

ISSN 0355-1880

HELSINGIN YLIOPISTO

Elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos

EKT-sarja 1520

**DEMI-GLACE-KASTIKEPOHJAN VALMISTUKSEN OPTIMOINTI
YLIPAINKEITTOMENETELMÄLLE**

Johanna Rotikko

Helsinki 2011

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Maatalous-metsätieteellinen		Laitos — Institution — Department Elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos	
Tekijä — Författare — Author Johanna Rotikko			
Työn nimi — Arbetets titel — Title Demi-glance-kastikepohjan valmistuksen optimointi ylipainekeittomenetelmälle			
Oppiaine — Läroämne — Subject Elintarviketeknologia (lihateknologia)			
Työn laji — Arbetets art — Level Maisterin tutkielma		Aika — Datum — Month and year Elokuu 2011	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 57
Tiivistelmä — Referat — Abstract Tämän tutkimuksen kirjallisuusosan tavoitteena oli selvittää perinteisen kastikepohjan valmistukseen ja valmistuksen kokonaisvaltaiseen onnistumiseen vaikuttavia seikkoja. Lisäksi käsiteltiin kastikepohjan valmistukseen liittyviä ympäristö- ja energia-asioita, kuten eläinperäisten sivutuotteiden kierrätysmahdollisuuksia. Kokeellisessa osassa tutkimuksen keskeinen lähtökohta oli pyrkiä löytämään ratkaisu ylipainekeittomenetelmään liittyvään kastikepohjan liemiaineksen sameutumisongelmaan. Tutkimuksessa haluttiin löytää syyt sameuden muodostumiseen luiden painekeitossa (max. 1,5 bar). Näin pyrittiin selvittämään keinot sameuden syntymisen estämiseen tai tuotteesta poistamiseen. Ratkaisua etsittiin sekä keittoaika-paine-kombinaatiosta että proteolyyttisen entsyymivalmisteen käytöstä. Tavoitteena oli ulkonäöltään kirkas ja kuiva-ainepitoisuudeltaan mahdollisimman korkea nautanmakuinen demi-glance-kastikepohjaliemi. Liemiaineksista tarkasteltiin kuiva-aine-, kokonaisproteiini- ja sidekudosproteiinipitoisuuksia, pH-arvoja sekä sameutta, ja vertailtiin näitä tuloksia käytettyihin valmistusmenetelmiin ja -olosuhteisiin. Lisäksi otettiin selvää lämmöntalteenoton parantamis-mahdollisuuksista. Tutkimuksessa valmistetun kastikepohjaliemen kuiva-aine koostui pääasiassa proteiineista. Liemen valmistuksessa suuremmalla paineella päästiin hieman nopeammin samoihin kuiva-ainepitoisuuksiin kuin matalammalla paineella. Samoin tapahtui entsyymiä käytettäessä kuin käyttämättä jätettäessä. Tämän tutkimuksen perusteella korkeaa kuiva-ainepitoisuutta tavoiteltaessa kastikepohjaliemen valmistuksessa on valittava korkean sidekudosproteiinin tai sameuden väliiltä. Ylipainekeitolla luista saatiin irti lähes pelkästään sidekudosproteiinia, koska luuta kuumennettaessa vain kollageeni liukeni veteen muiden proteiinien saostuessa. Lämmöntalteenottojärjestelmien rakentaminen pieneen elintarviketeollisuusyritykseen voi olla kannattamatonta, koska investointikustannuksia ei välttämättä pystytä maksamaan takaisin. Energiat ehokkuuden parantaminen pienessä elintarviketeollisuus-yrityksessä on haastavaa, mutta kuitenkin mahdollista ammattilaisten tekemien tarkkojen laskelmien ja arviointien avulla.			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords Kastikepohja, ylipainekeitto, demi-glance, lihaliemi, luiden proteiinien hydrolysointi, proteolyyttinen entsyymi, kollageeni, sameus, lämmöntalteenotto			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited Viikin tiedekirjasto			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information EKT-sarja 1520			

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Faculty of Agriculture and Forestry		Laitos — Institution — Department Department of Food and Environmental Sciences	
Tekijä — Författare — Author Johanna Rotikko			
Työn nimi — Arbetets titel — Title Optimising demi-glace sauce base production for the pressure cooking method			
Oppiaine — Läroämne — Subject Food Technology (Meat Technology)			
Työn laji — Arbetets art — Level M. Sc. Thesis		Aika — Datum — Month and year August 2011	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 57
Tiivistelmä — Referat — Abstract <p>The literature review dealt with the production of, and factors affecting the optimal processing of, traditional sauce base. Aspects of manufacturing relating to recycling and energy, such as recycling of animal by-products, were also discussed.</p> <p>The aim of the experimental work was to find a solution for the problem related to the opacity of the meat stock caused by a pressure cooking method. The key aim was to find the causes of opacity when the bones were pressure cooked (up to 1.5 bar) and to identify a method to prevent the occurrence of turbidity. Different cooking times, pressures and proteolytic enzyme combinations were evaluated during experimental studies. The goal was to obtain a beef-flavoured demi-glace sauce base broth with a bright appearance and as high a dry matter content as possible. Dry matter, total protein and connective tissue protein concentrations, pH and turbidity values were evaluated when comparing the results of the manufacturing methods and conditions. In addition, potential methods to improve the heat recovery systems were investigated.</p> <p>The dry matter of the broth consisted mainly of proteins. There was slightly faster increase in dry matter concentration at higher pressure than lower pressure. Addition of the proteolytic enzyme had the same effect. Based on this study the broth manufacturer must choose between a high gelatin content and turbidity when pursuing high dry matter content. The dry matter hydrolysed from bones by pressure cooking was almost exclusively collagen. Collagen dissolved in water while the rest of the bone proteins precipitated when heated. The construction of the heat recovery system in a small food processing company may be unprofitable. Improving energy efficiency in a small food company is challenging but possible if professionals accurately evaluate the conditions.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords Sauce base, pressure cooking, demi-glace, meat stock, bone protein hydrolysis, proteolytic enzyme, collagen, opacity, heat recovery			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited Viikki Science Library			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information EKT-series 1520			

ESIPUHE

Tämä tutkimus on Helsingin yliopiston elintarvike- ja ympäristötieteiden laitokselle tehtävä maisterin tutkielma lihateknologian pääainesuunnasta. Tutkielman valvojana toimi professori Eero Puolanne ja ohjaajana ETM Markku Kimmo.

Tutkimuksen aloitteentekijänä ja rahoittajana oli Kaslink Foods Oy Kouvolasta. Tutkimuksen kokeellinen osa tehtiin Helsingin Viikissä, elintarviketeknologian laboratoriotiloissa kevätlukukauden 2011 aikana.

Suurimmat kiitokseni haluan esittää tutkielman tekoani auttaneille tahoille. Kiitokseni kuuluvat professori Eero Puolanteelle, Markku Kimmolle, Timo Holopaiselle, Marita Ruususelle, Tuovi Mustakankaalle, Marjut Wallnerille, Janne Hirvoselle, Satu Sihvolalle ja Jukka Alaselle. Haluan lämpimästi kiittää myös opiskeluaikanani minua vankasti tukeneita vanhempiani, siskoani, puolisoani ja lähimpiä ystäviäni. Kiitokseni osoitan erityisesti myös kurssikaverilleni, ystävälleni Sanna Taipaleelle.

Helsingissä elokuun 11. päivänä 2011

Johanna Rotikko

SISÄLLYSLUETTELO

TIIVISTELMÄ	2
ABSTRACT	3
ESIPUHE	4
1 JOHDANTO	7
2 KIRJALLISUUSKATSAUS: KASTIKEPOHJAN VALMISTUKSEN OPTIMOINTI	10
2.1 Kastikepohjan valmistus	10
2.1.1 Kastikkeiden syntyhistoria	10
2.1.2 Fysikaaliset ja kemialliset tapahtumat	11
2.1.3 Raaka-aineet	13
2.1.4 Entsyymien käyttö luiden hydrolysoinnissa	16
2.2 Ylipainekeittomenetelmä	17
2.3 Saanto	18
2.3.1 Valmistusmenetelmä	18
2.3.2 Raaka-aineet	19
2.3.3 Partikkelikoko	20
2.4 Kastikkeiden aistinvaraiset ominaisuudet	21
2.5 Hiilijalanjälki	21
2.5.1 Konsentroidi	21
2.5.2 Lämmöntalteenotto	22
2.5.3 Sivutuotteiden kierrätys	24
3 KOKEELLINEN TUTKIMUS	29
3.1 Tausta ja tavoitteet	29
3.1.1 pH:n vaikutus sameuteen	29
3.1.2 Kuiva-ainepitoisuus	30
3.1.3 Lämmöntalteenoton parantaminen	30
3.2 Materiaalit ja menetelmät	30
3.2.1 Kastikepohjan valmistus ylipainekeittomenetelmällä	30
3.2.2 Ensimmäinen koesarja	32
3.2.3 Toinen koesarja	33
3.2.4 Kuiva-ainepitoisuuden määrittäminen	35
3.3.5 Sameuden mittaaminen	35
3.3.6 Sidekudosproteiinin määrittäminen	36
3.3.7 Raakaproteiinipitoisuuden määrittäminen	37

3.3.8 Lämmöntalteenoton kustannukset	39
3.3 Tulokset	39
3.3.1 1,3 ja 1,5 bar:n painekeitto	39
3.3.2 Ermitaasi-entsyymikäsittely ja painekeitto	41
3.3.3 Liemiaineksen sameus ja pH	42
3.3.4 Lämmöntalteenoton parantaminen	43
3.4 Pohdinta	44
4 PÄÄTELMÄT	47
LÄHDELUETTELO	48
LIITTEET	51
Liite 1. Kaslink Foods Oy:n avokattila- ja painekattilamenetelmillä tuotettujen nauta demi-glance-kastikepohjien määrittystulokset.	51
Liite 2. 0,3 bar:n ylipaineessa (107,6 °C:ssa) keitettyjen liemiainesten määrittystulokset.	52
Liite 3. 0,5 bar:n ylipaineessa (112,0 °C:ssa) keitettyjen liemiainesten määrittystulokset.	53
Liite 4. Ermitaasi-entsyymikäsiteltyjen liemiainesten määrittystulokset	54
Liite 5. Sameuden määrittäminen spektrofotometrillä (esikokeet).	55
Liite 6. Koesarjoissa valmistettujen liemiainesten sameuden mittaustulokset spektrofotometrillä.	56
Liite 7. Koesarjoissa valmistettujen liemiainesten pH-arvot.	57

1 JOHDANTO

Ranskalaisia kulinarismi- ja kastikeperinteiden kunnioituksen tähden jokaisen kastikkeen pohjana (ransk. foundation, engl. fonds) tulisi olla tuoreista raaka-aineista keitetty liemi. Kulinaristien filosofian mukaan kastikkeen liemipohja on oleellinen osa onnistunutta kastiketta. Kastikkeiden aito ja herkullinen maku, jota ei voida keinotekoisesti korvata, saadaan vain paahdettuja luita ja kasviksia pitkään hauduttamalla. Valmiskastikepohjien tarkoituksena on helpottaa keittiötyön määrää. Ne vähentävät niin yksityis- kuin suurtalouskeittiöissä ruoanvalmistukseen kuluvaa aikaa useilla tunneilla. Valmiskastikepohja voidaan maustaa ja suurustaa ateriaan sopivaksi.

Kastikkeiden kemialliset ja fysikaaliset ominaisuudet sekä niiltä vaaditut ominaispiirteet ovat kautta aikojen kuitenkin hankaloittaneet kastikkeen valmistusta. Kastikkeiden tulisi koostua pienijakoisista hiukkasista tai pisaroista, jotka ovat homogeenisesti jakautuneina nesteeseen sekaan. Kastikkeiden aistinvaraisilta ominaisuuksilta halutaan erityisesti täyteläisyyttä, tiivistettyä makua ja läpikuultavaa kirkkautta. Kyseisiä kolloidiliuoksia pyritään valmistamaan uuttamalla raaka-aineista kaikki vesiliukoinen materiaali niin kutsutuksi liemipohjaksi. Liemipohja voidaan valmistaa kastikkeeksi käyttötarkoituksen mukaan tai se voidaan keittää kasaan eli konsentroida (Pearson 1993).

Kastikepohjat on perinteisesti valmistettu menetelmillä, joissa hyödynnetään veden kiehumista ja höyrystymistä. Veden ominaislämpökapasiteetti on suuri (4,182 kJ/(K*kg)), ja näin ollen sitoutunut lämpö leviää tehokkaasti konvektion avulla. Toisaalta puhtaan veden kiehumispiste on 100 °C yhden ilmakehän paineessa (1,0132 bar), ja sen höyrystyminen vaatii paljon energiaa. Ylipainekeittimet hyödyntävät veden kiehuessa syntyvää höyryä paineen muodostamiseen suljetussa ympäristössä (Ramesh 2008). Suljetussa systeemissä veden kiehumislämpötila nousee paineen kasvaessa. Kastikepohjaliemen lämpötila ei kuitenkaan nouse veden kiehumispistettä korkeammalle.

Kuumennus vaikuttaa monin tavoin tuotteen ominaisuuksiin. Kuumentamalla pyritään parantamaan tuotteen aistinvaraisia ominaisuuksia, ravintoarvoa,

säilyvyyttä ja turvallisuutta (Ramesh 2008). Veden kiehumispiste sopii hyvin luiden valmistukseen, koska ne sisältävät lihaan verrattuna paljon sidekudosta. Luussa on kuiva-ainetta n. 75-95 %, josta n. 35 % on orgaanista ja n. 65 % epäorgaanista ainesta. Orgaaninen aines taas on lähes kokonaan (n. 90 %) I-tyyppin kollageenia, joka veteen liuetessaan muuttuu gelatiiniksi. Luusta liukeneva kollageeni koostuu suureksi osaksi glysiini-, proliini- ja hydroksiprolini-aminohapoista. Gelatiinin aminohappokoostumus on erittäin hydrofiilinen. Siinä on paljon polaarisia ryhmiä ja kollageenille tyypillisiä joko proliini- tai hydroksiprolinisisidoksia, joiden läheisyyteen vesimolekyylit helposti asettuvat.

Proteiinien erilaiset aminohapot poikkeavat toisistaan kemiallisen reaktiivisuuden, polaarisuuden, varauksen ja funktionaalisten ryhmien suhteen (Warthesen ja Muehlenkamp 1997). Denaturoituminen on ulkopuolisen energian aiheuttamaa aminohappojen koossa pitävien voimien (tertiääri- ja kvaternäärirakenteen) hajoamista ja muuttumista. Myös aminohappojen välisissä sidoksissa voi tapahtua muutoksia. Proteiinin kolmiulotteisen rakenteen muuttuminen kuumennettaessa on irreversiibeli reaktio, jolloin proteiinin kemiallinen ja fysikaalinen luonne muuttuu pysyvästi. Kastikepohjan valmistuksessa huomioonotettavaa ovat erityisesti proteiinien liukoisuuden ja kemiallisen reaktiivisuuden mahdollinen muuttuminen. McGeen (1984) mukaan kastikkeen valmistuksen onnistumiseen vaikuttavatkin käytettävät raaka-aineet, kuumennustapa sekä fyysinen työ ja valmistajan kokemus.

Demi-glacen pääraaka-aineena on liha-kasvisliemi, joka valmistetaan keittämällä lihaisia luita, kasviksia, mausteita ja yrttejä. Demi-glace kastikepohjia ei suurusteta tärkkelyksen avulla, vaan kastikkeen hyytelömäisyys saadaan aikaan lihaisten luiden keittämällä. Kollageeni hydrolysoituu pitkään keitettäessä gelatiiniksi eli liivateeksi. Gelatiinin erityisiin ominaisuuksiin kuuluu juoksevuuden kasvu kuumennettaessa, kun taas jäähtyessään gelatiini jähmettää nesteen jopa geeliksi (Ockerman ja Hansen 2000).

Kastikepohjien valmistajan kannalta oleellista on, kuinka korkea kuiva-ainepitoisuus luita keittämällä voidaan saavuttaa. Liemipohjan kuiva-ainepitoisuuden tulisi olla mahdollisimman korkea, jotta saataisiin suurin mahdollinen tuotto. Valmistusmenetelmä on kuitenkin optimoitava ainakin

keittoaajan, raaka-aineiden, aistinvaraisten ominaisuuksien ja laadun suhteen. Tiedetään, että liemipohjan kuiva-ainepitoisuus kasvaa, jos keitettävistä luista saadaan liuotetuksi mahdollisimman paljon aminohappoja. Aminohappojen liukenemiseen, sen määrään ja nopeuteen, voidaan vaikuttaa proteolyttisten entsyymien avulla. Ne pilkkovat proteiineja purkaen aminohappojen välisiä peptidisidoksia. Ne parantavat proteiinien hydrolysointinopeutta ja vaikuttavat siihen, millaisiin osiin proteiinit pilkkoutuvat (Shahidi ym. 1995, Clemente 2000). Entsyymien toiminnan kannalta tärkeää ovat oikeat olosuhteet, koska niiden aktiivisuus on erittäin herkkä pH- ja lämpötilaolosuhteille.

Kastikepohjateollisuus hyödyntää tehokkaasti ja järkevästi niitä elintarviketeollisuuden eläinperäisiä osia, jotka muuten laskettaisiin lihateollisuuden jätteeksi. Kokonaisvaltainen ruhon hyödyntäminen nostaa ruhon arvoa, vähentää eläinproteiiniaineksen kasvatuksesta aiheutuvia ympäristövaikutuksia ja säästää jätteenkäsittelykuluissa (Ockerman ja Hansen 2000). Ihmisravinnoksi käyvien sivutuotteiden jatkojalostuksen mahdollisuuksiin vaikuttavat kuitenkin voimakkaasti tottumukset, kulttuuri ja uskonto.

