

Opinnäytetyö (AMK)

Bio- ja elintarviketekniikan koulutusohjelma

Laboratoriotekniikka

2013

Jonna-Kaisa Pyykkö

# KAURAVALMISTEIDEN RAAKA – AINEKETJUN JA LOPPUTUOTTEIDEN GLUTEENITTOMUUDEN VARMISTAMINEN



TURUN AMMATTIKORKEAKOULU  
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Jonna-Kaisa Pyykkö

## KAURAVALMISTEIDEN RAAKA-AINEKETJU JA LOPPUTUOTTEIDEN GLUTEENITTOMUUDEN VARMISTAMINEN

Keliakia on elinikäinen sairaus, jonka ainoa hoitokeino on gluteeniton ruokavalio. Hoitamattomana keliakia aiheuttaa kivuliaiden vatsavaivojen lisäksi lopulta suolistosyöpää. Keliakiatietoisuus kasvaa ja vähägluteenisen ruokavalion suosio on nousussa, joten tarve gluteenittomille tuotteille on kasvamassa. Samalla uusia gluteenittomia raaka – aineita sallitaan käytettäväksi gluteenittomissa elintarvikkeissa. Kaura on ainoa Suomessa kasvavista viljalajikkeista, jota voidaan käyttää gluteenittoman elintarvikkeen raaka – aineena.

Opinnäytetyössä selvitettiin toimeksiantajayrityksen kaikkien kauratuotteiden sekä raaka-ainetuottajien tuotteiden gluteenipitoisuuden taso. Kauratuotteiden gluteenipitoisuuden määrittämiseen käytetään R5 ELISA – menetelmää. Menetelmä on vasta – ainemääritys ja suoritetaan kitin valmistajan ohjeen mukaisesti. ELISA – menetelmä on kehitetty 2010 – luvun alkupuolella, mutta gluteenipitoisuutta on alettu mitata jo 1980 – luvun puolivälistä lähtien. Gluteeninmäärittämiseen kehitetyt menetelmät pohjautuvat vehnän proteiinin määrittämiseen.

Osa toimeksiantajayrityksen tuotteista on luontaisesti gluteenittomia ja melkein kaikki ovat erittäin vähägluteenisia. Leseen lisääminen tuotteeseen kasvattaa gluteenipitoisuutta. Useat tuotteet vaativat gluteenittomuuden saavuttamiseksi myös täysin gluteenittoman raaka – aineen.

Raaka-aineen tulee olla gluteeniton, jotta lopputuote voidaan myydä gluteenittomana. Kauravalmisteiden gluteenipitoisuuden tarkkailu on tärkeää. Vaikka kauran proteiini ei sinällään aiheuta keliakiaa, gluteenikontaminaatiota tapahtuu herkästi jopa jo kauran viljelyvaiheessa.

### ASIASANAT:

Keliakia, gluteeniton ruokavalio, gluteenimääritys, gluteeniton tuote, ELISA – kittimenetelmä, gluteenimäärityspikamenetelmä, kaura, kauratuotteet, Yosa, Oatrim, Bioferme

BACHELOR'S THESIS | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Degree Programme in Biotechnology and Food Technology | Laboratory Technology

2013 | p. 38

Jukka Kaitaranta, Principal Lecturer

Jonna-Kaisa Pyykkö

# RAW MATERIAL CHAIN OF OAT PRODUCTS AND VERIFICATION OF GLUTEN FREE END PRODUCTS

Celiac is a lifelong disease where the only treatment is a gluten free diet. Untreated celiac causes painful upset stomach symptoms and may lead to intestinal cancer. The knowledge of celiac disease and low gluten diet is increasing, so the need for gluten free products is increasing. At the same time new raw materials are allowed in gluten free food products. Oats is the only cereal growing in Finland that can be used in as a raw material in gluten free food products.

In this thesis the gluten level of the commissioner's oat products and the raw material producers' products were determined. The R5 ELISA method is used in the gluten analysis of oat products. This method is an antibody assay and it is performed according to the kit manufacturer's instructions. ELISA method was developed in the early 2010s, but the gluten level determination of different products have been performed since the mid – 1980s. Most gluten assays are based on the determination of wheat protein.

Some of the commissioner's products are naturally gluten – free and almost all exhibit very low gluten level. The addition of bran increases the gluten level of the products. Most of the client enterpriser's products require totally gluten free raw material to reach the allowed level of gluten in the gluten free products.

The raw material has to be gluten free so that the final product can be sold as a gluten free food product. The monitoring of the gluten level in gluten free products is essential. Although the oat protein does not cause celiac disease as such, gluten contamination occurs, even already in the cultivation phase.

## KEYWORDS:

celiac disease, gluten free diet, gluten assay, gluten-free product, ELISA - kit method, quick gluten assay method, oats, oat products, Yosa, Oatrim, Bioferme

# SISÄLTÖ

<b>SANASTO</b>	<b>7</b>
<b>1 JOHDANTO</b>	<b>8</b>
<b>2 KELIAKIA</b>	<b>9</b>
2.1 Fysiologinen vaikutus ihmiselimestöön	10
2.2 Erityisruokavalio hoitokeinona	10
<b>3 GLUTEENITTOMUUS</b>	<b>12</b>
3.1 Elintarvikkeet ja raaka - aineet	12
3.2 Gluteenittomien tuotteiden markkinat	13
3.3 Gluteeni elintarvikkeissa	13
<b>4 KAURA JA SEN SOVELTAMINEN KELIAAKIKON RAVINNOSSA</b>	<b>15</b>
4.1 Kaurajyvän rakenne	15
4.2 Viljan gluteeniosa	16
<b>5 LUSIKOITAVAT JA JUOTAVAT KAURATUOTTEET SEKÄ NIIDEN RAAKA- AINEKETJU</b>	<b>18</b>
5.1 Bioferme Oy	18
5.2 Kauratuotteet	18
5.2.1 Lusikoitavat ja juotavat kauratuotteet	18
5.2.2 OATrim	19
5.2.3 Kaurahiutale ja muut raaka – aineet	20
<b>6 GLUTEENIPITOISUUDEN MÄÄRITTÄMINEN</b>	<b>21</b>
6.1 Gluteenipitoisuuden määrittämiseen käytettävät menetelmät	21
6.1.1 ELISA RIDASCREEN®Gliadin	21
6.1.2 RIDA®QUICK Gliadin	22
6.2 Menetelmän kehitys ja sopivuus kauratuoteille	23
6.3 Immunoentsyymimääritys	25
<b>7 TULOKSET</b>	<b>26</b>
7.1 Taustamäärityksiä	26
7.2 Lusikoitavat ja juotavat kauratuotteet	27

7.3 OATrim tuotteet	29
7.4 Muut raaka – aineet	29
7.5 Tuotantoketju hiutaleesta lopputuotteeseen	30
7.6 RidaQuick vs. ELISA – testi	32

## **8 PÄÄTELMÄT JA YHTEENVETO** **34**

## **LÄHTEET** **36**

## **LIITTEET**

Liite 1. Myllyn seulontatesti.	38
--------------------------------	----

## **KUVAT**

Kuva 1. Gluteenittoman tuotteen merkki	12
Kuva 2. Kauran jyvän rakenne ilman kuorta	16
Kuva 3. Lusikoitavia ja juotavia kauratuotteita tuotteita.	19
Kuva 4. OATrim tuotteet.	20
Kuva 5. Gluteenimäärityksen eri työvaiheita	21
Kuva 6. ELISA kitti eri määritysvaiheissa	22
Kuva 7. Gluteenimäärityksen pikamenetelmän testitikut.	22
Kuva 8. Jyvä – ja hiutalenäytteiden jauhamiseen käytetty mylly.	23

## **KUVIOT**

Kuvio 1. Standardisuora ilman 80ppb pistettä.	24
Kuvio 2. Standardisuora 80 ppb standardipisteen kanssa.	24

## TAULUKOT

Taulukko 1. Lusikoitavien ja juotavien kauravalmisteiden makuvaihtoehdot.	19
Taulukko 2. Kaupalliset hiutaleet ja niiden gluteenipitoisuudet.	26
Taulukko 3. Elovena – välipalajuoman gluteenipitoisuus.	27
Taulukko 4. Lusikoitavien kauratuotteiden gluteenipitoisuudet.	28
Taulukko 5. Juotavien kauratuotteiden gluteenipitoisuudet.	28
Taulukko 6. Tässä työssä ja kaupallisissa laboratorioissa saatuja tuloksia.	28
Taulukko 7. Gluteenipitoisuus OATrim tuotteessa.	29
Taulukko 8. Toimeksiantajan käyttämiä raaka-aineita.	30
Taulukko 9. Gluteenipitoisuuden seuranta raaka - aineesta lopputuotteeseen sekä hiutaleet että jauhot myllyltä.	31
Taulukko 10. Pikatesti vs. ELISA – testi tuloksia jyvänäytteistä.	32
Taulukko 11. Pikatesti vs. ELISA – testi tuloksia kauratuotteista.	32

## SANASTO

Bulgur	Durumvehnästä käsiteltyä seulonnan jälkeistä keskikokoista jyvää, jota voi käyttää cous cousin sijaan ruuanlaitossa. (GoGreen)
HLA	Human Leukocyte Antigen, proteenikompleksi, joka auttaa immuunisysteemiä erottamaan kehon omat proteiinit vieraista proteiineista, kuten bakteerien tai virusten proteiinit. (Genetics Home Reference, 2013)
Glukomannaanikuitu	Aasialaisesta Konjac – kasvin juurimukulasta uutettu kuitu. (OATrim)
Stevioliglykosidit	Valmistetaan Etelä – Amerikassa kasvavasta <i>Stevia rebaudiana</i> – nimisen kasvin lehtiutteesta, makeutusaine. (OATrim)
Prolamiini	Yleisnimitys viljan gluteenin etanoliliukoisille proteiineille. (+Tohtori)
Antioksidantti	Toimii hapettumisen estäjänä ihmiskehossa suojaten tärkeitä molekyylejä vahingoittumasta. (+Tohtori)
ELISA	Enzyme – linked immunosorbent assay (Kanerva, 2011)

# 1 JOHDANTO

Opinnäytetyö on osa EU – hanketta, jossa perusajatuksena on gluteeniton kaura elintarvikkeiden merkittäväksi raaka – aineeksi ja kauran terveydellisten ja teknologisten ominaisuuksien tunnettuuden parantaminen, etenkin gluteenittomuus. Tavoitteena oli jäljittää ja määrittää gluteenitaso raaka – aineesta tuotteeseen sekä kehittää markkinoille gluteenittomia kauramaitovalmisteita.

