat jatkuvasti eläinten terveydentilaa ja hyvinvointia. Laadukasta lihaa ei saada kuin pitkäjänteisen työn tuloksena. Yhteiset ohjeet ja pelisäännöt Atrian ja suomalaisten tilallisten kesken takaavat kuluttajien lautaselle turvallista lihaa. Hyvä huolenpito eläimistä ja ensiluokkaisen puhdas liha ovat tärkeitä asioita.

3 SIAN KASVATUS, KASTRAATIO JA KARJUNHAJU

3.1 Sian kasvatuksen yleispiirteet

Suomessa kasvatettavat sikarodut ovat yleensä kahden tai kolmen rodun risteytyksiä (Sikatieto, 2020). Yleensä emakkoroduiksi valikoituu maatiaissika, yorkshiresika tai näiden risteytyksiä. N. Immosen (henkilökohtainen tiedonanto, 13. 5. 2024) mukaan AtriaSika-ketjun käyttämän kolmirotuohjelmassa emäroduksi valikoituu yorkshiren ja maatiaisen risteytys, ns. hybridiristeytys. Atrialla isärotuna käytetään durocia tai tempoa.

Luonnonvarakeskuksen (Luke, i.a.) mukaan Suomessa tuotettiin vuonna 2023 sianlihaa 158 780 607 kg (taulukko 1). Teurasmääriässä kappaleina tämä tarkoittaa 1 727 846 kpl. Tästä määrästä karjuja on ollut 10 012 kpl, mikä puolestaan tarkoittaa kiloissa 965 695 kg. Atrian sianlihan tuotanto ja kulutus luullisena lihana Suomessa vuonna 2023 oli tuotannon osalta 158,5 milj. kg ja kulutus 156,3 milj. kg (Atria vuosikertomus 2023, s. 30).

Taulukko 1. Sikojen teurastusmäärät vuonna 2023 (Luke, i.a.)

2023	Siat yhteensä	Emakot	Karjut	Lihasiat
Teurastukset (kpl)	1 727 846	25 575	10 012	1 692 259
Lihantuotanto (kg)	158 780 607	4 664 224	965 695	153 150 688
Keskiruhopaino (kg/kpl)	91,9	182,4	96,5	90,5

Ahon ym. (2022, s. 204) mukaan sikaa kutsutaan syntyessään porsaaksi. Porsaan kasvaessa sukukypsäksi sen nimitys muuttuu siaksi (eläintieto, i.a.) Sukupuolisesti lajiteltuna sikanaras on emakko ja sikauros on karju. Virta (2011, s. 2) kertoo, että lähes kaikki karjuporsaat kastroidaan ensimmäisen elinviikon aikana niin Suomessa kuin EU:ssa. Heinosen (2021) mukaan porsaat voidaan kastroida enintään seitsemän päivän ikäisenä avoimella leikkausmenetelmällä pätevän henkilön suorittamana. Vanhemmat karjuporsaat on kastroitava eläinlääkärin toimesta käyttäen asianmukaista anestesiaa ja kivunlievitystä.

Porsaat vieroitetaan emakosta 4–5 viikon iässä, jolloin ne ovat 8–9 kg kokoisia (lihatiedotus, i.a.) Tämän jälkeen ne kasvavat vieroitusosastolla 9 viikon ikäisiksi ja 25–30 kg kokoisiksi. Vieroitusosastolta ne siirtyvät lihasikalaan loppukasvatukseen. Lihasikalassa siat

jaotellaan koon sekä sukupuolen mukaisesti ryhmäkarsinoihin. Luken (i.a.) mukaan keskiruhopaino teurastuksessa on lihasioilla 90,5 kg ja karjuilla puolestaan 96,5 kg (taulukko 1).

3.2 Kirurginen kastraatio, immunokastraatio ja täyskarjukasvatus

Virta (2011, s. 2) kertoo, että karjuporsaiden kastraatioon on kaksi eri syytä: niiden aggressiivinen käytös toisiaan kohtaan ja karjun epämiellyttävä ei-toivottu haju. Tällä hetkellä vaihtoehtona karjujen kastraatiolle on perinteinen kirurginen kastraatio tai immunokastraatio.

Kastraatio on todettu olevan porsaille kivulias toimenpide. Maa- ja metsätalousministeriön (MMM, 2023, s.10) Uuden eläinten hyvinvointilain (693/2023) 126 § perusteella porsasta ei saa kastroida kirurgisesti 1.1.2035 jälkeen. 1.1.2027 lähtien kastraatiossa on käytettävä puudutusta sekä kivunlievitystä. Vuodesta 2024 alkaen kastraatiossa on annettava porsaille kipulääkitys. Ennen uudistettua eläinten hyvinvointilakia (693/2023) porsaille ei tarvinnut lain mukaan antaa kipulääkettä toimenpiteen aikana tai sen jälkeen (MMM, 2023, s. 12). Atrian sopimustuottajien kanssa on päätetty yhdessä, että 17.10.2011 jälkeen syntyneille porsaille annetaan kipulääkettä kirurgisen kastroidinnin yhteydessä (Yleisradio, 2012).

Uusi eläinten hyvinvointilaki (693/2023) tuo porsaiden hyvinvointia edesauttavia tekijöitä, mutta luo myös haasteita tuotantoon (MMM, 2023, s. 12). Kipulääkityksen ja puudutuksen injektointi porsaille on opetettava tuottajille ja työntekijöille. Suunnitteilla olevassa puudutuskoulutuksessa tulisi olla teoria ja näyttökoe. Näyttökokeessa tulee olla eläinlääkäri läsnä ja todistuksen myöntää koulutuksen järjestänyt oppilaitos. Puudutusaineita ei myöskään saa luovuttaa tilalliselle ennen hyväksytysti suoritettua koulutusta. Heinosen (2021, s.14) mukaan porsaiden kastraatiossa käytetty puudutus on siirtymäajan aikainen kivunlievityksen keino, mutta ei paras mahdollinen vaihtoehto sen väliaikaisuuden vuoksi. Suomi on ensimmäinen maa, joka on kieltänyt kirurgisen kastraation lailla (MMM 2023, s. 10–11). Euroopan unionissa on keskusteltu porsaiden kastraation kieltämisestä ja Brysselissä tehtiin syksyllä 2010 vapaaehtoinen julistus kirurgisesta kastraatiosta luopumisen puolesta 2018 vuoteen mennessä.

Heinonen (2021, s. 14) esittää, että immunokastrointi voisi olla vaihtoehtona karjunhajun estämiseen. European Medicines Agency (EMA), joka toimii Euroopan lääkevirastona, kertoo immunokastraatiossa käytettävästä Improvac- rokotteesta, joka on käytössä Euroopassa (EMA, 2022). Heinosen, (2021, s. 14) mukaan rokote on sallittu ja hyväksytty käyttöön myös Suomessa. Improvac on kehitetty vähentämään karjun epämiellyttävää hajua (EMA, 2022). Vasta-aineita tuottava Improvac on hormoniton rokote, joka neutraloi sian aivoista vapautuvan GnRH:n (Gonadotropin-releasing hormone), gonadotropiineja vapauttava hormoni (Heinonen, 2021, s. 4). Rokotuksen tarkoituksena on vaikuttaa karjun kiveksien kehitykseen siten, että ne eivät tuota androstenonia, joka aiheuttaa karjunhajua ruuhon. Rokote vaikuttaa myös skatolipitoisuuksien vähentämiseen (EMA, 2022). Heinosen (2021, s. 4) mukaan rokotus annetaan kaksi kertaa, joista jälkimmäinen annetaan 4–6 viikkoa ennen teurastusta. Rokotuksen on tutkittu vähentävän myös seksuaalista käyttäytymistä ja aggressiivisuutta (EMA, 2022). Rokote annetaan karjuporsaille kaulalle korvan taakse injektiona kaksi kertaa. Rokotteen vaikutukset alkavat näkymään jo 1 viikon kuluessa antamisesta, tutkimusten mukaan androstenonin ja skatolin pitoisuudet laskevat 1–2 viikon kuluessa.

Immunokastraatiossa on kuitenkin huomioitava, ettei karjunhajun riski rokotuksesta huolimatta ole pois suljettu (MMM, 2023. s. 38). Rokotus voi epäonnistua tai sian immunologiseen vasteeseen voi liittyä tehottomuutta. Karjumainen käyttäytyminen voi edelleen jatkua rokotuksesta huolimatta. Rokotuksen pääasiallisena tarkoituksena kuitenkin on poistaa karjunhajua, ei muuttaa karjun käyttäytymistä.

Karjuja voidaan kasvattaa leikkaamattomina täyskarjuina, mutta se vaatii osaamista. Heinonen (2021, s. 4) kertoo, että karjut ovat levottomampia ja aggressiivisempia kuin leikot. Tutkimusten mukaan ruokinta ja olosuhteet on oltava kontrolloituja. Karjut ja imisät on kasvatettava eri tiloissa, koska täyskarjujen käytös on Kupsalan (2023) mukaan aggressiivista ja niiden seksuaalinen-, leikki- ja tutkimuskäyttäytyminen ovat riskeinä käyttäytymisongelmille, vaurioille ja stressille. Erilaiset lisätilat, virikkeet ja oikeanlainen ruokinta vaikuttaa ei-toivottuun käyttäytymiseen. Nämä tuovat Heinosen (2021, s.14) mukaan kuitenkin lisäkuluja. Kupsala (2023) kertoo, että täyskarjukasvatuksessa täytyy opetella hallitsemaan uudenlaisia hoito-, ruokinta ja kasvatusmenetelmiä.

3.3 Kirurgisesta kastraatiosta luopumisen vaikutukset lihateollisuuteen

Kirurgisen kastraation kieltämisen vaikutus on suuri elinkeinolle (Nieminen, 2023). Muutokset tulevat vaatimaan teurastamoilta isoja investointeja mm. ruhojen erillään pitoon ja karjujen hajun tunnistamiseen teuraslinjalla. Työ- ja elinkeinoministeriön työryhmän mukaan kirurgisen kastraation kieltäminen aiheuttaa 350 miljoonan euron lisäkustannukset teollisuudelle seuraavan kymmenen vuoden kuluessa (MMM, 2023, s. 20). Teollisuuden laskelmien mukaan kustannukset voivat olla keskimäärin 12,7 euroa karjua kohden ja muuttuvien kustannusten osuus on noin 8 euroa per karju. Laskelmat perustuvat tehdyn selvityksen mukaan 700 000 teurastettavalle karjulle (MMM, 2023, s. 12). Selvityksestä myös ilmenee, ettei suomalainen sianlihatuotanto selviä ongelmitta kirurgisen kastraation kieltämisen lisäkustannuksista. Seurauksena tähän voi olla ulkomaisen tuontilihan lisääntyminen Suomen markkinoilla. Vastaavasti kotimaisen lihan tuotannon pelätään vaikeutuvan (MMM, 2023, s. 20).

Teollisuuden sekä maa- ja metsätalousministeriön näkemykset negatiivisista taloudellisista vaikutuksista ovat eriävät (MMM, 2023, s. 20). Teollisuuden arvion mukaan muutokset tulevat vaikuttamaan täyskarjunlihatuotannon teolliseen prosessiin kokonaisvaltaisesti. Kustannuksia kertyy logistisista syistä, kuten porsaiden sukupuolien lajittelusta, sikojen erillään pidosta ja eriaikaisista teurashauista. Erilaisen kasvatustavan sekä lihan koostumusten vuoksi täyskarjut, immunokastroidut karjut sekä imisät on pidettävä koko ajan erillään kasvatuksesta, teurastuksesta ja tuotteistuksesta myyntiin asti. Tämän myötä koko sianlihan teollinen prosessi täytyy suunnitella uudelleen (MMM, 2023, s. 21). Suurimmat investointikustannukset teollisessa prosessissa ovat automatisoinnin lisääminen. Tämä tarkoittaa käytännössä automatisoinnin lisäämistä ruhovarastoon sekä massaspektrometrin tai muun vastaavan laitteiston hankkimista karjunlihan hajun erottelua varten. Investointikustannusten lisäksi kustannuksia syntyy muuttuvista kustannuksista kuten tunnistamisesta, saantomenetyksistä, teuraspainon alentamisesta sekä myös laadullisista tappioista (Nieminen, 2023).

Heinosen (2021, s. 13) selvityksen mukaan taloudellisia kustannuksia on tulossa lihataloille ja tuotantoketjulle kirurgisesta kastraatiosta luopumisen vuoksi. Tarkkoja kustannusarvioita on vaikea esittää, koska ei tiedetä mitä muutostarpeita esimerkiksi tiloilla tarvitaan. Selvityksessä kerrotaan lihatalojen kokeneen immunologisen kastraation tarkoittavan

työmäärän merkittävää lisääntymistä sekä lääkityskustannusten nousua lihasikaloissa. Täyskarjunkasvatus ja immunokastratio tuovat lisäkustannuksia teurastamoille haisevien ruhojen aiheuttaman hävikin vuoksi. Vaikutusta kuluihin tekee myös ehdotus teurastaa urossiat nuorempana ja pienempänä. Teuraspainon olisi hyvä olla 75–80 kg. Taulukosta 1 nähdään, että uroskarjun keskiruhopaino on ollut 96,5 kg vuonna 2023 (Luke, i.a.) Haisevan karjun tunnistaminen ja erottelu hajuttomista karjuista teurastuslinjalla on nykyisellään lähes mahdotonta. Heinosen (2021, s.13) mukaan on siksi löydettävä kustannustehokas ja nopea tekniikka haisevien karjujen erotteluun. Lihatalojen tekemässä selvityksessä teurastuslinja, leikkaamo ja ruhovarasto tulee tarvitsemaan merkittäviä investointeja ja henkilöstöresurssointia haisevien karjujen tunnistamiseksi.