Tämän tutkimuksen kirjallisuusosan tavoitteena on selvittää perinteisen kastikepohjan valmistukseen ja valmistuksen kokonaisvaltaiseen onnistumiseen vaikuttavia seikkoja. Tutkimuksen keskeinen lähtökohta oli pyrkiä löytämään ratkaisu ylipainekeittomenetelmään liittyvään kastikepohjan liemiaineksen sameutumisongelmaan. Tutkimuksessa pyrittiin selvittämään, miksi ja miten sameus syntyy luita keitettäessä. Näillä tiedoilla haluttiin välttää kastikepohjan valmistuksessa syntyvä tai tarvittaessa poistaa kastikepohjan valmistuksen aikana syntynyt sameus. Ratkaisua etsittiin erityisesti keittoaika-paine-kombinaatiosta. Kastikepohja-perinteitä kunnioittaen pyrittiin valmistamaan naudanmakuinen demi-glace-kastikepohja, joka olisi ollut ulkonäöltään kirkasta ja kuiva-ainepitoisuudeltaan mahdollisimman korkea. Yksityiskohtaisina tavoitteina oli selvittää pH:n vaikutus sameuteen, kuiva-ainepitoisuuteen vaikuttavat seikat, lämmöntalteenoton parantamis- ja sivutuotteiden kierrätysmahdollisuudet.

2 KIRJALLISUUSKATSAUS: KASTIKEPOHJAN VALMISTUKSEN OPTIMOINTI

2.1 Kastikepohjan valmistus

2.1.1 Kastikkeiden syntyhistoria

Kastikkeen tapaisten ruokien valmistusta tiedetään olleen Roomassa n. 500 eaa. näiltä ajoilta peräisin olevan Apicius-keittokirjan perusteella. Tuolloin kastikkeet toimittivat pikemminkin mausteen roolia. Vuosisatojen kuluessa Ranskassa muodostui vähitellen kastiketyyppi, joka valmistettiin lihasta ja siitä irtoavasta lihasnesteestä (ransk. *grané*, engl. *gravy*). Nykyinen vastine valmistetaan lihasta tulevasta nesteestä, jota suomenkielessä nimitetään paistinliemeksi tai paistinkastikkeeksi. Ranskan suuri vallankumous 1700- ja 1800-lukujen vaihteessa sai aikaan myös kulinariistista edistymistä. Sääty-yhteiskunnan hajotessa aatelistoperheiden yksityiset kokit menettivät toimeentulonsa ja joutuivat hankkimaan elantonsa täysin uudella tavalla. Näin syntyivät historian ensimmäiset ravintolat, ja moderninkaltainen käsitys kastikkeista alkoi muodostua.

1800-luvulla ranskalainen keittiömestari Marie-Antoine Carême nimesi ranskalaisen keittiön neljäksi pääkastikkeeksi ruskean espagnolen, sametinkaltaisen vaalean veloutén, vaalean kananmunasuusteisen allemanden ja vaalean maitopohjaisen béchamelin. Ranskalaisen keittiön menestystä pidetään sen kastikkeiden ansiona. 1900-luvun alussa ranskalainen keittiömestari Auguste Escoffier uudisti Carêmen luomia kastikeperheitä jakamalla ranskalaisen keittiön kastikkeet viiteen ryhmään. Espagnolen, veloutén, béchamelin rinnalle hän lisäsi tomaattipohjaiset tomate-kastikkeet ja emulsiotyypiset kastikkeet, kuten hollandaisen sekä majoneesin.

McGeen (1984) mukaan kastikkeen valmistuksen onnistumiseen vaikuttavat etenkin siihen käytettävät raaka-aineet, kuumennustapa sekä valmistajan kokemus ja fyysinen työ. Tunnetun ranskalaisen keittiömestarin Escoffierin mukaan kastikkeella tulee olla kolme ominaisuutta: haluttu maku, kiiltävä ulkomuoto ja rakenne, joka on pehmeä ja kevyt olematta kuitenkaan liian juokseva (McGee 1984). Kastikkeiden valmistusta on läpi aikojen pidetty vaivalloisena tehtävänä. Tämä johtuu kastikkeiden kemiallisista ja fysikaalisista piirteistä, jotka luovat omat haasteensa aistinvaraisesti nautinnollisen kastikkeen valmistamiselle.

Kastikkeiden ominaisuuksien syvempi ymmärtäminen kehittyi kolloidikemian syntymisen myötä vasta hieman ennen 1900-lukua. Kastikkeet ovat tyypillisesti kolloidiliuoksia, joissa pienijakoiset (halkaisijaltaan enintään 1000 nm) hiukkaset tai pisarat ovat homogeenisesti jakautuneina jatkuvaan faasiin.

2.1.2 Fysikaaliset ja kemialliset tapahtumat

Kypsentäminen on elintarvikkeiden valmistusprosessi, joka on harvoin ainoa osa tuotteen valmistusprosessia. Kuumennuksesta johtuen se vaikuttaa monin tavoin tuotteen ominaisuuksiin. Sen avulla pyritään parantamaan tuotteen aistinvaraisia ominaisuuksia (kuten makua, hajua, suutuntumaa ja ulkonäköä), ravitsemuksellisuutta, säilyvyyttä ja turvallisuutta (Ramesh 2008). Tuotteen kuumentaminen voidaan tehdä monin tavoin lukuisilla eri laitevaihtoehdoilla. Aihepiiriin liittyvissä julkaisuissa (Ramesh 2008) kuumentamistavat jaotellaan yleensä kuiviin menetelmiin (mm. paistaminen, paahtaminen, grillaaminen), kosteisiin menetelmiin (mm. keittäminen, hauduttaminen, höyryttäminen, painekeittäminen), rasvakeittämiseen sekä infrapunasäteillä ja mikroaaltouuneilla tehtäviin kuumennuksiin.

Kastikepohjan valmistuksessa on perinteisesti käytetty kosteita menetelmiä, joissa veden kiehuminen ja höyrystyminen ovat oleellisessa osassa tuotteen valmistusta. Näiden menetelmien merkittävin ominaisuus on niiden tehokkuuden sidonnaisuus veden kiehumispisteeseen, joka puhtaalla vedellä on 100 °C yhden ilmakehän paineessa (1,0132 bar). Näissä valmistusmenetelmissä kypsennyslämpötila pysyy matalana, koska se ei siis nouse veden kiehumispistettä ylemmäksi niin kauan kun on vettä, joka voi höyrystyä.

Keittäminen on melko nopea kypsennysmenetelmä, koska vedellä on suuri ominaislämpökapasiteetti (4,182 kJ/(K*kg)) ja koska siihen sitoutunut lämpö leviää tehokkaasti konvektion avulla. Toisaalta veden höyrystyminen vaatii paljon energiaa. Veden ominais-höyrystymislämpö on 2,26 MJ/kg eli 40,8 kJ/mol yhden ilmakehän paineessa. Veden höyrystymislämpö muuttuu paineen muuttuessa siten, että mitä korkeampi paine ja lämpötila ovat, sitä pienempi höyrystymislämpö on. Näin ollen kriittisessä pisteessä höyrystymislämpö on nolla (vedellä 374 °C ja

221 bar). Keittonopeuteen vaikuttaa myös lämmönsiirtokerroin (α), joka kuvaa, miten tehokkaasti lämpö siirtyy vedestä kiinteään aineeseen pinta-alaa kohti ($W/(m^2K)$).

Eläinlajista riippumatta yli 40 °C:een kuumennus yleensä sulattaa eläinperäisen rasvan. Sulamispiste riippuu eläinlajista; tyydyttyneiden ja tyydyttymättömien rasvahappojen suhteesta (Thippareddi ja Sanchez 2006). Proteiinien luonne riippuu taas aminohappoketjun pituudesta ja aminohappokoostumuksesta. Paahdetuista luista vesiliuokseen liukenee ilman entsyymien apua sidekudosproteiinia. Luusta liukeneva kollageeni koostuu suureksi osaksi glysiini-, proliini- ja hydroksiprolini-aminohapoista.

Aminohapot poikkeavat toisistaan kemiallisen reaktiivisuuden, polaarisuuden, varauksen ja funktionaalisten ryhmien suhteen (Warthesen ja Muehlenkamp 1997). Kun proteiinin kolmiulotteinen rakenne muuttuu eli proteiini denaturoituu, sen ominaisuudetkin muuttuvat palautumattomasti (irreversiibeli reaktio). Kyse on ulkopuolisen energian aiheuttamasta aminohappojen koossapitävien voimien ja aminohappojen välisten sidosten muuttumisesta, mikä vaikuttaa proteiinien liukoisuuteen ja kemialliseen reaktiivisuuteen. Denaturoituminen voi myös oleellisesti lisätä proteiinien välisten sidosten määrää. Denaturoituminen voi johtua useista syistä, kuten pH:sta ja suolasta, mutta yleisimmin kuitenkin kyse on lämpötilan muutoksen aiheuttamasta denaturoitumisesta. Lämpöherkkiä sidoksia ovat vety- ja di-sulfidididokset.

pH vaikuttaa aminohappojen sähköisesti varautuneisiin sivuketjuihin (Warthesen ja Muehlenkamp 1997; Sikorski 2007). Isoelektrisen pisteensä yläpuolella proteiini on negatiivisesti varautunut, kun taas isoelektrisen pisteensä alapuolella proteiinin varaus on positiivinen. Proteiinin isoelektrisessä pisteessä molekyyli on sähköisesti neutraali, jolloin proteiinimolekyylit saattavat sitoutua toisiinsa. Tämän seurauksena ne koaguloituvat, liuos saostuu ja niiden liukoisuus alenee. pH:n ja lämpötilan yhteisvaikutus saostumiseen voi olla suurempi kuin kummankaan yksinään. Esimerkiksi heraproteiini ei saostu liuoksessa, jonka pH on 4,6. Kun liuosta lämmitetään, heraproteiini denaturoituu pH 5:ssä (Warthesen ja Muehlenkamp 1997).

Lämpötilan ja pH:n muutoksen lisäksi myös se, kuinka nopeasti ne muuttuvat, vaikuttaa proteiinien denaturoitumiseen. Mitä hitaammin muutos tapahtuu, sitä enemmän proteiinirakenteella on aikaa avautua, jolloin proteiinien aminohapot muodostavat uusia sidoksia toistensa kanssa. Jos denaturoituminen tapahtuu nopeasti, proteiinikierre ei avaudu, jolloin uudet irreversiibelit sidokset muodostuvat proteiinin omien aminohappojen välille. Tämä on ei-toivottavaa mm. erilaisia proteiinigeelejä valmistettaessa (Venugopal 2006). Proteiinin herkkyys happamuudelle on seurausta ionisoituvien aminohappojen pitoisuudesta. Lisättäessä pH-herkkään proteiiniliuokseen jotakin happoa proteiinien karboksyyliyhmissä negatiivisten varausten määrä laskee ja proteiinien positiivinen nettovaraus kasvaa, jolloin molekyylien elektrostaattinen hylkiminen lisääntyy. Tämän on todettu vähentävän mm. kalan myofibrilliproteiiniliuoksen viskositeettia (Venugopal 2006).

2.1.3 Raaka-aineet

Kastikkeita on aina suurustettu eri tavoin mm. leivänmuruilla, mantelijauheella, jauhoilla ja kananmunilla. Ruoanlaitossa käytettävät lukuisat eri jauhot sisältävät tärkkelystä, johon niiden käyttö suurustamiseen perustuu. Erityiset suurustejauheet valmistetaan nykyisin puhtaasta tärkkelyksestä. Tärkkelysmolekyylit koostuvat tuhansista glukoosimolekyyleistä, joiden ketjun pituus on kasvikohtaista. Glukoosimolekyyliketjut ovat joko suoria (amyloosi) tai haarautuneita (amylopektiini). Riippuen ketjun pituudesta ne liukenevat veteen n. 60-70 °C:ssa, kun vedellä on ensin tarpeeksi lämpöenergiaa hajottaa tärkkelysjyvänen (McGee 1984).

Jyväsen hajottua tärkkelys ja vesi muodostavat amorfisen verkoston. Samalla kastike kirkastuu, kun glukoosimolekyyliketjut pääsevät kauemmaksi toisistaan. Tärkkelysmolekyylien turpoaminen eli vetysidoksien muodostuminen glukoosimolekyylien ja veden välille suurustaa kastikkeen, koska suuret molekyylit eivät pääse liikkumaan toistensa ohitse. Seoksen jäähtyttyä molekyylien liike-energia vähenee. Veden ja tärkkelyksen muodostama seos pysyy vetysidosten ansiosta. Koska liike vähenee, myös tärkkelysmolekyylit pystyvät jälleen muodostamaan aikaisemmin hajotettuja heikkoja sidoksia keskenään. Tärkkelysmolekyylien välisiin epäsuunnollisiin taskuihin jää vettä. Näin muodostuu

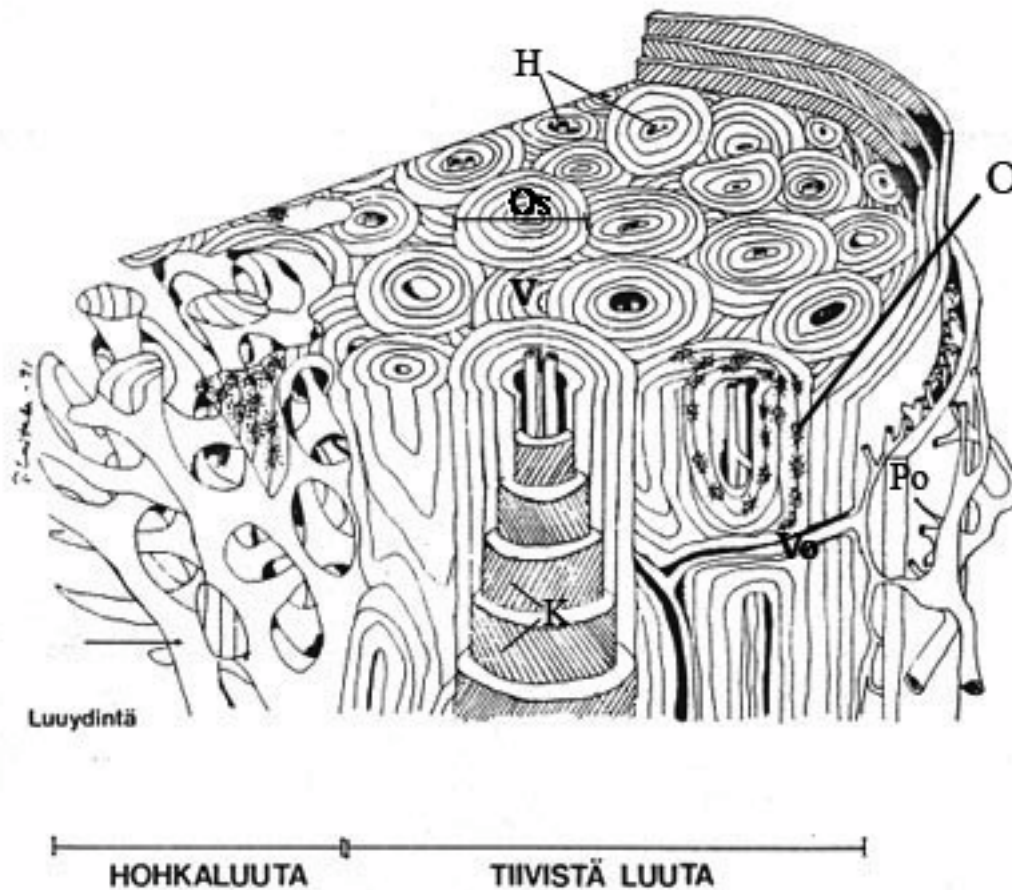
kestävä verkkorakenne eli geeli (McGee 1984).

Viime vuosikymmeninä perinteisten jauhosuurusteiden rinnalla on alettu käyttämään uudenlaisia suurustustapoja. Ruokamarkettien hyllyillä ovat yleistyneet ruoanlaittoon käytettävät kermit sekä erilaiset kuivat ja tuoreet kastikepohjat. Kastikepohjat valmistetaan liha- tai kasvisliemipohjia konsentroimalla, kunnes kastike sakenee tai kunnes jäljellä on vain kuiva-aine.

Demi-glace-kastikepohjia ei suurusteta tärkkelyksen avulla. Niiden pääraaka-aineena on liha-kasvisliemi, joka valmistetaan keittämällä lihaisia luita, kasviksia, mausteita ja yrttejä. Demi-glace-kastikkeiden hyytelömäisyys saadaan aikaan lihaisten luiden keittämällä, jolloin niissä olevassa kollageenissa alkaa tapahtua kemiallisia muutoksia. Kollageeni hydrolysoituu pitkään keitetessä gelatiiniksi eli liivatteeksi, joka jäähtyessään jähmettää nesteen jopa geeliksi.

Gelatiinin vaikutukset nesteessä ovat samankaltaisia kuin tärkkelyksellä. Erona on, että gelatiini on proteiini, jolla on erityinen aminohappokoostumus. Siinä on paljon polaarisia ryhmiä ja kollageenille tyypillisiä joko proliini- tai hydroksiproliinisidoksia, joihin vesimolekyylit helposti sitoutuvat. Gelatiini pystyykin sitomaan jopa satakertaisen määrän vettä omaan painoonsa nähden ollen näin hyvin tehokas ”suuruste” (McGee 1984). Nuoren eläimen luista saadaan enemmän gelatiinia kuin vanhan eläimen mineralisoituneista luista.