Gluteenin sallittu pitoisuus gluteenittomassa tuotteessa on 20 mg/kg ja erittäin vähägluteenisessa tuotteessa 100 mg/kg. Gluteeni on varastoproteiini. Jauhe-tussa viljan jyvässä on proteiinia 10 – 17 %. Kauralla proteiiniosaa kutsutaan aveniiniksi. (Paganus, 2009; Suomen elintarviketurvallisuusvirasto)

Keliakia on elinikäinen vehnän, ohran ja rukiin sisältämän valkuaisaineen eli gluteenin aiheuttama sairaus, johon ei ole tämän päivän lääketieteellistä parannuskeinoa. Sen ainoa hoitokeino on keliakiaruokavalio eli gluteeniton ruokavalio, jonka avulla keliakiaa sairastava pysyy oireettomana eikä sairaus etene. Ihokeliakiassa voidaan tarvita lisänä myös lääkettä. (Keliakialiitto, 2008; Suomen elintarviketurvallisuusvirasto; Paganus, 2009)

Keliakikot voivat sisällyttää ruokavalionsa gluteenittoman kauran ilman, että heille aiheutuu terveydelle haitallisia vaikutuksia. Keliakiaa sairastavalle tarkoitettuihin elintarvikkeisiin käytettävän kauran tulee olla erityisesti viljelty, korjattu, kuljetettu, varastoitu, valmistettu ja käsitelty niin, että kaura ei missään vaiheessa matkallaan raaka-aineesta tuotteeksi joudu kosketuksiin vehnän, ohran tai rukiin kanssa eli minkäänlaista gluteenikontaminaatiota ei tapahdu. (Suomen elintarviketurvallisuusvirasto)

Nestemäisestä näytteestä oli tavoitteena tutkia gluteenipitoisuutta RIDASC-REEN® Gliadin testikitillä, joka käyttää apunaan gluteenimolekyylin taipumusta kiinnittyä vasta-aineeseen. R5 – ELISA menetelmä sopii parhaiten gluteenipitoisuuden kvantitatiivisiin määrittäisiin analysoitavalle näytteelle. Kittimenetelmää sovellettiin laboratorioon paremmin sopivaksi ja testattiin menetelmän sopivuutta nestemäisille elintarvikkeille.



## 2 KELIAKIA

Keliakia on suolistosairaus, joka tuli lääketieteen tietoon vasta vuonna 1950 ensimmäistä kertaa Englannissa, vaikka sairauden klassiset oireet kuvailtiin jo 1800-luvulla. Keliakiaa sairastavalla viljan valkuaisaine, eli gluteeni, johtaa imeytymishäiriöön elimistössä. Keliakian ainoa hoitokeino on gluteenin poisto ruokavaliosta. (Gallagher, 2009; Paganus, 2009; World Gastroenterology Organisation Practice Guidelines, 2007)

Uusimpien tutkimusten myötä on todettu että keliakia on yhdellä prosentilla väestöstä ja keliakiaan voi sairastua missä tahansa iässä. Suoritettujen maailman laajuisten tutkimuksien mukaan 1:130 sairastuisi Suomessa keliakiaan, 1: 190 sairastuu Ruotsissa ja 1:112 sairastuu Iso – Britanniassa. Mahdollisista keliakiatapauksista vain 0,1 % diagnosoidaan Suomessa. Keliakiaa löytyy ympäri maailmaa, mutta vähemmissä määrin riisiruokakulttuurin omaavissa maissa. (Paganus, 2009; Gallagher, 2009)

Viime vuosisadalla kehitetty viljan tehotuotanto tuottaa paljon valkuaisaineita sisältäviä vehnälajikkeita, jolloin gluteenin saanti ravinnosta on lisääntynyt. Vehnää on alettu viljelemään 10 000 vuotta sitten ja kului tuhansia vuosia ennen kuin viljasta kasvoi koko kansan ravinto. Vähäinen viljely ja kysyntä mahdollistivat myös ravinnossa alhaisen gluteenipitoisuuden. Perinteisiä viljatuotteita, jotka sisältävät gluteenia, ovat jauhot, tärkkelykset, hiutaleet, suurimot, leseet, alkiot, cuos cous, bulgur ja mannasuurimot. Viljojen tärkkelykset sisältävät kuitenkin yleensä hyvin vähän gluteenia. (Suomen elintarviketurvallisuusvirasto; Paganus, 2009; World Gastroenterology Organisation Practice Guidelines, 2007)

Keliakiaan sairastumisella ja perintötekijöillä on yhteys. Lisäksi keliakiaan sairastumiseen vaikuttaa ympäristötekijät eli gluteenia sisältävien viljojen osuus ravinnosta. Niukka gluteenin saanti ensimmäisistä ihmiskunnan aikana viljellyistä viljalajikkeista on mahdollistanut hengissä säilymisen vaikka luontainen ihmisen puolustautumisjärjestelmä on ryhtynyt toimiin viljan sisältämää valku-

aisainetta vastaan. Keliakiaan altistavien perintötekijöiden levinneisyyttä tutkitaan edelleen. (Paganus, 2009; Gallagher, 2009)

## 2.1 Fysiologinen vaikutus ihmiselimistöön

Keliakiaa sairastavat ihmiset ovat perineet HLA – kudostyyppin, joka tunnistaa gluteenin vahingolliseksi ihmisen elimistössä. Elimistö kehittää monimutkaisen puolustautumisjärjestelmän, joka lopulta johtaa ohutsuolivaurioon. (Paganus, 2009)

Poikkeava immunitaetti johtaa keliakikon suolen reagointiin gluteeniin. Tämä johtaa suolen limakalvon tulehtumiseen ja suolinukan vaurioitumiseen sekä kehittää imeytymishäiriön. Ihmiselimistö ei pysty hyödyntämään kaikkea saatavaa ravintoa, mikä voi johtaa erilaisiin puutostiloihin, kuten anemiaan tai laihtumiseen, raudan, rasvojen ja valkuaisaineiden huonoon imeytymiseen sekä luuston haurastumiseen. (Paganus, 2009)

Tyypillisiä oireita keliakiaa sairastavilla on vatsaoireet, kuten ripuli, ummetus ja vatsakivut. Taudinkuva on moni-ilmeinen, joka selittyy suolen limakalvon vaurioitumisen asteella. Viidenneksellä keliakikoista sairaus ilmenee kutiavana rakkulaihottumana eli ihokeliakiana eli *dermatitis herpetiformis*. Rakkulaihottuma ilmenee yleensä polvissa, kyynärpäissä, pakaroissa, hiuspohjassa ja hartioissa. Hoitamattomaan keliakiaan liittyy riski sairastua luukatoon tai pahanlaatuisiin kasvaimiin (Paganus, 2009; Keliakialiitto, 2008).

