

ISSN 0355-1180

HELSINGIN YLIOPISTO

Elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos

EKT-sarja 1734

**MANSIKKAHILLON VÄÄRENTÄMISEN OSOITTAMINEN
KIVENNÄISAINEPROFILIA JA KEMOMETRIAA
HYÖDYNTÄMÄLLÄ**

Anu Villberg

Helsinki 2016



TIIVISTELMÄ

Tiedekunta/Osasto Fakultet/Sektion – Faculty Maatalous-metsätieteellinen tiedekunta		Laitos/Institution – Department Elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos
Tekijä/Författare – Author Anu Villberg		
Työn nimi / Arbetets titel – Title Mansikkahillon väärentämisen osoittaminen kivennäisaineprofiilia ja kemometriaa hyödyntämällä		
Oppiaine/Läroämne – Subject Elintarvikekemia		
Työn laji / Arbetets art – Level Maisterintutkielma	Aika/Datum – Month and year Toukokuu 2016	Sivumäärä/Sidoantal – Number of pages 119
Tiivistelmä/Referat – Abstract		
<p>Tutkielman kirjallisuuososassa käsiteltiin mansikan kivennäis- ja hivenainekoostumusta sekä siihen vaikuttavia tekijöitä. Lisäksi pohdittiin hillon valmistuksen vaikutusta kivennäisaineprofiiliin, hilloväärennöksiä ilmiönä sekä kivennäisaineprofiilin hyödyntämistä elintarvikeväärennösten osoittamisessa tilastollisia monimuuttujamenetelmiä hyödyntäen.</p> <p>Tutkielman kokeellisen osan tavoitteena oli tutkia, voiko kivennäisaineprofiilia käyttää mansikkahillon aitouden toteamiseen yhdessä tilastollisten monimuuttujamenetelmien kanssa. Mansikan kivennäisaineprofiilin vaihtelua tutkittiin määrittämällä useiden erilaisten mansikkahillon näytteiden kivennäisaineprofiili ($n = 51$), minkä lisäksi mansikka-aineistosta luotiin tilastolliset mallit muiden näytteiden luokitteluun. Menetelmän toimivuutta testattiin mansikkahillosta sekä omena-, päärynä- ja kurpitsahilloista sekoitettujen malliväärennösten (5 %, 10 %, 20 % ja 50 %) avulla. Muiden kasvilajien ($n = 10$) kivennäisaineprofiilin eroamista mansikan kivennäisaineprofiilista testattiin pienellä aineistolla. Lisäksi kokeiltiin luokitella kaupallisia mansikkahillonäytteitä ($n = 33$) kivennäisaineprofiilinsa perusteella aidoiksi mansikkahilloiksi tai väärennöksiksi.</p> <p>Kivennäisaineprofiilit (Al, B, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, P, Pb, S, Si ja Zn) määritettiin induktiivisesti kytkettyyn plasmaan ja optiseen emissiospektrometriaan (ICP–OES) perustuvalla menetelmällä. Näytteiden esikäsittelyyn kuului pakkaskuivaus, jauhaminen, märkäpolto typpihapon ja vetyperoksidin avulla sekä laimennus vedellä. Määritykset tapahtuivat ulkoisen standardin menetelmää hyödyntäen. Tulostenkäsittely tapahtui pääkomponenttianalyysillä (PCA) ja SIMCA-menetelmällä (Soft Independent Modelling of Class Analogies).</p> <p>Malliväärennökset sekä omena-, päärynä- ja kurpitsahillo saatiin erottumaan mansikkahillosta sekä pääkomponenttianalyysin perusteella että luokiteltua muuksi kuin mansikkahilloksi 95 %:n todennäköisyydellä SIMCA-mallin perusteella. Tarkin luokittelu saavutettiin kivennäisaineprofiililla Mg, P, S, Ca ja K tai Mg, P, S, Mn, Ca ja K. Muiden kasvinäytteiden kivennäisaineprofiilit erosivat mansikan profiilista lukuun ottamatta puutarhavadelmaa. Mansikka-aineisto ei jakautunut pääkomponenttianalyysissä esimerkiksi lajikkeen, kasvupaikkansa tai kasvuajankohtansa mukaan selkeisiin ryhmiin. Menetelmä ei kuitenkaan soveltunut sellaisenaan vielä kaupallisten mansikkahillonäytteiden luotettavaan luokitteluun. Lisätutkimusta tarvitaan ainakin mansikkahillojen valmistuksessa käytettyjen ainesosien vaikutuksesta luokitteluun ja mansikan sukulaislajien kivennäisaineprofiilien erottumisesta. Lisäksi kaupallisten mansikkahillonäytteiden luokitteluun tulisi hankkia teollisuuden käyttämiä mansikoita vastaava laaja kivennäisaineprofiilikirjasto. Malliväärennösten ja aidon mansikkahillon erottumista koskevien tulosten perusteella menetelmä vaikuttaa kehityskelpoiselta ainakin omenalla, päärynällä ja kurpitsalla jatkettujen mansikkahilloväärennösten toteamiseen.</p>		
Avainsanat – Nyckelord – Keywords kivennäisaineprofiili, elintarvikeväärennös, mansikka, hillo, ICP–OES, PCA, SIMCA		
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto, Helda		
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information EKT-sarja 1734		



ABSTRACT

Tiedekunta/Osasto Fakultet/Sektion – Faculty Faculty of Agriculture and Forestry		Laitos/Institution – Department Department of Food and Environmental Sciences
Tekijä/Författare – Author Anu Villberg		
Työn nimi / Arbetets titel – Title Detection of strawberry jam adulteration by mineral profile combined with chemometrics		
Oppiaine /Läroämne – Subject Food Chemistry		
Työn laji/Arbetets art – Level M. Sc. Thesis	Aika/Datum – Month and year May 2016	Sivumäärä/Sidoantal – Number of pages 119
Tiivistelmä/Referat – Abstract		
<p>The literature review of this master's thesis dealt with major and minor mineral composition of strawberries and the factors affecting it. In addition, the effect of jam production on mineral profile and jam adulteration as a phenomenon were discussed as well as using the mineral profile to detect food adulteration using statistical multivariate methods.</p> <p>The aim of the experimental part of this thesis was to study if the mineral profile in combination with statistical multivariate methods could be used to point out the authenticity of strawberry jam. Alterations in the strawberry mineral profile were studied by determining the mineral profile of several different strawberry samples ($n = 51$). In addition, the strawberry data was used to create models for classification of other samples. The operability of the method was tested using “forged” model jams created by mixing strawberry jam with apple, pear or pumpkin jam (5 %, 10 %, 20 % and 50 %). The differentiation of mineral profiles of other plant species ($n = 10$) from strawberry mineral composition was tested with small-scale data. Additionally commercial strawberry jams ($n = 33$) were tried to classify by their mineral profile to be authentic or adulterated.</p> <p>Mineral profiles (Al, B, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, P, Pb, S, Si and Zn) were quantified with inductively coupled plasma – optical emission spectrometry (ICP–OES). Sample pretreatment included freeze drying, grinding, wet digestion using nitric acid and hydrogen peroxide and dilution with water. Quantification was based on external standard method. Results were processed by principal component analysis (PCA) and soft independent modelling of class analogies (SIMCA).</p> <p>Fabricated model jams and pure apple, pear and pumpkin jams could be separated from strawberry jam both with principal component analysis and with using SIMCA method to classify them to be something else than strawberry jam with 95 percent probability. Most accurate classification was obtained with mineral profiles combining Mg, P, S, Ca and K or Mg, P, S, Mn, Ca and K. Other plant species studied had different mineral profiles compared to strawberries with exception of raspberry. No clear groups were formed on principal component analysis of the strawberry data in respect to cultivar, growth place or time. The method was not yet applicable for the use of classifying commercial strawberry jam samples reliably. There is a need for additional studies about the effect of ingredients used for jam production on the classification. Also the separation between mineral profiles of species related to strawberries should be studied further. In addition mineral profile library of strawberries for industrial processing should be created in order to classify commercial strawberry jam samples. Based on the separation results of fabricated model jams and authentic strawberry jam the method seems to be suitable for further development at least for detecting strawberry jam adulteration by extending with apple, pear or pumpkin.</p>		
Avainsanat – Nyckelord – Keywords mineral profile, food adulteration, strawberry, jam, ICP–OES, PCA, SIMCA		
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited The Digital Repository of University of Helsinki, Helda		
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information EKT Series 1734		

ESIPUHE

Tein maisterintutkielmani Helsingin yliopiston elintarvike- ja ympäristötieteiden laitoksella. Tutkimuksen suorittaminen kesti kevästä 2015 kevääseen 2016. Tutkielman aihe oli ohjaajani yliopistonlehtori Päivi Ekholmin ehdotus. Aihe liittyy vahvasti Ilona Harmasen aiemmin Tullilaboratoriolle mansikkahillovääreännöksistä tekemään maisterintutkielmaan. Maisterintutkielmani vastuuprofessorina toimi professori Vieno Piironen.

Haluaisin kiittää ohjaajaani Päivi Ekholmia hyvistä neuvoista ja tuesta gradun tekemisen aikana. Haluaisin kiittää myös elintarvike- ja ympäristötieteiden laitoksen henkilökuntaa mukavasta työskentelyilmapiiristä laboratoriossa tutkielman kokeellisen osan aikana. Erityiskiitos kaikille minua ICP–OES-laitteiston oikkujen kanssa auttaneille. Kiitos kuuluu myös Mari Lehtoselle ja Vieno Piiroselle tutkielman tekstin kommentoinnista projektin loppuvaiheessa.

Kiitoksia myös opiskelukavereilleni vertaistuesta haastavinakin hetkinä. Lopuksi haluan vielä kiittää ystäviäni ja perhettäni tuesta ja kannustuksesta opintojeni aikana.