Luut ovat biokeraamista ainesta, joiden vesipitoisuus on n. 5-25 %. Niiden rakenne on hierarkkinen; ne koostuvat erilaisista kudoksetuksista (Freemont 1998, Tzaphlidou 2005, Olszta ym. 2007). Luukudos on elävää siinä missä lihaskin. Eri kerroksilla ja niiden mikrorakenteen koostumuksella on suuri merkitys luun mekaanisiin ominaisuuksiin. Luukudos jaetaan kahteen tyyppiin: rakenteeltaan sienimäiseen hohkaluuhun ja kovaan tiiviiseen luuhun (kuva 1). Tiivis luu antaa luulle sen kovuuden ja suojaa luun herkempiä sisäosia kuten hohkaluuta, jonka ontelot täyttävässä luuytimessä valmistuvat elimistön verisolut.



Kuva 1. Luun rakenne. Periosteum eli luukalvo (Po), Volkmanin (Vo) ja Haversin (H) kanavat, osteonit (Os), vanhojen osteonien jäänteitä (V), luulamellissa vinottaiset kollageenisäikeet (K) sekä osteosyytit eli kypsät luusolut (O). (Lähde: <http://www.solunetti.fi/fi/histologia/kaavakuva/>, 29.12.2010)

Kuiva-aineen osuus luun massasta on n. 75-95 %, josta n. 35 % on orgaanista ja n. 65 % epäorgaanista ainesta. Orgaaninen aines on pääosin (n. 90 %) I-typin kollageenia. Muita luun orgaanisia aineksia ovat luun väliaineen ei-kollageeniset proteiinit ja luusolut. Epäorgaaninen aines koostuu erilaisista mineraaleista, joista kalsium ja fosfori ottavat pääroolin hydroksiapatiittina ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). Luut sisältävät myös rasvaa, jolla on erityinen merkitys kastikkeen suutuntumaan. Hienojakoiset rasvapisarat tekevät kastikkeesta pehmeämmän ja kosteamman tuntuista (McGee 1984).

Kollageeni on tärkeä luun ekstrasellulaarinen aines niin elimistön fysiologian kuin luiden jatkojalostuksenkin kannalta. Luiden, kuten nisäkkäiden elimistönkin, kollageeni on pääosin tyypin I kollageenia. Kollageenin I-tyypille ovat ominaisia tietyt posttranslacionaaliset muutokset, kuten lysylhydroksylaasi, glykosylaasi ja

poikittaissidoksien muodostuminen. Tyypin I kollageeni koostuu säikeistä, jotka ovat järjestyneet suoraviivaisiin riveihin, joskin eri tavoin eri kudostyypeissä. Ihossa ne ovat rinnakkain ja yhdenmukaisemmin kuin luussa. Lisäksi luussa niitä on tiheämmässä kuin ihossa (Tzaphlidou 2005).

2.1.4 Entsyymien käyttö luiden hydrolysoinnissa

Proteolyttiset entsyymit pilkkovat valkuaisaineita purkaen aminohappojen välisiä peptididoksia. Niiden avulla voidaan vaikuttaa proteiinien hydrolysointinopeuteen ja siihen, millaisiin osiin proteiinit pilkkoutuvat (Shahidi ym. 1995, Clemente 2000). Proteolyttiset entsyymit jaetaan endopeptidaaseihin ja eksoproteaaseihin. Eksoproteaasien vaikutus on täsmällisempää kuin endopeptidaasien, koska ne hydrolysoivat aina reunimmaisena olevan aminohapon joko typen tai hiilen kohdalta. Näin ollen proteiinit pilkkoutuvat lopulta yksittäisiksi aminohapoiksi. Endopeptidaasit taas pureutuvat sattumanvaraisesti proteiinimolekyylin peptididoksiin, milloin lopputuloksena on erilaisia, suurehkoja peptidejä. Lopputuloksen koostumuksen ennustaminen tai selvittäminen on vaikeaa ja siihen vaikuttaa aina myös hydrolysoitava materiaali (Silvestre 1997, Clemente 2000). Koska luonnollisia aminohappoja on 20 ja koska ne voivat polymerisoida millaisiksi yhdistelmiksi tahansa, erilaisten mahdollisten peptidien määrä on valtava.

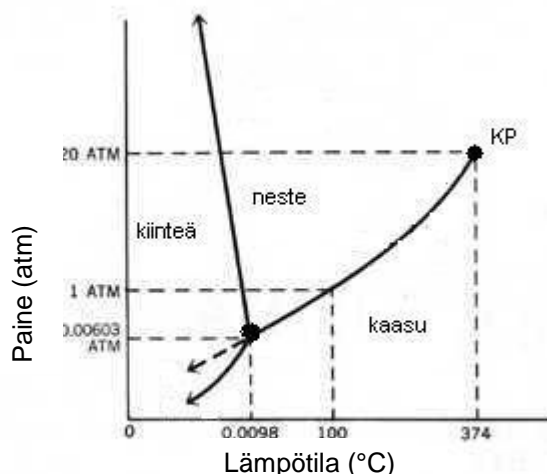
Entsyymien tarkoituksenmukaisessa toiminnassa oleellista ovat oikeat olosuhteet; entsyymien aktiivisuus on erittäin pH- ja lämpötilariippuvaista. Näitä olosuhteita on tarkoin kontrolloitava, jotta proteolyttisestä entsyymistä saadaan suurin mahdollinen hyöty (Clemente 2000). Eri proteolyttisten entsyymien toiminta on vaihtelevaa, ja siksi lopputuloksetkin ovat moninaisia (Shahidi ym. 1995). Proteolyttinen entsyymi tulee valita käyttökohteen ja -tarkoituksen mukaan. Yksi valintaan vaikuttava tekijä on myös lopputuotteen kitkeruus (Fonkwe ja Singh 1996, Clemente 2000, FitzGerald ja O'Cuinn 2006). Hydrolysointi vaikuttaa lopputuotteen aistinvaraisiin ominaisuuksiin, ja kitkerien peptidien syntyminen on proteolyttisten entsyymien käytön mahdollinen negatiivinen haittapuoli. Kitkeryyden tiedetään johtuvan tietyntyyppisten peptidien hydrofobisista aminohappotähteistä (FitzGerald ja O'Cuinn 2006). Luiden hydrolysoinnissa ei

kuitenkaan välttämättä koeta kyseistä ongelmaa. Adler-Nissenin (1986) mukaan eläinperäisten hydrolysointituotteisiin ei yleensä muodostu kitkerän makuisia yhdisteitä.

Entsyymien avulla luut voidaan käytännössä pestä orgaanisesta materiaalista niin puhtaiksi, että ne soveltuvat lannoite- ja kemianteollisuuden raaka-aineeksi. Puhdistetut luut ovat erityinen kalsiumin ja fosforin lähde. Luumateriaalin sekaan jäävä puhdas rustomateriaali sen sijaan sopii lääketeollisuuden tarpeisiin (Meatco 2010). Entsyymaattisesti eroteltu liha (EEL) taas soveltuu emulsioihin, keitettyihin lihavalmistuksiin ja ruiskusuolaukseen, kun tuotteisiin lisätään myös nitriittisuolaa ja antioksidantteja. Edellä mainituissa tuotteissa EEL:n käyttö saattaa laskea tuotteen kiinteyttä ja VSK:ä riippuen käytetyn luumateriaalin laadusta ja alkuperästä (Meatco 2010). EEL:n suhteellisen osuuden nostaminen reseptissä vaatii siten reseptin muokkausta muiden käytettävien raaka-aineiden osalta.

2.2 Ylipainekeittomenetelmä

Paineen muutos vaikuttaa veden kiehumispisteeseen siten, että paineen noustessa kiehumispiste nousee. Paineen vaikutus veden olomuotoon tietyssä lämpötilassa nähdään hyvin veden faasidiagrammista (kuva 1).



Kuva 1. Veden faasidiagrammi (KP=kriittinen piste).
(lähde: http://www.sv.vt.edu/classes/MSE2094_NoteBook/96ClassProj/examples/triplpt.html)

Nesteen kiehumispiste voidaan laskea *Clausius-Clapeyronin* -yhtälöllä (1), jossa T_k on nesteen kiehumispiste normaalipaineessa, R on kaasuvakio (8,314 J/(K^{*}mol)), p_0 on höyrynpaine kiehumispisteessä (atm), $\Delta H_{\text{höyr}}$ on höyrystymislämpö (J/mol) ja T_0 on nesteen lämpötila.

$$T_k = \left(\frac{R \times \ln(p_0)}{\Delta H_{\text{höyr}}} + \frac{1}{T_0} \right)^{-1} \quad (1)$$

Ylipainekeittimet hyödyntävät nesteen kiehuessa syntyvää höyryä paineen muodostamiseen suljetussa ympäristössä (Ramesh 2008). Kiehuessaan vesi muuttuu kaasuksi ajaen samalla tiiviin kannen alla olevan ilman pois venttiilin kautta. Kun keitin on täynnä vesihöyryä, venttiili sulkeutuu. Vesihöyryn tilavuus on suurempi kuin veden, mutta suljetussa ympäristössä kaasu ei kuitenkaan pääse laajenemaan, vaan muodostuu ylipaine. Paineen määrää voidaan säädellä venttiilin avulla, joka toimii samalla turvajärjestelmänä.

2.3 Saanto

2.3.1 Valmistusmenetelmä

Lihaliemen valmistus aloitetaan pilkottujen luiden ja kasvien paahtamisella. Harkitulla ylikuumentamisella poistetaan vettä tuotteesta, jolloin aminohappojen amiiniryhmät (lysiini ja alaniini) reagoivat pelkistävien sokereiden, kuten glukoosin kanssa (Maillardin reaktio). Mitä tummempi pinta raaka-aineisiin paahdetaan, sitä tummempi myös lihaliemestä tulee niin maultaan kuin väriltään. Tämä tulee ottaa huomioon kastikepohjan käyttötarkoituksen mukaan. Paahtamisen jälkeen lisätään vesi, jolloin ruskistumisprosessi lakkaa. Keittämisvaihe kestää useita tunteja, minkä jälkeen liemi tavallisesti siivilöidään puhtaaksi (McGee 1984).

Keittoprosessilla pyritään parantamaan raaka-aineiden ominaisuuksia ja siten nostamaan tuotteen arvoa. Tuotteen väri muuttuu ja maittavuus paranee, kun raa'alle lihalle tunnusomainen verimäinen aromi häviää. Luissa olevan lihan myofibrilliproteiinien ja entsyymien sekä muiden proteiinien spesifisiin rakennemuutoksiin vaikuttaa lämpötila. Proteiinien denaturoituminen vaikuttaa

niiden liukoisuuteen, mutta harvoin ravintoarvoon. Lihasneste kiinteytyy proteiinien denaturoitumisen seurauksena (Thippareddi ja Sanchez 2006).

This ym. (2006) totesivat, että lihan massa vähenee voimakkaasti kahden ensimmäisen keittotunnin aikana, kun lihaa keitetään 100 °C:ssa suljetussa astiassa. Kahden tunnin jälkeen väheneminen hidastuu, koska sidekudoksen kutistuminen lakkaa. Lihan massan väheneminen on käytännössä lihaliemen saannon kasvamista ja siten toivottavaa lihaliementä valmistettaessa.

Lisätyn veden määrä vaikutti liemen kuiva-ainemäärään. Suuremmilla lisätyn veden määrillä samasta määrästä lihaa saatiin enemmän kuiva-ainetta (Boles ym. 2000, This ym. 2006). Tämän arveltiin johtuvan suuremmasta konsentraatioerosta lihan ja veden välillä. Lisäksi liemen kuiva-ainemäärä kasvoi keittoajan pidentyessä, koska mitä kauemmin aikaa kului, sitä enemmän kollageenia gelatinoitui, diffundoitui ja luiden proteiineja hydrolysoitui.

Aasiassa lihaliementä on valmistettu jo kauan kananluista keittämällä. Lientä käytetään esimerkiksi niin keittopohjana, nuudeli tuotteisiin, kastikkeisiin, patoihin kuin makkaroihin. Liun ja Ockermanin mukaan (2001) perinteisen valmistustavan mukaan murskattuja kananluita keitetään vedessä 8-12 tuntia, minkä jälkeen liemi ensin jäädytetään. Liemen jäädyttyä pinnalla oleva rasva kuoritaan pois. Keittoaika on voitu vähentää 1,5-2 tuntiin käyttämällä korkeapaineuuttoa (4-6 bar). Kyseisellä menetelmällä liemen kuiva-aineen osuus on voitu nostaa 5 %:sta 10 %:iin.

2.3.2 Raaka-aineet

Liemipohjan valmistuksen tarkoituksena on uuttaa raaka-aineista kaikki vesiliukoinen materiaali liemipohjaksi, joka tarpeen tullen voidaan keittää kasaan eli konsentroida (Pearson 1993). Liemen loppukonsentroidinnalla nostetaan tuotteen kuiva-ainepitoisuutta. Tuote on tällöin viskoosimpi ja konsentroidumpi, jolloin se voidaan pakata, varastoida ja kuljettaa tehokkaammin.

Saanto on sitä suurempi, mitä enemmän kuiva-ainetta liemipohja sisältää. Liemi-

pohjan kuiva-ainepitoisuus kasvaa, jos keitettävistä luista saadaan liuotettua mahdollisimman paljon aminohappoja. Luiden koostumus ja ravintoarvo poikkeavat puhtaasta lihasta merkittävästi, erityisen suuri ero on sidekudospitoisuudessa. Lihaskudoksen aminohappokoostumukseen nähden sidekudos sisältää suuria määriä proliinia, hydroksiproliinia ja glysiiniä, mutta vähemmän tryptofaania ja tyrosiiniä kuin lihaskudos (Liu ja Ockerman 2001).

Proteiinien liukoisuutta voidaan parantaa, jos tunnetaan liuotettavien proteiinien ominaisuudet. Proteiinin ominaisuudet määrittelevät, millaisissa olosuhteissa sen on mahdollista liueta; liuottimen pH, konsentraatio, muut ionivaraukset, proteiinimateriaalin ja liuottimen määräsuhde, proteiinimateriaalin partikkelikoko, liuotuksen kesto ja lämpötila ovat kaikki huomioon otettavia seikkoja (Sikorski 2007). Kun proteiinilähteenä on eläinperäinen materiaali, kuten luut, myös eläimen teurastusiällä on vaikutusta proteiinien liukoisuuteen. Sikorskin (2007) mukaan nuoren eläimen sidekudoksen kollageeni liukenee jo neutraalissa tai heikosti emäksisessä NaCl-liuoksessa. Mitä vanhemman eläimen sidekudoksesta on kyse, sitä enemmän liuotukselta vaaditaan molekyylien sisäisten kovalenttisten sidosten avaamiseksi. Vanhan eläimen kollageenista on mahdollista liuottaa enää vain osa huolimatta pitkästäkin liuotusajasta.

Boles ym. (2000) selvittivät proteiinien liukenemistä naudan kylkiluista, selkärangan luista ja reisiluusta neljän eri liuoksen avulla. Käytetyt liuokset olivat 4 % NaCl-liuos (kontrolli), 4 % NaCl-liuos 0,3 %:lla Na-tripolyfosfaattia, 0,3 % tetra-Na-pyrofosfaatti-liuos ja 0,05 M NaOH-liuos. Tutkimuksessa suurin proteiinin kokonaismäärä saatiin liukenemaan selkärangan luista, pienin reisiluusta. Uuttokyvyltään parhaimmat liuokset sisälsivät muutakin kuin NaCl:a. Luiden luuytimien koostumuserojen arveltiin vaikuttavan liunneen proteiinin määrään.

2.3.3 Partikkelikoko

Raaka-aineiden partikkelikoon vaikutusta kastikepohjien tai keittoliemien saantoon on tutkittu vain vähän. Boles ym. (2000) tutkivat erilaisista luista liukenevan proteiinin määrää. Jos erilaisia luita sahataan samanlevyisiksi viipaleiksi, tulee ohuemmista luista luonnollisesti pienempiä paloja. Näin ollen pinta-alaa on

enemmän luun tilavuutta kohden, jolloin liukeneminenkin on mahdollisesti tehokkaampaa. Lisäksi pienet ja epäsäännöllisenmuotoiset luut, kuten selkärangan luut, ovat vaikeampia puhdistaa kuin esimerkiksi suora ja suuri reisiluu. Siksi ne sisältävät myös enemmän lihaa, ja liukoista proteiinia saadaan niistä suhteessa enemmän.

2.4 Kastikkeiden aistinvaraiset ominaisuudet

Ennen liemenkeittämistä tapahtuvan paahdon lisäksi lihaliemen aistinvaraisiin ominaisuuksiin vaikuttaa, kuinka pitkään lientä keitetään sekä kuinka paljon ja kuinka nopeasti tiivistäminen tapahtuu (Snitkjær ym. 2010). Kastikkeiden arvioinnissa käytetään koulutettua raatia (Okada 2004; Snitkjær ym. 2010). Kastikkeista arvioidaan tuoksua, makua, suutuntumaa sekä ulkonäköä (Okada 2004; Snitkjær ym. 2010).