N. Immonen (henkilökohtainen tiedonanto, 14.2.2024) kertoo, että tällä hetkellä Suomessa lihateollisuus ei pysty ottamaan vastaan täyskarjuja tai immunokastroituja karjuja mahdollisen karjunhajun riskin vuoksi. Tällä hetkellä ei ole käytössä riittäviä ja luotettavia menetelmiä, jolla voitaisiin tunnistaa karjunruhoista haisevat karjut erilleen. Font i Furnols ym. (2020) muistuttavat, että on myös huomioitava mitä taloudellisia lisäseurauksia tulisi koko lihaketjulle, jos markkinoille pääsisi karjuja, joissa on epämiellyttävää hajua.

Heinosen (2021, s. 2) mukaan täyskarjuista maksettava hinta tuottajalle on myös huomionpi mahdollisen karjunhajun vuoksi. N. Immosen (henkilökohtainen tiedonanto, 23.4.2024) mukaan ulkomailla karjusta maksetaan 5–10 € vähemmän. Ulkomailla haisevaa karjunlihaa voidaan käyttää teollisuudessa joihinkin prosessoituihin lihatuotteisiin, mutta tällaisen lihan arvo on selvästi muuta sianlihaa alempi. Tämän lisäksi karjunlihan rasvahappokoostumus muuttuu tyydyttymättömämmäksi ja sen käyttötarkoitus muuttuu. Niemisen (2023) mukaan karjun lihassa on erilainen koostumus ja siksi se tulee vaatimaan myös uudenlaista tuotekehittelyä.

Täyskarjukasvatuksessa ja immunokastroitujen karjujen kasvatuksessa on ratkaistava kaksi asiaa eli karjunhajun tunnistus sekä karjunhajuisten ruhojen käyttötarkoitus (MMM 2023, s. 37). Teollisuuden antaman tiedon mukaan karjunhajun tunnistukseen ja karjunhajuisten ruhojen käyttöön ei tällä hetkellä ole vielä kehitetty valmiita teknisiä menetelmiä.

3.4 Karjunhaju

Karjujen sukukypsyys saavutetaan 7–8 kk iässä. Kasvaessaan sukukypsiksi osaan karjuista muodostuu vastenmielistä hajua (Atriatuottajat, i.a.-b). Se johtuu Burgeonin ym. (2021) mukaan rasvaliukoisista yhdisteistä, joita ovat androstenoni (5- α -androst-16-en-3-oni) ja skatoli (3-metyyli-indoli).

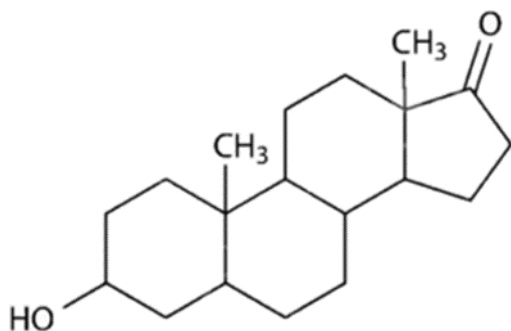
Euroopan parlamentin asetuksen (EY) N:o 854/2004 mukaan 29.4.2004 on annettu säädös neuvoston asetuksessa 4, että liha, jolla on selvä ”seksuaalinen haju”, on ihmisravinnoksi kelpaamatonta.

Raja-arvoina androstenonipitoisuudelle (EY) N:o 854/2004 pidetään 0,5–1,0 ppm ja 0,20 ppm–0,25 ppm skatolille. Jo vuonna (1997) Xue on määritellyt androstenonin 1,0 ppm ja skatolin 0,25 ppm pitoisuudet. Määritelmän ylittävä ruho katsotaan hajusta pilaantuneeksi (Lundström ym. 2009, s. 6). Nieminen (2019) kertoo, että karjunhajua voi esiintyä 10 prosentissa karjuista. Puolestaan FINCAS- tutkimuksessa selvitettiin, että karjunhajua esiintyi 32 %:lla suomalaisista teuraskokoisista karjuista (Peltoniemi, 2015).

Kokonaisista urosruhoista 5,5–56 % sisältää korkeaa yli 1,0 ppm androstenonipitoisuutta (Font i Furnols ym. 2020). Korkeaa yli 0,20 ppm skatolipitoisuutta puolestaan on 6,6–34,0 % urosruhoista. Näistä havaitaan aistinvaraisessa arvioinnissa vain 0,0–17 %.

3.4.1 Androstenoni

Androstenonin kemiallinen kaava on $C_{19}H_{28}O$ (National Institutes of health (NIH), i.a.-a). Tämä kuvaa sen molekyyliarakennetta, joka muodostuu 19 hiiliatomista, 28 vetyatomista ja 1 happiatomista. Androstenonin moolimassa on 272,4250 g/mol. Kuviossa 1 on androstenonin rakennekaava.

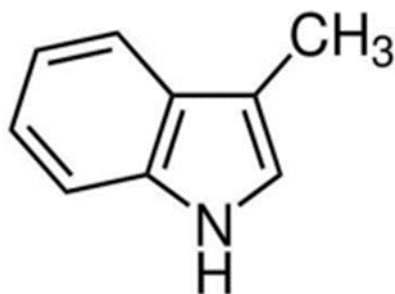


Kuvio 1. Androstenonin rakennekaava (NIH, i.a.-a)

Voutilan (2013, s. 6) mukaan sian hypotalamuksessa vapautuu gonadotropiinia vapauttavaa hormonia (GnRH), mikä aktivoi aivolisäkettä tuottamaan luteinisoivaa hormonia (LH) ja follikkelia stimuloivaa hormonia (FSH). LH vaikuttaa urosten kivesten Leydigin soluihin, säätelemällä niiden tuottamien androgeenien, kuten testosteronin ja androstenonin määrää. Samalla FSH edistää sukusolujen muodostumista. Androstenoni muodostuu karjun kiveksissä (Heinonen, 2021, s. 2). Kiveksistä se kulkeutuu rasvakudokseen ja sylkeen. Androstenoni on tärkeä feromoni, jota tarvitaan lisääntymistoiminnoissa. Feromonipitoisuus vaihtelee paljon eri karjuilla. Androstenonin haju muistuttaa virtsanhajua. Lundström ym. (2009, s. 5) mukaan androstenoni on pooliton yhdiste eli se on rasvaliukoinen. Androstenonin vesiliukoisuus on alhainen 0,00023g/l, 25 asteessa. Androstenoni säilyy kauemmin karjun rasvassa, jolloin se tuo lihaan epämiellyttävän maun. Lundström ym. (2009, s. 5) toteavat, että androstenonilla on tämän vuoksi vähäisempi, mutta pysyvämpi vaikutus hajuun kuin skatolilla. Jo vuonna 1975 Clausin tutkimuksessa on havaittu, ettei androstenonia voida havaita rasvattomasta lihaksesta.

3.4.2 Skatoli

Skatolin kemiallinen kaava on C_9H_9N (NIH, i.a.-b). Tämä kuvaa sen molekyyli­rakennetta, joka muodostuu 9 hiiliatomista, 9 vetyatomista ja 1 typpi­atomista. Skatolin moolimassa on 131,1745 g/mol. Kuviossa 2. on skatolin rakennekaava.



Kuvio 2. Skatolin rakennekaava (NIH, i.a.-b)

Heinosen (2021, s. 2) mukaan skatoli on aminohappo tryptofaanin metaboliitti ja siinä on ulosteenhaju. Skatoli muodostuu sikojen suolistossa mikrobien avulla ja imeytyy sieltä verenkiertoon. Sian maksa pyrkii hajottamaan veressä olevaa skatolia siten, että jäljelle jäävä skatoli varastoituu rasvakudokseen. Skatoli on rasva- ja vesiliukoinen yhdiste. Skatolin vesiliukoisuus on 0,45 g/l, +20 °C asteessa (Lundström ym. 2009, s.5). Karjunhajua vapautuu vähemmän kylmänä nautittaviin lihaan ja lihatuotteisiin. Skatolia esiintyy myös leikoilla ja imisöillä rasvakudoksissa. Skatolia on kuitenkin enemmän karjuilla, koska niiden hormonitoiminta vaikuttaa maksan skatolia hajottavaan toimintaan. Voutilan (2013, s. 6) mukaan skatolin hajun muodostumiseen vaikuttaa myös huono karsinahygienia, likaisessa karsinassa skatolia voi imeytyä myös ihon kautta silavaan. Useimmat ihmiset haistavat herkemmin androstenonin hajun kuin skatolin (Heinonen, 2021, s. 2).

3.5 Karjunhajun muodostuminen erirotuisilla ja eripainoisilla karjuilla

National center of biotechnology information (NCBI) -tutkimuksessa tehtiin kolmen eri sika-rodun välillä havaintoja siitä, miten teuraspaino vaikuttaa karjunhajun erittymiseen (Aluwé ym. 2011). Tutkimuksessa käytettiin kolmea eri sikarotua: Piétrain, Large white ja Belgian landrace. Eri rotuiset karjut teurastettiin 50 kg:n, 70 kg:n, 90 kg:n ja 110 kg:n kokoisina. Tutkimuksessa vertailtiin sianrotuerojen ja teuraspainon vaikutusta karjun epämiellyttävään hajun esiintymiseen. Karjunhajua määritettiin neljällä eri menetelmällä:

- Teurastamossa kuumalla raudalla painettiin rasvaan jälki ja siitä tehtiin aistinvarainen arviointi haistelemalla
- Kuluttajajaneelien suorittama lihan aistinvarainen arviointi

- Asiantuntijapaneelien suorittama rasvan ja lihan aistinvarainen arviointi
- Selkärasvasta tehdyt indolin, skatolin ja androstenonin laboratorioanalyysit.

Laboratorioanalyysissä havaittiin, että skatolipitoisuudet selkärasvassa olivat merkittävästi korkeammat Large white ja Belgian landracella kuin Piétrain -karjuilla (Aluwé ym. (2011). Androstenonitasot ja kuumarautamenetelmä puolestaan paljastivat merkittävän eroavaisuuden rodun ja teuraspainon välillä. Tutkimuksen mukaan karjujen korkea paino vaikuttaa androstenonin hajun havaitsemiseen. Androstenoni oli huomattavasti korkeampi 90 kg painoisina teurastettujen karjujen rasvassa verrattuna 50 kg:n painoon ja huomattavasti suurempi 110 kg:n painoisena teurastettujen karjujen lihaan verrattuna 50 kg:n painoon. Kuluttajat eivät havainneet eroja rotujen tai teuraspainojen välillä aistinvaraisissa ominaisuuksissa. Nämä tulokset osoittavat mahdollisuuksia minimoida karjujen epämiellyttävää hajua urospuolisilla karjuilla, valitsemalla huolellisesti rodun ja teuraspainon yhdistelmä. Optimaalisen teuraspainon ohella karjunhajun välttäminen teuraspainoa alentamalla on kuitenkin rodusta riippuvaista. Skatolia vapautuu helpommin rasvasta sekä vesi- että kaasufaasiin. Tämän vuoksi tutkimukset ovat osoittaneet, että ihmisnenä havaitsee skatolin ennen androstenonia sen suuremman haihtuvuuden takia. Skatoli, joka on androstenonia vesiliukoisempi ja poolisempi, vaikuttaa skatolin osuuteen rasvapitoisuudessa. Näin ollen androstenonin ja skatolin pitoisuudet riippuvat karjunlihan rasvapitoisuudesta.

Lundströmin ym. tutkimuksessa (2009) käytettiin lihanäytteitä, jotka sisälsivät erilaisia yhdistelmiä skatolia ja androstenonia. Näytteet antoivat hyvin erilaisia tuloksia hajupitoisuuksista. Tutkimuksen mukaan testissä käytettiin kinkkua, jossa oli erilaisia yhdistelmiä skatolia ja androstenonia. Kinkussa ei huomattu eroavaisuuksia siinä, millaisia skatolin ja androstenonin yhdistelmiä käytettiin, mutta haju oli voimakkaampi kuitenkin 68 asteen sisälämmössä kuin 80 asteen sisälämmössä. Toisessa testissä käytettiin ulkofileetä, joka sisälsi korkeita skatoli- ja androstenonipitoisuuksia, tässä näytteessä hajuun ei vaikuttanut kypsennettävän lihan lämpötila lainkaan. Puolestaan ulkofileelihayhdistelmässä, jossa oli korkea androstenoni ja matala skatolipitoisuus voimakkain haju havaittiin 80 asteen sisälämmössä. Ulkofileeseen oli jätetty rasvaa noin 5 mm. Tutkimuksen mukaan on mahdollista, että jäljellä ollut rasva vaikutti lihassa eri tavalla lämpötiloja vertaillessa. Korkeakaan

lämpötila hajun hallitsemiseksi kinkussa ei kuitenkaan ole optimaalinen vaihtoehto, koska sianliha menettää mehukkuutensa ja mureutensa korkeissa lämpötiloissa.