Helsingissä toukokuussa 2016,

Anu Villberg

SISÄLLYSLUETTELO

TIIVISTELMÄ.....	2
ABSTRACT	3
ESIPUHE.....	4
LYHENTEET	7
1 JOHDANTO.....	8
2 KIRJALLISUUSTUTKIMUS	10
2.1 Hilloväärennökset ilmiönä.....	10
2.2 Hillon valmistuksen vaikutus kivennäisainekoostumukseen.....	11
2.3 Mansikan kivennäis- ja hivenainekoostumus	12
2.4 Mansikan kivennäisaineprofiiliin vaikuttavat tekijät.....	15
2.4.1 Prosessoinnin, varastoinnin ja kasvinosan vaikutus mansikan kivennäisaineprofiiliin	15
2.4.2 Ympäristötekijöiden vaikutus mansikan kivennäisaineprofiiliin	16
2.4.3 Mansikan perimän ja fysiologian vaikutus kivennäisaineprofiiliin.....	21
2.5 Kivennäisaineprofiilien erot mansikan ja muiden kasvilajien välillä.....	25
2.6 Kivennäisaineprofiilin määrittäminen ja hyödyntäminen.....	27
2.6.1 Kivennäisaineiden merkitys elintarvikkeissa	27
2.6.2 Määritysmenetelmät alkuaineanalytiikassa	28
2.6.3 Kivennäisaineprofiilin hyödyntäminen elintarvikkeiden väärentämisen ja aitouden osoittamisessa.....	29
2.6.4 Tilastolliset monimuuttujamenetelmät kivennäisaineprofiilien erojen tulkinnassa	29
2.7 Kirjallisuuskatsauksen yhteenveto.....	35
3 KOKEELLINEN TUTKIMUS	36
3.1 Tutkielman kokeellisen osan tavoitteet.....	36
3.2 Materiaalit ja menetelmät	36
3.2.1 Näyttemateriaalit.....	36
3.2.2 Vertailumateriaalit	38
3.2.3 Esikäsittelemenetelmät.....	38
3.2.4 Standardien valmistus.....	40
3.2.5 Analyysimenetelmä	40
3.2.6 Tulostenkäsittelemenetelmät	41

3.3	Tulokset	46
3.3.1	ICP–OES-menetelmän toimivuus ja luotettavuus	46
3.3.2	Mansikoiden kivennäisaineprofiili	49
3.3.3	Mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsahillon sekä niistä sekoitettujen malliväärennösten kivennäisaineprofiilit	59
3.3.4	Kaupallisten mansikkahillojen kivennäisaineprofiilit	70
3.3.5	Mansikoiden ja mansikkahillojen kivennäisaineprofiilien vastaavuus	75
3.3.6	Muiden näytteiden kivennäisaineprofiilit	78
3.4	Pohdinta	80
3.4.1	Mansikoiden kivennäisainekoostumus ja kivennäisaineprofiilin vaihtelu	80
3.4.2	Mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsahillon sekä niistä sekoitettujen malliväärennösten kivennäisaineprofiileiden erottuminen toisistaan	83
3.4.3	Kaupallisten mansikkahillojen kivennäisaineprofiilit ja luokittelu	87
3.4.4	Positiivisten kontrollinäytteiden kivennäisaineprofiilit ja luokittelu	91
3.4.5	ICP–OES-menetelmän toiminnan ja laadun tarkastelu	93
3.4.6	Yhteenvedo menetelmän hyvistä ja huonoista puolista	96
4	PÄÄTELMÄT	97
	LÄHDELUETTELO	99
	LIITTEET	106
	Liite 1 Mansikkanäytteiden ($n = 51$) tiedot	106
	Liite 2 Vähittäiskaupasta hankittujen mansikkavalmisteiden ($n = 33$) tiedot	108
	Liite 3 Mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashillonäytteiden tiedot	110
	Liite 4 Muiden kasvinäytteiden tiedot	111
	Liite 5 Standardikantaliuosten tiedot ja ulkoisen standardisuoran pitoisuudet	112
	Liite 6 Laboratorion sisäinen uusittavuus	113
	Liite 7 Mansikkanäytteiden alkuperäistulokset	114
	Liite 8 Puhdashillojen ja hilloseosten alkuperäistulokset	116
	Liite 9 Vähittäiskaupasta hankittujen mansikkahillojen alkuperäistulokset	117
	Liite 10 Muiden kasvilajien alkuperäistulokset	119

LYHENTEET

AAS	Atomiabsorptiospektroskopia
CA	Klusterianalyysi
EU	Euroopan unioni
ICP–OES	Induktiivisesti kytketty plasma – optinen emissiospektrometria
ICP–MS	Induktiivisesti kytketty plasma – massaspektrometria
PCA	Pääkomponenttianalyysi
PC1, PC2	Ensimmäinen pääkomponentti, toinen pääkomponentti
PLS–DA	Partial Least Squares Discriminant Analysis
SIMCA	Soft Independent Modelling of Class Analogies

1 JOHDANTO

Elintarvikkeiden väärentäminen ja sen osoittaminen ovat tärkeitä aiheita muun muassa kuluttajien oikeuksien sekä elintarvikeketjua koskevien taloudellisten vaikutustensa vuoksi. Elintarvikkeiden ja muiden kuluttajatuotteiden väärentämisen on arvioitu aiheuttavan 10–15 miljardin dollarin kustannukset vuosittain elintarvikeketjussa (GMA 2010). Elintarvikkeiden pakkausmerkinnöistä on säädetty lainsäädännössä (Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus (EU) N:o 1169/2011 2011). Kuluttajien kannalta pakkausmerkintöjen ja tuotteen vastaavuus voi vaikuttaa ostopäätökseen ja arvioon tuotteen laadusta. Elintarvikkeiden väärentäminen voi pahimmillaan olla turvallisuusriski esimerkiksi allergikoille. Elintarvikelain yhtenä tarkoituksena on ”varmistaa, että elintarvikkeista annettava tieto on totuudenmukaista ja riittävää eikä johda harhaan” (Elintarvikelaki 23/2006 2006). Elintarvikeketjussa väärentäminen voi vaikuttaa esimerkiksi vääristämällä kilpailua ja vaikuttaa negatiivisesti alan julkisuuskuvaan. Elintarvikkeita voidaan väärentää esimerkiksi korvaamalla tai jatkamalla kalliimpia raaka-aineita halvemmilla, jättämällä ilmoittamatta käytettyjä prosesseja tai ilmoittamalla väärä maantieteellinen kasvu- tai tuotantoalue (Primrose ym. 2010).

Kemometrialla tarkoitetaan analyysitulosten mallintamista tilastollisesti kemiallisesti mielenkiintoisen tiedon eristämiseksi (Vandeginste 2013). Elintarvikkeiden kemiallisen profiilin analysoinnista ja sen mallinnuksesta tilastollisia monimuuttujamenetelmiä hyödyntäen odotetaan tulevan tulevaisuudessa yhä tärkeämpi työkalu elintarvikeväärennösten tutkimisessa (Riedl ym. 2015). Mansikkahillon väärentämisen motiivi on oletettavasti vilpillinen voiton tavoittelu. Mansikan korvaaminen halvemmilla raaka-aineilla on mahdollista, koska hillon rakenne on melko homogeeninen ja mansikan voimakas punainen väri hankaloittaa väärennöksien aistinvaraista havaitsemista. Lisäksi mansikkahillon prosessointiin kuuluva lämpökäsittely voi aiheuttaa muutoksia hillon orgaanisiin yhdisteisiin, mikä hankaloittaa hillojen tutkimista kemiallisen analytiikan avulla. Prosessoinnin vaikutus epäorgaanisiin kivennäis- ja hivenaineisiin on oletettavasti vähäisempää, mikä on kivennäisaineprofiilin käytön suurin etu. Mansikkahillosta määritettyä kivennäisaineprofiilia voidaan ajatella ”kemiallisena sormenjälkenä”, jota verrataan kemometrisesti mansikasta määritettyyn kivennäisaineprofiiliin.

Elintarvikkeiden kivennäisaineprofiililla tarkoitetaan kivennäis- ja hivenainekoostumusta sekä pitoisuutta. Kaikki marjat sisältävät kivennäis- tai hivenaineista eniten fosforia (P), kaliumia (K), kalsiumia (Ca), magnesiumia (Mg), rautaa (Fe), mangaania (Mn), kuparia (Cu), natriumia (Na) ja alumiinia (Al) Nilen ja Parkin katsausartikkelin mukaan (2014). Mansikan pääasialliset kivennäis- ja hivenaineet ovat kalium, fosfori ja magnesium (Kristl 2013). Marjoihin lasketaan tavallisesti kuuluvaksi: marjat (*Rubus*- ja *Morus*-sukuiset), herukat (*Ribes*) ja mustikat (*Vaccinium*) sekä pohjushedelmät (*Fragaris*), joihin mansikka kuuluu (Euroopan yhteisöjen komissio 2006). Tuoreiden mansikoiden maantieteellisen alkuperän selvittämistä kivennäisaineprofiilin perusteella on tutkittu aiemmin (Perez ym. 2006). Vastaavasti eri marjahillojen erottamista toisistaan kivennäisaineprofiilin perusteella on tutkittu (Plessi ym. 2007). Mansikkahillon ja toisen hillon seoksien erottamista eli mansikkahillon laimentamista halvemalla raaka-aineella ei kuitenkaan ilmeisesti ole tutkittu aiemmin kivennäisaineprofiilien perusteella.