Arviointiin on usein käytetty asiantuntijoiden kesken luotua sanastoa ja päistään ankkuroitua skaalaa. Kastikkeiden ja liemien tuoksun kuvailuun käytettyä sanastoa ovat luonnollisuus, ylikypsä, raaka, naudanlihamainen, kananlihamainen, paistokuori, palanut, tervainen, tomaattinen, sienimäisyys, sipulinen, yrttimäinen ja pähkinäinen (Okada 2004; Snitkjær ym. 2010; Snitkjær ym. 2011). Makua ja suutuntumaa on arvioitu sanoilla pehmeä, mehukas, öljyinen, epätasainen, naudanliha, kananliha, paistettu kuori, palanut, pähkinäinen, kasvismainen, makea, hapan, kitkerä ja suolainen. Maun arvioinnissa on joskus pyydetty arvioimaan myös kastikkeen jälkimakua, josta on arvioitu palaneisuutta, supistavuutta ja kitkeryyttä. Ulkonäöstä arvioidaan yleensä kastikkeen kirkkautta. Lihatuotteiden maku ja aromi riippuvat eläinlajista, rehusta, valmistusmenetelmästä, mausteista, raaka-aineen iästä, rasvan määrästä ja laadusta (Thippareddi ja Sanchez 2006).

2.5 Hiilijalanjälki

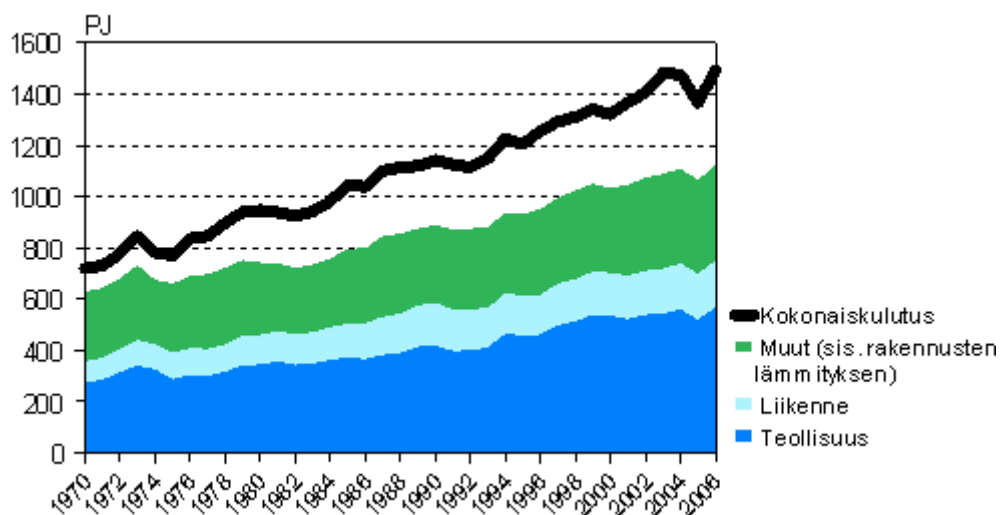
2.5.1 Konsentroidi

Tuotteen kuiva-ainepitoisuus vaikuttaa pakkauskokoon ja kuljetettaviin määriin.

Kuiva-ainepitoisuutta nostamalla vähennetään pakkausmateriaalin tarvetta ja pienennetään kuljetusmääriä. Toisaalta energiaa kuluu myös kuiva-ainepitoisuuden nostamiseen esim. haihuttamalla. Lämpömäärä, joka tuotteen kuumennuskäsittelyssä tarvitaan, riippuu keittoajasta, tuotteen lämmönsiirtymiskertoimesta ja kuumennuslämpötilasta. Höyryn lämmönsiirtokerroin on parempi kuin kuumen veden, koska höyry siirtää lämpömääränsä tuotteelle faasimuutoksen yhteydessä (Thippareddi ja Sanchez 2006).

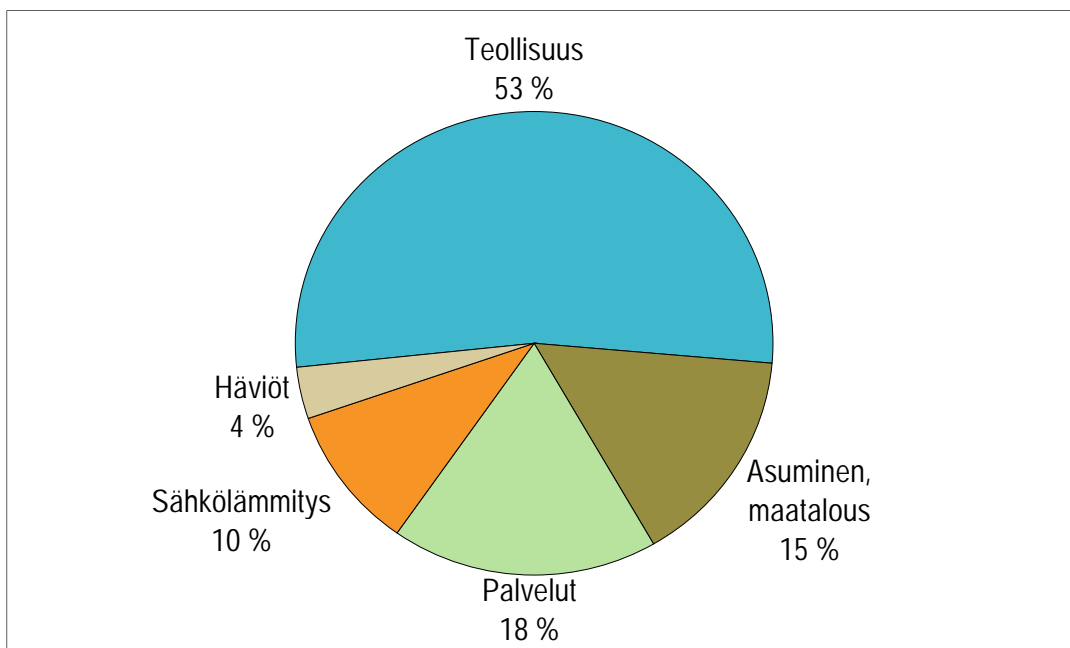
2.5.2 Lämmöntalteenotto

Euroopan unionin ilmasto- ja energiapolitiittisiin tavoitteisiin vuoteen 2020 mennessä kuuluu (vuoteen 1990 verrattuna) kasvihuonepäästöjen vähentäminen (-20 %), uusiutuvan energian osuuden nostaminen (20 %), liikenteen biopolttoaineiden käytön lisääminen (10 %) ja energiatehokkuuden parantaminen (20 %) (EU:n ilmasto- ja energiapaketti 2008). Kansainvälisillä sopimuksilla pyritään estämään ilmastonmuutosta ja sen aiheuttamia vaikutuksia. Pelkona on ilmaston lämpeneminen ilmakehässä olevien kasvihuonekaasujen, erityisesti hiilidioksidin, lisääntymisen vuoksi. Kasvihuonekaasujen lisääntymisen eräänä syynä on lisääntynyt energiantarve. Suomessa energiankulutus on vuodesta 1970 vuoteen 2006 mennessä lähes kaksinkertaistunut (kuva 3).



Kuva 3. Energian kokonaiskulutus ja loppukäyttö Suomessa vuosina 1970-2006. (Lähde: Tilastokeskus 2007, Saatavilla: http://www.stat.fi/til/ekul/2006/ekul_2006_2007-12-12_kat_001.html)

Teollisuuden osuus Suomen sähkönkulutuksessa on merkittävä (kuva 4). Merkittävimpiä muutoksia ilmaston lämpenemiseen voidaan siis tehdä teollisuuden energiapäätöksissä. Ramirezin ym. (2006) mukaan Euroopan eri maiden lihateollisuuden energiankulutus on kasvanut tutkimusta edeltäneinä 15 vuotena 14-48 %. Syinä pidettiin muuttuneita hygieniavaatimuksia sekä entistä pidemmälle jalostettavia lihateollisuuden tuotteita. Näiden todettiin lisäävän erityisesti kylmäsäilytyksen, kuumennuskäsittelyiden ja pakkaamisen tarvetta.



Kuva 4. Sähkönkulutuksen jakautuminen Suomessa v. 2007. (Lähde: Energiateollisuus ry.:n lehdistöraportti 2008. Energiavuosi 2007. Saatavilla: <http://www.energia.fi/fi/ajankohtaista/lehdistotiedotteet/2008/energiavuosi%202007%20-%20s%C3%A4hk%C3%B6>.html)

Lämmöntalteenotolla voidaan saada merkittäviä energiasäästöjä (Wang 2009c). Lämmöntalteenoton järjestelmillä voidaan mm. poistoilmassa oleva lämpöenergia hyödyntää tuloilman lämmittämiseen. Lämmöntalteenottoteknologian avulla voidaan kierrättää energiaa yksinkertaisella laitteistolla, joka tallettaa ilmassa olevan lämpöenergian lämmönsiirtonesteeseen. Sitä voidaan putkia pitkin siirtää haluttuun lämmityskohteeseen. Eri lämmöntalteenottoteknologiaan erikoistuneet yritykset tekevät pyydettyä laskelmia ja tarjouksia sopivista laitteista.

2.5.3 Sivutuotteiden kierrätys

Naudan, sian ja lampaan ruhon painosta yli puolet on huonosti elintarvikkeiden jalostukseen kelpaavia teurastuksen sivutuotteita (taulukko 2), kuten sisäelimiä, rasvaa, nahkaa, luita ja verta (Liu ja Ockerman 2001, Lehto 2008). Sivutuotteet jaetaan syötäviin ja ei-syötäviin. Syötävien sivutuotteiden käsittely on usein vaativampaa ja säilyvyysaika lyhyempi kuin varsinaisen lihan, koska ne sisältävät yleensä enemmän vettä ja glykogeenia sekä vähemmän pintarasvaa (Ockerman ja Hansen 2000). Kokonaisvaltaisella ruhon hyödyntämisellä voidaan nostaa ruhon arvoa, parantaa eläinproteiiniaineksen kasvatuksesta aiheutuvia ympäristövaikutuksia ja säästää jätteenkäsittelykuluissa. Ihmisravinnoksi käyvien sivutuotteiden jatkojalostuksen mahdollisuuksiin vaikuttavat kuitenkin voimakkaasti tottumukset, kulttuuri ja uskonto. Jotta lihateollisuus voisi olla kilpailukykyinen, tulee sen kiinnittää erityistä huomiota edellä mainittuihin asioihin.

Taulukko 2. Tarkka erittely 668 kg naudan teurastuksessa muodostuvista tuotteista ja sivutuotteista. (Lähde: Lehto 2008 www.evira.fi/files/products/1285595380620_1226920912025.pdf)

Osa	massa (kg)	% (elopainosta)
Eläin (elopaino)	668	100
Ruho (ilman päätä ja sorkkia)	398	
Liha	300	44,9
Elimet	10	1,5
<u>luokan 1 sivutuotteet</u>		
pää (yli 12 kk)	6	0,9
selkäranka (yli 30 kk)	5,6	0,8
suolisto	5-6	0,8
<i>luokan 1 sivutuotteita yht.</i>	<i>n. 17</i>	
<u>luokan 2 sivutuotteet</u>		
mahojen sisältö	50-150	15
suolen sisältö	25	3,7
<i>luokan 2 sivutuotteita yht.</i>	<i>n. 125</i>	
<u>luokan 3 sivutuotteet</u>		
nahka	40	6,0
luut	73	10,9
mahat	10	1,5
maharasvat	5-10	1,0
muu rasva	17,6	2,6
veri	30	4,4
sorkat	15	2,2
utareet	5-50	3,0
keuhkot, kurkkutorvi	8	1,2
sarvet		
<i>luokan 3 sivutuotteita yht.</i>	<i>n. 230</i>	
Jätevesi	100-300	

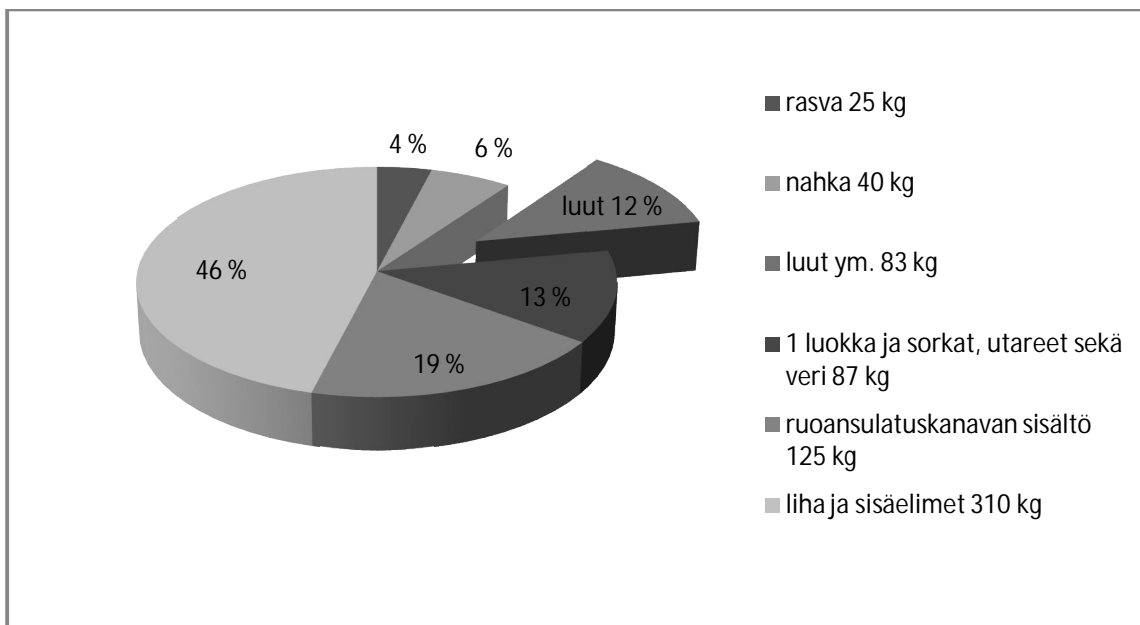
Sivutuotteet, joita ei hyödynnetä asianmukaisesti, voivat muodostaa terveysuhan (Ockerman ja Hansen 2000). Toisaalta eläinperäisen aineksen kokonaisvaltainen hyödyntäminen, millä keinolla hyvänsä, voi myös aiheuttaa terveysuhan. BSE-taudin epäillään syntyneen naudoille eläinperäistä proteiinia sisältävän rehun syöttämisen takia. BSE- sekä suu- ja sorkkatautiepidemiat ovat vaikuttaneet teurastamosivutuotteiden hyödyntämiseen. Nisäkäsperäisille rehuraaka-aineille onkin pyritty löytämään muita vaihtoehtoja mm. kalanperkuujätteistä (Cho ym. 2005). Monissa maissa naudun luita ei käytetä enää lainkaan ihmis- eikä eläinravintona. Suomessa nautojen luiden käyttäminen on sallittua TSE-riskimateriaalia lukuun ottamatta.

Suomen lainsäädännössä sivutuotteilla tarkoitetaan muita kuin ihmisravinnoksi käytettäviä ruhon osia. Eläimistä saataviin sivutuotteisiin liittyy lainsäädäntöä (Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus [EY] N:o 1774/2002 2002), joka on uudistumassa ja muuttumassa vuoden 2011 aikana (Evira 2010). Asetuksessa eläinperäinen sivutuotemateriaali jaetaan niihin liittyvän tautiriskin perusteella kolmeen eri riskiluokkaan. Suurin tautiriski liittyy 1 luokan sivutuotteisiin, pienin riski luokkaan 3 (taulukko 3).

Taulukko 3. Sivutuotemateriaalin tautiriskiluokat. (Lähde: <http://kehittyvaelintarvike.fi/teemajutut/26-elaimista-saatavien-sivutuotteiden-terveyssaannot-muuttuvat>)

	Luokka 1	Luokka 2	Luokka 3
Määritelmä	Tarttuvien spongiformisten enkefalopatioiden (TSE-taudit) riski, tuntematon riski tai kiellettyjen aineiden (hormonit, beetasalpaajat jne.) tai ympäristömyrkköjen (dioksiinit, PCB jne.) jäämien riski.	Muiden eläintautien kuin TSE-tautien riski tai eläinlääkejäämien riski.	Ihmisravinnoksi hyväksytyistä eläimistä saatavat sivutuotteet, joita ei kuitenkaan käytetä elintarvikkeeksi (mm. keuhkot, maha, veri). Luokka vastaa lähinnä tämänhetkistä vähäriskistä eläinjätettä.
Materiaali	Itsestään kuolleet nautaeläimet ja TSE-riskiaines.	Lanta, nisäkkäiden ruoansulatuskanavan sisältö ja teurastamojen jättesäiliö.	Lihaa tai kalaa sisältävä ruokajäte, joka on tarkoitettu biokaasulaitoksissa käsiteltäväksi tai kompostoitavaksi, sekä sellaiset eläimistä saatavat tuotteet, jotka on tarkoitettu muuhun käyttöön kuin eläinten tai ihmisten ravinnoksi (tekniset tuotteet), kuten villa, vuodat, turkikset ja höyhenet.
hävittämis-/käyttötavat	Polttamalla, rinnakkaispolttamalla tai haudautamalla hyväksytyille kaatopaikalle.	Asianmukaisen lämpökäsittelyn jälkeen muihin käyttö-tarkoituksiin kuin eläinten rehuksi: esim. biokaasun tuotanto, kompostointi, lannoitteet tai öljykemian tuotteiden valmistus.	Saa käyttää eläinten rehujen raaka-aineena asianmukaisen käsittelyn jälkeen.

Sivutuotteita hyödyntävät useat eri teollisuuden alat (Lehto 2008). Pienimpiä osuuksia ruhon sivutuotteista ovat nahka ja rasva (kuva 3), mutta molempien hyödyntämiseen on pitkät perinteet nahkateollisuuden ja rasvateollisuuden parissa. Nykyaikaisempia hyödyntämislaitoksia ovat ruoansulatuskanavan sisällön kompostointiin ja erilaisten jätteiden hävittämiseen erikoistuneet käsittelylaitokset. Luut muodostavat eläinlajista riippuen suuren osan sivutuotteiden yhteispainosta (Liu ja Ockerman 2001). Luiden osuus ruhopainosta sialla n. 11 %, naudalla n. 15 % ja lampaalla n. 16 %. Luuytimen osuus ruhopainosta vaihtelee ollen n. 4-6 %. Luita käytetään pääasiassa mm. lemmikkieläinten ruokatehtaissa, liivanteen valmistuksessa ja liha-/elintarviketeollisuudessa.