## 2.2 Erityisruokavalio hoitokeinona

Keliakiaa voidaan hoitaa vain gluteenittomalla ruokavaliolla. Ruokavaliosta poistetaan vehnä-, ruis- ja ohrapitoiset ruoka – aineet. Viljat korvataan luontaisesti gluteenittomilla ruoka – aineilla, kuten riisi, tattari, hirssi ja maissi. Kauran käyttö gluteenittomassa ruokavaliossa soveltuu suurelle osalle keliakikoista. Kanadalaisen keliakialiiton tutkimuksen mukaan suositeltava ”puhtaan” kauran määrä

päivässä olisi aikuisilla 50 – 70 g ja lapsilla 20 – 25 g. (Paganus, 2009; Keliakialiitto, 2008; Health Canada, 2007)

Viljan gluteenin prolamiini – niminen valkuaisaine tuhoaa suolinukan. Haitallisin prolamiini on vehnässä, mutta myös ohrassa ja rukiissa olevat valkuaisaineen osat ovat vehnäsukulaisuutensa vuoksi haitallisimpia viljalajikkeita. Kauran valkuaisaine eli aveniini, ei ole haitallinen keliakikon suolistolle. Lipsuminen ruokavaliosta ylläpitää suolistovauriota ja gluteeni laukaisee joka kerta elimistöön päästessään tulehdusreaktion. (Paganus, 2009)

## 3 GLUTEENITTOMUUS

### 3.1 Elintarvikkeet ja raaka - aineet

Keliakikön ruoka – aineissa gluteenikontaminaatio on aina mahdollinen viljapellolta ruuan valmistukseen saakka. Lopputuotteen puhtausasteesta vastaa vastuun ottava tuotteen valmistaja ja markkinoija. Gluteenittomissa tuotteissa on gluteenittoman tuotteen pakkausmerkinnät (kts. Kuva 1). GNPD:n mukaan gluteenittomien tuotteiden määrä on kasvanut noin 400 tuotteella neljässä vuodessa (v. 2004 – 2007). GNPD eli Mintel Global New Products Database pitää rekisteriä uusien tuotteiden trendeistä ympäri maailman. (Paganus, 2009; Gallagher, 2009)



Kuva 1. Gluteenittoman tuotteen merkki (Keliakialiitto, 2008)

Keliakialiitto on perustanut vuonna 2003 gluteenittomien tuotteiden merkkirekisterin, johon kuului yli 100 tuotetta vuonna 2011. Merkin myöntämisessä käytetään seuraavaa jaottelua: gluteenittomat ja luontaisesti gluteenittomat. Gluteenittoman tuotteen merkin myöntämisperusteena on kolme asiaa. Tuotteen valmistajalla täytyy olla toimiva omavalvontasuunnitelma ja analyysitodistus tuotteen gluteenittomuudesta sekä lainmukaiset pakkausmerkinnät. (Keliakialiitto, 2008)

Luonnostaan täysin gluteenittomia raaka-aineita ovat riisi, maissijauho, tattari, hirssi, peruna-, tapioka-, soijajauho, quinoa, amarantti, sokerijuurikashiutaleet, arrowjuuri, bataatti, jamssi, saago, taaro, kasvien siemenet kuten auringonkukan ja seesaminsiemenet. Vehnätärkkelys, kaura ja mallasuute jätetään pois luontaisesti gluteenitonta ruokavaliota noudatettaessa. Keliakialiitto pitää sivustollaan yllä gluteenittomien tuotteiden listaa. (Paganus, 2009)

### 3.2 Gluteenittomien tuotteiden markkinat

Maailmassa on noin 700 gluteenittomia elintarvikkeita valmistavaa yritystä. Suomessa toimivia gluteenittomien tuotteiden valmistajia ovat esim. Oy Moilas GF Ltd, Leipomo Sulaiset ja Pirjon Pakari. Saksasta Suomeen gluteenittomia tuotteita tuovat esimerkiksi Schär ja Glutano. (Trends and Developments in the Gluten-free Food Ingredient Solutions Market, 2012)

Gluteenittomien elintarvikkeiden ja juomien mahdollisuuksista Euroopan markkinoilla Suomen osuus vuonna 2009 oli 1,08 % ja Saksassa suurin mahdollisuus koko Euroopasta oli 16 %. Suomessa vuosina 2004 – 2013 gluteenittomien elintarvikkeiden osuus markkinoilla on pysynyt samalla tasolla koko Euroopan tilanteeseen verrattaessa. Näiden vuosien aikana markkinaosuus on kasvanut 9 M €:sta 21 M €:oon. (Trends and Developments in the Gluten-free Food Ingredient Solutions Market, 2012; Parker, 2009)

Gluteenittomien tuotteiden markkinaosuus Euroopassa tulee olemaan 26 % luokkaa maailmanlaajuisista markkinoista. Euroopan markkinaosuus on prosentuaalisesti laskussa vuoden 2004 29 %:sta ja osuuden arvioidaan laskevan 24 %:iin vuonna 2014. Kuitenkin gluteenittomien tuotteiden arvioidaan Euroopan markkinoilla nousevan 872 M €:sta 1948 M €:oon. (Trends and Developments in the Gluten-free Food Ingredient Solutions Market, 2012; Health Canada, 2007; Parker, 2009)

### 3.3 Gluteeni elintarvikkeissa

Gluteeni on viljoissa oleva proteiini. Gluteeni sisältää ryhmän monimutkaisia proteiinimolekyylejä. Vehnässä proteiinin osa on prolamiini ja kaurassa aveniini. Kaurassa olevan gluteenin ei todeta aiheuttavan keliakiaa. Riisin vastaavaa proteiinia sanotaan oryziiniksi ja maissin tseiniiksi. (Gallagher, 2009; Paganus, 2009)

Komission asetus (EY) N:o 41/2009, joka tuli voimaan 10.2.2009 ja jota on noudatettava 1.1.2012 lähtien, määrittää keliakikoille soveltuvien elintarvikkeiden koostumuksen ja merkitsemisen. Kuluttajalle myyntivalmiissa elintarvikkeessa on enintään 20 mg/kg gluteenia, jotta voidaan käyttää nimitystä gluteeniton. Gluteenittomaksi nimetyt tuotteet voivat sisältää vehnän rukiin ja ohran korvaavia aineita kuten maissi tai riisi sekä gluteenitonta kauraa. Elintarvikkeita, joiden gluteenipitoisuus on enintään 100 mg/kg, voidaan nimittää erittäin vähägluteenisiksi. Tavanomaiset keliakikolle tarkoitetut elintarvikkeet saavat Euroopan elintarviketurvallisuusviraston (EFSA) tieteellisen lausunnon mukaan sisältää vehnä – ja ohrapohjaisia dekstrooseja, maltodekstriinejä ja glukoosisiirappeja, sillä ne on todettu turallisiksi keliakikoille. (Suomen elintarviketurvallisuusvirasto; Keliakialiitto, 2008)

Joitakin kliinisiä kokeita on onnistuttu suorittamaan gluteenin päivittäisen annoskoon selvittämiseksi ihmisillä, joilla on diagnosoitu keliakia. Yhden kokeen mukaan keliakikko saattaa pysyä oireettomana, jos ravinto sisältää 50 mg gluteenia päivässä. Toinen tutkimus päättyi tulokseen, että hyvinkin vähäinen määrä päivässä gluteenia aiheuttaa merkittäviä oireita keliakikolle. Tutkiminen on haasteellista, sillä jokainen keliakikko on oma yksilönsä ja sairauteen vaikuttaa perintötekijöiden lisäksi myös vahvasti ympäristö. (Kanerva, 2011)

## 4 KAURA JA SEN SOVELTAMINEN KELIAAKIKON RAVINNOSSA

Kaura sallitaan käytettäväksi keliakikön ruokavaliassa Suomessa, mutta käytön salliminen vaihtelee eri maissa. Kaura on hyödyllinen elimistölle monin tavoin. Kauran  $\beta$  - glukaanikuitu edistää vatsan ja suoliston toimintaa sekä energiaa vapautuu hitaasti elimistöön edistämällä näläntunteen poissa pysymistä. Lisäksi kaurassa on antioksidantteja. Kaurahiutaleissa, 100 grammaa kohden, on energiaa 341 kcal, 12,5 g proteiinia ja 5,7 g ravintokuitua. (Kanerva, 2011; Suomen elintarviketurvallisuusvirasto; Paganus ym., 2009; Bioferme Oy; Rastas ym., 1993)

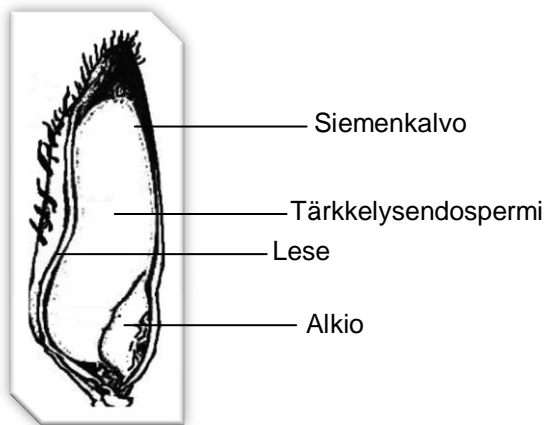
### 4.1 Kaurajyvän rakenne

Viljalaji kaura kuuluu heinäkasvien heimoon, *Festucoideae* alaheimoon, *Aveneae* tribukseen ja *Avena* sukuun. Kauranjyvä koostuu kuoresta, leseestä, tärkkelyksestä, rasvasta, kuidusta ja proteiineista. Kuvassa 2 on kauran jyvä ja sen eri kerrokset. Kaurajyvässä on proteiinia 15 – 18 % koko jyvästä. Näistä proteiineista noin 80 % on prolamiineja eli gluteenia. Rasvaa 4 – 10 %, tärkkelystä 10 – 70 % sekä  $\beta$  - glukaanikuitua 2 – 20 %.  $\beta$  - glukaanikuitu on yksi sovelsin aineksista. (Gerhard Leubner Lab; Grainity, 2007; Kanerva, 2011; Peuhkuri; ym., 1996)

Kuori ja siemenkalvo suojaavat jyvää. Endospermissä on tärkkelyksen lisäksi rasvat, kuidut ja proteiinit, kuten gluteeni. Lese erotetaan jauhetusta kaurajyväsistä seulomalla niin, että leseeksi jää alle 50 % alkuperäisestä materiaalista. Leseestä noin kolmannes on liukoista, syötäväksi soveltuvaa kuitua. Kaurajyvän kuoresta on saatavissa liukenematonta kuitua noin 85 % kuoren kuivapainosta. Kauran  $\beta$  - glukaanikuidusta 80 % saadaan eristetyksi koko jyvästä. Kaurajauho erotellaan rakeisesta jauhantamateriaalista tai puhdistetaan kauraryynien joukosta. Haluttuun lopputuotteeseen pääsemiseen on useita prosessireittejä

riippuen aina lopputuotteen valmistajasta. (Gerhard Leubner Lab; Grainity, 2007)

Kauralle luonteenomaisia antioksidantteja ovat esimerkiksi fenoliyhdisteet kuten avenantramidit, jonka pitoisuus jyvässä vaihtelee 2 mg/kg ja 53 mg/kg välillä. Lisäksi kaurajyvä sisältää ihmisterveyttä edistäviä rasvaliukoisia tokoleita eli tokoferoleita ja tokotrienoleita. (Grainity, 2007; Mäkelä, 2013)



Kuva 2. Kauran jyvän rakenne ilman kuorta (Mäkelä, 2013; Grainity, 2007).