3.6 Karjunhajun tunnistusmenetelmät teurastamossa

Heyrmanin (2020) mukaan polttorautamenetelmä on aistinvarainen menetelmä, jota käytetään karjunhajun havaitsemiseen teurastuslinjalla. Tässä menetelmässä koulutetut henkilöt kuumentavat palan sianlihan rasvaa polttoraudalla. Tämän jälkeen lihaa haistetaan ja se pisteytetään. Pisteytysasteikko vaihtelee 0–4 välillä, (0 ei hajua, 4 erittäin voimakas karjunhaju). Johdonmukaisten ja luotettavien tulosten saamiseksi arvioijan koulutus on välttämätöntä.

Aistinvarainen tutkimus tarkoittaa elintarvikkeiden ominaisuuksien tai niiden miellyttävyyden arvioimista näkö-, tunto-, haju-, maku- ja/tai kuuloaistin avulla (Helsingin yliopisto, i.a.) Aistinvaraisessa menetelmässä tutkimuksen kohteena ovat tuotteen ominaisuudet eli analyyttinen mittaus tai koehenkilön suhtautuminen tuotteeseen. Analyyttisessä mittauksessa aistinvaraisessa laboratoriotutkimuksessa koulutettu henkilö arvioi elintarvikkeen/tuotteen makua, hajua, ulkonäköä ja rakennetta. Tanskassa aistinvaraisessa menetelmässä rasvanäytteen päälle kaadetaan kiehuvaa vettä, jonka annetaan seistä pari minuuttia ennen kuin kaksi arvioijaa arvioi sen (Danish Technological Institute (DTI), i.a.)

Aistinvaraisessa menetelmässä karjujen ruhot luokitellaan joko pilaantuneisiin tai pilaantumattomiin luokkiin testikriteerien mukaisesti (Xue, 1997). Ihmisen käsitys androstenonin hajusta on geneettinen, noin puolet aikuisista eivät ole herkkiä androstenonille. Naiset ovat herkempiä kuin miehet. Koulutettujen ja usein karjunhajua haistaneiden ihmisten kyky erottaa androstenonin haju on tarkka. Siksi koulutettu henkilö kykenee löytämään haisevat karjut herkemmin kuin kuluttajat.

Lylyn ym. (2022) mukaan ihmisellä on kyky erottaa ja muistaa jopa 10 000 erilaista hajua. Hajuhermon reseptorisolut sijaitsevat nenäontelon katossa. Reseptorisolut ovat sijaintinsa vuoksi herkkiä vaurioille. Vaurioita aiheuttavat erilaiset taudinaiheuttajat ja ympäristön haitalliset aineet. Yksi hajumolekyyli pystyy aktivoimaan useampaa hajureseptoria. Ihmisen hajuaisti voi heikentyä iän myötä. 53–97vuotiaiden hajuaisti on 24,5 % heikentynyt, joista

vain 9,5 % on itse huomanneet heikentymisen. Tuominen, (i.a.) kertoo, että ihmisen aivot voivat analysoida molekyylit millisekunnissa, minkä ansiosta ihminen pystyy tunnistamaan tutut hajut nopeasti. Hajuaistille on erityistä myös sen suora ja voimakas yhteys muistiin sekä tunteisiin. Erilliset aivoalueet myös aktivoituvat haistamisen ja haistelun vuoksi.

Heinosen (2021, s.12) mukaan hollantilaiset ovat tehneet arvioita teurastamossa aistivaraisen haistamisen käyttökustannuksista, jonka mukaan käyttö maksaa 60 €/tunti. Laskelmassa on käytetty 300 ruhoa tunnissa, jonka suora työvoimakustannus 0,2 €/ruho. Hollantilaisen tutkimuksen mukaan koulutus ja satunnaiset kulut tekevät kokonaiskustannukseen ihmisnää käytettäessä 0,3–0,4 €/ruho.

Tanskalaisissa teurastamoissa on suunniteltu fysikaalisia ja kemiallisia menetelmiä hajun havaitsemiseen (Font i Furnols ym. 2020). Kemiallisessa menetelmässä arvioidaan tyypillisesti karjunhajuun liittyvien yhdisteiden kudospitoisuuksia. Skatolin määrittämiseksi on käytetty kemiallisia menetelmiä tanskalaisissa teurastamoissa jo vuosikymmeniä, mutta on odotettavissa, että ne korvataan massaspektrometrialaitteilla. Massaspektrometri mahdollistaa täysin automatisoidun luokituksen hajusta. Tämä perustuu skatoli- ja androstenonitojen nopeaan tutkimukseen.

Vuosien mittaan on kehitelty erilaisia kemiallisia menetelmiä karjunhajun määrittämiseksi (Font i Furnols ym. 2020). Menetelminä on ollut neste- ja kaasukromatografia, jotka ovat hitaita toteuttaa. Nämä menetelmät edellyttävät aina näytteenottoa ja valmistelua kuten uuttamista. Kemialliset menetelmät ovat myös kalliita ja rajoittuvat pääasiassa laboratorioon.

Font i Furnols ym. (2020) toteavat, että vaihtoehtoisia menetelmiä ovat sähkökemialliset biosensorit, nopea haihdutusionisaatiomassaspektroskopia (REIMS) ja Raman- spektroskopia. REIMS perustuu rasvanäytteen nopeaan lämpöhaihdutukseen, jossa analysoidaan molekyyliden haihtumisnopeuksia. Laitteessa käytetään ionilähteenä sähköistä elektrodiä, joka liitetään massaspektrometriin. Elektrodi haihduttaa näytettä, jossa syntyy positiivisia ja negatiivisia ioneja. Ionit siirtyvät vakuumpumpun avulla massaspektrometrille analysoitavaksi. Verplanken ym. (2017) mukaan REIMS- tekniikassa kestää vain muutama sekunti tulosten saamiseksi. REIMS tekniikkaa ei ole käytetty skatolin ja androstenonin

tutkimisessa paljoakaan, vaan yleensä sitä käytetään erilaisissa elintarvikeanalyysissä kuten lihavalmisteiden alkuperälajin tunnistamisessa.

Raman-spektroskopia on menetelmä, joka antaa sekä laadullista, että määrällistä tietoa aineen fysikaalisista ja kemiallisista ominaisuuksista (Font i Furnols ym. 2020). Sen perustana on näytteen muutoksien mittaaminen monokromaattisessa valossa. Menetelmää käytetään laajasti epäpuhtauksien havaitsemiseen, pigmenttien tunnistamiseen, lääketeollisuuden laadunvalvontaan ja biolääketieteeseen. Karjunhajun arvioinnissa Raman-spektroskopiitekniikkaa on kokeiltu androstenonin ja skatolin mittaamiseen. Menetelmä mahdollistaa mittaamisen rasvan pinnalta, vaatien hyvin vähän näytteen valmistelua. Ramanlaite on fyysiseltä kooltaan pieni, joten sitä on vaivatonta käyttää. REIMS ja Raman menetelmiä on kuitenkin vielä kehitettävä ja validoitava teurastamotason sovelluksia varten.

Borggardin ym. (2017) mukaan karjunhajun havaitsemisjärjestelmään tarvitaan laite, joka voi mitata skatolin ja androstenonin samanaikaisesti. Laitteen tulee tehdä mittaus täysin automaattisesti, riittävällä linjanopeudella. Analyysitulosten on oltava valmiina 45 minuutissa, ennen kun ruho viedään kylmäsäilytykseen. Tanskassa on kokeiltu hajun havaitsemismenetelmänä tandemmassaspektrometriä. Laite on nopea, sillä voidaan analysoida jopa 360 näytettä tunnissa. Ruhosta otetaan 0,3–0,8 g selkärasvanäytteet, jotka käsitellään standardiliuoksilla ja tämän jälkeen mittaukset suoritetaan tandemmassaspektrometrillä. Heinosen (2021) mukaan Tanskassa on tehty tutkimuksia massaspektrometrianalyysin hinnasta, joka arvion mukaan maksaa noin 1 €/ruho. Valmista laitetta ei ole vielä saatavilla markkinoilla, joten laite joudutaan räätälöimään teollisuuden tarpeisiin Suomessa (MMM, 2023, s. 22).

4 MASSASPEKTROMETRIA JA MASSASPEKTROMETRI

4.1 Massaspektrometria

Ketolan ym. (2021, s.11) mukaan massaspektrometria on tarpeellinen mittaamistyöväline monien tieteenalojen tutkimuksissa. Massaspektrometriaa voidaan käyttää ympäristöstä luonnostaan löytyvien yhdisteiden tai haitallisten yhdisteiden mittaamiseen. Näytteet voivat olla orgaanisia tai epäorgaanisia (Ketola ym. 2021, s.15). Massaspektrometrillä voi määrittää lääkkeitä, biologisia näytteitä ja biomolekyylejä kuten esimerkiksi proteiinia tai sokeria (Ketola ym. 2021, s. 11). Massaspektrometriaa käytetään myös orgaanisten makromolekyylien ja ennestään tuntemattomien yhdisteiden rakenteen selvitykseen ja tunnistamiseen.

Ketolan ym. (2021, s. 15) mukaan massaspektrometria on analyttinen mittausmenetelmä, jossa näytemolekyylit ionisoidaan. Sen avulla voidaan selvittää tarkasti alkuaineen tai molekyylin moolimassa (Ketola ym. 2021, s. 11). Massaspektrometrian avulla voidaan myös analysoida pieniä molekyylejä kuten esimerkiksi ilmakehän kaasuja tai suuria molekyylejä kuten proteiineja. Massaspektrometria sopii niin kaasumaisten, nestemäisten kuin kiinteiden näytteiden analysointiin mm. laitteen mittaamisherkkyuden sekä tekniikan selektiivisyyden ja kvantitatiivisuuden vuoksi. Massaspektrometrin ohjaaminen sekä mittaustiedot kerätään ja käsitellään laitteeseen kytketyn tietokoneen avulla (Ketola ym. 2021, s. 15). Massaspektrometria on vanha mittaustekniikka, jonka kehitti J.J. Thomson 1900-luvulla (Science History Institute, 2024). Ketolan ym. (2021, s. 11) mukaan laitteet ovat muuttuneet vuosien saatossa yhä automaattisemmiksi erilaisten tietoteknisten ohjelmien vuoksi, mutta mittauseriaate perustuu yhä J.J. Thomsonin vuonna 1904 tekemiin massaspektrometriassa käytettäviin mittaustekniikoihin.

Ketola ym. (2021, s. 15) kertovat, että massaspektrometrin pääosat ovat tietokone, näytteen syöttö ja ionisaatio. Laitteiston kaksi tärkeintä osaa ovat vakuuissa olevat massa-analysaattori ja detektori. Massa-analysaattorilla on tarkoitus erotella ioneja toisistaan. Ionien neutraalit molekyylit ionisoidaan ionilähteessä ennen massa-analyysiä. Detektorin tarkoituksena on puolestaan muuttaa ja havaita massa-analysaattorista tulevat ionit käyttökelpoisiksi signaaleiksi (Ketola ym. 2021, s. 96). Korkea vakuumi saadaan aikaiseksi

diffuusiopumpulla tai turbomolekyyli-pumpulla (Jaarinen & Niiranen, 2008, s. 123). Ketola ym. (2021, s. 92) kertovat, että muodostuneen vakuumin ansiosta ionit eivät pääse törmäilemään ympärillä oleviin kaasumolekyyliin. Tämä edesauttaa lentämistä suoraan häiriintymättä detektorille asti eroteltavaksi ja tunnistettavaksi. Laitteen huono tai heikentynyt vakuumi laskee massaspektrometrin herkkyyttä sekä resoluutiota.

4.2 Ionisaatio

Ketolan ym. (2021, s. 15) mukaan näytteen syöttämiseen ionilähteeseen tarvitaan näytteen-syöttöyksikkö, jonka avulla saadaan näyte johdettua ionilähteeseen ja muutettua kaasufaasiin. Kaasufaasin saamiseksi tarvitaan kantajakaasua, jonka tulisi olla puhtaudeltaan 99,995%, kaasuna yleensä käytetään heliumia (Jaarinen & Niiranen, 2005, s. 156). Joissain laitteissa (Ketola ym. 2021, s. 15) mukaan käytetään paineilmaa näytemolekyylin ionisointiin. Ionisoidut näytemolekyylit erotellaan toisistaan massan ja varauksen suhteen perusteella (mass-to-charge ratio, m/z). Tämän jälkeen niitä mitataan kvantitatiivisesti ja kvalitatiivisesti (m/z) - arvojen voimakkuus. Molekyyliä on mahdollista ionisoida useilla eri tavoilla, kuten esimerkiksi pommittamalla niitä elektroneilla, ioneilla tai ryväsioneilla, fotoneilla tai neutraaleilla atomeilla. Muodostuneet ionit voivat olla positiivisesti varautuneita tai negatiivisesti varautuneita, ne voivat olla yhdesti tai useasti varautuneita, ryväsioneja tai molekyylioneja. Jaarisen & Niirasen (2008, s. 123) mukaan ionit erotellaan lentoradan mukaan, laitteessa on oltava pieni alle 10^{-4} mbar alipaine. Ilman alipainetta ionit törmäävät kaasumolekyyliin laitteen sisällä. Vakuumia säätelevään pumppuun kytketään mekaaninen pumppu pumppaamaan pois epäpuhtauksia, kuten vettä. Epäpuhtaudet sotkevat signaalia ja tutkittavaa spektriä.