Kuva 3. Esimerkki 668 kg naudan ruhosta saatavien tuotteiden jakautumisesta. (Lähde: Lehto 2008 www.evira.fi/files/products/1285595380620_1226920912025.pdf)

Kastikepohjien valmistukseen käytettävä luumassa ei tule kokonaan hyödynnetyksi valmistusprosessin aikana. Ylimääräinen kiinteä orgaaninen jäte on hyvä kasvualusta erilaisille mikro-organismeille. Mahdolliset patogeenit voivat aiheuttaa terveystarvian eläimille ja ihmiselle, minkä takia jätteen asianmukainen hävittäminen on tärkeää (Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus [EY] N:o 1774/2002 2002). Luumateriaalista keiton aikana irtoava rasva saattaa puolestaan olla jatkojalostukseen kelpaavaa.

Lihateollisuuden jätteet voivat sopia energiatuotannon raaka-aineeksi (Wang 2009ab). Erilaisille sivutuotteille on kehitetty materiaalin kemialliseen luonteeseen sopivia kierrätysmenetelmiä, jotka jaetaan lämpökemiallisiin, kemiallisiin tai biologisiin prosesseihin. Sivutuotteet voidaan muuttaa biopolttoaineeksi joko neste- tai kaasumuotoon riippuen käytetystä prosessista ja sivutuotemateriaalin soveltuvuudesta biopolttoaineen raaka-aineeksi.

Eläinperäisen rasvan soveltuminen biopolttoaineen valmistukseen riippuu rasvan laadusta, jota arvioidaan pääasiassa vapaiden rasvahappojen määrällä ja kosteuspitoisuudella (Ma 1998; Wang 2009ab). Kaiken kaikkiaan teollisuuden sivutuotteena muodostuva eläinrasva on edullinen ja hyvä uusiutuva raaka-aine biodieselin valmistukseen, jos rasvan laatu on hyvä. Tällöin yhdestä

kilogrammasta rasvaa on mahdollista saada noin yksi kilogramma biodieseliä (Wang 2009b). Toisaalta elintarvikeperäisen materiaalin käyttöä polttoaineen valmistukseen arvostellaan maailman yleisen ruokatilanteen vuoksi (Sipilä 2008).

Wangin (2009b) mukaan bioenergian valmistusmenetelmän valintaan vaikuttavat

1. raaka-aineena käytettävän materiaalin vesipitoisuus, lämpöarvo sekä muut fysikaaliset ja kemialliset ominaisuudet.
2. raaka-aineena käytettävän materiaalin saatavuus.
3. haluttu bioenergiamuoto.
4. prosessin tehokkuus.
5. valmistajan ja markkinoiden energiavaatimukset.
6. taloudellinen soveltuvuus.

Jäterasvoja hyödyntävään biodieselin valmistukseen käytetään yleisimmin emäskatalyyttistä transesteröinti-prosessia, jonka tehokkuuteen vaikuttavat rasvakudoksen vapaiden rasvahappojen määrä ja vesipitoisuus (Ma 1998). Rasvat jaetaan keltaisiin ja ruskeisiin riippuen niiden vapaiden rasvahappojen pitoisuudesta. Alle 15 % vapaita rasvahappoja sisältäviä rasvoja kutsutaan keltaisiksi, muita ruskeiksi (Wang 2009b). Vapaat rasvahapot estävät transesteröintiä kuluttamalla emäskatalyyttiä saippuoitumiseen. Korkea vesipitoisuus on vielä suurempi haitta, koska se edistää saippuoitumista (Ma ym. 1998). Huonolaatuisempiakin rasvoja voidaan käyttää esikäsittelyn jälkeen. Esikäsittelyssä rasva puhdistetaan vapaista rasvahapoista ja vedestä. Emäskatalyyttiä käytettäessä vapaiden rasvahappojen pitoisuuden tulisi olla alle 5 % (Biograde-hanke). Jokaisen rasvaerän vapaiden rasvahappojen pitoisuus onkin mitattava erikseen.

3 KOKEELLINEN TUTKIMUS

3.1 Tausta ja tavoitteet

Tutkimuksen keskeinen lähtökohta oli pyrkiä löytämään ratkaisu ylipainekeittomenetelmään liittyvään kastikepohjan liemiaineksen sameutumisongelmaan. Alkuperäinen ongelma ilmeni Kaslink Foods Oy:n siirtyessä avokattilakeittomenetelmästä painekattilakeittomenetelmään. Tutkimuksella haluttiin selvittää, löytyykö kastikepohjan valmistukselle sopiva ratkaisu valmistusprosessia muuntelemalla. Lisäksi haluttiin tehdä selvitys, miten valmistusprosessi voitaisiin tehdä alusta loppuun siten, että se on mahdollisimman edullista niin yritykselle kuin ympäristölle. Pienillä muutoksilla voi olla suuret vaikutukset yritys- ja ympäristötalouteen vuositasolla tarkasteltuna. Säästöt esim. lämmöntalteenotossa ja jätteenkäsittelyssä voivat olla merkittäviä.

Tutkimuksessa pyrittiin erityisesti selvittämään, mistä sameus tarkemmin ottaen johtuu ja miten se syntyy, jotta sen muodostumista voitaisiin välttää. Ratkaisua haluttiin lähteä etsimään eri keittoaika-paine-kombinaatiosta. Kastikepohja-perinteitä kunnioittaen pyrittiin valmistamaan naudanmakuinen demi-glace-kastikepohja, joka olisi ulkonäöltään kirkasta. Oli myös selvitettävä, miten kuiva-ainepitoisuutta voitaisiin nostaa (esim. entsyymien käyttö proteiinien pilkkomiseen ja aminohappojen muodostumiseen). Haluttiin myös selvittää sopivat indikaattorit tai kriteerit kastikepohjan oleellisimpien ominaisuuksien arvioimiseksi ja mittaamiseksi. Yksittäisinä tavoitteina oli selvittää pH:n vaikutus sameuteen ja kuiva-ainepitoisuuteen vaikuttavat seikat sekä lämmöntalteenoton parantamismahdollisuudet.

3.1.1 pH:n vaikutus sameuteen

Tutkimuksessa pyritään selvittämään, onko pH:lla vaikutusta kastikepohjaliemen sameuteen. Valmistukseen käytettävien kasvien, porkkanan, sellerin ja keltasipulin, määrän on huomattu vaikuttavan liemen pH-arvoon. Valmistusprosessien aikana on huomattu, että mitä enemmän valmistukseen on käytetty kasviksia, sitä matalampi on liemen pH-arvo. Tällöin liemen on havaittu olevan myös tavallista ohuempaa.

3.1.2 Kuiva-ainepitoisuus

Kaslink Foods Oy:n kokemuksen mukaan lämpötilaa nostamalla saadaan suurempia kuiva-ainepitoisuuksia. Tuotannosta tulevan liemiaineksen (konsentroimaton kastikepohjan lihaliemi) kuiva-ainepitoisuus on n. 3,5-4,0 %. Asiakkaalle lähtevällä kastikepohjalla on tarkat kuiva-ainepitoisuusrajat. Kuiva-ainepitoisuuden tulee olla 18,5-19 %. Liemiaineksen keiton jälkeinen kuiva-ainepitoisuus on 3,5-4 %, jonka toivottaisiin olevan korkeampi.

3.1.3 Lämmöntalteenoton parantaminen

Tällä hetkellä tehtaalla ei ole käytössä minkäänlaisia lämmöntalteenottolaitteita. Hukkaan menevää lämpöenergiaa olisi saatavilla mm. luiden ja kasvien paahdokaapista, jäädytettävästä keittomassasta, jäterasvasta ja esihaihduttimesta poistuvasta 72 °C vedestä (n. 30-35 m³ 72 °C vettä/vko).

3.2 Materiaalit ja menetelmät

3.2.1 Kastikepohjan valmistus ylipainekeittomenetelmällä

Kaslink Foods Oy:n demi-glance on yksi muunnelma monista tavoista valmistaa kastikepohjia. Lyhyt prosessikuvaus Kaslink Foods Oy:n demi-glance kastikepohjan valmistusprosessista:

1. Naudan luut paahdetaan kiertoarinaunissa.
2. Paahdetut luut ja kasvikset siirretään pneumaattisesti keittokattilaan.
3. Kastikepohjaa keitetään n. 12 h. Julkinen raaka-aineluettelo on esitelty taulukossa 4.
4. Valmis liemiaines (kuiva-ainepitoisuus n. 4 %) siirretään varastosiiloon.
5. Kolmen päivän aikana tuotetusta liemiaineksesta poistetaan vettä alipaineen avulla haihdutintornissa. Saadaan demi-glance-liemi (kuiva-ainepitoisuus n. 20 %).
6. Demi-glance-liemi UHT-käsitellään, homogenoidaan ja pakataan aseptisesti, minkä jälkeen tuotetta voidaan säilyttää huoneenlämmössä väh. 12 kk.

Taulukko 4. Kaslink Foods Oy demi-glace-kastikepohjan raaka-aineet (julkinen osuus).

Raaka-aineluettelo
Keitetty lihaliemi (vesi, naudan lihaiset luut, porkkana, sipuli, selleri, tomaattipyre, valkosipuli, suola, mausteet [mustapippuri, valkopippuri, persilja, basilika, timjami]). Suolapitoisuus 0,9 %.

Kaslink Foods Oy:n demi-glace kastikepohjaliemen reseptiikkaa ja valmistusmenetelmää sovellettiin koesarjan aika-paine-lämpötila-kombinaatiot sekä Helsingin yliopiston elintarviketeknologian prosessilaboratorion laitteistot huomioiden. Tutkimuksessa painekattilana käytettiin Oy Metalliteoksen (nyk. Metos) valmistamaa autoklaavia, jonka tilavuus oli n. 11,8 l. Halutun lämpötilan ylläpitämiseksi autoklaavi liitettiin itsetehtyyn reletyyppiseen lämpötilasäätimeen, jonka anturina oli Nokeval 461-Pt100-200 platina-sensori. Lämpötilasäädin toimi siten, että lämpötilan laskiessa alle tavoitelämpötilan rele antoi virtaa autoklaaville. Kun tavoitelämpötila oli taas saavutettu, rele katkaisi virran tulon.

Autoklaavin koekäytöissä huomattiin, että veden haihtuminen keittimestä jo yhden tunnin ajan kestävän keiton aikana on merkittävää. Näin ollen keittoprosessi tehtiin kokonaisuudessaan pakkausvaa'an päällä, jotta tiedettiin systeemin alkupaino. Siten vettä pystyttiin lisäämään liemen sekaan sieltä keiton aikana haihtunut määrä ennen jokaista näytteenottoa.

Luumateriaali hankittiin Lihatukkuliike Lihakas Oy:ltä, joka toimitti tuoretta naudanluuta valmiiksi murskattuna. Luumurskan tekoon oli käytetty ruhon pieniä ja lihaisia luita (ei putkiluita). Luumateriaali pakattiin pienempiin eriin ja pakastettiin välittömästi sen saapumispäivänä. Luita sulatettiin kerrallaan aina kokeisiin tarvittava määrä. Luut punnittiin raakoina ja niiden paahtamiseen käytettiin tavallista talouskeittiöuunia. Paahtolämpötila oli n. 275-300 °C ja -aika 42-45 min. Paahton aikana luita sekoitettiin ja käänneltiin, jotta paahtotulos olisi ollut mahdollisimman tasainen.

Koesarjoissa valmistettiin 6 kg:n eriä liemiainesta. Perinteistä valmistustapaa muutettiin siten, että suola jätettiin pois liemiaineksen valmistuksesta.

Liemiaineokset valmistettiin taulukossa 5 esitellyn mukaisella reseptillä.

Taulukko 5. Tutkimuksessa valmistettujen koesarjojen resepti.

Raaka-aine	Määrä (g)	Osuus (%)
vesi	3 578	60,09
naudan luut	2 106	35,37
juuriselleri	84	1,41
keltasipuli	84	1,41
porkkana	63	1,06
tomaattipyre	31,5	0,53
mausteet	8,4	0,14

3.2.2 Ensimmäinen koesarja

Ensimmäisen koesarjan tarkoituksena oli selvittää keittolämpötilojen vaikutus liemiaineoksen kuiva-ainepitoisuuteen sekä sameuteen ja toimia perusteena toiseen koesarjaan valitulle aika-lämpötilakombinaatiolle. Koesarjan näytteistä määritettiin pH, kuiva-ainepitoisuus, proteiinien kokonaispitoisuus, sidekudosproteiinipitoisuus ja sameus.

Ensimmäiseen koesarjaan valittiin kaksi eri keittolämpötilaa (107,6 °C ja 112,0 °C), joista molemmista valmistettiin kolminkertainen sarja. Valitut lämpötilat vastaavat paineolosuhteita 1,3 ja 1,5 bar. Keittoaikojen tarkastelupisteiksi valittiin selvästi nykyistä valmistustapaa lyhyemmät ajat (4, 5 ja 6 h), jotka olisivat toteutettavissa yhden työvuoron aikana. Koesarja on nimettynä ja esiteltynä taulukossa 6.

Taulukko 6. Ensimmäinen koesarja.

koe	paine (bar)/lämpötila (°C)	keittoaika (h)	näytteitä (kpl)
Ia-c	1,3 / 107,6	4	3
		5	3
		6	3
IIa-c	1,5 / 112,0	4	3
		5	3
		6	3

Koesarjan prosessikuvaus:

1. Paahdetut luut, vesi ja mausteet sekoitettiin autoklaavissa ja kansi suljettiin. Systemin massa merkittiin ylös.
2. Keittoajan mittaaminen aloitettiin vasta, kun tavoitelämpötila oli saavutettu.

3. Neljän tunnin kuluttua tarkistettiin massahävikki ja lisättiin vettä hävikin verran (vuotava venttiili).
4. Liemiainesta sekoitettiin huolellisesti ennen näytteenottoa. Näytettä (lientä) otettiin n. 0,5-0,8 l.
5. Kansi suljettiin ja systeemin massa merkittiin jälleen muistiin, jotta vuotaneen venttiilin vuoksi keiton aikana poistunut vesimäärä voitiin lisätä ennen seuraavaa näytteenottoa. Seuraava näyte otettiin tunnin kuluttua siitä, kun tavoitelämpötila oli jälleen saavutettu (5h-näyte). Samoin toimittiin 6h-näytteen kohdalla.
6. Kattilasta otettu näyte valutettiin tavallisen keittiösiivilän lävitse erotussuppiloon.
7. Neste- ja rasvafaasin erotuttua nestefaasi pulloettiin lasiseen laboratorionäytepulloon. Näytteitä säilytettiin kylmiössä (max. +8 °C) kemiallisia määriä varten. Ennen määriä näytteet lämmitettiin aina huoneenlämpöiseksi.

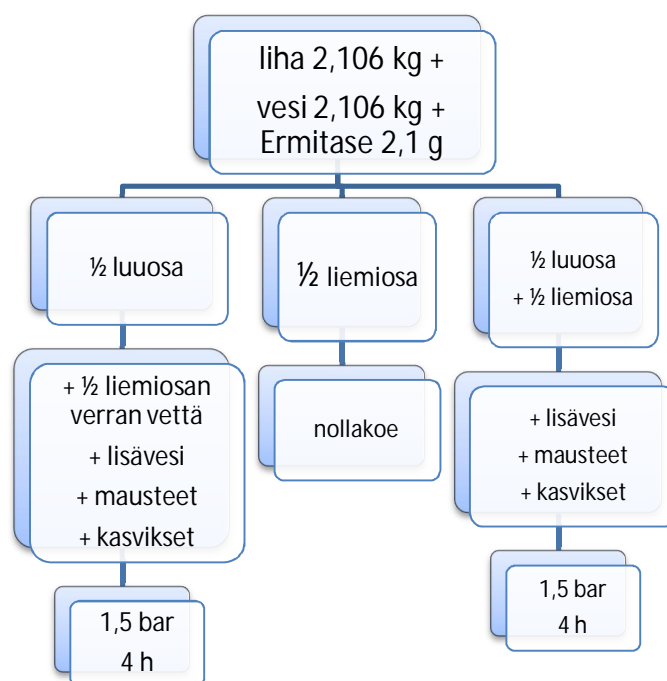
3.2.3 Toinen koesarja

Toisen koesarjan tarkoituksena oli selvittää Ermitase-entsyymivalmisteen (valm. Meatco BV, Hollanti, maahantuonti ja toim. JTJ-Sales Oy, Suomi) käytön vaikutuksia liemiaineksen kuiva-ainepitoisuuteen ja -koostumukseen sekä sameuteen.

Entsyymivalmisteen käytössä noudatettiin sen valmistajan antamia ohjeita:

1. Luumateriaalin määrä optimoitiin siten, että sekoitusliike prosessin aikana oli mahdollista.
2. Yhtä osaa raakaa luumateriaalia kohden punnittiin yksi osa vettä (2,106 kg luuta ja 2,106 kg vettä).
3. Luut paahdettiin kuten ensimmäisessä koesarjassa.
4. Paahdettujen luiden ja veden kuumentaminen aloitettiin ja sitä jatkettiin, kunnes lämpötila oli saavuttanut 55 °C.
5. Kun lämpötila oli 55 °C, lisättiin Ermitase-valmiste (1 g/kg luumateriaalia).
6. Lämpötila pidettiin 55 °C:ssa 45 min ajan koko ajan sekoittaen, jolloin hydrolysointi tapahtui. (Siipikarjalle riittäisi 30 min hydrolysointi.)
7. Kun hydrolysointiaika oli kulunut, lämpötila nostettiin 100 °C:seen koko ajan sekoittaen entsyymin inaktivoimiseksi.