#### 4.2 Viljan gluteeniosa

Viljan osat saadaan erotetuksi jauhamalla. Viljojen proteiinit voidaan jakaa kahteen ryhmään: prolamiineihin ja polymetrisiin gluteeneihin. Viljassa proteiineja on noin 10 – 14 % viljan jyvän koko painosta. Kauran varastoproteiinit jaetaan suolaliukoisiin globuliineihin ja alkoholiliukoisiin prolamiineihin. Kauran prolamiinissa, aveniinissa, on paljon glutamiinia ja glutamiinihappoa sekä melko paljon proliinia ja leusiinia. Kauran proteiineista noin 10 % on aveniinia. Aveniini on samankaltaista kuin vehnän gliadiini. Aveniini esiintyy toistuvimmin seuraavalla aminohapposekvenssillä: proliini, fenyylialaniini, valiini ja kolme glutamiinia. (Gallagher, 2009; Kanerva, 2011; Airaksinen, 2009)

Prolamiinit ovat etanoliliukoisia. Gluteenin polymeerit eivät ole vesi – tai etanoliliukoisia. Polymeerit saadaan liukoiseksi laimennetulla etikkahapolla tai 2 % natriumdodekyylisulfaatilla (SDS). Liotuksen tuote soveltuu hyvin biologisiin tes-



teihin. Jos yhdistettä pilkotaan ditioerytritolilla tai  $\beta$  – merkaptoetanolilla, gluteeni saadaan liukenemaan 40 – 70 %:seen etanoliin. Pilkontaan soveltuvat pelkistimet voivat kuitenkin häiritä biologisia testisysteemejä. Immunologinen tekniikka, kuten ELISA, on todettu herkkyydeltään toimivaksi menetelmäksi gluteenin määrittämiseksi. (Gallagher, 2009; Codex Stan 118 - 1979)

## 5 LUSIKOITAVAT JA JUOTAVAT KAURATUOTTEET SEKÄ NIIDEN RAAKA-AINEKETJU

Bioferme toimi opinnäytetyön toimeksiantajayrityksenä. Analysoidut näytteet ovat Bioferme Oy:ltä tai sen tuotteiden raaka – aineiden tuottajilta. Sen lisäksi tutkittiin valittuja rinnakkaistuotteita, jotka hankittiin vähittäiskaupasta.

### 5.1 Bioferme Oy

Bioferme aloitti toimintansa Merja Scharlinin perustamana vuonna 1977 käyttäen silloin nimeä Piisparistin Mehuasema. Tuolloin yritys toimi marja-, vihannes- ja hedelmätäysmehujen parissa. Yosa -tuotteen syntyminen Biofermessä tapahtui vuonna 1995. Fermentoimalla kauraa probiootisilla maitohappo- ja bifidobakteereilla valmistetaan Yosa, joka oli ensimmäinen tämänkaltainen elintarvike maailmassa. (Bioferme Oy)

### 5.2 Kauratuotteet

Kauratuotteet, jotka analysoitiin, ovat Yosa, Yosa Smoothie, OATrim sekä hiutale ja lese raaka-aineet. Yosaa on markkinoilla 12 eri makua ja toisistaan hieman poikkeavia kauramaitopohjia. Yosan makuvaihtoehtoja ovat esimerkiksi metsämarja, luumu, paratiisi ja tummasuklaa. Yosa Smoothieta on kaksi makua: Mango – vanilja ja Vadelma – punaherukka. OATrim tuotteita löytyy kolme eri makua: marja – mix, omena – kaneli, ananas – appelsiini. (OATrim; Bioferme Oy)

#### 5.2.1 Lusikoitavat ja juotavat kauratuotteet

Lusikoitavana tuotteena on kasviperäinen, maidoton ja laktoositon Yosa kaura-valmiste, joka tasapainottaa vatsan toimintaa ja tehostaa suoliston vastustuskykyä sisältämiensä maitohappo- ja bifidobakteerien avulla. Yosa sisältää kauraa

ja täysjyväkauraa 16% saakka. Lisäksi Metsämarjan ja Luumun makuiset Yosat sisältävät kauralesettä. Smoothiet sisältävät kauravalmisteen lisäksi hedelmää noin 7 %. Taulukossa 1. on esitetty Yosa ja Smoothie makuvaihtoehdot ja kuvassa 3. on tuotteista kuvia. Yosa on rekisteröity luomutuotteeksi ja sille on myönnetty suomenlippu ja sydänmerkki. (Bioferme Oy)

Taulukko 1. Lusikoitavien ja juotavien kauravalmisteen makuvaihtoehdot.

Yosa		
Yosa naturel	Persikka-passion	Luomu Tummansuklaan makuinen
Metsämarja	Ananas	Luomu mustikka-banaani
Vanilja	Luumu	Luomu paratiisi
Mansikka-banaani	Luomu punaisetmarjat	Luomu Sitrus
Smoothie		
Mango-vanilja		
Vadelma-punaherukka		



Kuva 3. Lusikoitavia ja juotavia kauratuotteita tuotteita. (Bioferme Oy)

### 5.2.2 OATrim

OATrim on kauran ja glukomannaanikuidun yhdistelmä, eli painonhallintajuoma, joka hyödyntää glukomannaanille hyväksyttyä painonpudotusväitettä. OATrim on makeutettu hedelmäsokerin lisäksi myös stevioliglykosideilla. OATrimiä on kolmea eri makua Marja – mix, Omena – kaneli ja Ananas – appelsiini. Kuvassa 4. esitetään OATrim tuotteet. (OATrim)



Kuva 4. OATrim tuotteet. (OATrim)

### 5.2.3 Kaurahiutale ja muut raaka – aineet

Työn alkuvaiheessa testattiin markkinoilta saatavia hiutaleita, jotka on lueteltu taulukossa 2. Osa hiutalevalikoimasta oli ilmoitettu gluteenittomiksi.

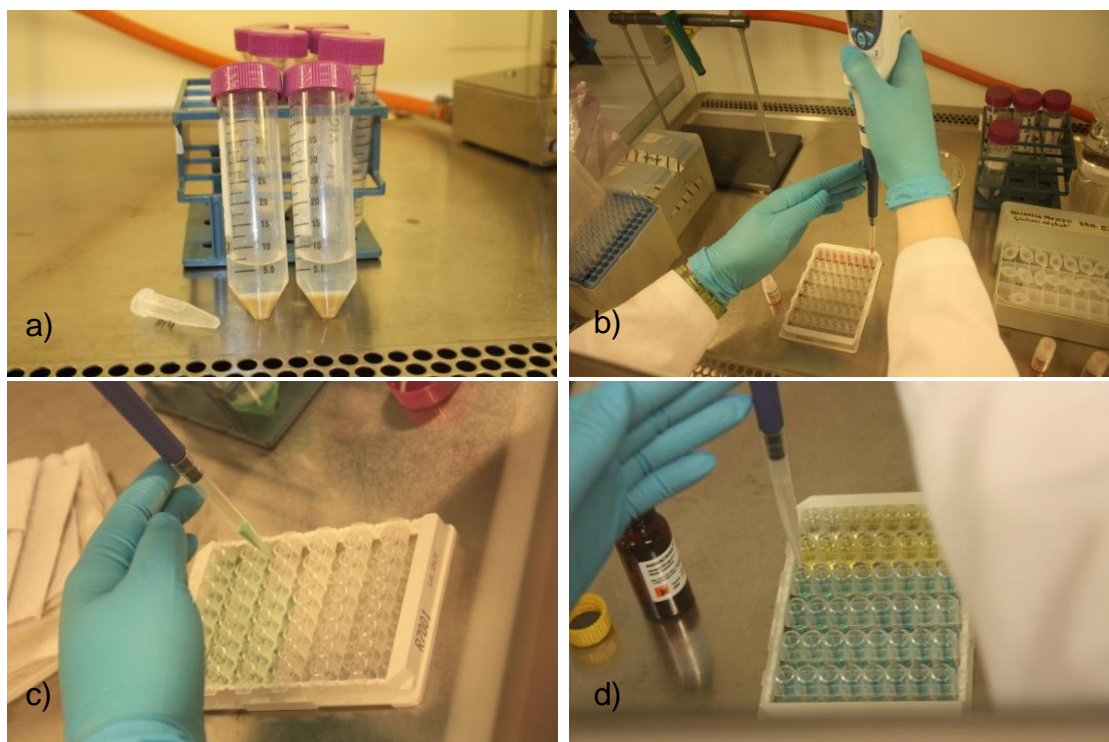
Toimeksiantajan käyttämiä ja tässä työssä analysoituja raaka – aineita on esitelty taulukossa 8. Lisäksi analysoitiin vähittäiskaupan valikoimasta pidemmälle jalostettuja Yosaan rinnastettavia tuotteita. Nämä ovat Elovena välipalajuomia, jotka sisältävät noin 10 % kaurahiutaleta (Raisio).