Ketolan ym. (2021, s. 54) mukaan elektroni-ionisaatio on eräs vanhimpia ja yksinkertaisimpia ionisaatiomenetelmiä. Ionisaatiossa ionisoitava yhdiste on saatava kaasufaasiin. Tämän vuoksi elektroni-ionisaatio sopii vain suhteellisen pienimolekyyliisille, poolittomille, termisesti stabiileille yhdisteille. Yleensä tällaisia ionisoitavia yhdisteitä ovat hiilivety, öljyt, alkaloidit, steroidit, aromiaineet sekä hajusteet. Elektroni-ionisaatiossa kaasumaisia molekyylejä pommitetaan elektroneilla, jolloin elektroni irtoaa muodostaen molekyylionin. Yleensä tästä muodostuu myös useita pilkeioneja, joita voidaan käyttää puolestaan

yhdisteen rakenteen määrittämiseen. Molekyyli-ionin intensiteetti voi myös olla niin pieni, ettei spektrien tulkinta ole luotettavaa.

Jaarisen & Niiransen (2008, s. 124) mukaan tavallisesti elektronipommituksessa ionisaattorissa käytettävää filamenttia eli hehkulankaa lämmitetään. Lämmön vaikutuksesta filamentista irtaava elektroneja, jotka kiihtyvät sähkökentän vaikutuksesta, saaden kineettistä energiaa. Kun elektronit kiihdytetään 70 voltin jännitteellä, niiden saama kineettinen energia on 70 elektronivoltia (eV). Elektronipommituksessa tutkittava molekyyli menettää elektronin ja muuttuu M^+ -molekyyli-ioniksi. Syntyneelle M^+ -molekyyli-ionille jää usein paljon ylimääräistä energiaa, mikä aiheuttaa molekyyli-ionien katkeamisen. Tämän seurauksena M^+ -ionista syntyy kaksi osaa: toinen osa on positiivisesti varautunut ja toinen neutraali. Nämä osat voivat hajota pienemmiksi osiksi, jos niillä on vielä energiaa jäljellä. Yleensä spektrikirjastoissa käytetään 70 V jännitettä. Kiihdytysjännite vaikuttaa molekyylien saamaan energiamäärään ja myös siihen, miten paljon molekyyliä pilkkoutuu ionisaattorissa. Molekyyliä hajoaa vähemmän, jos käytetään pienempää jännitettä.

4.3 Kvardupolianaalysaattori

Ketolan ym. (2021, s. 27–28) mukaan kvardupolit ovat toimintaperiaatteeltaan suodattimia, joiden tehtävänä on päästää ioneja lävitseen niiden (m/z) -suhteen perusteella. Kvardupolissa on neljä yhdensuuntaista elektroodia, joiden välissä on sähkökenttä. Ionien saapuesssa elektrodien väliin sähkökentän vaikutuksesta ne joutuvat värähdysliikkeeseen. Mikäli ionit värähtelevät liikaa ne voivat törmätä elektrodisauvoihin ja niiden matka estyy kvardupoliilta detektorille. Vain tietyt (m/z) suhteen omaavat ionit pääsevät kvardupolin läpi. Jännitteen muuttuessa muuttuu myös kvardupolin läpäisevien ionien (m/z) suhde. Näin voidaan käsitellä tietty (m/z) alue ja mitata siitä massaspektri. Massaspektrometrissä kvardupolit ovat yksi yleisimmistä analysaattorityypeistä.

4.4 Massaspektri

Ketola ym. (2021, s. 19) kertovat massan (m) kuvaavan ionin massan suhdetta ja (z) sen varausten lukumäärää. Massaspekttrissä nämä esitetään x-akselilla (m/z) arvot ja y-akselilla esitellään ionien voimakkuutta. Tietyillä (m/z) -arvoilla esiintyvän ionin antamaa

signaalia massaspektrissä kutsutaan massapiikiksi. Piikin korkeus kuvaa (m/z) arvolla havaittujen ionien suhteellista määrää. Usein massaspektri esitetään niin, että korkeimmalle massapiikille annetaan arvoksi 100 %. Muut nousseet massapiikit suhteutetaan korkeimpaan piikkiin. Suurin (m/z) arvon piikki on usein syntynyt yhdisteen molekyyli-ionista, protonoituneesta tai deprotonoituneesta molekyylistä. Pienemmällä (m/z) arvoilla esiintyvät muut massapiikit ovat molekyyli-ionin, protonoituneen tai deprotonoituneen molekyylin hajoamisen vuoksi syntyneitä pilkeioneja.

4.5 Massaspektrometrin kalibrointi ja suorituskyky

Ketolan ym. (2021, s. 19) mukaan laite tulee virittää ja kalibroida säännöllisesti, jotta se voi antaa luotettavia tuloksia. Virityksessä jonkin referenssiyhdisteen massaspektri mitataan ja siitä saadun massapiikin (m/z) arvoa verrataan laskennalliseen teoreettiseen arvoon. Kalibroinnissa referenssiyhdisteen massaspektri mitataan ja siitä saadun massapiikin (m/z) arvoa verrataan laskennalliseen arvoon. Jos arvot poikkeavat, laite tulee virittää uudelleen kalibroimalla.

Ketola ym. (2021, s. 23) mukaan eräs tärkeimmistä massaspektrometrin suorituskykyä kuvaavista suureista on herkkyys. Ionivirran muutokset määrittelevät herkkyyttä. Herkkyyden yksikkö on ($C/\mu g$) eli coulombi mikrogrammaa kohti. Toteamisrajalla tarkoitetaan pienimmällä näytemäärällä aiheutettua signaalia, joka voidaan erottaa taustakohinasta. Toteamisrajassa tulee ilmoittaa käytetyt koeolosuhteet sekä sen määritystapa. Toteamisrajana voidaan käyttää signaalipiikin korkeutta suhteutettuna taustakohinan korkeuteen (S/N). Arvona yleensä käytetään numeroa kolme. Laitteiston suorituskykyä voidaan mitata sen läpäisevyydellä, joka ilmoittaa kuinka monta prosenttia ionilähteen ioneista pääsee detektorille saakka.

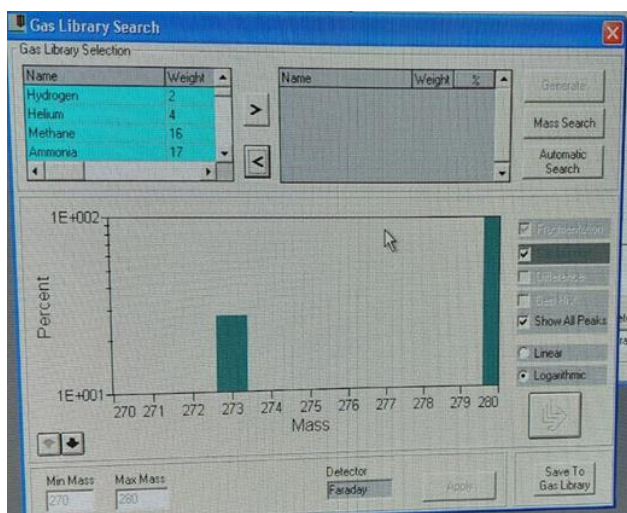
4.6 Tiedonkäsittely

Ketola ym. (2021, s. 104) mukaan massaspektrometrin kanssa voidaan käyttää useampia analyysitekniikoita yhtä aikaa. Kuten esimerkiksi kaasukromatografia (GC-MS) tai nestekromatografia (LC-MS). Kromatografia massaspektrometrilaitteen kanssa käytetään yleensä kahdella tavalla. Tavoitteena on tunnistaa yhdiste tai saada mitattua pitoisuuksia.

Yhdisteitä tunnistettaessa kromatografia käytettäessä kerätään koko massa-alueen spektrit. Tämä tarkoittaa ”jatkuvaa pyyhkäisyä”, jonka avulla kerätään kaikki massalukuja vastaavat signaalit, ei esimerkiksi vain suurimpia voimakkuuksia. Usein orgaanisista yhdisteistä jätetään matalat massat kuitenkin keräyksen ulkopuolelle niiden antaman vähäisen informaation vuoksi. ”Jatkuvan pyyhkäisyn” spektri ei siis aina ole koko yhdisteen kokoinen, täydellinen spektri. Pitoisuusmittauksissa mitataan vain yhden tai muutaman yhdisteen tarkka voimakkuus. Ennen valittujen ionien pitoisuusmittauksia, on tunnistettava kyseisen yhdisteen spektri. Tästä spektristä valitaan sopiva(t) ioni(t). Ketolan ym. (2021, s. 105) mukaan tulos on sitä tarkempi mitä suurempi voimakkuus spektrissä on. Yhdisteiden tunnistamiseen käytetään avuksi massaspektrikirjastoa. Spektrikokoelma löytyy massaspektrilaitteiston tietokoneohjelmistosta. Mitatun näytteen tulosta verrataan kirjaston spektriin. Ketola ym. (2021, s. 106–107) kertovat, että mikään kirjaston spektri ei sisällä yhdisteitä vaan tuloksia tulee verrata yksi kerrallaan. Mikäli mainittuja spektrejä ei löydy kirjastosta, joudutaan yhdiste tunnistamaan pilkkoutumismekanismien perusteella. Jaarinen & Niiranen (2008, s. 131) lisäävät, että spektrien tulkinnassa on myös huomioitava alkuaineiden isotooppijakaumat, koska niiden vuoksi aiheutuu omat piikkiryhmät spektriin. Ketolan ym. (2021, s. 111) mukaan on myös huomioitava, että massaspektrometrinen tiedon käsittelyssä on poistettava häiritsevät taustasignaalit.

4.7 Molekyylikaava

Lehtiniemen ym. (2004, s. 23) mukaan yhdisteen molekyylikaavasta nähdään, kuinka monta alkuaineen atomia on yhdessä molekyylissä. Molekyylin laskemiseen suhdekaavasta tarvitaan yhdisteen suhteellinen molekyylimassa. Tämä tieto saadaan esimerkiksi massaspektrometriltä. Esimerkissä (kuva 1) kuvataan suurinta suhteellista molekyylimassaa moolimassavälillä 270–280 g/mol. 280 kuvaava piikki kertoo yhdisteen suhteellisesta molekyylimassasta. Muut pienemmät piikit (273) kertovat tämän molekyylin hajoamisessa syntyvistä molekyyli-ioneista.



Kuva 1. Massaspekttri öljynäytteestä 436 (Björkbacka, 2024, CC BY-NC-ND).

Lehtiniemi ym. (2004, s. 23) kertovat, että rakennekaavan avulla selvitetään alkuaineatomien määrää, mutta ei niiden järjestystä molekyylissä. Rakennekaavan avulla saadaan selvitettyä miten atomit ovat sitoutuneita toisiinsa. Orgaanisessa yhdisteessä atomit pystyvät sitoutumaan toisiinsa monella eri tavalla. Siksi monilla yhdisteillä voi olla sama molekyylikaava. Lehtiniemen ym. (2004, s. 24) mukaan tällaisia yhdisteitä, joilla on sama molekyylikaava, mutta erilainen rakenne, sanotaan toistensa isomeereiksi.

4.8 Seinäjoen ammattikorkeakoulun massaspektrometri

Seinäjoen ammattikorkeakoulun (SeAMK) laboratoriossa on Thermo ONIX Prolab -massaspektrometri (kuva 2). Laite on hankittu vuonna 2004. Laitteen ohjelmistona toimii GasWorks tietokoneohjelma (Thermo ProLab massaspektrometri ohjekirja, 2004). GasWorks tietokoneohjelman avulla laitetta käytetään sekä saatuja tuloksia tulkitaan ja verrataan laitteen omaan kirjastokantaan. Prolab on massaspektrometrinen kvardupolianaalysaattorinen kaasuanalyysijärjestelmä. Tämän kaltaista massaspektrometriä käytetään yleensä kaasujen analysointiin. Massaspektrometriin on kytkettynä monitienäytteensyöttöjärjestelmä. Monitienäytteensyötössä on ylärivillä neljä paikkaa eri näytteille. Kalibrointia varten monitienäytteensyötössä kolmelle eri standardikaasulle on omat paikkansa. Kalibrointikaasuina ohjeiden mukaan käytetään argon (95 %), hiilidioksidi 5 % seos, typpi (79 %), happi (15 %), hiilidioksidi (5 %), argon 1 % seos sekä helium (99,996 %).



Kuva 2. SeAMK Thermo Prolab- massaspektrometri (Björkbacka, 2024, CC BY-NC-ND).

5 TUTKIMUKSEN NÄYTTEET JA NÄYTTEIDEN VALMISTELU

Lundströmin ym. (2009 s. 5) mukaan androstenoni ja skatoli varastoituvat karjun rasvaan. Atrialta saadut karjunäytteet ovat pakastettua karjun silavaa. Näytteitä on kolmenlaisia: täyskarjua, immunokastroitua karjua sekä verrokkia. Verrokki on imisää tai kirurgisesti kastroitua karjua.