Kuvassa 4 esitellään entsyymikokeen prosessikaavio. Entsyymikäsitelty luuliemiseos päätettiin jakaa kahtia siten, että luu- ja liemiosat erotettiin toisistaan siivilöimällä. Sen jälkeen molemmat osat punnittiin ja jaettiin puoliksi. Ensimmäisen puolikkaan valmistusta jatkettiin kuten tavallisen liemen valmistusta ensimmäisessä koesarjassa; $\frac{1}{2}$ luuosa ja $\frac{1}{2}$ liemiosa yhdistettiin. Lisävettä lisättiin siten, että entsyymikäsitelyn aikana tullutta mahdollista vesihävikkiä ei otettu huomioon, vaan vettä käytettiin liemen valmistukseen suhteessa saman verran kuin ensimmäisessäkin koesarjassa ($(3,578 \text{ kg} - 2,106 \text{ kg}) / 2 = 0,736 \text{ kg}$). Kasviksia ja mausteita lisättiin myös puolet reseptissä (taulukko 5) mainittuja määriä vähemmän, koska liemimääräkin oli puolet pienempi jakamisen takia. Keittolämpötilana käytettiin $112,0 \text{ }^\circ\text{C}$ ja –aikana 4 h.



Kuva 4. Toisen koesarjan prosessikaavio.

Toista puolikasta liemiosaa käytettiin ns. nollanäytteenä, josta määritettiin entsyymikäsitelyllä aikaansaatu liemen kuiva-ainepitoisuus ja -koostumus. Toisen puolikkaan luuosan liemiosa korvattiin kokonaisuudessaan vedellä. Luu-vesi-seosta keitettiin kuten ensimmäistä puolikasta ($112,0 \text{ }^\circ\text{C}$, 4 h). Entsyymikäsiteltyjä liemiä valmistettiin yhteensä kolme rinnakkaista (taulukko 7).

Taulukko 7. Toinen koesarja.

koe	paine (bar)/lämpötila (°C)	keittoaika (h)	näytteitä (kpl)
nolla	-	0	3
luut+liemi	1,5 / 112,0	4	3
luut+vesi	1,5 / 112,0	4	3

3.2.4 Kuiva-ainepitoisuuden määrittäminen

Kuiva-ainepitoisuus laskettiin selvittämällä tuotteen vesipitoisuus. Vesipitoisuuden määrittämistä varten näytettä punnittiin tarkasti 3 g alumiiniupokkaaseen, joka oli punnittu ja taarattu etukäteen. Jokainen näyte tehtiin kolmena rinnakkaisena, ja niitä kuumennettiin 16 h Termaks-polttuunissa 104 °C:ssa. Eksikkaattorissa suoritettua jäähdytyksen jälkeen upokkaat punnittiin ja laskettiin veden haihtumisesta johtuva erotus alkupainoon verrattuna.

3.3.5 Sameuden mittaaminen

Nesteen sameudella kuvataan sitä, miten hyvin tai huonosti se päästää lävitseen valoa (Opetushallitus 2010). Sameuden aiheuttaa veteen suspendoituneet aineet, jotka ovat yleensä veteen liukenemattomia orgaanisia tai mineraalisia hiukkasia. Sameuden mittaamiseen voidaan käyttää erilaisia menetelmiä. Tässä tutkimuksessa sameuden mittaamiseen käytettiin veden optisia ominaisuuksia määrittävää menetelmää, spektrofotometriä, jonka käytölle luotiin oma standardi kokeellisesti.

Esikokeiden (liite 5) perusteella kastipohjaliemestä oli valmistettava n. 5-% liuos, jotta sen absorbanssi olisi <1,0 käytettäessä aallonpituutta 550 nm. Kastikepohjaliemestä valmistettiin 5 %-liuos tislattuun veteen. Puolet valmistetusta liuksesta suodatettiin Whatman® GF/A-paperin läpi. Spektrofotometri (Novaspec® II, Visible Spectrophotometer, Amersham pharmacia biotech) kalibroitiin tislattulla vedellä, minkä jälkeen sekä suodattamattoman että suodatetun liuksen absorbanssi mitattiin aallonpituudella 550 nm. Kyvetteinä käytettiin 4 ml:n makrokyvettejä (Cat. No. 634-2500, valm. VWR European, Saksa). Laskettiin suodattamattoman ja suodatetun liuksen välinen erotus, joka kuvaa näytteiden

välisiä sameuseroja tässä tutkimuksessa. Graafisesti tutkittiin, miten sameus ja pH korreloivat.

3.3.6 Sidekudosproteiinin määrittäminen

Sidekudosproteiinin määrä selvitettiin määrittämällä näytteessä olevan hydroksiproliinin määrä. Jokaisesta valmistetusta liemiaineksesta punnittiin kolme rinnakkaista näytettä (5 g) tarkasti polttoputkiin. Kaikkiin putkiin lisättiin kiehumakivet ja 30 ml 6 N rikkihappoa. Kellolasein peitetyt putkia keitettiin polttolaitteessa (Digestion system 20, 1015 Digester, Tecator) 110 °C:ssa. Näytteiden proteiinit hydrolysoituvat yön yli (16 h).

Seuraavana päivänä näytteet huuhdottiin polttoputkista kuuman veden avulla ja laimennettiin tislattulla vedellä 500 ml:aan. Näyteliuos suodatettiin (Qualitative filter paper 415, partikkelipidätyskyky 12-15 µm, VWR Int. bvba, Ranska) ja suodosta laimennettiin vedellä 1:20. Standardisuora (0-4 µl/ml) valmistettiin L-hydroksiproliinivesiliuoksesta. Laimennosta, kloramiinipuskuriliuosta ja värireagenssia sekoitettiin suhteessa 2:1:1 siten, että kloramiinipuskuriliuos lisättiin ensin ja sen annettiin seistä huoneenlämmössä 30 min. Tämän jälkeen lisättiin värireagenssi ja näytteet laitettiin 60 °C:seen vesihautteeseen 30 min. Näytteitä jäähdytettiin ensin 5 min kylmässä vedessä ja sitten 25 min huoneenlämmössä. Standardisuoran näytteet käsiteltiin samoin. Sidekudosproteiinin määrittämiseen käytetyt reagenssit ovat lueteltuina taulukossa 8.

Taulukko 8. Sidekudosproteiinimäärityksen reagenssitiedot.

reagenssi	reagenssin valmistus- aineet	Cat. No./ Lot.No./ valm. pvm	valmistaja
6 N rikkihappo (valmiina)	(väkevä rikkihappo tislattu vesi)	27.4.2011	lihateknologian yksikkö, HY
puskuriliuos pH6,0 (valmiina)	(sitruunahappo NaOH CH ₃ COONa n-propanoli tislattu vesi)	5.2.2008	lihateknologian yksikkö, HY
kloramiinipuskuriliuos	kloramiini T (natriumsuola) puskuriliuos pH6	150115/9926H ks. yllä	MP Biomedicals, Inc., USA ks. yllä
värireagenssi	4-dimetyyliaminobents- aldehydi (DMABA) 99%	3088EIDO	Gruppo Montedison, Farmitalia Carlo Erba S.p.A. Italia
	isopropanoli (2-prop.) perkloorihappo 70-72 % tislattu vesi	K40811822 B0472219	Merck KGaA, Saksa Merck KGaA, Saksa
perusstandardiliuos 100 µg/ml (valmiina)	(L-hydroksiprolini tiomerkurisalisylaatti)	7.2.2008	lihateknologian yksikkö, HY

Kloramiini T hapetti hydroksiproliinin pyrroliksi, joka taas reagoi värireagenssin kanssa (punainen väri). Standardisuoran 0-näytteellä kalibroidulla spektrofotometrillä (Novaspec® II, Visible Spectrophotometer, Amersham pharmacia biotech) mitattiin näytteiden sekä standardisuoranäytteiden värien intensiteetin aiheuttama absorbanssi käyttäen aallonpituutta 560 nm. Piirrettiin kuvaaja standardisuoranäytteistä ja määritettiin lineaarinen trendiviiva kuvaajalle (Microsoft Office Excel 2007). Trendiviivan kaavan perusteella laskettiin näytteiden OH-proliinipitoisuus.

3.3.7 Raakaproteiinipitoisuuden määrittäminen

Yleisimmät typenmääritysmenetelmät proteiinipitoisuuden selvittämiseksi ovat Kjeldahl- ja Dumas-menetelmät. Kjeldahl-menetelmä on yli satavuotias menetelmä proteiinipitoisuuden selvittämiseen materiaalin typpipitoisuuden perusteella. Menetelmän tekninen toteuttaminen voidaan jakaa kolmeen osaan. Ensimmäiseksi orgaaninen näyte märkäpoltetaan rikkihapon kanssa. Tislauksessa märkäpoltton tulos eli ammoniumsulfaatti hajotetaan ammoniakiksi, joka otetaan talteen boorihappoliuokseen sekoittuneena. Viimeisessä vaiheessa eli titrauksessa tislauksessa saatu ammoniumboraatin heikko happo titrataan ammoniumboraatiksi, jotta ammoniakin ja sitä kautta typen määrä voidaan laskea.

Tulosten luotettavuutta hieman heiluttaa se, että tuloksen lopulliseen laskemiseen käytetään kerrointa, joka on saatu arvioimalla sitä, miten paljon proteiinit keskimäärin sisältävät typpeä.

Dumas-menetelmänkin periaate on reilusti yli satavuotias keksintö määrittää proteiinipitoisuutta typpipitoisuuden perusteella. Näyte poltetaan jopa yli 900 °C:ssa hapellisessa ja kontrolloidussa olosuhteissa. Näytteen palaessa syntyvät tuotteet kerätään kolumniin, joka erottelee ja puhdistaa palamistuotteet jättäen tunnistimen havaittavaksi vain typen. Dumas-menetelmä on nykyisin kehittynyt helpoksi ja automatisoiduksi tavaksi määrittää proteiinipitoisuutta, sillä laite tekee työn käytännössä lähes itsenäisesti. Laitteen tulee tosin olla oikein kalibroitu, jotta tulos on luotettava.

Kjeldahl-menetelmä vie moninkertaisesti aikaa ja vaatii paljon käsityötä Dumas-menetelmään nähden. Lisäksi Kjeldahl-menetelmässä käsitellään enemmän kemiallisia aineita, jotka ovat haitallisia, jopa myrkyllisiä. Menetelmien hitauden ja helppouden välillä joutuu punnitsemaan, sillä Dumas-menetelmän käyttäminen on kalliimpaa kehittyneen tekniikkansa vuoksi. Dumas-menetelmän virheellisen tuloksen riskiksi arvioidaan myös pieni näytekokoo, jonka voi olettaa epäedustavaksi (Jung ym. 2003).

Kaiken kaikkiaan menetelmien vertailussa on huomattu, että Kjeldahl antaa aina hieman pienempiä arvoja kuin Dumas-menetelmä (Thompson ym. 2004). Tämä johtuu todennäköisesti siitä, että Dumas-menetelmä on herkempi muille typpiyhdisteille, kuten nitraateille ja nitriiteille. Edellisestä johtuen Dumas-menetelmä ei välttämättä sovellu parhaiten käsitellyn lihan ja juuston proteiinipitoisuuden määrittämiseen.

Tämän tutkimuksen liemiainenäytteiden raakaproteiinin kokonaispitoisuuden selvittämiseen käytettiin Dumas-menetelmää hyödyntävää vario MAX CN -laitetta (Macro Elemental Analyzer, Elementer analysensysteme GmbH, Saksa). Liemiainesta punnittiin tarkasti 500 µg, jokaisesta näytteestä vähintään kaksi rinnakkaista. Näytteiden poltossa käytettiin menetelmää, jossa hapen virtaus oli 300 ml/min. Laite antoi tuloksena typen määrän, joten kokonaisproteiinipitoisuus laskettiin käyttämällä typpikerrointa 6,25 (lihaksen typpipitoisuus n. 16 %). Koska

tiedettiin, että merkittävä osa näytteiden sisältämästä proteiinista on peräisin sidekudosmateriaalista, jonka tyypipitoisuus on n. 18 % (typpikerroin $100/18=5,55$), laskettiin myös näytteiden korjattu raakaproteiinipitoisuus ((raakaproteiinipit./6,25-sidekudosproteiinipit./5,55) x 6,25 + sidekudosproteiinipit.).

3.3.8 Lämmöntalteenoton kustannukset

Lämmöntalteenotolla saatua hyötyä arvioitiin laskemalla saavutettava lämpötekninen teho liemiaineksen haihduttimelle, josta menee viemäriin n. 35 000 litraa 72 °C:sta vettä viikossa. Asiasta pyydettiin arvio lämmönsiirtomenetelmiin erikoistuneelta ViFlow Finland Oy:n Anna-Maija Laurilalta.

3.3 Tulokset

3.3.1 1,3 ja 1,5 bar:n painekeitto

Taulukossa 9 on esitetty 0,3 ja 0,5 bar ylipaineessa 4-6 h keitettyjen liemiainesten määritystulokset. Molemmissa ylipaineolosuhteissa liemiainesten raakaproteiinipitoisuus kasvoi ajan suhteen. 0,5 bar:n ylipainekeitolla päästiin n. 0,6-0,7 %-yks. korkeampiin raakaproteiinipitoisuuksiin kuin 0,3 bar:n. Kuuden tunnin keiton jälkeen 0,3 bar:n ylipaineella päästiin n. 4,5 %:n proteiinin kokonaispitoisuuteen, kun taas 0,5 bar:n ylipaineella n. 5,1 %:iin. Sen sijaan liemiainesten sidekudosproteiinipitoisuuteen paineella ei näissä olosuhteissa ollut merkittävää vaikutusta. Tämä näkyy tuloksissa siten, että 0,3 bar:n ylipaineella keitetyn liemen sidekudosluku kuuden tunnin keiton jälkeen on lähes 100. 0,5 bar:n ylipaineella liemen sidekudosproteiinin osuus raakaproteiinista oli pienempi kuin 1,3 bar:lla, mutta edelleen osuus oli korkea, hieman alle 90. Kuiva-ainepitoisuudeksi saatiin molemmilla menetelmillä hieman yli 6 %.

Taulukko 9. Liemiaineksen korjattu raakaproteiini-, sidekudosproteiini- ja kuiva-ainepitoisuudet 4, 5 ja 6 tunnin kohdilla, kun keiton ylipaine oli 0,3 tai 0,5 bar. (painekeitto I= 107,6 °C = 1,3 bar, II= 112,0 °C = 1,5 bar)

koe	korjattu raakaproteiini ka.(%)±kh.	sidekudosproteiini ka.(%)±kh.	sidekudosluku	kuiva-aine ka.(%)±kh.
I 4h	3,1±0,1	2,7±0,4	86,0	4,3±0,3
I 5h	3,9±0,3	3,8±0,5	97,2	5,4±0,2
I 6h	4,5±0,4	4,5±0,5	98,8	6,1±0,4
II 4h	3,7±0,1	3,0±0,5	82,1	4,7±0,3
II 5h	4,6±0,1	3,9±0,2	84,2	5,8±0,3
II 6h	5,1±0,1	4,5±0,2	87,6	6,3±0,1

1,3 bar:n painekeitossa sidekudosproteiinin osuus kasvoi n. 67 % kahdessa tunnissa (4->6 h) ja kuiva-ainepitoisuus n. 42 % (taulukko 10). 1,5 bar:n olosuhteissa sidekudosproteiinin osuus nousi n. 49 % ja kuiva-ainepitoisuus n. 36 % vastaavassa ajassa. Molemmissa olosuhteissa neljästä viiteen tuntiin tapahtuneella keitolla oli huomattavasti suurempi vaikutus sekä sidekudosproteiini- että kuiva-ainepitoisuuden kasvuun viidestä kuuteen tuntiin tapahtuneella keitolla. 4. ja 5. keittotunnin välisenä aikana 1,3 bar:n olosuhteissa sidekudosproteiinipitoisuus kasvoi 41 %, kun 5. ja 6. keittotunnin aikana kasvua tapahtui enää 18 %. 1,5 bar:n olosuhteissa 4. ja 5. keittotunnin aikana sidekudosproteiinipitoisuuden kasvu oli maltillisempaa (28 %) kuin 1,3 bar:ssa. Kuiva-ainepitoisuuden kasvussa ei olosuhteiden välillä ollut suuria eroja, vaan kasvu pysyi molemmissa samankaltaisena ajan suhteen.