## 6 GLUTEENIPITOISUUDEN MÄÄRITTÄMINEN

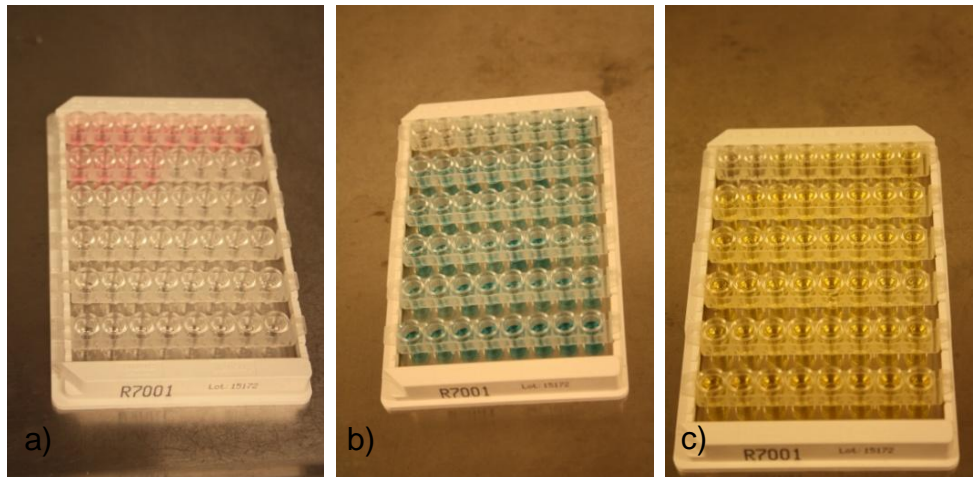
### 6.1 Gluteenipitoisuuden määrittämiseen käytettävät menetelmät

#### 6.1.1 ELISA RIDASCREEN®Gliadin

ELISA RIDASCREEN®Gliadin on sandwich entsyymi immunomääritys gliadinin kvantitatiiviseen havaitsemiseen, ns. testikittimenetelmä. Testin perustana on antigen-antibody reaktio, joka analyysin edetessä saatetaan antigen-antibody-antigen(sandwich)-muotoon konjugaatin avulla. Gliadiinin sitoo monoklonaalinen R5 – antibody. Testikitin mukana tulee tarvittavat reagenssit ja välineet analyysin suorittamiseen. Testikitin detektointirajaksi valmistaja ilmoittaa 1,5 mg/kg gliadiinia eli 3 mg/kg gluteenia. (R-biopharm, 2010) Kuvat 5. ja 6. esittelevät analyysin erivaiheita.



Kuva 5. Gluteenimäärityksen eri työvaiheita  
a) uutettu ja sentrifugoitu näyte, b) standardien pipetointi, c) konjugaatin pipetointi, d) stop – reagenssin lisäys ennen monileimalukijaa.



Kuva 6. ELISA kitti eri määrittäsvaiheissa  
 a) standardit ja näytteet kitillä, b) kitti värinkehitysvaiheessa ja c) kitti juuri ennen monileimalukijaa.

#### 6.1.2 RIDA®QUICK Gliadin

RIDA®QUICK Gliadin on pikatestimenetelmä pinnoille ja raaka-materiaaleille. R – biopharmin tarjoama testikitti sisältää kaikki tarvittavat reagenssit ja välineet pikatestin suorittamiseksi. Pikatestimenetelmä on immunokromatografinen testi gliadinin kvalitatiiviseen havaitsemiseen. Gliadiinin sitoo myös pikatestissä monoklonaalinen R5 – antibody ja detektointi rajaksi valmistaja ilmoittaa 2,5 mg/kg gliadiinia eli 5mg/kg gluteenia. Kuvassa 7 on esitetty pikatestin havainnointi. (R-biopharm, 2010)



Kuva 7. Gluteenimäärityksen pikamenetelmän testitikut.  
 Kuvassa nähtävissä kontrolliviiva eli ko. näyte ei sisällä gluteenia.

## 6.2 Menetelmän kehitys ja sopivuus kauratuoteille

Kokeilemalla eri laimennuksia tavallisille kaurajauhoille ja –hiutaleille todettiin laimennus 1:10 000 sopivimmaksi. Vastaavasti kauramaitovalmisteille saatiin laimennuskertoimeksi 1:2500. Näytteiden paikat tulee laskea ja suunnitella tarkasti, jotta kaikki kuopat samalla kuoppapidikerivillä (strip) tulevat käytetyiksi. Jyvä- ja hiutalenäytteet jauhetaan myllyllä, kuva 6. Jauhamiseen käytetty kahvipapumylly on merkiltään KRUPS GVX242. Kahvimyllyllä jauhetusta jauhosta tehtiin seulontatesti, jossa katsottiin jauhon partikkelikoon prosentuaalinen jakauma sekä myllyn jauhatuksen toistettavuutta. Testi tehtiin ravistelijalla sekä käsin ravistellen. Myllyn toistettavuus on hyvä ja tarkemmat tulokset ovat liitteessä 1.

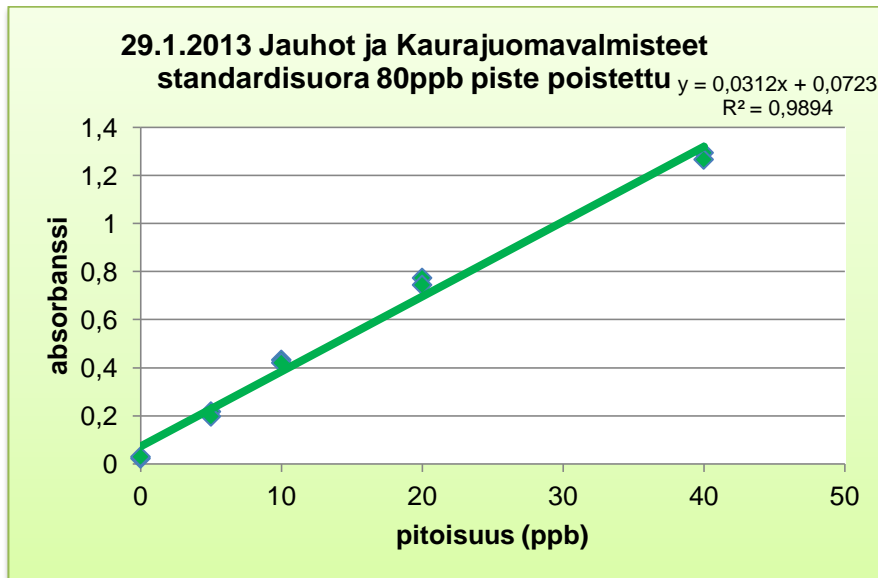


Kuva 8. Jyvä – ja hiutalenäytteiden jauhamiseen käytetty mylly.

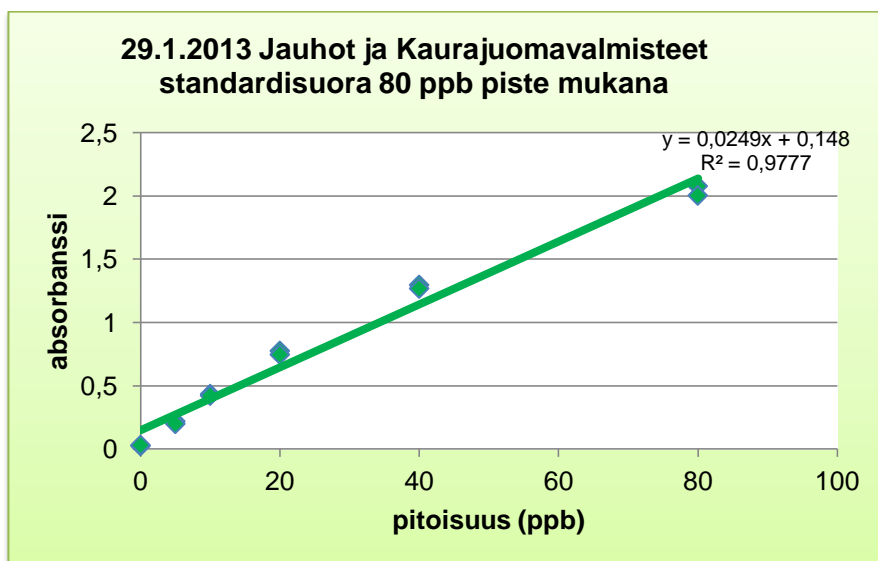
Kittimenetelmässä kuoppienpesuvaiheessa levyä, jossa kuopparivit ovat kiinni, tulee taputtaa voimakkaasti paperipyyhettä vasten, jotta kaikki neste poistuu kuopista ja pesusta ei jää määritystä häiritseviä jäämiä. Pimeässä inkubointivaiheessa tulee käyttää tarkoitukseen sopivaa muovikantta tai pientä pahvilaatikkoa. Lisäksi laminaarikaapista, jossa työvaihetta suorittaa, sammutetaan valot. Hidex -monileimalukijalle absorbanssin mittaamiseen ja tulkitsemiseen käytetyn ohjelman loi Turun ammattikorkeakoulussa laboratoriotekniikan opiskelija Mikko Tammisto.