Kirjallisuuskatsauksen tavoitteena oli esitellä mansikan kivennäisaineprofiiliin vaikuttavia ulkoisia ja sisäisiä tekijöitä sekä kivennäisaineprofiilin hyödyntämistä elintarvikkevääreännösten paljastamisessa. Tutkielman tavoitteena oli selvittää, vaikuttaako kasvilaji eniten kivennäisaineprofiiliin ja sen vaihteluun, vai onko kivennäisaineprofiilin vaihtelu mansikoiden välillä liian suurta geneettisistä ja ympäristötekijöistä johtuen, jotta siihen perustuvaa menetelmää voisi luotettavasti käyttää mansikkahillovääreännysten toteamiseen. Tutkielman kokeellisen osan tavoitteena oli tutkia mansikkahillosta valmistettujen mallivääreännösten ja omenasta, päärynästä sekä kurpitsasta valmistettujen hillojen erottumista induktiivisesti kytketty plasma – optinen emissiospektrometria (ICP-OES) -menetelmällä määritetyn kivennäisaineprofiilinsa perusteella mansikkahillosta. Lisäksi tavoitteena oli selvittää, voisiko mansikkahillojen aitouden varmistaa peilaamalla niistä määritettyä kivennäisaineprofiilia mansikkanäytteiden kivennäisaineprofiiliin tilastollisilla menetelmillä.

2 KIRJALLISUUSTUTKIMUS

2.1 Hilloväärennökset ilmiönä

Hilloja koskee lainsäädännöllisesti ”direktiivi elintarvikkeena käytettävistä hedelmä-hilloista, hyytelöistä ja marmeladeista sekä makeutetusta kastanjasoseesta” (Neuvoston direktiivi 2001/113/EY 2001). Kauppa- ja teollisuusministeriön asetuksen 474/2003 mukaan hillo on ”sopivan hyytelömäiseksi tehty seos, jossa on sokereita, yhden tai useamman hedelmälajin hedelmälihaa ja/tai sosetta sekä vettä”. Asetuksen mukaan 1 000 g:aan hilloa on pääsääntöisesti käytettävä vähintään 350 g hedelmälihaa ja/tai sosetta, mutta joidenkin hillolajien kohdalla tästä säännöstä on säädetty poikkeuksia. Muiden pakkausmerkintävaatimusten lisäksi alle kolmea eri hedelmää sisältävissä hillopakkausissa on ilmoitettava ”käytetyt hedelmälajit tuotteen nimen yhteydessä raaka-aineiden painomäärien mukaisessa alenevassa järjestyksessä” (Kauppa- ja teollisuusministeriön asetus 474/2003 2003). Hillojen rakenne on yleensä melko homogeeninen, mikä tekee mahdollisten väärennösten aistinvaraisesta havaitsemisesta hankalaa. Lisäksi hillojen valmistuksen aikainen lämpöprosessointi saattaa tuhota orgaanisia rakenteita, kuten esimerkiksi DNA:ta, ja hankaloittaa hilloväärennösten havaitsemista kemiallisen analytiikan avulla.

Elintarvikkeiden aitoutta voidaan tutkia monilla erilaisilla menetelmillä hyödyntäen esimerkiksi isotooppijakaumaa, geenisekvensointia, proteomiikkaa tai orgaanisten happojen, sokereiden tai fenolisten yhdisteiden määrää, joita on esitelty esimerkiksi Primrosen ym. (2010) ja Fügelin ym. (2005) katsausartikkeleissa. Mansikkahillojen aitoudesta on tehty aiemminkin maisterintutkielma Helsingin yliopiston elintarvike- ja ympäristötieteiden laitoksella yhteistyössä Tullilaboratorion kanssa (Harmanen 2016). Tutkielmassa hyödynnettiin haihtuvia ja fenolisia yhdisteitä mansikkahillon aitouden osoittamisessa. Mansikkahilloväärennöksiä ja eri hillojen seoksien erottamista toisistaan ei kuitenkaan ole ilmeisesti aiemmin tutkittu kivennäisaineprofiileja analysoimalla. Plessin tutkimusryhmä (2007) on tutkinut aiemmin karhunvatukka-, vadelma-, punaherukka- ja mustaherukkahillojen sekä marjojen erottamista toisistaan kivennäisaineprofiilin sekä fenolisten yhdisteiden avulla. Muissa marja- tai hedelmävalmisteiden väärentämiseen liittyvissä tutkimuksissa on tutkittu muun muassa mansikkasoseen ja omenasoseen seoksien erottamista haihtuvien yhdisteiden kiinteäfaasimikrouuton, kaasukromatografian ja liekki-ionisaatiotektoinnin yhdistävän tekniikan (SPME–GC–FID) perusteella, aprikoosisoseen ja omenasoseen sekä vastaavien hillojen seoksien erottamista korkean erotuskyvyn nestekromatografia – diodirividetektorilla analysoitujen fenoliprofiilien perusteella (HPLC–DAD), mansikkasoseen väärentämisen erottamista infrapuna-

spektroskooppisesti FT-IR-spektrien perusteella ja määritetty mansikka-, aprikoosi- ja persikkavalmisteiden marja- tai hedelmämäärää kvantitoimalla hemiselluloosaa gravimetrisesti (Holland ym. 1998; Reid ym. 2004; Dragovic-Uzelac ym. 2005; Schieber ym. 2005; Kurz ym. 2008). Hillojen tai soseiden ”jatkaminen” halvemmilla raaka-aineilla on siis aiemmissakin tutkimuksissa tiedostettu ongelma: halvemmiksi raaka-aineiksi on ehdotettu esimerkiksi mansikan tapauksessa omenaa, luumua, sokeriliuoksia, rypälemehua ja raparperia (Holland ym. 1998; Reid ym. 2004) ja aprikoosivalmisteiden kohdalla omenaa, persikkaa ja kurpitsaa (Dragovic-Uzelac ym. 2005; Kurz ym. 2008). Aikaisempien tutkimusten perusteella mansikkahillojen väärentämisen motiivi olisi siis luultavasti taloudellinen ja väärentämiseen käytetty kasvimateriaali luultavimmin mikä tahansa helposti saatava, hinnaltaan halvempi ja mahdollisimman vähän mansikkahilloon sekoitettuna esimerkiksi aistinvaraisesti havaittavalta maultaan ja aromiltaan erottuva.

2.2 Hillon valmistuksen vaikutus kivennäisainekoostumukseen

Hillojen koostumuksesta on säädetty lainsäädännössä. Hillo sisältää hedelmää tai hedelmäsosetta, sokereita ja vettä, sekä mahdollisesti hedelmätäysmehua ja muita sallittuja aineita (Evara 2009b). Esimerkiksi mansikkahillon väriä saa vahvistaa punaisilla täysmehuilla. Kaikkiin hilloihin sallittuja muita aineita ovat muun muassa hunaja, mausteet ja sitrushedelmien kuori. Erilaisten hillojen vähimmäishedelmäpitoisuuksista (g/kg) on säädetty lainsäädännössä. Hillojen pakkausmerkinnöissä tulee ilmoittaa refraktometrisesti määritetty kokonaissokeripitoisuus (g/100 g), mikä ei ole sama asia kuin tuotteeseen lisätyn sokerin määrä. Kokonaissokeripitoisuuteen sisältyvät siis myös marjojen tai hedelmien luonnostaan sisältämät sokerit. Mansikkahillo sisältää siis pääasiassa mansikkaa, sokeria ja vettä, mutta siihen on sallittua lisätä muitakin valmistus- ja lisäaineita. Sokeri ja vesi eivät ole koostumustaulukoiden mukaan merkittäviä kivennäisaineiden lähteitä (esimerkiksi Varo ym. 1980), joten mansikkahillon alkuainekoostumuksen voi olettaa olevan pääasiassa peräisin mansikoista. Hillon muut raaka-aineet kuitenkin laimentavat mansikoista lähtöisin olevaa kivennäisainekoostumusta. Hillojen valmistukseen sallituista lisäaineista on säädetty lainsäädännössä (Kauppa- ja teollisuusministeriön asetus 752/2007 2007). Useilla lisäaineilla on mahdollisesti vaikutusta hillojen kivennäisainekoostumukseen: esimerkiksi kaliumsorbaatti (E202), kalsiumlaktaatti (E327), natriummalaatti (E350), natriumsitraatit (E331), kalsiumsitraatit (E333), natriumtartraatit (E335), kalsiumkloridi (E509), natrium-, kalium- ja kalsiumalginaatit (E401, E402 ja E404) ja rikkidioksidi (E220) voivat lisättyinä vaikuttaa mansikkahillon alkuainekoostumukseen. Lisäaineita käytetään hilloissa esimerkiksi säilöntäaineena (esimerkiksi E202) ja happamuudensäätöaineena (esimerkiksi E333).

Mahdollinen lisäainekäyttö pitää ottaa huomioon määritettäessä natriumia, kalsiumia, kaliumia ja rikkiä hilloista ja peilattaessa tuloksia mansikoiden kivennäisainekoostumukseen. Mansikkahillon reseptillä voi siis olla vaikutusta kivennäisaineprofiiliin sekä väärennösten osoittamiseen kivennäisaineprofiilin perusteella.