Taulukko 10. Keittoajan vaikutus liemiainesten sidekudosproteiini- ja kuiva-ainepitoisuuden kasvuun ensimmäisen koesarjan aikana. (painekeitto I= 107,6 °C = 1,3 bar, II= 112,0 °C = 1,5 bar)

vertailut kokeet	sidekudosprot.-pitoisuuden kasvu (%)	kuiva-ainepitoisuuden kasvu (%)
I 5 h / I 4 h	41	24
I 6 h / I 4 h	67	42
I 6 h / I 5 h	18	12
II 5 h / II 4 h	28	24
II 6 h / II 4 h	49	36
II 6 h / II 5 h	16	9

3.3.2 Ermitaasi-entsyymikäsittely ja painekeitto

Taulukkoon 11 on koottu Ermitaasi-entsyymivalmisteella tehtyjen liemiainesten määrittystulokset. 1 kg:a luita kohden entsyymivalmistetta lisättiin 1 g ja vettä 1 kg. Entsyymikäsittely tehtiin avokattilassa 55 °C:ssa 45 min koko ajan sekoittaen. Näin ollen syntyi 0 h -liemi, jonka kuiva-ainepitoisuudeksi saatiin keskimäärin 7,5 %. Raakaproteiinia kyseisessä liemessä oli n. 4,5 % ja sidekudosproteiinia n. 2 %. Kun 0 h -liemen keittoa jatkettiin neljä tuntia 112 °C:ssa (1,5 bar) kastikepohjareseptiin kuuluneiden muiden raaka-aineiden lisäyksen jälkeen, saatiin liemiaines, jonka ja kuiva-ainepitoisuus n. 6 %, raakaproteiinipitoisuus oli n. 4,5 % ja sidekudosproteiinipitoisuus n. 3,5 %. Jos taas entsyymikäsittelyllä aikaansaatu liemi korvattiin vedellä ja jatkettiin entsyymikäsittelyjen luiden keittämistä neljä tuntia 112,0 °C:ssa muiden raaka-aineiden lisäyksen jälkeen, saatiin liemiaines, jonka kuiva-ainepitoisuus oli n. 4 %, raakaproteiinipitoisuus n. 3 % ja sidekudosproteiinipitoisuus n. 3 %.

Taulukko 11. Liemiaineksen korjattu raakaproteiini-, sidekudosproteiini- ja kuiva-ainepitoisuudet entsyymikäsittelyn (0 h) ja 4 tunnin keiton jälkeen luu-liemi sekä luu-vesi seoksille, kun ylipaine oli 0,5 bar.

koe	korjattu raakaproteiini ka.(%)±kh.	sidekudosproteiini ka.(%)±kh.	kuiva-aine ka.(%)±kh.
0 h	4,3±0,5	2,2±0,3	7,5±3,3
4 h luut ja liemi	4,6±0,3	3,7±0,6	6,0±0,4
4 h luut ja vesi	3,1±0,3	2,8±0,8	3,9±0,4

Entsyymikäsittelyn liemen sidekudosproteiinin osuus raakaproteiinista oli noin puolet. Keiton jatkamisella entsyymikäsittelyllä liemellä ja luilla sidekudoksen osuus raakaproteiinista kasvoi n. 80 %:iin. Kun keittoa jatkettiin ”puhtaalla” liemellä (vedellä), saavutti uusi liemi n. 70 % entsyymikäsittelyllä saadun liemen raakaproteiinipitoisuudesta. Tosin saavutettu kasvu oli pääosin sidekudosproteiinia (91 %).

Vertailtaessa 0 h ja 4 h (luut ja liemi) -kokeita, neljän tunnin keitolla ei ollut merkittävää vaikutusta liemen raakaproteiinipitoisuuteen. 0 h ja 4 h -liemiä ei kuitenkaan voi suoraan keskenään vertailla, koska 0 h -liemessä luu-vesi -suhde on 1:1 ja 4 h -liemissä lähes 1:2 (tarkasti 7:12). Laskennallisesti voidaan arvioida,

että jos 0 h -liemeen olisi laitettu sama vesilisä kuin 4 h -liemiin, olisivat määritetyt pitoisuudet olleet noin kolmanneksen pienempiä. Näin ollen 0 h -liemen raakaproteiinipitoisuus olisi ollut n. 3 %, sidekudosproteiinipitoisuus n. 1,5 % ja kuiva-ainepitoisuus n. 5,5 %. Tällöin neljä tuntia 112,0 °C:ssa jatkuneella keitolla oli positiivinen vaikutus raakaproteiinin ja sidekudosproteiinin määriin. Kuiva-ainepitoisuuteen sillä ei enää kuitenkaan merkittävää parannusta saatu aikaan.

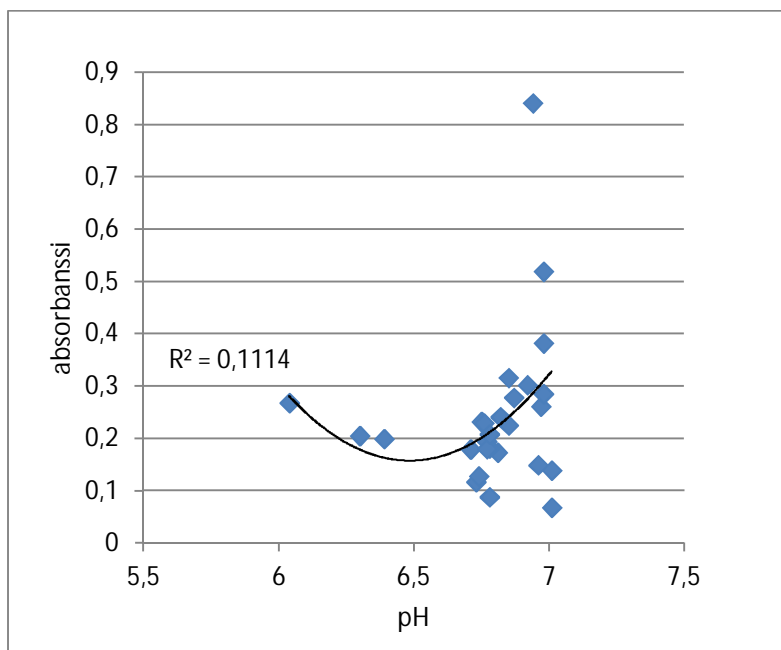
3.3.3 Liemiaineksen sameus ja pH

Ensimmäisen koesarjan osalla (kokeet I 4h-II 6 h) sameus kasvoi molemmissa keitto-olosuhteissa ajan myötä (taulukko 12). Korkeammalla lämpötilalla sameus oli kaiken kaikkiaan keskimäärin noin viidenneksen pienempi kuin matalalla keittolämpötilalla. Entsyymikäsittelyn jälkeinen 0 h -liemi oli erittäin sameaa kaikkiin muihin näytteisiin verrattuna. Entsyymikokeissa valmistettujen 4 h -liemien sameus oli kuitenkin samaa luokkaa kuin ilman entsyymikäsittelyä valmistettujen liemien, mikä johtui todennäköisesti luu-vesi -suhdeluvusta. pH oli kaikissa näytteissä keskimäärin 6,5-7,0. pH oli matalin kovimmassa lämpötilassa pisimpään keitetyllä liemellä. Korkeimmat pH:t olivat entsyymikäsitellyissä liemissä.

Taulukko 12. Kaikkien koesarjoissa valmistettujen liemiainesten absorbanssi- ja pH-arvot. (painekeitto I= 107,6 °C = 1,3 bar, II= 112,0 °C = 1,5 bar)

koe	absorbanssi ka.(%)±kh.	pH ka.(%)±kh.
I 4h	0,183±0,059	6,62±0,20
I 5h	0,232±0,034	6,85±0,10
I 6h	0,258±0,075	6,88±0,09
II 4h	0,132±0,046	6,74±0,04
II 5h	0,205±0,024	6,61±0,27
II 6h	0,219±0,045	6,53±0,42
entsyymi 0 h	0,581±0,236	6,97±0,02
entsyymi 4 h luut ja liemi	0,268±0,039	6,88±0,04
entsyymi 4 h luut ja vesi	0,119±0,044	6,99±0,03
I (kaikki)	0,224±0,061	6,79±0,17
II (kaikki)	0,185±0,053	6,63±0,27

Näyteliemien pH- ja absorbanssiarvoille piirrettiin pistekuvaaja, ja pisteille määritettiin polynominen trendiviiva (kuva 5). Trendiviivan yhtälö oli positiivinen toisen asteen funktio ($y=0,6207x^2-8,05x+26,258$), jolle laskettiin derivaatan nollakohta. Näin ollen saatiin tulokseksi, että pH:ssa 6,48 kastikepohjaliemiainesten sameus olisi matalimmillaan pH-alueella 6-7.



Kuva 5. Liemiainesten absorbanssi pH:n suhteen.

3.3.4 Lämmöntalteenoton parantaminen

Lämmönsiirtämisen tarvittava teho lasketaan massavirran, ominaislämpökapasiteetin ja lämpötilaerotuksen tulona (lämmönsiirron perusyhtälö). Jos 72 °C:n veden määrä viikossa olisi 35 000 litraa, tällöin voidaan laskea keskimääräinen massavirta, joka näillä luvuilla olisi 208 l/h eli 0,058 l/s.

Jos taas lämpötekniinen tehtävä olisi saada 72 °C:nen vesi 30 °C:ksi ja siitä saatavalla lämpöenergialla 20 °C vesi 62 °C:ksi, teho olisi n. 10 kW. Kyseisenlainen lämmönsiirrin maksaisi ViFlow Oy:n arvion mukaan n. 400 €. Järjestelmään tarvittaisiin putkistoa, automatiikkaa yms., joiden kulut ovat pienissä kohteissa suhteellisen isot.

Lämpimän jäteveden lämmöntalteenottoon tarvittavaa lämmönsiirrininvestointia ei laskelmien perusteella todennäköisesti saataisi maksettua takaisin. ViFlow Oy:n

Anna-Maija Laurilan mukaan ainoa järkevä toteutustapa olisi, jos asiakkaalla olisi käyttökohde lähellä, jolloin oheiskulut eivät olisi niin suuret. Lisäksi pitäisi löytyä jokin kylmä jae, joka tarvitsisi lämmittää lähelle lämpötilaa 72 °C, jolloin höyryn kulutuksen voidaan arvioida vähenevän. Tällöin takaisin maksuaikaa pystyttäisiin sovittamaan mielekkääksi.

3.4 Pohdinta

Valmiiksi keitetyt kastikepohjat vähentävät merkittävästi ruoanvalmistukseen kuluvaa aikaa. Valmiskastikepohja on monikäyttöinen; se voidaan maustaa ja suurustaa kuhunkin ateriaan sopivaksi. Odotetusti kastikelieimen valmistuksessa suuremmalla paineella vaikutti päästävän hieman nopeammin samoihin kuiva-ainepitoisuuksiin kuin matalammalla paineella. Näin ollen sidekudosproteiinipitoisuuden kasvu oli aluksi nopeampaa ja lopuksi hitaampaa korkeammalla paineella. Toisin sanoen sidekudosproteiinipitoisuuden kasvu tasoittuu sitä nopeammin, mitä korkeampi paine on. Sen sijaan kuiva-ainepitoisuuden suhteellinen kasvu on suurin piirtein samanlaista molemmissa lämpötiloissa. Sidekudosproteiinipitoisuuteen paineella (0,3/0,5 bar) ei näissä olosuhteissa ollut merkittävää vaikutusta. Matalammalla paineella keitettäessä raakaproteiini koostuu kuitenkin pelkästään sidekudosproteiinista.

Jatkettaessa 0,5 bar:n ylipainekeittoa entsyymikäsittelyn jälkeisellä liemellä ja luilla sidekudoksen osuus raakaproteiinista kasvoi n. 80 %:iin, kun pelkän entsyymikäsittelyn jälkeen sidekudosproteiinin osuus kokonaisproteiinista oli vain puolet. Tämä viimeistään osoitti sen, että pelkällä painekeitolla luista ei saada juuri muuta irti kuin sidekudosproteiinia, koska luita kuumennettaessa vain gelatiini liukenee veteen muiden proteiinien saostuessa. Keittoajan pidentyessä sidekudosproteiinin osuus proteiinikoostumuksesta vain jatkaa kasvamistaan. Toisaalta tällöin sameus vähenee. Luun kuiva-aineesta n. 35 % on orgaanista ainesta. Orgaanisesta aineksesta taas n. 90 % on I-typin kollageenia. Kaslink Foods Oy:n tämän hetkisessä valmiissa demi-glance-tuotteessa sidekudosluku onkin n. 90; raakaproteiinia on n. 15 % ja sidekudosproteiinia 13,5 % (liite 1).

Kastikepohjaliemessä olevat proteiinit eivät kuitenkaan ole peräisin vain puhtaasta

luumateriaalista, vaan myös luihin kiinnittyneestä lihasta. Yrityksen vanhassa, avokattilamenetelmällä valmistetussa tuotteessa sidekudosluku oli lähes 93; raakaproteiinia oli n. 12,5 % ja sidekudosproteiinia n. 12 %. Paine kattilakeitto on tuonut mukanaan, paitsi matalamman sidekudosluvun ja suuremman raakaproteiinipitoisuuden, myös sameuden. Ravitsemuksellisesta näkökulmasta gelatiinia pidetään vähemmän arvokkaana proteiinina, koska siinä ei ole juuri lainkaan ihmisille välttämättömistä aminohapoista tryptofaania ja metioniinia (Ockerman ja Hansen 2000). Lisäksi muista aminohapoista siinä on hyvin vähän kysteiniä ja tyrosiinia. Paine kattilakeiton voisi siis arvioida täydentävän kastikepohjan proteiinikoostumusta.

Entsyymikokeiden 0 h -liemi olisi pitänyt laimentaa samalla vesimäärällä kuin entsyymi-kokeen muutkin liemet, jotta tuloksia olisi voinut luotettavasti vertailla keskenään. Nyt jouduttiin vertailemaan laskennallisesti saatuja arvioita. Lisäksi sameuden määrittämistä saattoivat haitata liemiaineksen nopeasti laskeutuvat hiukkaset, koska valonsirontaan vaikuttavat vedessä olevien hiukkasten lukumäärä, koko, muoto, väri ja taitekerroin (Opetushallitus 2010). Jos näytteessä on ollut ilmakuplia, ovat ne vaikuttaneet samalla tavalla tulokseen kuin hiukkaset. Lisäksi värierot ovat voineet vääristää tuloksia, koska värilliset yhdisteet absorboivat enemmän valoa.

Kuumennus vaikutti monin tavoin tuotteen ominaisuuksiin. Keittäminen 112 °C:ssa usean tunnin ajan muuttaa tuotteen aistinvaraisia ominaisuuksia, ravitsemuksellisuutta ja turvallisuutta (Ramesh 2008). Luut sisältävät lihaan verrattuna paljon sidekudosta, minkä takia pitkä ja matala lämpökäsittely oli omiaan hydrolysoimaan kollageenia. Luiden paahtamisen aiheuttama proteiinien denaturoituminen on saattanut vaikuttaa erityisesti proteiinien liukoisuuteen. Toisaalta paahtoprosessi on tärkeä maun muodostamisen kannalta.

Tämän tutkimuksen pohjalta olisi mielenkiintoista selvittää, miten proteiinikoostumukseen ja sameuteen vaikuttaisi se, jos lihaiset luut aivan ensiksi entsyymikäsitteläisiin. Silloin proteiinien liukoisuus saattaisi olla parempi ja liemestä voitaisiin saada kirkkaampi, koska paahtamisen myötä tapahtuvaa ruskistumisreaktiota ei olisi tapahtunut. Tämän jälkeen entsyymikäsittelyn jälkeiset, lihasta suurimmaksi osaksi puhdistuneet, luut paahtettaisiin, ja sitten aloitettaisiin

painekeitto, jonka tarkoituksena olisi luottaa luumateriaalissa oleva sidekudosproteiini ja taata tuotteen mikrobiologinen turvallisuus. Entsyymikäsittely voisi myös lisätä sellaisten erilaisten proteiiniyhdisteiden määrää, jotka osallistuvat Maillard-reaktioon ja ovat siten tärkeitä lihaliemelle tyypillisen maun syntymisessä (Choudhury 2008).

Entsyymejä tarvitaan, jos peptidisidoksia halutaan avata tehokkaasti (Clemente 2000). Proteiinien hydrolysointi rasvaisesta luuytimestä kuumentamalla luita ja vettä on vaikeaa (Choudhury 2008). Odotetusti kastikepohjan liemiaineksen valmistusmenetelmän optimointi on vaativaa monisäikeisyytensä takia. Keittoaika, raaka-aineet, aistinvaraiset ominaisuudet ja laatu ovat kaikki merkittäviä tekijöitä, mutta niiden priorisointi on lopulta valmistajan itse päätettävissä. Lihaisten luiden valkuaisaine on erotettavissa yksinkertaisilla menetelmillä - hitaammilla tai nopeammilla. Tämän tutkimuksen ulkopuolelle jäi liemiainesten aistinvarainen arviointi, mikä saattaisi olla merkittävä tekijä valmistusmenetelmää valittaessa, jos menetelmien välille muodostuisi merkitsevä aistinvaraisesti havaittava ero. Entsyymikäsittely voi olla tärkeä myös maun muodostumisen kannalta (Choudhury 2008).

Tämän tutkimuksen perusteella gelatiinia (hydrolysoitua kollageenia) saadaan odotetusti keittämällä materiaalia, joka sisältää eläinperäistä sidekudosta. Gelatiinia saadaan parhaiten elimistä ja kudoksista, jotka sisältävät paljon kollageenia, kuten ihosta ja luista (Hosseini-Parvar ym. 2009). Gelatiinin valmistuksessa luut ensin jopa puhdistetaan lihasta. Jos kastikepohjalta vaaditaan ehdotonta kirkkautta, vaikuttaa tutkimuksen perusteella ainoaksi mahdollisuudeksi jäävän sidekudosproteiini. Jos kastikepohjan kuiva-aineksi kelpaa sidekudosproteiini, saataisiin liemiaineksen kuiva-ainepitoisuutta korkeammaksi varmasti helpommallakin kuin luita keittämällä. Esimerkiksi eläinten nahassa kollageenia on noin kaksinkertaisesti luihin nähden.