Tutkimuksessa käytetään myös Atrialta saatuja öljypohjaisia näytteitä skatolin ja androstenonin moolimassan löytämiseen massaspektrometrillä. Öljypohjaiset näytteet (taulukko 2) ovat teollisesti valmistettua sataprosenttista skatolia, sataprosenttista androstenonia sekä näytteitä, joissa on erilaisia pitoisuuksia skatolia ja androstenonia. Näytteet on numeroitu tunnistamisen helpottamiseksi.

Taulukko 2. Tiedot öljynäytteistä.

Öljynäytteet	Tiedot näytteistä
Skatoli	sisältää skatolia
Androstenoni	sisältää androstenonia
245	ei sisällä yhdisteitä
173	ei sisällä yhdisteitä
486	ei sisällä yhdisteitä
315	skatoli 1ppm
647	skatoli 0,5ppm
519	skatoli 0,5ppm
371	androstenoni 5ppm
436	androstenoni 5ppm

Ensimmäisessä näytevalmistelussa näytteet olivat silavaa eli rasvaa (taulukko 3). Näytteitä oli karjusta, immunokastroidusta ja verrokista, jokaista näytettä leikattiin 20 gramman, 25 gramman, 30 gramman ja 50 gramman palat. Leikatut rasvanäytepalat vakumoitiin.

6 TUTKIMUSMENETELMÄT

SeAMK:n massaspektrometri on ollut käyttämättömänä liki kymmenen vuotta. Ensimmäisellä laitteen käynnistyskerralla tutkittiin laitteen toimivuutta. Laitteeseen ei ollut sopivaa kaasua, joten näyteajoa ei tällä ensimmäisellä kerralla pystytty tekemään.

Seuraavalle käynnistyskerralle saatiin heliumia, joten päästiin kokeilemaan ensimmäistä kertaa laitteen toimivuutta kokonaisuudessaan. Laitteelle tehtiin heliumkaasulla kalibrointi ohjeiden mukaisesti. Kalibroinnin jälkeen tutkittiin näytteeksi saatua lämmintä olutta. Olut valittiin näytteeksi, koska sen sopiva lämpötila teki siitä hyvän vaihtoehdon massaspektrometrin ensimmäiseen kokeiluun. Laite tunnisti oluesta eri moolimassoilla olevia molekyilyhdisteitä. Oluen mittauksen jälkeen selvitettiin, miten karjun rasvanäyte saadaan höyrystymään ja kuinka näyte ajetaan massaspektrometrille.

Päätettiin ottaa yhteyttä massaspektrometrin valmistajaan, jolta saatiin ehdotus, millaiseen astiaan näyte kannattaisi laittaa ja kuinka näyteajo tulee suorittaa. Laittevalmistajan edustaja myös kertoi, että pitkään käyttämättä ollutta laitetta olisi syytä huoltaa hyvin ennen mittauksia. Massaspektrometri on hyvin herkkä laite. Laittevalmistajalta saatujen tietojen mukaan massaspektrometrin detektori ja vakuumpumpun öljyt pitäisi vaihtaa ensimmäiseksi ennen käyttöä. He myös suosittelivat, että kalibrointi tulisi tehdä huolellisesti siihen tarkoitetuilla kaasuilla.

Ennen rasvanäyteajojen aloittamista tarkistettiin laitteen toiminta kalibroimalla massaspektrometri uudelleen ohjeiden mukaisesti. Kalibroinnissa, ennen näyteajoa huomattiin, että moninäytesyöttöjärjestelmä vuotaa heliumia. Tästä syystä päätettiin jättää moninäytesyöttöjärjestelmä pois ja kiertää järjestelmä laittamalla rasvanäyte lasiastiaan. Lasias-tian muovikanteen tehtiin kaksi reikää. Toisesta reiästä syötettiin heliumia ja toiseen kytkettiin massaspektrometrin mitta-anturi. Kansi tiivistettiin vielä teipillä vuotojen ehkäisemiseksi. Näytteiden valmistelun yhteydessä varmistettiin vielä teoreettiset skatolin (131,1745 g/mol) ja androstenonin (272,4250 g/mol) moolimassat.

Ensimmäisissä näyteajoissa ajettiin kylmää karjunrasvanäytettä. Näytettä ajettiin 50 ker-ran spektripyyhkäisyllä. Saatuja spektriipukkeja verrattiin spektrikirjastossa oleviin

molekyyliyhdisteiden moolimassoihin. Massaspektrometri löysi useita yhdisteitä rasvasta, mikä vahvisti laitteen olevan toimintakuntoinen sen osalta, että se tunnistaa moolimassoja.

Toisella näyteajokerralla vaihdettiin näytteen syöttömenetelmää ja lämmitettiin vakumoituja näytteitä lämminvesihauteessa 60 asteessa. Näytteinä käytettiin kolmea 20 gramman rasvanäytettä, jotka vakumoitettiin lämmitystä varten.

- Näyte 1: verrokki, 20 g
- Näyte 2: karju, 20 g
- Näyte 3: immunokastroitu, 20 g.

Vakuumpussiin tehtiin kaksi pientä reikää, joihin laitettiin massaspektrometrin mitta-anturi ja heliumin sisään tuloputki. Reikien reunat tiivistettiin hyvin teipillä. Jokaista näytettä ajettiin 50 krt spektripyyhkäisyllä ja verrattiin tulosta spektrikirjastoon. Kolme näytettä laitettiin yhtä aikaa 60- asteiseen veteen, jossa ne lämmitettiin. Tämän jälkeen aloitettiin mittaaminen asettamalla helium- ja mitta-anturi paikoilleen. Helium laitettiin virtaamaan vapaasti ilman lisättyä painetta. Näytteistä saatiin tulokseksi paljon erilaisia moolimassoja. Saatujen mittaustulosten perusteella voitiin päätellä, että laite löytää helposti molekyyliyhdisteitä, joilla on pieni moolimassa. Tällä mittauskerralla massaspektrometrin moolimassan mitta-alue on säädetty välille 4–300 g/mol, jonka todettiin olevan liian suuri skaala.

Kolmannella näyteajokerralla tutkittiin näytteiden hajua aistinvaraisesti polttamalla näytteitä kaasupolttimella. Näytteitä oli kuusi karjunlihasta ja kaksi vertailun vuoksi immunokastroidusta karjasta. Rasvanäytteiden pintaa poltettiin kaasupolttimella voimakkaasti, jonka jälkeen näytettä arvioitiin aistinvaraisesti. Karjunäytteitä myös tutkittiin polttamisen jälkeen massaspektrometrillä. Voimakkaan kuumentamisen jälkeen näyte laitettiin lasiastiaan, astia suljettiin kannella sekä asennettiin mitta-anturi ja heliumin sisään tuloputki. Mitauksia massaspektrometrillä tehtiin kolmelle eri karjunäytteelle, 50 krt spektripyyhkäisyllä, jonka jälkeen tuloksia verrattiin spektrikirjastoon. Näytteiden polttotestissä huomattiin, että mikään näytteistä ei haissut voimakkaasti aistinvaraisessa tutkimuksessa. Rasvanäytteitä poltettiin liekillä voimakkaasti, mutta silti pahaa hajua ei irronnut näytteistä. Jokainen näyte haisi vain enemmän tai vähemmän rasvaiselle sianlihalle. Polttotestin jälkeen päätettiin vielä tutkia kolmea eri karjunäytettä massaspektrometrillä. Näytteissä huomattiin

muutoksia löydettyjen moolimassojen prosenttiosuuksissa, mutta spektripyyhkäisyssä nousseet moolimassat eivät kuitenkaan olleet löydöksiä skatolista tai androstenonista.

Neljännellä näyteajokerralla päätettiin tutkia massaspektrometrillä näytteitä, josta voidaan sataprosenttisesti sanoa, sen sisältävän skatolin ja androstenonin hajua. Näytteeksi saatiin öljypohjaisia näytteitä, jossa oli teollisesti valmistettua skatolia ja androstenonia eri pitoisuuksilla. Menetelmässä kuumennettiin lasiastiaa 200 asteisessa uunissa kymmenen minuuttia. Astiaan pipetoitiin 1 ml näytettä, jonka päälle asetettiin kansi, massaspektrometrinanturi sekä heliumputki. Spektripyyhkäisyjä päätettiin tehdä 30 krt spektripyyhkäisyllä 130–135 g/mol, 270–280 g/mol ja 130–280 g/mol alueilla. Tämä toistettiin skatoli-, androstenoni-, 315-, 173- ja 486- öljynäytteille. Neljännellä näyteajokerralla päätettiin myös syöttää massaspektrometrille skatolin ja androstenonin moolimassat manuaalisesti. Spektrikirjastossa ei löytynyt suoraan näiden yhdisteiden moolimassoja, jonka vuoksi moolimassojen syöttäminen oli tärkeä osa, jotta laitteella voidaan rajata pienempi mittausala.

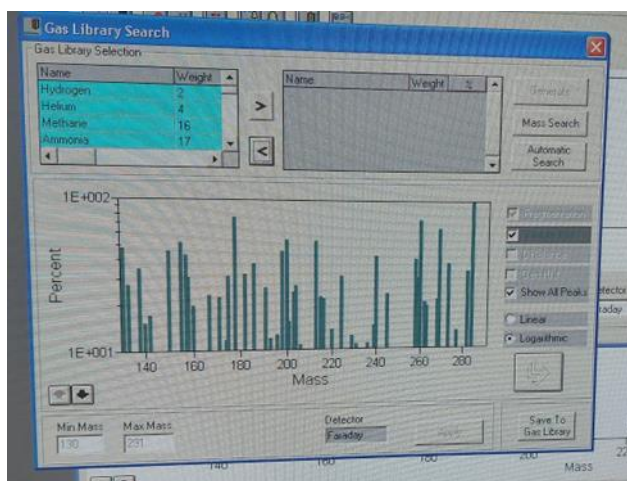
Skatoliöljynäytteen tutkimisessa massaspektrometrillä huomattiin, että laite kykenee löytämään näytteestä samaa moolimassaa kuin skatolilla. Skatoliöljyn moolimassan mittausalueena käytettiin 120–140 g/mol. Massaspektrometrillä löydettiin skatolia 79,432 % ja miltei samaa moolimassaa olevaa freoni 144: 20,5 % (kuva 3). Nämä prosenttiarvot kertovat, kuinka paljon näyte sisältää kyseistä molekyyliyhdistettä. Freonin moolimassa on 132,9 g/mol, joka on lähellä samaa kuin skatolilla. Skatolin moolimassa on 131,1745 g/mol. Laite pyrkii tunnistamaan moolimassoja, jonka vuoksi täsmävydydet spektrikirjastossa saattavat vääristää tulosta. Tuloksia verrattiin vielä manuaalisesti spektrikirjastossa oleviin moolimassoihin. Öljynäytettä analysoitiin myös haistamalla lämpimässä lasiastiassa. Tässä ais-
tinvaraisesti tehdyssä testissä ei löydetty voimakasta skatolin hajua.



Kuva 3. Skatoliöljynäytteen massaspektri (Björkbacka, 2024, CC BY-NC-ND).

Seuraavaksi tutkittiin androstenonia, jonka moolimassa on 272,4250 g/mol. Massaspektrometri ei kyennyt tunnistamaan androstenonia. Laite löysi mittauksissa moolimassa-alueella 270–300 g/mol useita spektriipukkeja, mutta vaikka androstenoni on nimetty spektrikirjastoon, sitä laite ei silti kyennyt tunnistamaan. Androstenoninäytettä haistettiin myös lämpimästä lasiastiasta ja haju ei ollut tässäkään merkittävän voimakas.

Sitten tutkittiin sekoitusnäytteet, jotka ovat nimetty numeroimalla ovat 315, 173 ja 486. Näytteistä 315 sisälsi 1 ppm skatolia, 173 ja 486 ei sisältänyt mitään. Näytteet tutkittiin samalla menetelmällä kuin edelliset öljynäytteet. Näytteistä numero 315 tutkittiin moolimassavälillä 130–291 g/mol. Massaspektrometri löysi sataprosenttisesti samalla moolimassalla olevaa yhdistettä, joka voi olla skatolia. Tunnistus tehtiin kahdenkymmenen kerran spektri-pyyhkäisyllä. Laite tunnisti samalla 46 kpl muitakin erilaisia molekyyliyhdisteitä tältä moolimassa alueelta, joista yhden vastaavuus voisi olla myös androstenonille. Tämän jälkeen näytettä arvioitiin aistinvaraisesti, josta huomattiin, että haju on todella voimakkaan uloste-mainen.



Kuva 4. Androstenoniöljynäytteen massaspektri (Björkbacka, 2024, CC BY-NC-ND).