Näytelaimennuksien avulla todettiin, että voidaan toimia standardisuoran lineaarisemmalla alueella eli standardipisteet 0 – 40 ppb. Kuvioista 1 ja 2 näkyy stan-

standardisuora 80 ppb pisteen kanssa ja ilman. Kun 80 ppb piste on suorassa mukana, saadaan 3 – 45 % eroa tulokseen, joka saadaan suorasta, jossa ei ole 80 ppb pistettä mukana. Suoran korrelaatiokerroin on noin 2 % parempi, kun 80 ppb piste on poistettu standardisuorasta. Kitin valmistajan mukaan standardisuoran tulisi muistuttaa loivasti jääkiekkomailaa. Analyysissä päädyttiin käyttämään menetelmää välillä 0 – 40 ppb.



Kuvio 1. Standardisuora ilman 80ppb pistettä.



Kuvio 2. Standardisuora 80 ppb standardipisteen kanssa.



### 6.3 Immunoentsyymimääritys

Immunoentsyymimääritys eli vasta – ainemääritys perustuu spesifisen vasta – aineen, eli antibodyn, sitoutumiseen mitattavaan antigeeniin. Sitoutuminen saadaan mitattavaksi signaaliksi värimuutoksen avulla. (Kanerva, 2011)

Immunokemiallista gluteenimenetelmää on kehitetty 1980 – luvun puolivälistä alkaen. Prolamiinien sitomiseen erikoistuneet vasta – ainemääritykset on kehitetty poikkeuksetta vehnän gliadiinin tunnistamiseen. Vehnän prolamiini koostuu pääosin gluteenista ja gliadiinista. Gliadiinia on vehnäjyvässä noin 50 % vähemmän kuin gluteenia. R5 – antibodymääritys on saanut maailmanlaajuisen hyväksynnän ja suositellaan käytettäväksi määritysmenetelmässä, jota käytetään prolamiinien määrittämiseen. R5 ELISA – menetelmä on kehitetty 2010 – luvun alussa ja se on nopeasti korvannut aikaisemmin käytetyn  $\omega$  – gliadiini ELISA – menetelmän. Menetelmät eroavat esikäsittelyn ja vasta – ainetta sitovien osien osalta. (Kanerva, 2011)

## 7 TULOKSET

### 7.1 Taustamääriä

Aluksi selvitettiin kaupallisten kaurahiutaleiden gluteenipitoisuuksia. Samalla tutkittiin myös markkinoilta löytyviä toimeksiantajan kauratuotteita vastaavia välipalajuomatuotteita. Alla taulukossa 2. gluteenianalyysitulokset vähittäiskaupasta saatavilla olevista hiutaleista. Analyysituloksista havaittiin leseellä olevan korkeimmat gluteenipitoisuudet ja gluteenittomiksi ilmoitetut tuotteet olivat odotetusti myös suoritettuna analyysin mukaan gluteenittomia. Luomuhiutaleiden ja tavallisten kaurahiutaleiden välillä ei havaittu merkittävää eroa gluteenipitoisuuksissa.

Taulukko 2. Kaupalliset hiutaleet ja niiden gluteenipitoisuudet.

Tuoteryhmä	brandi	valmistaja	viim käyttö pvm	glut. Pitoisuus (ppm = mg/kg)
<b>Kaurahiutale</b>	Myllärin Luomu	Helsingin Mylly	9.12.2012	262
<b>Pikakaurahiutale</b>	Pirkka Luomu	Polar Mills	20.12.2012	196
<b>Kauralese</b>	Pirkka Luomu	Polar Mills	16.11.2012	665
<b>Kaurahiutale</b>	Elovena	Ravintoraisio	30.10.2012	207
<b>Kaurahiutale(gluteeniton)</b>	Provena	Ravintoraisio*	15.10.2012	0
<b>Kaurahiutale(gluteeniton)</b>	Aitokaura	Puuppolan tila	9.7.2012	3
<b>Kaurahiutale</b>	Myllyn Paras	Myllyn Paras	2.11.2012	80
<b>Riisihiutale</b>	Myllyn Paras	Myllyn Paras	18.12.2012	3

\* Valmistuttaja

Vähittäiskaupasta löytyvän kaurapohjaisen Elovena – välipalajuoman tulokset ovat taulukossa 3. Useimmat Elovena – välipalajuomien gluteenipitoisuudet alittivat gluteenittoman tuotteen rajan (< 20mg/kg). Elovena – välipalajuomat sisältävät noin 10 % kauraa.

Taulukko 3. Elovena – välipalajuoman gluteenipitoisuus.

Tuote	Gluteenipitoisuus	
	Analyysi 1 ja 2	pvm*
<b>Elovena välipalajuomat</b>		
<b>Metsämarja</b>	15	3.11.2012
	29	16.11.2012
<b>Aurinkoinen</b>	4	28.10.2012
	5	30.10.2012
<b>Samettinen suklaa</b>	10	26.1.2012
	4	14.2.2012
<b>Hedelmäpirtelö</b>	7	25.10.2012
	3	25.10.2012

\*viimeinen käyttö pvm

## 7.2 Lusikoitavat ja juotavat kauratuotteet

Taulukossa 2. on esitetty kaikkien analysoitujen Yosa – tuotteiden gluteenipitoisuudet. Tulokset on esitetty vaihteluvälinä eri analyysikertojen ja eri tuote – erien vuoksi. Lisäksi taulukossa 6. on toimeksiantajan kaupallisissa laboratorioissa teettämien yksittäisten näytteiden gluteenianalyysien tuloksista verrattuna tässä opinnäytetyössä tehtyihin analyysituloksiin. Analysoidut näytteet ovat otettu eri tuote – eristä, josta pitoisuuserot johtuvat.

Taulukosta 4. nähdään, että Tuote 2 ja 7 sisältävät suurimpia gluteenipitoisuuksia ja nämä maut sisältävät kauralesettä, joka kasvattaa gluteenipitoisuutta. Tuotteessa 3, 4 ja 9 on vähiten gluteenia. Tuote 9 oli ainoa analysoiduista tuotteista, jonka gluteenipitoisuus ei ylittänyt 20 mg/kg rajaa, jolloin tuotteen voidaan todeta olevan gluteeniton. Useimmat analysoiduista tuotteista ovat erittäin vähägluteenisia. Molemmat Smoothie maut ovat gluteenittomia viimeisimmän suoritettun analyysin mukaan. Tuloksissa ilmoitettu vaihteluväli johtuu eri tuotantoeristä otetuista näytteistä. Yksi makuvaihtoehto analysoitiin keskimäärin kuu-desta eri tuotantoerästä.

Taulukko 4. Lusikoitavien kauratuotteiden gluteenipitoisuudet.

Tuotteet	Gluteenipitoisuus (ppm = mg/kg)		
	Vaihteluväli		
Tuote 1	45	-	52
Tuote 2	90	-	261
Tuote 3	20	-	41
Tuote 4	10	-	40
Tuote 5	47	-	126
Tuote 6	51	-	68
Tuote 7	67	-	255
Tuote 8	49	-	119
Tuote 9	6		
Tuote 10	41	-	215
Tuote 11	37	-	192
Tuote 12	21	-	110

Taulukko 5. Juotavien kauratuotteiden gluteenipitoisuudet.

Smoothie	Gluteenipitoisuus (ppm = mg/kg)		
	Anal.1	Anal.2	KA
<b>Tuote 13</b>	44	8	26
<b>Tuote 14</b>	6	6	6

Taulukko 6. Tässä työssä ja kaupallisissa laboratorioissa saatuja tuloksia.

Yosa	Gluteenipitoisuus (ppm = mg/kg)		
	Lab. 1	Lab. 2	AMK* KA
<b>Tote 2</b>	47	40	174
<b>Tuote 4</b>	18	9	28
<b>Luomu tuote 10</b>	-	175	103
<b>Luomu tuote 11</b>	56	50	115
<b>Luomu tuote 12</b>	26	30	66

\*analyysikerta ja analyysi tehty Turun Ammattikorkeakoulussa

### 7.3 OATrim tuotteet

Alla olevasta taulukosta 7. nähdään gluteenianalyysin tulokset OATrimin osalta. Vaihteluväli taulukossa tulee eri tuote – eristä otetuista näytteistä. OATrim tuotteista yksikään ei määrittelyn mukaan alita 20 mg/kg gluteenittomuuden rajaa.

Taulukko 7. Gluteenipitoisuus OATrim tuotteessa.

Oat rim	Gluteenipitoisuus (ppm = mg/kg)		
	Vaihteluväli		
<b>Tuote 15</b>	85	-	103
<b>Tuote 16</b>	76	-	99
<b>Tuote 17</b>	28	-	63

### 7.4 Muut raaka – aineet

Taulukosta 8 nähdään toimeksiantajalta saatujen raaka-aineiden gluteenipitoisuudet. Osassa raaka-aineita ei luontaisesti ole gluteenia, joten oletettavissa oli että näistä ei gluteenia löytyisikään. Luomu kaurahiutalejauho antoi analyysissä korkeampia gluteenipitoisuuksia kuin luomukaurahiutale, mikä ilmeisesti johtui jauhatuksen gluteenikontaminaatioista. Ydinjauhossa on huomattavasti vähemmän gluteenia kuin hiutaleissa, mikä saattaa johtua gluteenin sijainnista kaurajyvässä.