Mansikoiden prosessointi mansikkahilloksi voi aiheuttaa muutoksia kivennäis- ja hivenainekoostumukseen, sillä esimerkiksi alkuaineiden siirtyminen eli migraatio ruoanvalmistusvälineistä on mahdollista. Alkuaineiden migraatiota hillonvalmistuksen aikana ei ilmeisesti kuitenkaan ole tutkittu. Ruostumattomasta teräksestä voi tutkimusten mukaan liueta ruoanvalmistuksen aikana ainakin kromia (Cr), rautaa (Fe) ja nikkeliä (Ni) (Herting ym. 2008; Kamerud ym. 2013). Metallien liukeneminen ruostumattomasta teräksestä elintarvikkeeseen riippuu ainakin teräksen laadusta ja pinnan viimeistelystä, ruoanvalmistusajasta ja ruoanvalmistustarvikkeiden käyttömäärästä ennen tutkimusta (Herting ym. 2008; Kamerud ym. 2013). Alumiinin (Al) liukeneminen sitä sisältävistä ruoanvalmistusmateriaaleista kasvaa esimerkiksi lämpötilan sekä ruoanvalmistusajan noustessa ja elintarvikkeen pH:n laskiessa (Semwal ym. 2006; Verissimo ym. 2006; Fekete ym. 2012). Alkuaineita voi siirtyä elintarvikkeisiin prosessoinnin aikana myös muoviasiioista. Esimerkiksi polyeteenitereftalaatin (PET) valmistuksessa käytetään katalyyttinä antimonia (Sb), joka voi Haldimannin tutkimusryhmän (2013) mukaan siirtyä muovista ruoanvalmistuksen aikana elintarvikkeeseen. Alkuaineiden siirtyminen elintarvikkeisiin keramiikan lasituksesta riippuu ainakin lasitteen koostumuksesta, elintarvikkeen pH:sta ja hapon tyypistä (Demont ym. 2012). Lasi on kemiallisesti melko inertti materiaali, mutta lasistakin voi siirtyä alkuaineita, esimerkiksi piitä (Si), natriumia (Na), kalsiumia (Ca), kaliumia (K) ja lyijyä (Pb), elintarvikkeisiin riippuen lasityypistä ja testausolosuhteista (FSA 2002).

2.3 Mansikan kivennäis- ja hivenainekoostumus

Kasvitieteellisesti mansikka (*Fragaria* × *ananassa*) on pohjushedelmä, mutta tavallisesti se lasketaan marjoihin kuuluvaksi (Euroopan yhteisöjen komissio 2006). Mansikka on Suomessa merkittävin puutarhamarja (osuus kokonaissadosta noin 70 %), mutta sen viljelypinta-ala on ollut laskussa (Roininen ja Mokka 2007). Vuonna 2013 Suomessa tuotettiin 13 184 tonnia mansikkaa (FAOSTAT 2016). Pääosa suomalaisista puutarhamarjoista myydään tuoreena, sillä suurin osa elintarviketeollisuudessa käytetyistä marjoista tulee ulkomailta (Roininen ja Mokka 2007). Jalostusteollisuutta varten tuotetuista marjoista ja hapankirsikoista EU:ssa kaksi kolmasosaa on peräisin Puolasta, ja EU oli ainakin vielä vuonna 2006 maailman suurin jalostusteollisuudelle tarkoitettujen

marjojen tuottaja (Euroopan yhteisöjen komissio 2006). Puolan mansikantuotanto vuonna 2013 oli 192 647 tonnia ja vastaavasti esimerkiksi Kiinan 3 005 304 tonnia ja USA:n 1 360 869 tonnia (FAOSTAT 2016). Suomalaisen mansikanviljelyn suurin ongelma on pohjoisiin sääolosuhteisiin soveltuvien lajikkeiden löytämisessä: erityisesti talvenkestävyys on tärkeä ominaisuus viljeltävien lajikkeiden valinnassa (Hietaranta ja Linna 1997). Tärkeimmät viljelylajikkeet Suomessa olivat vuonna 2007 Polka, Honeoye ja Jonsok (Roininen ja Morkkila 2007). Puola tuottaa noin 60 % EU:n mansikoista, ja siellä on keskitytty teolliseen jalostukseen soveltuvaan Senga Sengana -lajikkeeseen (Euroopan yhteisöjen komissio 2006).

Mansikan kuiva-aineen kivennäis- ja hivenainekoostumuksesta ei ole julkaistu montaa tutkimusta, sillä useimmissa tutkimusartikkeleissa koostumus on ilmoitettu tuorepainoa kohden. Taulukkoon 1 on koottu kirjallisuustiedot mansikan fosforin (P), kaliumin (K), kalsiumin (Ca), magnesiumin (Mg), mangaanin (Mn), sinkin (Zn), raudan (Fe) ja kuparin (Cu) pitoisuuksista (mg/kg kuivapainoa). Mansikan runsain alkuaine on kalium ($10\,307 \pm 4\,846$ mg/kg), jota seuraavat määrällisesti kalsium ($2\,522 \pm 928$ mg/kg), fosfori ($2\,306 \pm 424$ mg/kg) ja magnesium ($1\,194 \pm 683$ mg/kg) (Wold ja Opstad 2007; Singh ym. 2010; Antunes ym. 2014). Mansikassa on lisäksi rautaa (24 ± 9 mg/kg), mangaania (7 ± 6 mg/kg), sinkkiä (3 ± 2 mg/kg) ja kuparia (2 ± 1 mg/kg). Tässä tutkielmassa määritettyjen alumiinin (Al), boorin (B), kadmiumin (Cd), molybdeenin (Mo), rikin (S), piin (Si) ja lyijyn (Pb) pitoisuuksista mansikan kuiva-aineessa ei löytynyt kirjallisuustietoa, mutta Varon ym. (1980) mukaan mansikassa on tuorepainoa kohden 90 mg/kg rikkiä, 20 mg/kg piitä, 5 mg/kg alumiinia, 1,8 mg/kg booria, < 0,1 mg/kg molybdeenia, 20 µg/kg lyijyä ja 10 µg/kg kadmiumia. Karkeasti arvioituna pitoisuudet kuivapainoa kohden olisivat kymmenkertaiset, sillä mansikan vesipitoisuus noin 90 % (USDA 2015a; USDA 2015b). Wasimin ym. (2012) tutkimuksessa mansikoissa havaittiin esiintyvän kuuttatoista alkuainetta: kaliumia, magnesiumia, kalsiumia, klooria, rautaa, natriumia, mangaania, strontiumia, sinkkiä, kromia, kobolttia, lyijyä, ruteniumia, kadmiumia, cesiumia ja skandiumia.

Taulukko 1. Mansikan kuiva-aineen kivennäis- ja hivenainekoostumus yksikössä mg/kg (Wold ja Opstad 2007; Singh ym. 2010; Antunes ym. 2014).

Lajike	Alkuperämaa	P	K	Ca	Mg	Mn	Zn	Fe	Cu	Viite
Belrubi	Intia	2 350	7 760	3 600	490	3	1	36	1	1)
Blakemore	Intia	2 110	5 790	3 150	2 150	2	1	38	6	1)
Camarosa	Intia	2 640	9 580	2 450	1 900	2	1	23	4	1)
Chandler	Intia	2 430	5 500	2 240	600	6	3	30	1	1)
Dana	Intia	2 150	4 100	1 820	590	7	5	16	4	1)
Douglas	Intia	1 890	5 580	2 850	1 640	10	6	19	4	1)
Elista	Intia	2 850	7 780	2 840	1 750	2	1	39	2	1)
Etna	Intia	2 230	4 560	2 130	760	2	1	17	1	1)
Fairfax	Intia	2 140	7 140	3 480	1 320	1	2	16	5	1)
Fern	Intia	2 150	6 320	1 860	580	1	1	16	1	1)
Festival	Intia	2 710	8 800	2 920	2 310	5	1	37	2	1)
Gorella	Intia	1 750	4 250	1 740	980	1	1	16	1	1)
Horsella	Intia	1 690	4 550	1 850	530	2	1	16	1	1)
Larsan	Intia	2 970	7 390	2 840	840	3	3	18	2	1)
Ofra	Intia	2 640	13 160	3 700	2 170	11	2	37	2	1)
Phenomenal	Intia	3 240	12 670	2 760	1 290	11	3	28	1	1)
Redcoat	Intia	1 920	6 250	2 230	950	1	1	17	1	1)
Seascape	Intia	3 130	5 320	2 850	650	4	1	32	2	1)
Selva	Intia	2 740	13 790	2 430	640	3	2	38	2	1)
Shasta	Intia	2 460	5 250	2 140	860	2	1	15	1	1)
Sweet Charlie	Intia	1 950	8 900	4 530	3 880	2	4	18	4	1)
Camino Real	Brasilia	–	16 990	3 300	1 080	15	6	22	–	2)
Palomar	Brasilia	–	20 590	3 900	1 330	20	7	23	–	2)
Albion	Brasilia	–	18 180	2 900	1 010	20	6	26	–	2)
Monterey	Brasilia	–	16 500	3 600	1 000	18	6	16	–	2)
Portola	Brasilia	–	16 080	3 700	1 100	16	6	37	–	2)
San Andreas	Brasilia	–	18 340	2 500	1 020	13	7	16	–	2)
Korona	Norja	1 970	12 600	1 270	970	–	–	–	–	3)
Korona	Norja	2 070	12 600	1 070	970	–	–	–	–	3)
Korona	Norja	1 970	13 370	1 130	970	–	–	–	–	3)
Korona	Norja	2 070	14 000	1 230	1 070	–	–	–	–	3)
Korona	Norja	1 970	13 630	1 170	1 030	–	–	–	–	3)
Korona	Norja	2 070	12 800	1 030	970	–	–	–	–	3)
	Keskiarvo	2 306	10 307	2 522	1 194	7	3	24	2	
	Keskihajonta	424	4 846	928	683	6	2	9	1	
	Minimi	1 690	4 100	1 030	490	1	1	15	1	
	Maksimi	3 240	20 590	4 530	3 880	20	7	39	6	

– Merkintä ”–” tarkoittaa, että alkuainetta ei ole määritetty kyseisessä tutkimuksessa.

1) Singh ym. 2010

2) Antunes ym. 2014

3) Wold ja Opstad 2007.

Määrittymenetelmät:

– Wold ja Opstad 2007: Skalar autoanalyser (P), liekkifotometria (K), AAS (Ca, Mg)

– Singh ym. 2010: EDTA-titraus (Ca, Mg), liekkifotometria (K), vanadiini–molybdaattimenetelmä (P), AAS (Fe, Mn, Zn, Cu)

– Antunes ym. 2014: AAS.