Seuraavaksi tutkittiin näyte numero 173, joka näytesisällön mukaan ei sisältänyt skatolia tai androstenonia. Näyte laitettiin kuumaan lasiastiaan, jossa sitä haistettiin. Haju oli hyvin mielo. Moolimassavälinä käytettiin 131–191 g/mol. Mittauksessa näytteestä ei löytynyt skatolia tai androstenonia, mutta muita samalla moolimassalla olevia molekyylilyhdisteitä löydettiin. Laite ei kuitenkaan kyennyt nimeämään niitä. Viimeisenä näyteajossa käytettiin näytettä numero 486, joka ei myöskään näytesisällön mukaan ollut skatolia tai androstenonia. Moolimassavälinä käytettiin 130–295 g/mol. Spektriptyyhkäisyä tehtiin 30 kertaa. Massaspektrometri löysi vastaavuuden samaan moolimassaan, mikä on skatolilla.

Viidennellä näyteajokerralla päätettiin varmistaa vielä edellisellä kerralla mitatut androstenonin ja skatolin öljynäytteistä saadut tulokset. Lisäksi ajettiin kaikki numeronäytteet sekä karju-, immunokastroitu- ja verrokkirasvanäytteet. Haluttiin saada näyte voimakkaammin höyrystymään, joten vaihdettiin näytteen lämmitysmenetelmää. 1 ml öljynäytettä mitattiin pipetillä 40 ml duranpulloon, johon lisättiin keitettyä vettä 2 ml. Nämä kuumennettiin mikroaaltouunissa kiehuvaan, jonka jälkeen näytettä haistettiin. Uunissa kuumennettiin lasiastiaa 200 asteessa kymmenen minuuttia. Kuumennuksen jälkeen näyte kaadettiin lasiastiaan, joka vietiin massaspektrometrille analysoitavaksi.

Ensiksi ajettiin skatoliöljyä yllä olevan menetelmän mukaisesti. Tässä skatoliöljyn ajossa 130–135 g/mol laite löysi näytteestä sataprosenttisen vastaavuuden skatolin

moolimassaan. Androstenonin moolimassaväliksi laitettiin 270–280 g/mol. Laite tunnisti 272 g/mol moolimassalle jotain, mutta ei kyennyt vahvistamaan, oliko kyseessä androstenonin moolimassa.

Tämän jälkeen ajettiin androstenoniöljyä, jonka lämmitys tehtiin samalla tavalla mikroaaltouunissa kuin skatolinäytteen. Androstenoninäytettä haistettiin duranpullosta, jonka todettiin haisevan paljon voimakkaammalle kuin edellisellä kerralla lämmitetty androstenoninäyte. Tällä kertaa haju oli voimakas ja virtsamainen. Moolimassa-alueeksi ajossa laitettiin 270 - 280 g/mol ja se tehtiin 50 kerran pyyhkäisyllä. Androstenonin moolimassa on 272,432 g/mol. Tällä ajolla massaspektrometri löysi moolimassa 272 kohdalta vastaavuuden, mutta laite ei kuitenkaan kyennyt nimeämään sitä androstenoniksi. Ajo tehtiin myös skatolin moolimassa-alueelle ja laite löysi vastaavuuden skatolin moolimassalle.

Seuraavaksi aloitettiin ajamaan 647-, 173-, 519-, 245-, 436-, 371-, 315-, 486 numeronäytteitä. Numeronäytteet käsiteltiin ja lämmitettiin samalla tavalla kuin skatolin ja androstenonin öljynäytteet. Numeronäyte 647 haistettiin lämmityksen jälkeen duranpullosta. Tällä kerralla näyte haisi voimakkaasti ulosteelle. Mittauksessa käytettiin moolimassaväliä 130–280 g/mol. Spektripyyhkäisyjä tehtiin 50 kertaa. Molekyyliyhdisteitä mittauksessa löytyi 58 kpl, joista skatoli löytyi sataprosenttisesti. Tämän mittauksen jälkeen laitteiston järjestelmä jumiutui, jonka vuoksi mittaukset tuli keskeyttää.

Laitteiston uudelleen ylös ajon jälkeen valmisteltiin näyte 173, tämä näyte tutkittiin myös jo edellisellä kerralla. Näyte lämmitettiin mikrossa, jossa ei ollut aistinvaraisesti tutkittuna hajua. Näytettä päätettiin ajaa pienemmällä moolimassaväleillä, jotta saatu tiedosto olisi pienempi ja voisi vaikuttaa järjestelmän toimivuuteen. Raja-arvoina käytettiin 270–280 g/mol, 130–135 g/mol ja lopuksi 130–280 g/mol moolimassa väliä. Jokainen ajo tehtiin 50 kerran spektripyyhkäisyllä. Näytteestä ei löytynyt skatolin eikä androstenonin moolimassoja lainkaan.

Seuraavaksi ajettiin näyte numero 519. Näytettä lämmitettiin jälleen samalla tavalla kuin muitakin näytteitä. Näyte haisi lämmityksen jälkeen miedosti ulosteelle. Näyteajo tehtiin 130–135 g/mol, 270–280 g/mol sekä 130–280 g/mol välillä. Massaspektrometri ei

tunnistanut 130–135 g/mol väliltä skatolia, mutta 130–280 g/mol väliltä tunnisti skatolin. Väliltä 270–280 g/mol löytyi vastaavuus androstenonin moolimassalle.

Seuraava tutkittu öljynäyte 245 ei haissut lämmityksen jälkeen. Näyteajo tehtiin jälleen 130–135 g/mol, 270–280 g/mol sekä 130–280 g/mol välillä. Mittaus suoritettiin 50 kerran spektripyyhkäisyllä. Mittauksessa ilmeni useita kymmeniä eri molekyyliyhdisteitä, mutta ei etsittyjä androstenonia tai skatolia. Tämän mittauksen jälkeen koko tietokonejärjestelmä kaatui. Ohjelma ei vastannut, eikä se reagoinut mihinkään komentoon. Uudelleenkäynnistämisen jälkeen aloitettiin näytteen 436 lämmittäminen. Näytteen lämmityksessä huomattiin mietoa virtsanhajua, mutta mittauksessa ei löydetty kumpaakaan skatolia tai androstenonin moolimassaa.

Numeron 371 öljynäytettä silmäillen huomattiin näytteessä olevan sakkaa tai epäpuhtautta. Näytettä käytettiin silti samalla tavalla mikrossa ja haistettiin lämmityksen jälkeen. Näyte haisi todella voimakkaasti virtsalle. Mittauksissa jälleen 130–135 g/mol, 50 kerran pyyhkäisyllä löydettiin skatolin moolimassaa. Myös mittausalueella 130–280 g/mol löydettiin skatolin moolimassaa, mutta vastaavasti 270–280 g/mol ei löydetty androstenonia. Tämän jälkeen mitattiin uudelleen vielä edellisellä kerralla tutkitut öljynäytteet 315 ja 486. Numeronäyte 315 haisi tässäkin testauksessa ulosteelle. Mittauksissa löydettiin skatolia, mutta myös samanlaisia moolimassoja kuin androstenonilla. Näyte 486 ei haissut lämmittettäessä millekään. Edellisessä mittauksessa ei löydetty mitään etsittyjä moolimassoja, mutta tällä mittaus kerralla löydettiin vastaavuus kuitenkin skatolille.

Rasvanäytteet käsiteltiin samalla tavalla kuin öljynäytteet, mutta rasvanäytteestä otettiin 5 gramman pala, joka pilkottiin pieneksi duranpulloon. Pulloon lisättiin 3 ml kiehuva vettä, jotka kuumennettiin näytteen kanssa kiehuvaan mikroaaltouunissa. Duranpullostä näyte kaadettiin uunissa kuumennettuun lasiastiaan ja näytteet analysoitiin massaspektrometrillä. Tämän jälkeen mittaukset tehtiin käyttämällä 50 kerran spektripyyhkäisyä. Päätettiin myös tehdä ajoja pienemmillä moolimassa väleillä. Raja-arvoina käytettiin skatolille 130–135 g/mol, androstenonille 270–280 g/mol ja näiden yhteisalueelle 130–280 g/mol raja-arvoja. Rasvanäytteitä oli kolmenlaista, joista ensin käsiteltiin karjunäyte. Karjunäytettä laitettiin 5 grammaa duranpulloon, johon sekoitettiin 3 ml kuumaa vettä. Näytettä haistettiin ja todettiin haisevan tavalliselle sianlihalle. Mittauksissa ei löydetty viitteitä skatolista tai

androstenonista. Tämän jälkeen tutkittiin immunokastroitu rasvanäyte. Näyte mitattiin massaspektrometrillä samalla mittausalueella kuin karjunäyte. Immunokastroidusta näytteestä löydettiin skatolin moolimassaa välillä 130–280 g/mol. Näytettä kuumennettiin mikrossa, eikä se haissut kuin kypsennetylle sianlihalle. Tämän jälkeen tehtiin viimeinen mittaus verrokinäytteelle samalla tavalla kuin edellä. Mittauksesta ei löydetty mitään skatoliin tai androstenoniin liittyvää. Verrokkilihanäyte ei kuumennettuna haissut aistinvaraisesti mitattuna millekään.

7 TULOKSET

Öljynäytteiden tulokset on koottu alla olevaan taulukkoon 6. Öljynäytteitä käsiteltiin neljännellä ja viidennellä näyteajokerralla. Näytteitä haisteltiin aistinvaraisesti lämmityksen jälkeen. Hajut ovat ryhmitelty: ei hajua, mieto ja voimakas ulosteen- tai virtsanhaju. Massaspektrometrillä tehtiin kolmen eri moolimassaväliltä ajoja, jossa 130–135 g/mol väliltä etsittiin vastaavuutta skatolin moolimassaan. Väliltä 270–280 g/mol etsittiin androstenonin moolimassaa ja 130–280 g/mol moolimassavälissä etsittiin vielä vahvistusta edellä olleisiin löydöksiin. Näytteiden toimittajalta saatiin tiedot, mitä öljynäytteet sisälsivät. Taulukossa 6 voidaan nähdä, että öljynäytteistä hajua löytyi skatolista, androstenonista, numeronäytteistä: 315, 647, 519, 371 sekä 436. Löydettyjä aistinvaraisia hajuja verrattiin näytteiden tietoihin ja huomattiin, että haistamalla voitiin löytää viitteitä skatolista ja androstenonista. Massaspektrometrillä tutkittiin näytteistä skatolia 130–135 g/mol alueella. Skatolia löydettiin myös näytteistä, joiden ei pitänyt sisältää skatolia lainkaan. Alueella 270–280 g/mol androstenonia löytyi massaspektrometrin mukaan myös näytteistä, joissa sitä ei tietojen mukaan pitänyt olla. Laite myös löysi laajemmalla 130–280 g/mol alueelta huomattavasti skatolia, kuin 130–135 g/mol. Puolestaan laajemmalla alueelta ei löydetty androstenonia ollenkaan.

Taulukko 6. Öljynäytemittaustulosten yhteenveto.

Numeroidut öljynäytteet	Tiedot näytteistä	Aistinvarainen arviointi	Massaspektrometri 130-135 g/mol	Massaspektrometri 270-280 g/mol	Massaspektrometri 130-280 g/mol
Skatoli	Skatoli 100 %	Mieto ulosteenhaju	Skatoli	Androstenoni	Skatoli
Androstenoni	Androstenoni 100 %	Voimakas virtsanhaju	Skatoli	Androstenoni	Ei löydöstä
173	Ei sisällä mitään	Ei hajua	Ei löydöstä	Androstenoni	Ei löydöstä
245	Ei sisällä mitään	Ei hajua	Ei löydöstä	Ei löydöstä	Ei löydöstä
315	Skatoli 1 ppm	Voimakas ulosteenhaju	Skatoli	Androstenoni	Ei löydöstä
371	Androstenoni 5 ppm	Voimakas virtsanhaju	Skatoli	Ei löydöstä	Skatoli
436	Androstenoni 5 ppm	Mieto virtsanhaju	Ei löydöstä	Ei löydöstä	Ei löydöstä
486	Ei sisällä mitään	Ei hajua	Skatoli	Ei löydöstä	Ei löydöstä
519	Skatoli 0,5 ppm	Mieto ulosteenhaju	Ei löydöstä	Androstenoni	Skatoli
647	Skatoli 0,5 ppm	Voimakas ulosteenhaju	Skatoli	Ei löydöstä	Skatoli

Rasvanäytteiden tulokset on koottu taulukkoon 7. Näytteitä lämmitettiin eri kerroilla lämminvesihauteessa (sousvide) tekniikalla, polttamalla kaasupolttimolla sekä mikrossa. Näistä käytetyistä tekniikoista mikrossa kuumentaminen antoi eniten tuloksia. Jokaisen lämmityksen jälkeen näytteitä haisteltiin aistinvaraisesti. Taulukosta 7 voidaan havaita, että mikään niistä ei haissut aistinvaraisesti arvioituna. Näytteitä ajettiin eri moolimassa alueilla, joista vain immunokastroidusta näytteestä massaspektrometri havaitsi skatolin moolimassaa. Skatolia löytyi 130–280 g/mol alueelta, mutta ei pienemmältä 130–135 g/mol alueelta, joka olisi ollut lähempänä skatolin tarkempaa moolimassaa. Muissa rasvanäytteissä ei ollut viitteitä skatolista tai androstenonista.

Taulukko 7. Rasvanäytetulosten yhteenveto.