Tutkimuksen ohessa tehdyn energiatehokkuuden parantamismahdollisuuksien arvioinnin perusteella todettiin, että lämmöntalteenottojärjestelmien rakentaminen pieneen elintarviketeollisuusyhtymykseen on suhteellisen kallista, jopa kannattamatonta, koska investointeja ei välttämättä pystytä kattamaan. Vaikka lämmöntalteenotolle olisi tarvetta useissa eri kohteissa, järjestelmien sijoittaminen

jälkeenpäin tehtaan tiloihin on aina vaativa prosessi. Lämmönsiirtoon erikoistuneet yritykset tekevät kuitenkin tarkempia arvioita tapauskohtaisesti, jolloin lämpöenergiaa luovuttaville ja sitä tarvitsevien osien välille voidaan löytää sopiva yhteys. Näin yrityksen lämmityskustannuksissa voidaan säästää vuositasolla merkittäviä summia.

4 PÄÄTELMÄT

Tämä tutkimus osoitti, että kirkkain liemi valmistuu, kun liemiaines sisältää mahdollisimman vähän muuta kuiva-ainetta kuin sidekudosproteiinia. Kyseisenlainen liemi valmistui, kun luut ensin puhdistettiin entsyymikäsittelyllä, ja vasta sitten keitettiin ylipaineessa. Sidekudosproteiinin liukeneminen luusta on sitä nopeampaa, mitä suurempi ylipaine saadaan aikaan. Kokeiden perusteella n. 5 % sidekudosproteiinia sisältävä liemi saadaan aikaan 0,5 bar:n ylipaineella keitettäessä jo kuudessa tunnissa. Näin ollen tuotantolaitoksen nykyistä liemiainesta kuiva-ainepitoisuudeltaan vastaava liemi voitaisiin valmistaa kokonaisuudessaan jo yhden työvuoron aikana. 0,3 tai 0,5 bar:n ylipaineella päästiin samankaltaisiin kuiva-ainepitoisuuksiin kuin nykyisellä menetelmällä 17 tunnissa.

Tämän tutkimuksen perusteella kastikepohjaliemen valmistuksessa on valittava korkean sidekudosproteiinin tai sameuden väliltä. Perinteisen kastikepohjaliemen kuiva-aine koostuu pääasiassa proteiineista. Jos kuiva-aineen halutaan koostuvan muustakin kuin sidekudosproteiinista, tällöin mahdollisesti menetetään liemen kirkkaus. Energiatehokkuuden parantaminen pienessä elintarviketeollisuus-yrityksessä on haastavaa, mutta mahdollista. Kannattavuuteen vaikuttavat erityisesti yrityksen tuotannon volyymit, käytettävissä olevat tilat ja remontointimahdollisuudet, joiden perusteella voidaan tehdä yritysکوhtainen tarkka laskelma. Se, miten tärkeänä yritys pitää energian säästämistä, voi pienessä yrityksessä nousta tärkeimmäksi vaikuttavaksi seikaksi. Yrityksen eettiset periaatteet ohjaavat, koska lämmöntalteenottojärjestelmän hankinta voi olla taloudellisesti lähes kannattamatonta.

LÄHDELUETTELO

- Adler-Nissen J. 1986. Enzymic hydrolysis of food proteins. Elsevier, New York, USA. Viite julkaisusta: Fonkwe LG ja Singh RK. 1996. Protein recovery from mechanically deboned turkey residue by enzymic hydrolysis. *Process Biochemistry* 31(6):605-616.
- Biograde-hanke. 2008. Ehdotus biodieselin laadunvarmistus- ja omavalvontajärjestelmäksi. Maa- ja metsätalousministeriö. Saatavilla: http://www.agriforenergy.com/content/index.php?option=com_content&view=article&id=78:finland&catid=42:vegetable-oil-content&Itemid=127. Tulostettu: 5.1.2010
- Boles JA, Rathgeber BM ja Shand PJ. 2000. Recovery of proteins from beef bone and the functionality of these proteins in sausage batters. *Meat science* 55:223-231.
- Cho SM, Gu YS ja Kim SB. 2005. Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids* 19:221-229.
- Choudhury BH. 2008. Volatile and non-volatile components of beef marrow bone stocks [väitöskirja]. New Jersey: The State University of New Jersey. 111 s.
- Clemente A. 2000. Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition. *Trends in food science & technology* 11:254-262.
- Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus (EY) N:o 1774/2002, 2002. Muiden kuin ihmisravinnoksi tarkoitettujen eläimistä saatavien sivutuotteiden terveysäännöistä. Saatavilla: http://wwwb.mmm.fi/el/laki/h/2002_1774_koon-nos%202009_FI.pdf. Tulostettu: 28.12.2010.
- EU:n ilmasto- ja energiapaketti. 2008. Ulkoasiainministeriön uutiset 19.6.2008. Saatavilla: <http://www.eurooppatiedotus.fi/public/default.aspx?contentid=132603>. Tulostettu: 7.1.2010.
- [Evira] Elintarviketurvallisuusvirasto Evira. 2010. Eläimistä saatavat sivutuotteet. Saatavilla: http://www.evira.fi/portal/fi/evi-ra/asiakokonaisuudet/elaimista_saatavat_sivutuotteet/. Tulostettu: 28.12.2010.
- FitzGerald RJ ja O'Cuinn G. 2006. Enzymatic debittering of food protein hydrolysates. *Biotechnology Advances* 24:234-237.
- Fonkwe LG ja Singh RK. 1996. Protein recovery from mechanically deboned turkey residue by enzymic hydrolysis. *Process Biochemistry* 31(6):605-616.
- Freemont AJ. 1998. Bone. *Current orthopaedics* 12:181-192.
- Hosseini-Parvar SH, Keramat J, Kadivar M, Khanipour E ja Motamedzadegan A. 2009. Optimising conditions for enzymatic extraction of edible gelatin from the cattle bones using response surface methodology. *International Journal of Food Science and Technology* 44:467-475.
- Jung S, Rickert DA, Deak NA, Aldin ED, Recknor J, Johnson LA ja Murphy PA. 2003. Comparison of kjeldahl and dumas methods for determining protein contents of soybean products. *JAACS* 12:1169-1173.
- Lehto M. 2008. Opas pienteurastamon sivutuotteiden hyödyntämisestä ja hävittämisestä. Ruoka-Suomi teemaryhmän julkaisu 1/2008. Saatavilla: www.evira.fi/files/products-/1285595380620_1226920912025.pdf. Tulostettu: 29.12.2010.
- Liu DC ja Ockerman HW. 2001. Meat co-products. Teoksessa: Young OA, Rogers RW, Hui YH ja Nip WK, toim. *Meat science and applications*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. s 581-604.
- Ma F, Clements LD ja Hanna MA. 1998. The effects of catalyst, free fatty acids and water on transesterification of beef tallow, *Trans. ASAE* 41:1261-1264.

- McGee H. 1984. Sauces. Teoksessa: On food and cooking: The science and lore of the kitchen. New York, USA: Collier Books. s 327-366.
- Meatco. 2010. Enzymatically separated meat. Meatco BV -tuotetiedote, Haaksbergen, Hollanti. PD ESM Rev.001:1-2.
- Ockerman HW ja Hansen CL. 2000. Animal by-product processing & utilization. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. 523 s.
- Okada K, keksijä; Ariake Japan co., Tokio, hakija. 15.1.2004. High quality dried bouillon and methods for preparation thereof. U.S. Patent Application US 2004/0005397 A1.
- Olszta MJ, Cheng X, Jee SS, Kumar R, Kim Y, Kaufman MJ, Douglas EP ja Gower LB. 2007. Bone structure and formation: A new perspective. Materials science and engineering R 58:77-116.
- Opetushallitus. 2010. Veden sameuden nefelometrinen määrittäminen. Helsinki. Saatavilla: http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/ymparistoanalyysit_veden_sameuden_nefelometrinen_maaritys.html. Tulostettu: 16.12.2010.
- Pearson AM. 1993. Extracts. Teoksessa: Encyclopaedia of food science, food technology and nutrition. Corvallis, OR, USA: Academic Press. s 3812-3817.
- Ramesh MN. 2008. Cooking and frying of foods. Teoksessa: Rahman MS, toim. Handbook of food preservation. 2. p. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. s 625-634.
- Ramirez CA, Patel M ja Blok K. 2006. How much energy to process one pound of meat? A comparison of energy use and specific energy consumption in the meat industry of four European countries. Energy 31: 2047-2063.
- Salminen P. 2003. Eläimistä saatavien sivutuotteiden terveysturvallisuus muuttuu. Kehittyväelintarvike nro 1. Helsinki. Saatavilla: <http://kehittyvaelintarvike.fi/teemajutut/26-elaimista-saatavien-sivutuotteiden-terveyssaannot-muuttuvat>. Tulostettu: 29.12.2010.
- Shahidi F, Han XQ ja Synowiecki J. 1995. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). Food chemistry 53:285-293.
- Sikorski ZE. 2007. The role of proteins in food. Teoksessa: Chemical and functional properties of food components. 3. p. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. s 129-175.
- Silvestre MPC. 1997. Review of methods for the analysis of protein hydrolysates. Food chemistry 60(2):263-271.
- Sipilä A. 2008. EU: Biopolttoaine ei nosta ruoan hintaa. Helsingin sanomat 7.5.2008.
- Snitkjær P, Frøst MB, Skibsted LH ja Risbo J. 2010. Flavour development during beef stock reduction. Food chemistry 122:645-655.
- Snitkjær P, Risbo J, Skibsted LH, Ebeler S, Heymann H, Harmon K ja Frøst MB. 2011. Beef stock reduction with red wine - effects of preparation method and wine characteristics. Food chemistry 126:183-196.
- Thippareddi H ja Sanchez M. 2006. Thermal processing of meat products. Teoksessa: Sun DW, toim. Thermal food processing: New technologies and quality issues. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. s 155-196.
- This H, Méric R ja Cazor A. 2006. Lavoisier and meat stock. C. R. Chimie 9:1510-1515.
- Thompson M, Owen L, Wilkinson K, Wood R ja Damant A. 2004. Testing for bias between Kjeldahl and Dumas methods for the determination of nitrogen in meat mixtures, by using data from a designed interlaboratory experiment. Meat Sci. 68:631-634.

Tzaphlidou M. 2005. The role of collagen on bone structure: An image processing approach. *Micron* 36:593-601.

Venugopal V. 2006. Gel formation of fish structural proteins by pH changes and its applications. Teoksessa: *Seafood processing: adding value through quick freezing, retortable packaging and cook-chilling*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. s 377-399.

Wang L. 2009a. Biodiesel production from waste oils and fats. Teoksessa: *Energy efficiency and management in food processing facilities*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. s 411-426.

Wang L. 2009b. Food processing wastes and utilizations. Teoksessa: *Energy efficiency and management in food processing facilities*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. s 363-384.

Wang L. 2009c. Energy Conservation In Meat Processing Facilities. Teoksessa: *Energy efficiency and management in food processing facilities*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. s 277-288.

Warthesen J ja Muehlenkamp M. 1997. Food chemistry for engineers. Teoksessa: Valentas KJ, Singh RP ja Rotstein E, toim. *Handbook of food engineering practice*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. s 669-700.

LIITTEET

Liite 1. Kaslink Foods Oy:n avokattila- ja painekattilamenetelmillä tuotettujen nauta demi-glacé-kastikepohjien määritystulokset.

menetelmä	näyte	kuiva-aine- pitoisuus (%)	kok.proteiini- pitoisuus (%)	sidekudos- prot.pitoisuus (%)	sidekudos- luku ka.
avokattila	a	16,7	14,0	22,4	
	b	16,7	13,9	22,3	
	c	16,6	14,6	23,4	92,8
	d	16,7	-	-	
painekattila	a	19,5	17,1	27,3	
	b	19,5	16,6	26,5	
	c	19,5	16,7	26,8	90,1
	d	19,5	-	-	

Liite 2. 0,3 bar:n ylipaineessa (107,6 °C:ssa) keitettyjen liemiainesten määrittystulokset.

näyte	kuiva-ainepitoisuus (%)	kok.prot.pitoisuus (%)	sidekudos-prot.pitoisuus (%)
1	4,594	3,5	2,96
2	4,458	3,6	2,99
3	4,435	3,7	2,63
4	4,588	3,4	2,54
5	4,469	3,6	2,95
6	4,532	3,6	3,15
7	4,021	3,3	2,41
8	4,002	3,3	1,88
9	4,016	-	2,46
1	5,592	4,6	4,19
2	5,461	4,6	4,26
3	5,388	4,6	4,12
4	5,493	4,5	4,06
5	5,437	4,6	3,92
6	5,454	4,6	3,76
7	5,186	4,0	3,40
8	5,112	4,1	3,13
9	5,214	-	3,29
1	6,602	5,5	5,09
2	6,321	5,5	4,93
3	6,291	5,6	4,97
4	6,229	5,3	4,85
5	6,178	5,2	4,15
6	6,332	5,2	4,68
7	5,661	4,7	4,27
8	5,618	4,7	4,13
9	5,581	-	3,37

Liite 3. 0,5 bar:n ylipaineessa (112,0 °C:ssa) keitettyjen liemiainesten määrittystulokset.

näyte	kuiva-ainepitoisuus (%)	kok.prot.pitoisuus (%)	sidekudosprot.pitoisuus (%)
1	4,883	4,1	3,46
2	4,861	4,1	3,46
3	4,826	4,2	3,55
4	4,732	4,1	3,16
5	4,713	3,9	2,39
6	4,693	3,9	2,31
7	4,397	-	2,44
8	4,413	-	3,17
9	4,399	-	3,08
1	6,190	5,2	4,26
2	6,131	5,2	4,07
3	6,097	5,0	3,35
4	5,577	5,0	4,23
5	5,551	5,1	3,60
6	5,534	5,1	4,32
7	5,746	-	3,04
8	5,741	-	4,06
9	5,744	-	3,79
1	6,461	5,7	3,87
2	6,436	5,8	4,71
3	6,453	5,6	4,48
4	6,229	5,5	4,77
5	6,166	5,8	4,28
6	6,170	5,8	4,21
7	6,416	-	4,39
8	6,387	-	4,73
9	6,366	-	4,87

Liite 4. Ermitaasi-entsyymikäsiteltyjen liemiainesten määrittystulokset

keitto- olosuhteet	näyte	kuiva-aine- pitoisuus (%)	kok.prot.- pitoisuus (%)	sidekudos- prot.pitoisuus (%)
0h	1	5,433	4,5	2,39
	2	5,354	4,8	2,46
	3	5,391	4,8	2,59
	4	5,722	5,2	1,87
	5	5,663	4,0	2,52
	6	5,639	4,0	2,66
	7	11,340	-	1,95
	8	11,417	-	1,81
	9	11,261	-	1,89
4 h (luut+liemi) 1,5 bar	1	6,269	5,4	4,35
	2	6,325	5,4	4,63
	3	6,300	5,1	3,96
	4	5,925	5,2	3,04
	5	5,981	4,7	3,38
	6	5,954	4,8	3,14
	7	5,619	-	3,37
	8	5,634	-	3,70
	9	5,616	-	3,62
4 h (luut+vesi) 1,5 bar	1	4,423	3,9	4,27
	2	4,405	3,9	3,67
	3	4,445	3,3	3,37
	4	3,720	3,4	2,44
	5	3,782	3,1	2,33
	6	3,734	3,1	2,43
	7	3,573	-	1,96
	8	3,566	-	2,36
	9	3,537	-	2,48

Liite 5. Sameuden määrittäminen spektrofotometrilla (esikokeet).

pitoisuus (%)	absorbanssi
50,000	2,804
9,091	1,055
6,250	0,805
4,762	0,690
3,226	0,460
2,381	0,342
1,961	0,288
0	0,000

Liite 6. Koesarjoissa valmistettujen liemiainesten sameuden mittaustulokset spektrofotometrillä.

koe	keittoaika	näyte	absorbanssi	absorbanssi	erotus
			laimennos	suodos	
1,3 bar	4	1	0,412	0,18	0,232
		2	0,389	0,272	0,117
		3	0,357	0,158	0,199
	5	1	0,478	0,237	0,241
		2	0,45	0,256	0,194
		3	0,475	0,214	0,261
	6	1	0,604	0,288	0,316
		2	0,53	0,357	0,173
		3	0,54	0,255	0,285
1,5 bar	4	1	0,378	0,199	0,179
		2	0,281	0,193	0,088
		3	0,267	0,139	0,128
	5	1	0,464	0,235	0,229
		2	0,34	0,159	0,181
		3	0,402	0,197	0,205
	6	1	0,506	0,238	0,268
		2	0,377	0,197	0,18
		3	0,483	0,275	0,208
entsyymi	0	1	0,638	0,119	0,519
		2	0,576	0,194	0,382
		3	0,94	0,099	0,841
	4 (luut +liemi)	1	0,461	0,183	0,278
		2	0,406	0,104	0,302
		3	0,373	0,148	0,225
	4 (luut+vesi)	1	0,374	0,225	0,149
		2	0,324	0,256	0,068
		3	0,297	0,158	0,139

Liite 7. Koesarjoissa valmistettujen liemiainesten pH-arvot.

koe	keittoaika	näyte	pH
1,3 bar	4	1	6,75
		2	6,73
		3	6,39
	5	1	6,82
		2	6,77
		3	6,97
	6	1	6,85
		2	6,81
		3	6,98
1,5 bar	4	1	6,71
		2	6,78
		3	6,74
	5	1	6,76
		2	6,78
		3	6,3
	6	1	6,04
		2	6,77
		3	6,78
entsyymi	0	1	6,98
		2	6,98
		3	6,94
	4 (luut +liemi)	1	6,87
		2	6,92
		3	6,85
	4 (luut+vesi)	1	6,96
		2	7,01
		3	7,01