2.4 Mansikan kivennäisaineprofiiliin vaikuttavat tekijät

2.4.1 Prosessoinnin, varastoinnin ja kasvinosan vaikutus mansikan kivennäisaineprofiiliin

Elintarvikeväärennösten paljastamisen kannalta on tärkeää, että tutkittavan kasvin kivennäis- ja hivenaineprofiili on mahdollisimman stabiili. Kivennäisaineprofiilissa voi esiintyä vaihtelua riippuen tutkitusta kasvinosasta ja käytetyistä elintarvikeprosesseista. Kivennäisaineet eivät tuhoudu esimerkiksi lämmön tai valon vaikutuksesta samaan tapaan kuin monet muut elintarvikkeiden komponentit (esimerkiksi monet orgaaniset yhdisteet), mutta ne voivat liueta elintarvikkeista veteen esimerkiksi ryöppäyksen aikana tai erottua fysikaalisesti, minkä lisäksi niiden biosaatavuus voi muuttua (Miller 2008). Eri kasvinosien kivennäis- ja hivenaineprofiilit voivat erota toisistaan: esimerkiksi kahden viiniköynnöslajikkeen havaittiin eroavan kasvupaikasta riippumatta toisistaan lehdistä mitattaessa barium-, kupari-, kalium-, antimoni- ja vanadiinipitoisuuksien osalta, mutta rypäleet erosivat toisistaan samassa tutkimusasetelmassa barium-, nikkeli-, antimoni- ja piipitoisuuksien osalta (Cugnetto ym. 2014). Esimerkiksi mansikan lehtien kivennäisainekoostumusta koskevia tutkimuksia ei siis voi käyttää arvioitaessa mansikkahillon pääraaka-aineen kivennäisaineprofiilin sisäistä vaihtelua, vaikka esimerkiksi lannoituksen vaikutusta tutkittaessa määritetään usein muutoksia kasvin muiden kuin syötävän osan alkuainekoostumuksessa. Kasviperäisten elintarvikkeiden ”syötävä osa” vaihtelee kasvilajista ja käyttötarkoituksesta riippuen: esimerkiksi Grembeckan ja Szeferin (2013) tutkimuksessa kuoritut hedelmät sisälsivät vähemmän kivennäis- ja hivenaineita kuin kuorimattomat, eli prosessointi vaikutti havaittuun kivennäisaineprofiiliin. Bouzarin ym. tutkimuksessa (2014) verrattiin erilaisten tuoreena ja pakastettuna säilytettyjen kasviperäisten elintarvikkeiden – mansikka mukaan lukien – magnesiumin, kalsiumin, raudan, sinkin ja kuparin pitoisuuksia, eikä pääsääntöisesti huomattu tilastollisesti merkitseviä eroja tuoreiden ja pakastettujen elintarvikkeiden välillä. Joidenkin elintarvikkeiden kohdalla havaittujen vähäisten erojen arveltiin johtuvan joko maa-aineksen jäämistä tai ryöppäyksen aikaisesta liukenemisesta veteen. Kasviperäisten elintarvikkeiden laatu riippuu pääasiassa geneettisistä ja ympäristötekijöistä (Shivashankara ym. 2013). Ympäristötekijöiden ja lajikkeen vaikutusta mansikoiden kivennäis- ja hivenaineprofiiliin tarkastellaan tarkemmin seuraavissa luvuissa.

2.4.2 Ympäristötekijöiden vaikutus mansikan kivennäisaineprofiiliin

Johdanto ympäristötekijöiden vaikutukseen

Kasvien syötävien osien kivennäis- ja hivenainekoostumukseen vaikuttavat yhdessä kasvin perimä ja kasvuympäristö (Miller 2008). Kivennäis- ja hivenainepitoisuuteen vaikuttavia ympäristön stressitekijöitä ovat esimerkiksi ympäristön suolapitoisuus, kuivuus, lämpötila, valon määrä, maaperätekijät ja ilman hiilidioksidipitoisuus (Martínez-Ballestan ym. 2010; Shivashankara ym. 2013). Alkuaineet voivat kertyä kasvin eri osiin eri tavoin. Noin 51 % mansikan kokonaistypestä, 65 % kokonaisfosforista, 66 % kokonaiskaliumista, 25 % kokonaiskalsiumista ja 41 % kokonaimagnesiumista sijaitsee syötävässä osassa – jäljelle jäävät osuudet sijaitsevat kasvin lehdissä, kannoissa, juurissa tai rönsyissä (Tagliavini ym. 2005). Kaikkien ympäristötekijöiden (muun muassa veden määrän, ääriämpötilojen ja maaperän) vaikutuksista mansikan syötävän osan kivennäisainekoostumukseen ei ilmeisesti ole julkaistu tutkimuksia. Lisäksi esimerkiksi ympäristön suolaisuuden, ilman hiilidioksidipitoisuuden, maaperämikrobien ja valon määrän vaikutuksista on vain yksittäisiä tutkimuksia. Tavanomaisen ja luomuviljelytavan sekä lannoituksen vaikutusta mansikoiden kivennäisainekoostumukseen on puolestaan tutkittu melko paljon. Eri tutkimuksissa määritetyt kivennäis- ja hivenaineprofiilit voivat koostua eri alkuaineista, minkä lisäksi tutkimuksissa on käytetty monia erilaisia mansikkalajikkeita. Selvyyden vuoksi ympäristötekijöiden vaikutusta mansikan syötävän osan kivennäisainekoostumukseen käsitellessä tutkimusten määrittämiä alkuaineita ja tutkimuksessa käytettyjä mansikkalajikkeita koskevat tiedot on taulukoitu (taulukko 2).

Taulukko 2. Yhteenveto keskeisimmistä ympäristön vaikutusta mansikan kivennäisaineprofiiliin käsitellessä tutkimuksissa määritetyistä alkuaineista ja tutkituista mansikkalajikkeista.

Viite	Määritetyt alkuaineet	Mansikkalajikkeet
Akhatou ja Recamales 2014	N, P, S, Ca, K, Mg, Na, Al, Cr, Cu, Fe, Zn, Ba, Mn, Sr	Camarosa, Candonga, Chiflón, BG 269, Tamar, Diamante, Medina, Marina, Ventana
Castellanos-Morales ym. 2010	K, Na, Ca, Mg, Cu, Fe, Zn, Mn	Aromas
Choi ym. 2014	N, P, Ca, Mg, K, Na	Daewang
Conti ym. 2014	Ca, Mg, K, Cu, Fe, Zn, kloridi, nitraatit, fosfaatit, sulfaatit	Camarosa
Estringü ym. 2011	N, P, Ca, K, Mg, Fe, Zn, Mn, Cu, B	Fern
Günes ym. 2009	N, P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Mn, Zn, Cu	Fern
Hakala ym. 2003	Mn, Mg, Ca, K, Fe, Zn, Cu, Cd, Pb	Senga Sengana, Jonsok, Korona, Polka, Honeoye, Bounty
Hargreaves ym. 2008	K, S, P, Ca, Mg, Na, Fe, B, Mn, Zn, Cu	Sable
Keutgen ja Pawelzik 2007	P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu, Cl, Na	Elsanta, Korona
Kristl ym. 2013	P, K, Mg, Fe, Cu, Mn, Zn	St. Pierre, Elsanta, Sugar Lia, Thuchampion
Makus ja Morris 1998	K, P, Mg, Na, Al, Fe, Mn, Zn, Cu, B	Cardinal, Fern
Reganold ym. 2010	P, K, Ca, Mg, B, Zn	Diamante, Lanai, San Juan
Sharma ym. 2006	N, P, K, Ca, Mg, S	Chandler, Douglas, Etna, Fern, Sweet Charlie
Wold ja Opstad 2007	N, P, K, Ca, Mg	Korona
Önal ja Topcuoglu 2012	N, P, K, Ca, Mg, Na, Mn, Fe, Zn, Cu, Pb, Ni, Cd, Cr	Camarosa

Kasvuympäristön kuivuuden, lämpötilan, hiilidioksidipitoisuuden, maaperätyypin, suolaisuuden, valon ja mikrobiston vaikutus

Kasvit ottavat kasvaakseen juurillaan vettä sekä kivennäis- ja hivenaineita maaperästä, minkä jälkeen ne kuljetetaan muihin kasvinosiin (Miller 2008). Kuivuus voi vaikuttaa kivennäis- ja hivenaineiden ottoon ja haitata niiden kuljetusta kasvissa (Martínez-Ballesta ym. 2010). Myös kuivuuden ajankohta ja kesto kasvin kehityksen aikana voivat vaikuttaa kivennäis- ja hivenaineiden pitoisuuksiin. Juurien kyky ottaa kivennäis- ja hivenaineita laskee kuivuuden aikana, mikä johtunee ravinteiden tarpeen laskusta. Kasvien kuivuudenkestävyys vaihtelee, mikä vaikuttaa niiden kykyyn ottaa kivennäis- ja hivenaineita maaperästä ja kuljettaa niitä eri osiin. Lämpötilan vaikutus kasvin kivennäis- ja hivenaineprofiiliin riippuu kasvilajista, tutkitusta kivennäis- tai hivenaineesta ja lämpötilasta. Esimerkiksi ilmastonmuutoksen myötä nouseva ilmakehän CO₂-pitoisuus voi oppikirjatiedon mukaan vaikuttaa kasvien kivennäis- ja hivenainepitoisuuksiin, minkä lisäksi myös korkeamman lämpötilan sekä vedenpuutteen yhteisvaikutus voi vaikuttaa kivennäis- ja hivenainepitoisuuksiin (Shivashankara ym. 2013). Ilman hiilidioksidipitoisuuden noustessa hiiltä sitoutuu enemmän suhteessa muihin ravintoaineisiin (esimerkiksi kivennäis- ja hivenaineisiin), mikä voi suurentaa satoa laskien samalla ravintoarvoa. Hiilidioksidipitoisuuden vaikutuksesta mansikan kivennäis- ja hivenainepitoisuuksiin on julkaistu yksi tutkimus, jonka tiivistelmän mukaan kivennäis- ja hivenaineiden pitoisuudet pienenevät hieman ilman hiilidioksidipitoisuuden noustessa (Chen ym. 1997). Saatavilla olevan veden määrän, lämpötilan ja ilman hiilidioksidipitoisuuden voi olettaa vaikuttavan muiden kasvien tavoin myös mansikan kivennäis- ja hivenainekoostumukseen, vaikka useita juuri mansikoiden syötävää osaa koskevia tutkimuksia ei olekaan julkaistu.