Rasvanäytteet	Lämmitys menetelmät sousvide/ poltin/mikro	Aistinvarainen arviointi ei/ mieto/ voimakas haju	Massaspektrometri 130-135 g/mol	Massaspektrometri 270-280 g/mol	Massaspektrometri 130-280 g/mol
Karju	Sousvide	Ei Hajua	Ei löydöstä	Ei löydöstä	Ei löydöstä
Karju	Poltin	Ei hajua	Ei löydöstä	Ei löydöstä	Ei löydöstä
Karju	Mikro	Ei hajua	Ei löydöstä	Ei löydöstä	Ei löydöstä
Immunokastroidu	Sousvide	Ei hajua	Ei löydöstä	Ei löydöstä	Ei löydöstä
Immunokastroidu	Poltin	Ei hajua	Ei löydöstä	Ei löydöstä	Ei löydöstä
Immunokastroidu	Mikro	Ei hajua	Ei löydöstä	Ei löydöstä	Skatoli
Verrokki	Sousvide	Ei hajua	Ei löydöstä	Ei löydöstä	Ei löydöstä
Verrokki	Poltin	Ei hajua	Ei löydöstä	Ei löydöstä	Ei löydöstä
Verrokki	Mikro	Ei hajua	Ei löydöstä	Ei löydöstä	Ei löydöstä

SeAMK:n massaspektrometrillä pystyttiin löytämään eri näyteajoissa öljynäytteistä androstenonin ja skatolin moolimassoja. Androstenonia laite ei kyennyt nimeämään tarkasti, mutta skatolin pystyi. Skatolin vastaavuus on massaspektrometrin tuloksen mukaan sataprosenttisesti, mutta laitteen luotettavuutta on syytä kuitenkin epäillä. Näytteiden lämmittämisessä käytettiin useampaa menetelmää, jonka huomattiin vaikuttavan saatuihin tuloksiin

merkittävästi. Suurin ero löytyi aistinvaraisesti haistettaessa, kun käytettiin mikroaaltouunia näytteiden lämmittämiseen. Näytteiden mittaamiseen käytettiin lasiastiaa, jossa oli tiivis kansi. Näytteiden lämmittäminen lasiastian avulla todettiin olevan parempi keino, kuin sous vide-pussissa lämmitetty. Rasvanäytettä ei saatu sous vide-pussissa höyrystymään riittävästi. Rasvanäytteiden lämmittäminen mikroaaltouunissa ei muuttanut mittausten tuloksia, mutta massaspektrometri löysi vastaavuuden skatoliin immunokastroidusta näytteestä suuremmalla 130–280 g/mol alueella. Kuitenkaan skatolia tässä yhteydessä ei löydetty haistamalla tai pienemmällä mittausalueella.

8 YHTEENVETO JA POHDINTA

8.1 Tutkimuksen yhteenveto

Opinnäytetyössä tehty tutkimus vahvistaa, että toimivalla massaspektrometrillä voi löytää näytteistä moolimassojen perusteella eri molekyyliyhdisteitä ja niiden pitoisuuksia. Massaspektrometrillä on siis mahdollista tutkia skatolia ja androstenonia karjunrasvanäytteistä.

SeAMK:n massaspektrometri on hyvin vanha, mutta vähän käytetty laite. Saaduista tuloksista voi päätellä, että tällä massaspektrometrillä voi tunnistaa skatolin moolimassaa. Skatolin tunnistuksessa löytyi samalla tai lähellä samaa olevalla moolimassalla molekyyliyhdistettä. Laite löysi myös joistain näytteistä viitteitä androstenonista, mutta sitä ei kyennyt vahvistamaan. SeAMK:n laitteen iästä ja suorituskyvystä johtuen ei kuitenkaan voi täysin taata mittauksen perusteella, että näytteet sisälsivät skatolia tai androstenonia.

Työn alkaessa tavoitteena oli tutkia eri karjunrasvanäytteistä, löytyykö niistä skatolia tai androstenonia. Tutkimusten edetessä huomattiin, etteivät näytteet haisseet aistinvaraisesti arvioituna voimakkaasti millekään. Mistä voitiin myös päätellä, että rasvanäytteet eivät välttämättä sisällä ei-toivottua karjun hajua. Tämän takia saatiin toimeksiantajalta skatolin ja androstenonin öljynäytteitä. Öljynäytteiden avulla saatiin varmistettua laitteen toimintakuntoa mittauksissa sekä tuntumaa mille rasvanäytteiden tulisi haista. Näiden öljynäytteiden avulla ymmärrettiin, kuinka tärkeä on säätää massaspektrometrille tarkempi moolimassa-alue, kun etsitään jotain tiettyä molekyyliyhdistettä. Öljynäytteiden tutkiminen haistamalla myös opetti lämmitystavan valikoimisessa. Kaasuliekillä tai sousvide-pussissa näytteen lämmittäminen ei ollut riittävää, vaan tarvittiin mikroaaltouunissa lämmitys, että näytteistä saatiin hajua irti.

Androstenonin moolimassa on suuri ja erilaisissa mittauksissa huomattiin, että SeAMK:n massaspektrometrin spektrikirjastossa ei ole näin suurilla moolimassoilla olevia yhdisteitä. Vaikka nimesin androstenonin moolimassan manuaalisesti spektrikirjastoon, jostain syystä laite ei kuitenkaan kyennyt nimeämään samalla moolimassalla olevaa spektriä kuin androstenoni on. Mitä suurempi voimakkuus spektrillä on, sitä tarkempi tulos. Androstenonipitoisuuksien ollessa hyvin pienet, ei tämä massaspektrometri voi niitä tunnistaa. Toisaalta

joissain mittauksissa moolimassa oli sama kuin androstenonilla, mutta silti laite ilmoitti: ei täsmävyyttä spektrikirjastoon.

Skatolin tunnistaminen onnistui useasta öljynäytteestä sekä immunokastroidusta karjunrasvanäytteestä. Kuitenkin laitteen toiminnan epävarmuudesta kertoo se, että esimerkiksi androstenoniöljynäytteen ei pitänyt sisältää skatolia ollenkaan, mutta laitteen massaspektrometrin mukaan näyte oli sataprosenttinen vastaavuus skatolille.

Tutkimuksen tulosten luotettavuutta lisäsi se, että etukäteen ei tiedetty mitkä numeronäytteet pitäisi haista. Aistinvaraisessa tutkimuksessa huomattiin, että haisevat näytteet pystyttiin löytämään erilleen muista näytteistä. Massaspektrometri ei kuitenkaan pystynyt todistamaan samaa tulosta. Esimeriksi näyte 173 ei pitänyt sisältää androstenonia ja skatolia lainkaan, mutta laitteen mukaan siinä oli androstenonin kanssa täysin samaa moolimassaa olevaa molekyyliyhdistettä. Laite ei kuitenkaan spektrikirjastossa kyennyt nimeämään androstenonia, joten tulokseen on syytä varautua epäilevästi. Aistinvaraisesti hajua kyseisestä näytteestä ei löydetty.

8.2 Tulosten hyödynnettävyys

Kirurgisesta kastreasiosta luopuminen tulee vaikuttamaan teurastamoiden ja alkutuottajien toimintatapoihin ja muutokset tulevat vaatimaan taloudellisia panostuksia. Eläinten hyvinvointilain tuomat muutokset tulevat vaikuttamaan siis merkittävästi. Kirurgisesta kastreasiosta luopuminen tulee vaikuttamaan siihen, että teurastamoiden on löydettävä keino erottaa haisevat karjut teuraserästä. On myös keksittävä keino, miten karjuhajulta haisevaa karjunlihaa voitaisiin hyödyntää teollisuudessa niin, ettei haisevasta ruhosta tule hävikkiä.

Teurastamossa haistamiseen tulee olla koulutettu henkilö, joka vaihtuu riittävän usein vuoron aikana. Haistaminen on raskasta ja esimerkiksi flunssa voi vaikuttaa haistamisen tulokseen heikentävästi tai jopa väärentävästi. Ihmisnä on tarkka ja teorian mukaan haistaminen on herkempää naisilla kuin miehillä, mutta siihen vaikuttavat myös mm. ihmisen ikä. Ihmisnä voi käyttää karjunhajun haistamiseen, mutta aistinvaraisen tutkimuksen lisäksi apuna on oltava nopea laite, joka vahvistaa tarkat pitoisuudet ruhoista. On siis tärkeää yhdistää aistinvarainen tutkimus sekä massaspektrometritutkimus. Teoria -osuudessa on

kerrottu skatolin ja androstenonin hajun raja-arvot sekä pitoisuudet. Teorian mukaan kokonaisista urosruhoista 5,5–56 % sisältää korkeaa yli 1,0 ppm androstenonipitoisuutta (Font i Furnols ym. 2020). Korkeaa yli 0,20 ppm skatolipitoisuutta puolestaan on 6,6–34,0 % urosruhoista. Näistä havaitaan aistinvaraisessa arvioinnissa vain 0,0–17 %. Tämän teorian mukaan aistinvaraisesti ei kyettäisi löytämään kuin alle 17 % haisevia urosruhoja, jonka vuoksi laitteen tulisi kyetä tulkitsemaan tarkasti karjunhajua. Laitteen tulee olla sellainen, jolla voidaan mittausten perusteella hylätä tai hyväksyä karjunruho. Laitteen toiminta tulee olla nopeaa ja teurastamon ruhonkäsittely prosessiin sopiva. On huomioitavaa, että SeAMK:n massaspektrometrillä saatiin tietää vain, onko näytteissä skatolia tai androstenonia, mutta ei sitä kuinka paljon niitä näytteessä on.

Massaspektrometriin kannattaa ehdottomasti panostaa ja selvittää, mikä on nopein tapa analysoida haisevia ruhoja. Opinnäytetyössä huomattiin, että massaspektrometrilaitteen tekniikka on nopea. Hitainta prosessissa on näytteen valmisteleminen tutkimukseen. Opinnäytetyössä käyttämäni tekniikat eivät ole sellaisia, joita voitaisiin toteuttaa teuraslinjalla. Näytteille on oltava helpompi tapa saada ne höyrystymään riittävästi, jotta haisevat yhdisteet saadaan tunnistettua massaspektrometrillä. Siksi näytteiden kuumentaminen on oltava nopeaa ja tehokasta sekä näytteiden tutkimukseen käytettävä astia tai mitta-anturi on oltava tarkoituksenmukainen.

8.3 Pohdinta

SeAMK:n massaspektrometri on vanha ja sitä ei ole huollettu vuosiin. Laitteen detektoria ei ole vaihdettu koskaan. Ohjekirjan sekä laitteenvalmistajan mukaan detektori tulisi vaihtaa kahden vuoden välein. Laitteenvalmistaja myös sanoi yhteydenoton yhteydessä, että massaspektrometrin vakuumpumpun öljyt olisi syytä vaihtaa. Tutkimuksen aikana selvisi useita huoltotoimenpideoita, mitä massaspektrometrille pitäisi tehdä, ennen mittauksia. Taloudellisten syitten takia näitä toimenpiteitä ei voitu suorittaa ennen mittauksia. Näiden huoltotoimien laiminlyönnin takia oli tiedossa, että saadut mittaustulokset eivät välttämättä ole luotettavia.

Kyseisellä massaspektrometrillä ei ole tutkittu aikaisemmin kiinteitä aineita, joten esimerkiksi näytteen syöttöjärjestelmä piti suunnitella ja toteuttaa itse. Tekemäni näyteastia oli

lasinen, jossa päällä oli tiivistetty muovikansi. Muovikanteen tein reiät heliumille ja massaspektrometrin mitta-anturille. Tekemäni näyteastia vuoti heliumia, vaikka sitä pyrin parhaani mukaan tilkitsemään teipillä. Jatkossa mielestäni seuraava karjunhajua käsittelevä tutkimus on hyvä tehdä täysin toimivalla huolletulla laitteella ja käyttäen tarkoituksen mukaisia näyteastioita.

Heliumin syötössä havaittiin myös ongelmia mittauksissa. Ohjeiden mukaan massaspektrometrillä tulisi käyttää paineilmaa heliumin lisäksi näytteiden kuljettamisessa detektorille. Käytin tutkimuksessa vain heliumia, koska mielestäni ilma sotkee järjestelmän puhtauden. Paineilman lisääminen laitteistoon ei myöskään kokeilussa onnistunut, koska laitteen moninäytesyöttötukki ei toiminut halutulla tavalla. Moninäytesyöttötukki puhalsi ilmaa ja heliumia sekaisin vääristä porteista, jonka vuoksi päätin olla käyttämättä moninäytesyöttöä. Mikäli näyte olisi ollut kaasumainen ja olisi ollut mahdollista käyttää kaikkia kalibrointiin tarvittavia kaasuja ohjeiden mukaan, olisi luultavasti moninäytesyöttötukilla saatu tehtyä mittauksia.

SeAMK:n massaspektrometri antoi useassa mittauksessa erilaisia toisistaan poikkeavia tuloksia. Tähän on varmasti huoltotoimenpiteiden laiminlyönti yhtenä syynä, mutta myös käyttäjän tietämättömyys kyseisen laitteen suorituskyvystä ja tulosten tulkinnasta. Kuten teoriaosassa Ketola ym. (2021, s. 11) kertoivat, tulosten luotettava tulkitseminen on mahdollonta, jos mittaja ei ymmärrä mitä massaspektrometristä saadut tulokset kertovat.