Taulukko 8. Toimeksiantajan käyttämiä raaka-aineita.

Raaka-aineet	Gluteenipitoisuus ppm (= mg/kg)
Luomukaura	217
Kaurahiutalejauho	609
Luomu kaurahuitalejauho	819
Kauralese	463
Johanneksenleipäpuujauho	0
Kaakaojauho	0
Riisijauho	0
Prom Oat jauho	0
Ydinjauho	73
Glukomannaani	0

### 7.5 Tuotantoketju hiutaleesta lopputuotteeseen

Tavallista tuotantoprosessia soveltaen valmistettiin tuote – erä, jonka raaka-aineista ja lopputuotteesta tehtiin erikseen gluteenianalyysit. Raaka – aineeksi halutut hiutale – erät jauhetaan kaupallisesti ennen tuotantoprosessia. Myllyn testierässä tarkasteltiin mahdollista gluteenikontaminaatiota myllyn prosessissa samalla, kun tarkasteltiin koko kauratuotteen tuotantoketjua. Taulukossa 9. on tämän valmistuseränerän gluteenianalyysin tulokset.

Taulukko 9. Gluteenipitoisuuden seuranta raaka - aineesta lopputuotteeseen sekä hiutaleet että jauhot myllyltä.

Hiutale		Jauho		Lopputuote	
Tuote	Gluteeni Pitoisuus ppm	Tuote	Gluteeni Pitoisuus ppm	Kauratuote	Gluteeni Pitoisuus ppm
<b>Hiutale1</b>	953	<b>Jauho 1</b>	957	Tuote 2	234
				Tuote 6	68
<b>Hiutale 2</b>	996	<b>Jauho 2</b>	1575	Tuote 4	31
				Tuote 2.1	213
<b>Hiutale 3</b>	728	<b>Jauho 3</b>	1045	-	-
<b>Luomu 1</b>	131	<b>Luomu 1</b>	63	-	-
<b>Luomu 2</b>	207	<b>Luomu 2</b>	206	Tuote 10	16
				Tuote 10.1	66
				Tuote 8	1
				Tuote 8.1	7
<b>Luomu 3</b>	83	<b>Luomu 3</b>	53	-	-

”Hiutale” sarakkeen näytteet ovat hiutaleita, jotka jauhettiin gluteenianalyysiin. ”Jauho” sarakkeessa näyte oli jo valmista jauhoa eli myllyn tapauksessa lopputuote. Luomuhiutaleet antavat pienempiä alkupitoisuuksia gluteenimäärityksessä ja näin ollen myös lopputuotteen, sarake ”kauratuote”, gluteenipitoisuus on pienempi.

Hiutale 2 jauhamisessa lienee myllyllä tapahtunut jonkinlaista jauhoerän käsittelyn pyöritystä ja mukaan on tarttunut gluteenikontaminaatiota. Tämän vuoksi gluteenipitoisuus on huomattavasti suurempi kuin muilla tuote – erän raaka-ainenäytteillä.

Luomutuotteet ovat menneet puhtaammin myllyn prosessin läpi ja gluteenikontaminaatiota ei ole havaittavissa. Näyte – erässä Luomutuotteet on ajettu myllyn prosessissa ensin ja näiden jälkeen tavallinen kaurahiutale. Kontaminaatio on havaittavissa myös lopputuotteissa gluteenipitoisuuksien nousuna, verrattaessa yksittäisiin tuloksiin edellä määritetyistä tuotantoeristä otetusta näytteistä.

## 7.6 RidaQuick vs. ELISA – testi

Yhdellä näyte – erällä testattiin gliadiinin havaitsemiseen tarkoitettuja pikatestitikkuja, joista voisi tulla työväline gluteenittomien tuotteiden laadunvarmistukseen (QC). Taulukossa 10 on tulokset tästä gluteenianalyysistä ja kaikissa pikatestin tikkuissa kontrollin merkkiviiva on havaittu eli tikku on ollut toimintakuntoinen. Näytteet olivat myllyn sopimusviljelijöiden toimittamia viljan ennakkonäytteitä, joista kilosta jyviä oli laskettu vieraiden jyvien määrä.

Taulukko 10. Pikatesti vs. ELISA – testi tuloksia jyvänäytteistä.

näytteen ID	Vieraiden jyvien määrä Kpl/kg	RidaQUICK Gliadin		RidaScreen Gliadin, ELISA Gluteenipitoisuus ppm
		Gluteenia		
		ON	EI	
Toimittaja 1	-		x	< 3
Toimittaja 2	-		x	< 3
Toimittaja 3	1 ohra		x	< 3
Toimittaja 4	3 ohra		x	< 3
Toimittaja 5	8 ohraa		x	68,2
Toimittaja 6	9 ohraa		x	27,6
Toimittaja 7	16 ohraa	x		19,45
Toimittaja 8	20 ohraa		x	11,2
Toimittaja 9	33 vehnää		x	26,45
Toimittaja 10	2 veh. 13 ohr.	x		0,34

Taulukko 11. Pikatesti vs. ELISA – testi tuloksia kauratuotteista.

näytteen ID	Vim. Käyttö pvm	RidaQUICK Gliadin		RidaScreen Gliadin, ELISA Gluteenipitoisuus ppm
		Gluteenia		
Lusikoitavat kauratuotteet		ON	EI	
Tuote 4	6.1.2013	x		145,68
Tuote 8	25.12.2012		x	1,67
Tuote 9	23.12.2012		x	25,36
Tuote 2	1.1.2013		x	10,92



Näyte – erässä testattiin myös voidaanko todeta yhteys vieraiden jyvien määrän ja gluteenipitoisuuden välillä, mutta tehdyn testin perusteella ei vielä ole nähtävissä minkäänlaista yhteyttä. Pikatestin ja ELISA – testin tulokset ovat ristiriitaisia. ELISA näyttää että on gluteenia, kun taas pikatestillä saadaan puhdastulos ja toisin päin.

Taulukossa 11 on esitettyä pikatestin ja ELISA – testin tuloksia toimeksiantajan kauratuotteista. Pikatestillä saadaan loogisempia tuloksia kauratuotteilla kuin jauhoilla saatiin. Testin valmistajan ilmoittaman detektointirajan mukaan  $\frac{3}{4}$  näytteestä odotettavasti näyttäisi gluteenin olemassaoloa, mutta gluteenia havaittiin vain yhdessä näytteessä, jonka gluteenipitoisuus oli 145 ppm. Gluteenitomuuden rajan ylittävistä pitoisuuksista ei saada tässä määrityksessä havaittavaa reaktiota pikatestillä. Pikatestin ja ELISA – testin tuloksiin vaikuttaa myös näytteen homogeenisuus.

## 8 PÄÄTELMÄT JA YHTEENVETO

Toimeksiantajayritykselle gluteenittomat kauratuotteet vaativat gluteenittoman kauran käytön aloittamisen tuotantoprosessissa sekä tarkan valvonnan kauran matkasta pellolta kauppaan. Pikatesti vaatii vielä lisätestausta sen toimivuuden osoittamiseksi tällä tietyllä näytteellä. ELISA – testillä mitataan gluteenikontaminaation määrää, eli gliadiinin määrää, kauratuotteissa ja sen raaka - aineissa. Kaurassa oleva proteiini, aveniini, ei aiheuta keliakiaa. Vehnä, ruis ja ohra sisältävät sukulaisuutensa vuoksi keliakikoille haitallista gluteenia ja gliadiinia.

Pikatestin ja ELISA - testin tulokset ovat ristiriitaisia. ELISA näyttää, että on gluteenia, kun taas pikatestillä saadaan puhdistulos ja toisin päin. Kovin suuria gluteenipitoisuuksia ei kuitenkaan ole nähtävissä kaurassa, joka pyrittiin viljelemään gluteenittomana kaurana.

Kauratuotteilla pikatesti näyttää toimivan tarkemmin ja paikkaansa pitävämmin. Pikatestiin vaikuttaa herkästi se, että kuinka edustava näyte pystytään ottamaan. Onko hyvin edustava näyte onnistuttu ottamaan jo jauhatusvaiheessa ja vielä uuttoa varten punnitusta määrästä. Kauravalmisteet ovat jo valmiiksi homogeenisempia, joten näyte on edustavampi ja saadaan paikkaansa pitävämpiä tuloksia.

Kauratuotteen lopullinen gluteenipitoisuus saattaa vaihdella suurestikin riippuen tuotantoerästä, lisättävistä raaka – aineista ja kaurapohjan raaka – aineen gluteenipitoisuudesta. Gluteenikontaminaation riski on suurempi raaka – aineita jauhavalla myllyllä jauhojen pölyävyyden vuoksi. Lisäksi mitä suurempi mylly ja pitempi prosessi, sitä helpommin jää linjastoon ja prosessiin kohtia, joista mahdollinen kontaminaatio pääsee leviämään. Tuotannon valmistusjärjestyksellä on merkitystä etenkin, jos lisättävät raaka – aineet saattavat sisältää gluteenia.