Maaperien kivennäis- ja hivenainekoostumukset vaihtelevat suuresti (Miller 2008). Myös kivennäis- ja hivenaineiden biosaatavuus maaperästä vaihtelee, koska biosaatavuus riippuu kivennäis- ja hivenaineiden kemiallisesta muodosta ja maaperän pH:sta (Miller 2008). Singhin tutkimusryhmän katsausartikkelin (2013) mukaan kivennäis- ja hivenaineiden keskinäiset vuorovaikutukset voivat vaikuttaa niiden absorptioon ja biosaatavuuteen monin mekanismein: esimerkiksi kemiallisesti samantapaiset kivennäis- tai hivenaineet voivat kilpailla kuljetusproteiineista, mikä voi parantaa tai huonontaa absorptiota. Cugnetton ym. tutkimuksessa (2014) maaperätyypin todettiin vaikuttavan viinirypäleiden kivennäis- ja hivenainekoostumukseen. Myös maaperätyypin voi olettaa vaikuttavan muiden kasvien tavoin myös mansikan kivennäis- ja hivenainekoostumukseen, vaikka juuri mansikoiden syötävää osaa koskevia tutkimuksia ei ole julkaistu.

Suolaisessa ympäristössä Na^+ ja Cl^- ionien ylimäärä voi häiritä ionien homeostaasia (Martínez-Ballesta ym. 2010). Suolaisuus voi häiritä muiden aineiden (esimerkiksi fosfaatin ja kalsiumin) ottoa maaperästä kasviin ja aiheuttaa kivennäis- ja hivenaineiden puutosta tai epätasapainoa kasvissa ionien kilpailusta johtuen. Keutgen ja Pawelzik (2007) tutkivat pitkäaikaisen suolastressin vaikutuksia kahden mansikkalajikkeen – suolaherkän Elsantan ja vähemmän herkän Koronan – laatuun todeten, että suolastressi lisäsi tiettyjen kivennäis- ja hivenaineiden määriä (Na^+ , Cl^- , N ja P) molemmissa mansikkalajikkeissa. Na^+ ja Cl^- -ionien pitoisuus suureni erityisesti Elsanta-lajikkeessa. Lajikkeiden välillä havaittiin eroja K^+ :n ja Zn^{2+} :n kertymisessä: niiden pitoisuudet eivät muuttuneet Korona-lajikkeessa, mutta suurenivat Elsanta-lajikkeessa. Molempien mansikkalajikkeiden K^+ :n ottojärjestelmän pääteltiin olevan tehokas, sillä aiemmissa tutkimuksissa monien kasvilajien kohdalla K^+ :n kertymisen on todettu rajoittuvan suolaisessa ympäristössä. Suolastressi ei aiheuttanut ravintoainepuutoksia mansikoissa. Kasvu ympäristön suolaisuus voi siis vaikuttaa mansikoiden kivennäis- ja hivenainekoostumukseen ja mansikkalajikkeiden välillä voi olla eroja eri alkuaineiden kertymisessä (Keutgen ja Pawelzik 2007).

Martínez-Ballestan ym. katsausartikkelin (2010) mukaan valolla on vaikutusta ravinteiden kuljetuksessa kasvin versosta hedelmään transpiraation eli haihdunnan mukana. Choin ym. tutkimuksessa (2014) varjostuksen ei havaittu vaikuttavan tilastollisesti merkitsevästi mansikan syötävän osan kivennäis- ja hivenainepitoisuuksiin. Sharman tutkimusryhmä (2006) puolestaan havaitsi varjossa kasvatettujen mansikoiden tuottavan enemmän laatu- virheisiä albiinomansikoita kuin avoimella pellolla kasvaneet kasvit, minkä lisäksi albiinomansikoiden kivennäisainekoostumuksen (K ja Ca pitoisuuden) havaittiin poikkeavan normaaleista mansikoista. Laadultaan virheettömien varjossa kasvaneiden mansikoiden kivennäisainepitoisuudet eivät kuitenkaan poikenneet avomaalla kasvaneiden mansikoiden vastaavista. Valon määrän rajoittaminen ei vaikuta mansikoiden kivennäis- ja hivenainekoostumukseen (Sharma ym. 2006; Choi ym. 2014).

Günesin ym. tutkimuksessa (2009) fosforia liukoiseen muotoon muuttavien mikrobien (*Bacillus* FS-3 ja *Aspergillus* FS9) lisääminen fosforiköyhään kalsiumkarbonaattipitoiseen kuivaan maaperään (engl. calcareous Aridisol) kasvatti mansikoiden ravinnepitoisuuksia (N, P, K, Ca ja Fe). Molemmat mikrobit paransivat mansikoiden satoa ja nostivat kivennäis- ja hivenaineiden pitoisuustasoa enemmän kuin pelkällä lannoituksella voitiin saavuttaa sekä laskivat tarvittavan fosforilannoitteen määrää lisäämällä fosforin saatavuutta. Castellanos-Moralesin tutkimusryhmä (2010) tutki mykorritsan eli sienijuuren ja typpilannoituksen vaikutusta mansikoiden kivennäis- ja hivenainekoostumukseen:

Glomus intraradices -mykorritsan sisältävissä kasveissa oli enemmän kaliumia ja kuparia, mutta vähemmän mangaania kuin ilman mykorritsaa kasvatetuissa. Mikrobit voivat siis aiheuttaa vaihtelua mansikoiden syötävän osan alkuaineprofiiliin esimerkiksi lisäämällä alkuaineiden saatavuutta maaperästä (Günes ym. 2009; Castellanos-Morales ym. 2010).

Viljelytavan vaikutus

Martínez-Ballestan ym. katsausartikkelin (2010) mukaan tavanomaisella tai luomuviljelytavalla voi olla tutkimuksesta riippuen erilainen vaikutus kasvien ravinnepitoisuuksiin: tulokset riippuvat kasvilajista sekä kasvukaudesta ja vuodesta. Viljelymenetelmän vaikutusta mansikan kivennäisainekoostumukseen on tutkittu aiemmin muun muassa Turun yliopistossa: Hakalan ym. tutkimuksessa (2003) mansikan genotyypillä eli lajikkeella ja kasvupaikalla oli suurempi vaikutus tutkittuihin parametreihin kuin viljelymenetelmällä (luomu tai tavanomainen). Luomuviljelyllä ei siis havaittu vaikutusta mansikan kivennäisainekoostumukseen verrattuna tavanomaiseen viljelytapaan. Myös Italiassa on tutkittu luomuviljelyn ja tavanomaisen viljelyn vaikutusta mansikan kivennäisaineisiin, eikä tutkimuksessa havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja valittujen kivennäis- tai hivenaineiden ja viljelytavan välillä (Conti ym. 2014). Hargreavesin ym. tutkimuksessa (2008) luomutuotantotapa ei parantanut mansikoiden ravitsemuksellista laatua, eli esimerkiksi systemaattisesti nostanut kivennäisaineiden määrää, verrattuna tavanomaisesti viljeltyihin mansikoihin. Reganoldin tutkimusryhmä (2010) puolestaan päätteli, että luomutilat tuottivat yleistasolla parempilaatuisia mansikoita, mutta kivennäisaineiden osalta tässä tutkimuksessa luomumansikoissa oli tilastollisesti merkitsevästi vähemmän fosforia ja kaliumia kuin tavanomaisesti viljellyissä. Kristlin tutkimusryhmä (2013) puolestaan totesi, että tavanomaisesti viljeltyihin verrattuna luomumansikoissa oli enemmän kuparia, mutta vähemmän fosforia, kaliumia, magnesiumia, rautaa ja mangaania, mutta tässä tutkimuksessa mansikat olivat lisäksi eri kasvupaikalta, mikä saattoi vaikuttaa tuloksiin. Mansikkaa voidaan viljellä myös vesiviljelytekniikalla (engl. soilless culture): esimerkiksi Akhatoun ja Recamalesin (2014) tutkimuksessa havaittiin vesiviljeltyjen mansikkalajikkeiden kivennäis- ja hivenainekoostumusten eroavan tilastollisesti merkitsevästi vain typen ja strontiumin kohdalla, kun samassa tutkimuksessa tavanomaisesti maaperässä kasvatettujen lajikkeiden havaittiin eroavan toisistaan tilastollisesti merkitsevästi yhdeksän eri alkuaineen (N, S, Ca, K, Mg, Na, Al, Fe ja Ba) kohdalla. Mansikan lajikkeella ja kasvupaikalla on viljelymenetelmää suurempi vaikutus mansikan syötävän osan kivennäis- ja hivenainekoostumukseen (Hakala ym. 2003). Luomuviljeltyjen ja tavanomaisesti viljeltyjen mansikoiden syötävän osan kivennäis- ja hivenainekoostumuksissa ei siis ole merkittäviä eroja (Hakala ym. 2003; Hargreaves ym.

2008; Conti ym. 2014). Vähäisiä eroja luomuviljeltyjen ja tavanomaisesti viljeltyjen mansikoiden välillä on havaittu yksittäisten alkuaineiden pitoisuuksissa (Reganold ym. 2010; Kristl ym. 2013). Myös tavanomaisen viljelyn sisällä erilaiset viljelytavat, esimerkiksi vesiviljely, voivat vaikuttaa mansikan syötävän osan kivennäis- ja hivenainekoostumukseen (Akhatou ja Recamales 2014).