Viimeisessä ajossa olisi ehdottomasti pitänyt laite kalibroida, koska järjestelmä jumiutui useaan otteeseen ajon aikana. Kalibrointia ei voitu suorittaa, koska helium oli lopussa. Heliumia jouduttiin säätelemään viimeisten ajojen aikana paljon, että se ei loppuisi kesken. Tulosten analysointi oli myös haastavaa, koska spektrikirjastosta sai vain prosentit molekyyliyhdisteen moolimassasta. Prosentit kertovat mielestäni sen, paljonko sillä hetkellä spektripyyhkäisyssä on kyseistä molekyyliyhdistettä. Laitteelta ei saatu tietää moolimassojen pitoisuuksia näytteessä.

Teorian mukaan karjunhajun määrissä on yksilökohtaisia eroja. Karjunhajuun vaikuttaa moni asia kuten karjun ikä, paino ja rotu. Tutkimukseni perusteella yhdestäkään rasvanäytteestä ei löydetty aistinvaraisesti karjunhajua. Rasvanäytteissä oli tieto, että karjut ovat

painaneet yli 90 kg, mikä vahvistaa karjujen olevan riittävän kokoisia "haisemaan". Massaspektrometri löysi vastaavuuden skatolin moolimassalle immunokastroidusta rasvanäytteestä, mikä on kuitenkin tuloksena kyseenalainen. Teoriaosassa kerrottiin, että immunkastraatio ei välttämättä täysin poista skatolin ja androstenonin hajua karjusta.

Massaspektrometri on herkkä laite, joka vaatii laitteelta kestävyyttä, korkeatasoista huoltoa ja ylläpitoa ennen, kun sillä voidaan saada luotettavia tuloksia aikaiseksi. Laitteelle suoritettiin ajojen alussa kalibroinnit, mutta viimeisillä kalibroitikerroilla laitteen helium oli vain alle 80 %. Näyteajojen ensimmäisellä kerralla se oli jopa 98 %. Tämä nähdäkseni kertoi sen, että joko näytteen syöttöön pääsi jostain vuotamaan ylimääräistä happea tai sitten heliumin loppuminen näkyi kalibroinnin tuloksessa. Heliumin tehtävänä tutkimuksessa on tärkeä, koska se kuljettaa näytteestä muodostuneita kaasuja massaspektrometrin detektorille.

Näytteiden tutkimista uudelleen olisi ollut tärkeää jatkaa, jotta saatuja tuloksia olisin voinut vertailla paremmin keskenään. Näin ollen olisi saatu enemmän dataa laitteen toimintakyvystä ja esimerkiksi skatolipitoisuuden esiintymisestä näytteissä. Laitteen toimintakyky ja kaasun loppuminen huomioiden, tutkimuksen jatkaminen ei kuitenkaan olisi ollut enää kannattavaa. Tutkimusta olisi voitu jatkaa myös käyttämällä kaasuna vetyä, mutta tämä olisi edellyttänyt laajempaa selvitystä vedyn ja heliumin käyttöeroista työn kannalta. Laite olisi myös ennen uusia mittauksia pitänyt huoltaa perusteellisesti.

Käytin opinnäytetyössä paljon eri lähteitä. Aiheesta on tehty useita tieteellisiä kirjoituksia, jonka perusteella aiheen tutkiminen oli tietorikasta. Käytin työssä myös vanhempaa teosta, Xue (1997), koska monet tuoreemmat tutkimukset perustuivat siihen. Siksi päätin hyödyntää tätä alkuperäistä lähdettä teoriaosassa. Teoriaa on käsitelty työssä laajasti ja osin syvällisesti, opinnäytetyön tekijän halusta tutustua ennalta täysin vieraaseen aiheeseen.

LÄHTEET

- Aho, J., Koponen, M., Pasto, M-P., & Stalder, S. (2022). *Monipuolinen elintarvikeala. Elintarvikkeiden valmistus ja tuotanto*. (4. p.) Opetushallitus.
- Aluwé, M., Millet, S., Bekaert, K., Tuytens, F., Vanhaecke, L., De Smet, S., & De Brabander, D. (5.6.2011). *Influence of breed and slaughter weight on boar taint prevalence in entire male pigs*. National center for biotechnology information (NCBI). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22440181/>
- Atriatuottajat. (i.a.-a). *Atrian alkutuotanto tuottaa maailman puhtainta ja parasta lihaa*. https://www.atriatuottajat.fi/?gad_source=1&gclid=Cj0KCQjwxeyxBhC7ARIsAC7dS3_Gnr2UKiSvNbdFQtYlehBU-W7UGaZudiufF1iR45r9r-k7Uz5Gfd4aAtsnEALw_wcB
- Atriatuottajat. (i.a.-b). *H7A-Ahaa -reaktio*. <https://www.atriatuottajat.fi/globalassets/alkutuotanto/hankkeet/liitteet-ja-tiedostot/sika-tuotantomanuaalit/siemennysosaston-tuotantomanuaalikortit/h7a-ahaa--reaktio.pdf>
- Atria. (2023). Vuosikertomus 2023. https://www.atria.com/globalassets/atria.com/sijoittajat/taloustieto/vuosikertomukset/2023-tuo-tanne-uudet/atria-vuosikertomus-2023_.pdf
- Atria. (2024). *Kansainvälinen Atria*. <https://www.atria.com/tietoa-atriasta/liiketoiminta-alueet/>
- Borggaard, C., Birkler, R., Meinert, L., & StØier, S. (2017). *At- line rapid instrumental method for measuring the boar taint components androstenone and skatole in pork fat*. Danish technological institute (DTI). <https://www.dti.dk/services/chemical-analyses-of-boar-taint/45205>
- Burgeon, C., Markey, A., Debliquy, M., Lahem, D., Rodriguez, J., Ly, A., & Fauconnier, M-L. (2021). *Comprehensive spme-gc-ms analysis of voc profiles obtained following high-temperature heating of pork back fat with varying boar taint intensities*. Multidisciplinary digital publishing institute (MDPI). <https://www.mdpi.com/2304-8158/10/6/1311>
- Danish technological institute (DTI). (i.a.). *Boar taint odour and flavour, human nose*. <https://www.dti.dk/specialists/boar-taint-odour-and-flavour/39307>
- Eläinten hyvinvointilaki 693/2023. <https://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2023/20230693>
- Eläintieto. (i.a.). Sika tuotantoeläimenä. Eläinten hyvinvointikeskus (EHK). <https://www.elaintieto.fi/sika/sika-tuotantoelaimena/>

European medicines agency (EMA). (2022). *Improvac*.

<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/veterinary/EPAR/improvac>

Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus (854/2004). Asetus ihmisravinnoksi tarkoitettujen eläinperäisten tuotteiden virallisen valvonnan järjestämisen tiedoista.

[https://eur-](https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:C:2011:243:0005:0011:EN:PDF)

[lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:C:2011:243:0005:0011:EN:PDF](https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:C:2011:243:0005:0011:EN:PDF)

Font i Furnols, M., Martin-Bernal, R., Aluwé, M., Bonneau, M., Haugen, J-E., Mörlein, D., Mörlein, J., Panella-Riera, N., & Škarlep, M. (2020). *Feasibility of on/at line methods to determine boar taint and boar taint compounds: an overview*. Multidisciplinary digital publishing institute (MDPI). <https://www.mdpi.com/2076-2615/10/10/1886>

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

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

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

Helsingin yliopisto. (i.a.). *Aistinvarainen laatututkimus-ajankohtaista opetuksessa ja tutkimuksessa Helsingin yliopistolla*.

<https://blogs.helsinki.fi/aistitutkimus/ajankohtaista/laboratorio/>

Heyrman. (29.9. 2020). *Feasible business strategies to reduce boar taint*. Flanders research institute for agriculture, fisheries and food (ILVO).

<https://ilvo.vlaanderen.be/en/news/haalbare-bedrijfsstrategie%C3%ABn-om-berengerte-reduceren>

Jaarinen, S., & Niiranen, J. (2008). *Laboratorion analyysitekniikka* (5–6 painos). Edita Prima.

Ketola, R., Kostiainen, R., Kotiaho, T., & Vainiotalo, P. (2021). *Massaspektrometrian perusteet*. Suomen massaspektrometrian seura ry.

Kotieläinten terveydenhoitolehti (Kmvvet). (2023). *Mitä karjujen kasvatus lihasiaksi tarkoittaa?* <https://kmvet.fi/mita-karjujen-kasvatus-lihasiaksi-tarkoittaa/>

Kupsala, S. (17.10.2023). *Porsaiden kirurgisen kastraation kieltö haastaa muutokseen*. Eläinsuojeluasiamies. <https://www.elainsuojeluasiamies.fi/2023/10/17/porsaiden-kirurgisen-kastraation-kieltö-haastaa-muutokseen/>

Lehtiniemi, K., Turpeenoja, L., & Vaskuri, J. (2004). *Mooli 2- lukion kemia: orgaanisen kemian perusteet*. (1–3. p.) Otava.

Lihatiedotus. (i.a.). Alkutuotanto. <https://www.lihatiedotus.fi/tilalta-kauppaan/alkutuotanto.html>

Lundström, K., Matthews, K.R., & Haugen, J-E. (2009). Pig meat quality from entire males. ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751731109990693>

Luonnonvarakeskus (Luke). (i.a.). *Lihantuotanto vuosittain, teurastukset teurastamoissa*. https://statdb.luke.fi/PxWeb/pxweb/fi/LUKE/LUKE_02%20Maatalous_04%20Tuotanto_06%20Lihantuotanto_04%20Vuositilastot/02_Lihantuotanto_teurastamoissa_v.px/table/tableViewLayout2/

Lyly, A., Wikstén, J., & Lundberg, M. (2022). *Hajuaistin arvoitukset*. Aikakauskirja Duodecim. <https://www.duodecimlehti.fi/duo16980>

Maa- ja metsätalousministeriö (MMM). (2023). *Porsaiden kirurgisesta kastratiosta luopumista valmistelevan työryhmän loppuraportti*. https://julkaisut.valtioneuvosto.fi/bitstream/handle/10024/165073/MMM_2023_16.pdf

National Institutes of health (NIH). (i.a.-a). *Androstenone*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/androstenone>

National Institutes of health (NIH). (i.a.-b). *Skatole*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Skatole>

Nieminen, A. (6.4.2023). *Pitkään valmisteltu laki eläinten hyvinvoinnista hyväksyttiin*. Kmvvet. <https://kmvet.fi/pitkaan-valmisteltu-laki-elainten-hyvinvoinnista-hyvaksyttiin/>

Nieminen, A. (2/2019). *Ollikkalan sikatilalla otettiin käyttöön karjuporsaiden immunokastratio*. Kmvvet. <https://kmvet.fi/ollikkalan-sikatilalla-otettiin-kayttoon-karjuporsaiden-immunokastratio/>

Peltoniemi, O. (23.9.2015). *Tuotantoeläinten hyvinvoinnin neuvottelukunnan kokous 29, 4/2015*. https://mmm.fi/documents/1410837/1982758/TEHVNK_PK_4_2015.pdf/b049e3da-d66f-4371-a884-53b5c610582e/TEHVNK_PK_4_2015.pdf?t=1475844587000

Science History Institute. (2024). *Joosef John “J.J.” Thomson*. Science History Institute, Museum & library. <https://www.sciencehistory.org/education/scientific-biographies/joseph-john-j-j-thomson/>

Sikatieto. (2020). *Sikarodut*. <http://sikatieto.sey.fi/suomen-siat-ja-sikalat/sikarodut.html>

Tuominen, M. (i.a.). *Aistinvarainen arviointi todentaa paitsi turvallisuutta, toimii myös työkaluna ongelmanratkaisussa*. Eurofins. <https://www.eurofins.fi/expertservices/ajankohtaista/uutiset/aistinvarainen-arviointi-todentaa-paitsi-turvallisuutta-toimii-myoes-tyoekaluna-ongelmanratkaisussa/>

- Verplanken, K., Stead, S., Jandova, R., Van Poucke, C., Clareboundt, J., Bussche, J., De Saeger, S., Takats, Z., Wauters, J., & Vanhaecke, L. (1. 7. 2017). Rapid evaporative ionization mass spectrometry for high-throughput screening in food analysis: The case of boar taint. *Science Direct*, 169, 30–36. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.03.056>
- Virta, J. (2011). *Kastraation vaihtoehdot: Immunokastaation vaikutus kasvuun ja rehunkulutukseen*. Helsingin yliopisto, eläinlääketieteellinen tiedekunta. <https://helda.helsinki.fi/server/api/core/bitstreams/152d96f4-670f-42a5-8d3c-5707e04a4f95/content>
- Voutila. (2013). Immunologinen kastraatio- vaikutukset tuotantotuloksiin, https://jukuri.luke.fi/bitstream/handle/10024/481928/Fincas_1_Voutila.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Xue, J., (1997). Raising intact male pigs for meat: Detecting and preventing boar taint. *Swine health and production*- volume 5, number 4. (the official journal of the American association of swine practitioners) <https://www.aasv.org/shap/issues/v5n4/v5n4p151.pdf>
- Yleisradio. (10.4.2012). Moni sika saa jatkossa kipulääkkeen kastraatiossa. <https://yle.fi/a/3-5438361>