ELISA – testi on herkkä gluteenikontaminaatiolle. Pienetkin pölyhiukkaset voivat aiheuttaa häiriöitä analyysissä. Näytteiden esikäsittelyn ja analyysin välillä on hyvä pitää taukoa tai suorittaa vaiheet eri päivinä. Kontaminaation estämiseksi käsineet tulee vaihtaa useasti, mielellään joka työvaiheen välissä sekä esikäsit-

telyyn ja analyysiin olisi hyvä olla eri työtakit. Työskentely – ympäristö ja käytettävät välineet pyyhitään etanolilla tai 2 – propanolilla gluteenikontaminaation hillitsemiseksi ja hallitsemiseksi (R-biopharm, 2010).

Keliakiatietoisuus kasvaa koko ajan niin kansan kuin lääketieteenharjoittajien joukossa. Gluteenittomien tuotteiden jälleenmyyjät ovat osaltaan ruokkineet gluteenittomien elintarvikkeiden kysyntää terveys – ja hyvinvointiruokana eikä niinkään keliakian hoitokeinona. Gluteenittomia tuotteita tulee lisää markkinoille jatkuvasti ja niiden ominaisuuksia, kuten maittavuutta ja koostumusta, pyritään jatkuvasti parantamaan (Euromonitor International, 2011).

Gluteenittomien tuotteiden parantamiseen kaavaillaan nanoteknologian ja bioprosessitekniikan soveltamista (Kanerva, 2011). Lisäksi tutkitaan keliakikolle haitallisten sekvenssien geneettisen poistamisen ja gluteeniproteiinin entsyymaattisen hajottamisen mahdollisuuksia (Gallagher, 2009). Huipputeknologioiden tutkimuksista huolimatta gluteenittomien tuotteiden valmistuksessa kriittiseksi tekijäksi jää tuotannon puhtaus ja kontaminaatiolähteiden eliminointi tai hallitseminen sekä riittävä tuotevalvonta hyväksytyin ja luotettavin menetelmin.

## LÄHTEET

- +Tohtori. terve.fi. [Online] [Viitattu: 27. 3 2013.]  
<http://www.tohtori.fi/?page=4069997&search=prolamiini>.
- Airaksinen, Laura. 2009. *Kaura ja Keliakia - Kauran alkuperisten molekyylien hyödyt ja haitat in vitro*. Tampere : Pro gradu tutkielma Tampereen yliopisto, Lääketieteellisen teknologian instituutti, 2009.
- Bioferme Oy. [Online] [Viitattu: 27. 1 2013.] <http://www.bioferme.fi/index.php?id=1>.
- Codex Stan 118 - 1979. Codex Standard for Foods for Special Dietary Ude for Persons Intolerant to Gluten. *Evira*. [Online] [Viitattu: 27. 3 2013.]  
[http://www.evira.fi/files/attachments/fi/elintarvikkeet/valmistus\\_ja\\_myynti/erityisruokavaliovalmist eet/gluteenittomat\\_ja\\_erittain\\_vahagluteeniset\\_elintarvikkeet/cxs\\_118e.pdf](http://www.evira.fi/files/attachments/fi/elintarvikkeet/valmistus_ja_myynti/erityisruokavaliovalmist eet/gluteenittomat_ja_erittain_vahagluteeniset_elintarvikkeet/cxs_118e.pdf).
- Euromonitor International. 2011. Bakeryandsnacks.com. [Online] 8. 2 2011. [Viitattu: 12. 4 2013.] <http://www.bakeryandsnacks.com/Markets/Retailers-help-to-fuel-gluten-free-food-boom-Euromonitor>.
- Gallagher, Muokannut Eimear. 2009. *Gluten - free Food Science and technology*. Ashtown food research Center, Teagasc, Dublin, Ireland : Wiley - Blackwell, 2009.
- Genetics Home Reference. 2013. [Online] 25. 2 2013. [Viitattu: 5. 3 2013.]  
<http://ghr.nlm.nih.gov/geneFamily/hla>.
- Gerhard Leubner Lab, Royal Holloway, University of London. The Seed Biology Place. [Online] [Viitattu: 31. 3 2013.] <http://www.seedbiology.de/dormancy.asp#evolution>.
- GoGreen. [Online] [Viitattu: 5. 3 2013.] <http://www.gogreen.fi/tuotteet/kuivat tuotteet/kvinoa-hirssi-tattari-ja-bulgur/bulgur>.
- Grainity. 2007. Oats and health. [Online] 2007. [Viitattu: 31. 3 2013.]  
<http://www.oatsandhealth.org/composition-oats-and-health-27>.
- Haahtela, Tari; Hannuksela, Matti; Karjalainen, Kaisa; Mäkelä, Mika; Sovijärvi, Anssi ja Terho, Erkki O. 2007. *Allergia*. s.l. : Duodecim, 2007.
- Health Canada. 2007. *Celiac Disease and the Safety of Oats*. Ottawa, Ontario K1A 0K9 : Health Canada, 2007.
- Kanerva, Päivi. 2011. *Immunochemical analysis of prolamins in gluten - free foods*. Helsinki, Finland : University of Helsinki, Department of food and environmental sciences, 2011.
- Keliakialiitto. 2008. Keliakialiitto ry. [Online] 2008. [Viitattu: 27. joulukuu 2012.]  
[http://www.keliakialiitto.fi/liitto/keliakia/keliakia\\_sairautena/](http://www.keliakialiitto.fi/liitto/keliakia/keliakia_sairautena/).
- Mäkelä, Hannu. 2013. Viljojen laadusta ja terveystaikutuksista. [Online] 2013. [Viitattu: 31. 3 2013.] [http://pkkyweb.pkky.fi/elo/PDF/viljat\\_johdanto.pdf](http://pkkyweb.pkky.fi/elo/PDF/viljat_johdanto.pdf).
- OATrim. [Online] [Viitattu: 27. 1 2013.] <http://oatrim.fi/>.
- Paganus, Aila ja Voutilainen, Helena. 2009. *Allergia ja keliakia, Ruoka- ja keitokirja*. Jyväskylä : Kustannusosakeyhtiö Tammi, 2009. ISBN978-951-31-4811-9.
- Parker, Philip M. 2009. *The 2009 - 2014 Outlook for Gluten - free Foods and Beverages in Europe*. s.l. : Icon group International, Inc., 2009.

Peuhkuri, Katri ja Korpela, Riitta ja Juntunen-Backman, Kaisu. 1996. *Ruoka - aineallergia ja -yliherkkyys*. Jyväskylä : Gummerus Kirjapaino Oy, 1996. ISBN 951-884-176-4.

Raisio. Elovena. [Online] [Viitattu: 5. 3 2013.] <http://www.elovena.fi/#/Valipala/60300/>.

Rastas, Merja; Seppänen, Ritva; Knuts, Lars - Runar; Karvetti, Ritva-Liisa ja Varo, Pertti. 1993. *Ruoka - aineiden ravintiainesisältö, neljäs uudistettu painos*. Vammala : Kansaneläkelaitos, Tutkimus ja kehitysyksikkö, 1993.

R-biopharm. 2010. Analyysiohje. *Ridascreen gliadin 10-05-10*. 2010. Art. No. R7001.

Suomen elintarviketurvallisuusvirasto. Evira. [Online] [Viitattu: 27. 1 2013.] [http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/valmistus\\_ja\\_myynti/erityisruokavaliovalmisteet/gluteenittomat\\_ja\\_erittain\\_vahagluteeniset\\_elintarvikkeet/uuden\\_asetuksen\\_mukaiset\\_vaatimukset\\_gluteenittomille\\_ja\\_erittain\\_vahagluteenisille\\_elintarvikkeille#](http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/valmistus_ja_myynti/erityisruokavaliovalmisteet/gluteenittomat_ja_erittain_vahagluteeniset_elintarvikkeet/uuden_asetuksen_mukaiset_vaatimukset_gluteenittomille_ja_erittain_vahagluteenisille_elintarvikkeille#).

*Trends and Developments in the Gluten-free Food Ingredient Solutions Market*. FROST & SULLIVAN. 2012. s.l. : Frost & Sullivan analysis, 2012.

World Gastroenterology Organisation Practice Guidelines. 2007. *Celiac Disease*. s.l. : WGO, 2007.

## Prosentuaalinen jakauma partikkelikoon mukaan ja toistettavuus jauhettaessa

Seulontakoe suoritettiin kahdesti automaattisella ravistelijalla ravistaen noin 10 min. Koe tehtiin myös kahdesti käsin ravistellen. Jauhot ja seulan osat punnittiin aluksi ja laitettiin ravistelijaan. Ravistelun jälkeen eri seulat punnittiin ja laskettiin taulukoissa olevat prosentuaaliset osuudet.

<b>Retsch- ravistelija ja myllystä "klo 11" - karkeussäätö</b>		
<b>Seulakoko (µm)</b>	<b>I (%)</b>	<b>II (%)</b>
> 600	54,8	58,1
425 - 600	16,8	17
355 - 425	7	8,1
212 - 355	6,2	7,3
150 - 212	11,7	8,5
<150	3,5	1

<b>Käsinravisteltu ja kahvimyllystä karkein säätö</b>		
<b>Seulakoko (µm)</b>	<b>I (%)</b>	<b>II (%)</b>
> 1000	55,4	60
500 - 1000	25,9	30
< 500	18,6	10