Lannoituksen vaikutus

Kasveja voidaan lannoittaa monilla erilaisilla kaupallisilla kemiallisilla lannoitteilla, jotka voivat sisältää muun muassa typpeä, fosforia, kaliumia, rikkiä, kalsiumia ja/tai hivenaineita, kuten esimerkiksi seleeniä. Lannoitustavan vaikutus kivennäis- ja hivenainepitoisuuksiin riippuu käytetystä lannoitteesta, tutkitusta kivennäis- tai hivenaineesta ja tutkitusta kasvinosasta, eli esimerkiksi tutkimalla lannoitteen vaikutusta mansikan lehden kivennäisainemääriin ei voi tehdä päätelmiä vaikutuksista mansikan syötävän osaan (Martínez-Ballesta ym. 2010). Eri määrä typpilannoitetta vaikutti Castellanos-Moralesin tutkimuksessa (2010) mansikan kivennäis- ja hivenainepitoisuuksiin eri tavoin: typpilannoitustasolla 3 mmol/l mansikoissa oli enemmän kaliumia, magnesiumia, rautaa ja sinkkiä kuin lannoitustasolla 18 mmol/l. Fosforilannoitus edistää juurien kasvua, parantaa ravinteiden ja veden käyttötehokkuutta ja parantaa satoa, mikä voi vaikuttaa myös kivennäisaineiden pitoisuuksiin (Martínez-Ballesta ym. 2010). Hargreavesin ym. tutkimuksessa (2008) havaittiin, että epäorgaaniset lannoitteet (ammoniumnitraatti, superfosfaatti ja potaska) suurensivat mansikoiden rikin ja mangaanin pitoisuuksia. Woldin ja Opstadin (2007) tutkimuksessa verrattiin kahden erilaisen lannoitustavan vaikutusta mansikoiden laatuominaisuuksiin (esimerkiksi kivennäisainepitoisuuksiin, C-vitamiinin määrään tai antioksidanttiaktiivisuuteen) ja pääteltiin, ettei kohtuullisilla loppusyksyn tai kasvukauden aikaisilla lannoitusmäärillä ollut juuri vaikutusta mansikan laatuparametreihin. Tutkimuksessa testatuilla kahdella lannoitustavalla oli tilastollisesti merkitsevää vaikutusta vain mansikoiden väriin, mutta ei esimerkiksi niiden syötävän osan alkuainekoostumukseen. Woldin ja Opstadin (2007) loppupäätelmä oli, että muut tekijät vaikuttivat mansikoiden yleiskoostumukseen enemmän kuin lannoitus. Makus ja Morris (1998) tutkivat sadonkorjuuta edeltävien kalsiumlisäysten (neljä erilaista) vaikutusta kahden eri lajikkeen mansikoiden kivennäisaineprofiileihin todeten, että kalsiumlisillä ei juuri ollut vaikutusta mansikoiden kivennäis- ja hivenainekoostumukseen. CaNO₃-lannoitus ja kaikkien tutkittujen kalsiumlannoitteiden yhdistelmä suurensivat kalsiumpitoisuutta merkitsevästi Cardinal-lajikkeen mansikoissa, mutta eivät Fern-lajikkeen mansikoissa (Makus ja Morris 1998). Myös jätevedenpuhdistamolta peräisin olevan lietteen käyttöä mansikoiden lannoituksessa on tutkittu: marjaosan typpi-, fosfori-, kalium-,

magnesium-, rauta-, sinkki-, kupari-, lyijy- ja kadmiumpitoisuudet suurenivat tilastollisesti merkitsevästi käytetyn lietteen määrän noustessa, mutta kalsium-, mangaani-, nikkeli- ja kromipitoisuudet pysyivät muuttumattomina (Önal ja Topcuoglu 2012). Kaikkia kivennäis- ja hivenaineita kertyi enemmän mansikan lehtiin kuin syötävään osaan, mutta vaikka lietteen lisääminen vaikuttaakin positiivisesti kasvien kasvuun, raskasmetallien kertyminen hidastaa lietteen käyttöä viljelyssä. Boorilannoitusta neljällä eri pitoisuudella tutkinut Esringün tutkimusryhmä (2011) päätteli boorilannoituksen vaikuttavan mansikan lehtien kivennäis- ja hivenainekoostumukseen monin tavoin, mutta suurentavan marjaosassa vain fosforin, kaliumin ja boorin pitoisuutta riippumatta kasvuolosuhteista (avomaa tai muovikate). Lannoituksen vaikutus mansikan kivennäis- ja hivenainekoostumukseen on siis suurempaa mansikan muissa kuin syötävässä osassa (Esringü ym. 2011). Lannoitus voi kuitenkin vaikuttaa myös mansikan syötävän osan kivennäis- ja hivenaineiden pitoisuuksiin (Hargreaves ym. 2008; Castellanos-Morales ym. 2010; Önal ja Topcuoglu 2012). Lannoituksen vaikutus syötävän osan kivennäis- ja hivenainekoostumukseen on kuitenkin melko vähäinen (Makus ja Morris 1998; Wold ja Opstad 2007).

2.4.3 Mansikan perimän ja fysiologian vaikutus kivennäisaineprofiiliin

Lajikkeen eli perimän vaikutus kivennäisaineprofiiliin

Johdanto kivennäis- ja hivenaineiden kertymisen säätelyyn kasveilla

Kasvilajeilla on fysiologisia kivennäis- ja hivenaineiden ottoa sääteleviä prosesseja, minkä lisäksi kivennäisaineprofiileissa voi olla eroja saman lajin eri genotyyppien eli lajikkeiden välillä. Viljelykasvien kivennäis- ja hivenaineiden kertymiseen liittyviä fysiologisia prosesseja ei tunneta tarkasti Welchin ja Grahamin katsausartikkelin mukaan (2002). Kivennäis- ja hivenaineiden ottoa ympäristöstä ja niiden jakautumista kasvin eri osiin säätelevät homeostaattiset mekanismit, joiden tarkoitus on taata kasvikudoksiin kertyvän tason pysyminen riittävänä, mutta ei haitallisen korkeana. Kivennäis- ja hivenaineiden pitoisuus kasvissa riippuu esimerkiksi juurien solujen toiminnasta ja pinta-alasta sekä siirtymistehokkuudesta juurista kasvien syötäviin osiin. Singhin tutkimusryhmän katsausartikkelin (2013) mukaan suurinta osaa kasvien ”ionomia” säätelevistä geneistä ei vielä tunneta. Alonso-Blancon tutkimusryhmän katsausartikkelin (2009) mukaan kuitenkin lähes 100 kasvien kehityksen ja fysiologian luonnollista vaihtelua selittävää geeniä on tunnistettu. Kivennäis- ja hivenaineiden käyttötehokkuudessa, juurien kivennäis- ja hivenaineiden ottokyvyssä, kivennäis- ja hivenaineiden kulkeutumisessa juurista muihin kasvinosiin sekä kivennäis- ja hivenaineiden kertymisessä siemeniin esiintyy monilla kasvilajeilla huomattavaa luonnollista vaihtelua (Alonso-Blanco ym. 2009). Kivennäis- ja

hivenaineiden pitoisuutta kasveissa kontrolloivat useissa lokuksissa sijaitsevat geenit, joilla on yleensä maltillinen vaikutus ja usein vahvaa vuorovaikutusta kasvuympäristön kanssa (Alonso-Blanco ym. 2009). Mansikan eri ominaisuuksien periytymistä on tutkittu melko paljon. Esimerkiksi Comanin ja Popescun (1997) tutkimuksessa keskityttiin satomäärän, mansikoiden keskimassan, kiinteyden ja ulkonäön periytymisen selvittämiseen, ja todettiin mansikkalajikkeissa olevan tarpeeksi geneettistä vaihtelua tutkittujen ominaisuuksien selektiiviseen jalostukseen.

Mansikkalajikkeiden kivennäis- ja hivenainekoostumusten erot

Mansikkalajikkeiden kivennäis- ja hivenainekoostumusta on tutkittu useissa eri tutkimuksissa, joissa on ympäristön vaikutusta käsitelleiden tutkimusten tavoin määritetty eri alkuaineita ja käytetty eri lajikkeita (taulukko 3). Hakalan ym. tutkimuksessa (2003) mansikkalajikkeiden kaikki muut määritetyt kivennäisainepitoisuudet paitsi kaliumin pitoisuus erosivat tilastollisesti merkitsevästi toisistaan, eli lajikkeiden kivennäisaine-profiileissa havaittiin vaihtelua. Myös eri vuosien saman lajikkeen kivennäis- ja hivenainepitoisuudet erosivat toisistaan merkitsevästi. Kivennäis- ja hivenaineiden minimi- ja maksimiarvot eivät kuitenkaan eronneet kovin suuresti toisistaan. Useimpien mansikan kivennäis- ja hivenaineiden pitoisuutta säädellään siis melko hyvin homeostaattisesti, minkä vuoksi vaihtelu on pientä. Singhin tutkimusryhmä (2010) päätteli, että genotyyppi (21 lajiketta) vaikutti mansikan kivennäis- ja hivenainepitoisuuteen enemmän kuin ympäristötekijät. Lisäksi mansikoiden alkuperällä havaittiin olevan enemmän vaikutusta kivennäis- ja hivenainepitoisuuksiin kuin kasvatustavalla. Mansikan natriumin, kaliumin, kalsiumin, raudan, mangaanin, sinkin ja kuparin pitoisuuksien todettiin olevan hyvin periytyviä ominaisuuksia ja fosforin pitoisuuden pääteltiin olevan kohtalaisesti periytyvä ominaisuus. Toisaalta esimerkiksi Xien ja Zhaon (2004) tutkimuksessa kolme tutkittua mansikkalajiketta erosivat toisistaan vain kaliumin, kuparin, kalsiumin ja sinkin pitoisuuksissa ja muiden kivennäis- ja hivenaineiden (P, Mg, Mn, Fe) pitoisuuksissa ei havaittu eroja. Akhatoun ja Recamalesin (2014) tutkimuksessa havaittiin tilastollisesti merkitseviä eroja viiden tutkitun mansikkalajikkeen typen, rikin, kalsiumin, kaliumin, magnesiumin, natriumin, alumiinin, raudan ja bariumin pitoisuuksissa. Myös Antunesin ym. (2014) tutkimuksessa mansikan kivennäis- ja hivenainekoostumus riippui lajikkeesta: esimerkiksi kuudesta tutkitusta lajikkeesta lajike Palomar sisälsi eniten useimpia kivennäis- ja hivenaineita, mutta lajike Portola sisälsi eniten rautaa. Kuparin kohdalla ei havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja lajikkeiden välillä (Antunes ym. 2014). Kristlin ym. (2013) tutkimuksen perusteella kaikkien muiden määritettyjen alkuaineiden paitsi sinkin pitoisuus riippui lajikkeesta. Perezin ym. (2006) tutkimuksessa havaittiin eroja eri

mansikkalajikkeiden kupari- ja mangaanipitoisuuksissa, mutta lajikevaihtelun todettiin olevan pienempää kuin eri maista peräisin olevien mansikkanäytteiden profiilien välinen vaihtelu: lajikevaihtelun ei todettu häiritsevän mansikoiden kasvupaikan (USA tai Meksiko) tunnistamista kivennäisaineprofiilin perusteella. Hegedüs ym. tutkimuksessa (2008) genotyypillä havaittiin olevan vaikutusta kaikkien tutkittujen marjojen (mansikka, vadelma, punaherukka ja mustaherukka) alkuainekoostumukseen. Lajikkeella on siis vaikutusta mansikan syötävän osan kivennäis- ja hivenaineprofiiliin (Hakala ym. 2003; Xie ja Zhao 2004; Perez ym. 2006; Hegedüs ym. 2008; Singh ym. 2010; Kristl ym. 2013; Akhatou ja Recamales 2014; Antunes ym. 2014). Lajikkeen aiheuttama vaihtelu on kuitenkin homeostaattisen säätelyn vuoksi melko pientä (Hakala ym. 2003). Lajike vaikuttaa mansikan kivennäisaineprofiiliin enemmän kuin ympäristötekijät, esimerkiksi alkuperä tai kasvatustapa (Singh ym. 2010). Toisaalta eri alkuperämaista peräisin olevien mansikoiden kivennäisaineprofiilien on todettu vaihtelevan enemmän kuin eri lajikkeiden (Perez ym. 2006).

Taulukko 3. Yhteenveto keskeisimmistä lajikkeen vaikutusta mansikan kivennäisaineprofiiliin käsitelleissä tutkimuksissa määritetyistä alkuaineista ja tutkituista mansikkalajikkeista.

Viite	Määritetyt alkuaineet	Mansikkalajikkeet
Akhatou ja Recamales 2014	N, P, S, Ca, K, Mg, Na, Al, Cr, Cu, Fe, Zn, Ba, Mn, Sr	Camarosa, Candonga, Medina, Marina, Ventana
Antunes ym. 2014	Ca, Fe, K, Mg, Mn, Cu, Zn	Camino Real, Palomar, Albion, Monterey, Portola, San Andreas
Hakala ym. 2003	Mn, Mg, Ca, K, Fe, Zn, Cu, Cd, Pb	Senga Sengana, Jonsok, Korona, Polka, Honeoye, Bounty
Hegedüs ym. 2008	Al, As, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, P, Pb, Zn	Elsanta, Honeoye, Onebor
Kristl ym. 2013	P, K, Mg, Fe, Cu, Mn, Zn	St. Pierre, Elsanta, Sugar Lia, Thuchampion
Perez ym. 2006	Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, V, Zn	Hood, Puget summer, Totem, Fresh Delight
Singh ym. 2010	N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu	Belrubi, Blakemore, Camarosa, Chandler, Dana, Douglas, Elista, Etna, Fairfax, Fern, Festival, Gorella, Horsella, Larsan, Ofra, Phenomenal, Redcoat, Seascape, Selva, Shasta, Sweet Charlie
Xie ja Zhao 2004	P, Mg, Mn, Fe, K, Cu, Ca	Totem, Shuksan, Puget Reliance

Perimän vaikutus kivennäis- ja hivenainekoostumukseen muilla kasvilajeilla

Genotyypillä on vaikutusta myös useiden muiden ruokakasvien kivennäis- ja hivenainekoostumukseen. Katsausartikkelin mukaan esimerkiksi tarhapavun perimässä on arvioitu olevan tarpeeksi vaihtelua, jotta sen rauta- ja sinkkipitoisuutta voitaisiin kasvattaa merkittävästi (50–80 %) jalostuksen avulla (Welch ja Graham 2002). Piirteet, jotka aiheuttavat raudan ja sinkin pitoisuuksien kasvun tarhapavussa, ovat stabiileja erilaisissa ympäristöissä. Myös riisin ja vehnän genomissa on vaihtelua, jota voitaisiin hyödyntää

raudan ja sinkin pitoisuuksien nostamisessa jalostuksen avulla. Esimerkiksi Ibáñesin tutkimusryhmän (1998) mukaan samoissa ympäristöolosuhteissa kasvatettujen kikherneiden Desi-biotyyppin (16 lajiketta) ja Kabuli-biotyyppin (21 lajiketta) kalsium-, magnesium- ja kaliumpitoisuuksien vaihtelussa biotyyppi on merkitsevä selittävä tekijä, mutta kuparin, raudan, mangaanin, natriumin ja sinkin pitoisuudet eivät riippuneet biotyypistä. Huangin tutkimusryhmä (2016) puolestaan tutki kahtakymmentä erilaista tummaa riisiä kahdessa eri ympäristössä todeten, että kalsiumin, natriumin ja kaliumin pitoisuudet riippuivat pääasiassa genotyypistä, mutta raudan, sinkin ja kuparin pitoisuudet riippuivat pääasiassa ympäristön vaikutuksesta. Genotyypin ja ympäristön yhteisvaikutus oli merkitsevä magnesiumin, natriumin, sinkin ja kuparin kohdalla, mutta yhteisvaikutuksella oli vain pieni osa kokonaisvaihtelussa (Huang ym. 2016). Myös mansikan kohdalla voidaan olettaa, että osa syötävään osaan kertyvistä alkuaineista riippuu selkeämmin genotyypistä ja osa puolestaan ympäristöstä.

Fysiologian vaikutus kivennäisaineprofiiliin

Martínez-Ballestan ym. katsausartikkelin (2010) mukaan kasvin fysiologiset tekijät, kuten kasvin kehitysaste, viljelyksellinen tai biologinen kypsyysaste ja vanheneminen, voivat vaikuttaa kivennäisainekoostumukseen. Ainakin kasvin iän ja marjojen kypsyysasteen vaikutusta mansikoiden kivennäisainekoostumukseen on tutkittu. Myös fysiologian vaikutusta koskevissa tutkimuksissa on määritetty erilaisista alkuaineista koostuvia kivennäisaineprofiileja ja käytetty erilaisia mansikkalajikkeita (taulukko 4).

Mahmoodin ym. tutkimuksessa (2012) määritettiin mansikan, mulperimarjojen ja kirsikan kivennäis- ja hivenainepitoisuudet raakana, puolikypsänä ja kypsänä. Kivennäisainepitoisuuden havaittiin pääpiirteissään pienenevän marjan tai hedelmän kypsyessä joitakin poikkeuksia lukuun ottamatta. Kaliumin pitoisuuden havaittiin suurenevan mansikassa ja pienenevän mulpereissa ja kirsikoissa kypsymisen aikana. Natriumin pitoisuus puolestaan pieneni mansikassa ja mulperimarjoissa, mutta suureni kirsikassa kypsymisen aikana. Fosforin pitoisuus vaihteli kypsymisen aikana epäjohdonmukaisesti: mansikassa ja kirsikassa fosforin pitoisuus pieneni kypsymisen aikana, mutta joissakin mulperilajikkeissa fosforin pitoisuus oli suurimmillaan raaoissa sekä kypsissä marjoissa ja pienimmillään puolikypsässä vaiheessa. Mansikan, kirsikan ja mulperien kivennäis- ja hivenainepitoisuuksissa oli tilastollisesti merkitseviä eroja sekä lajien että kypsyysasteiden välillä.

Contin tutkimusryhmä (2014) havaitsi viljelykierron pituuden eli kasvin iän (yksi tai kaksi vuotta) vaikuttavan tilastollisesti merkitsevästi mansikan kivennäis- ja hivenainepitoisuuksiin: toisen kasvukauden mansikoissa oli enemmän kaikkia määritettyjä

kivennäis- ja hivenaineita kuin ensimmäisenä kasvukautena. Hargreavesin ym. tutkimuksessa (2008) mansikoiden kaliumin ja fosforin pitoisuudet vaihtelivat viljelyvuoden mukaan: myös tässä tutkimuksessa vanhemmat kasvit tuottivat ennako-odotuksista poiketen enemmän joitakin alkuaineita (K, P, Cr) sisältäviä marjoja. Woldin ja Opstadin tutkimuksessa (2007) pääteltiin, että näytteenottoajankohta vaikuttaa tilastollisesti merkitsevästi moniin mansikan laatuparametreihin (esimerkiksi väriin ja sokereiden määrään), muttei mansikoiden kivennäis- tai hivenainepitoisuuksiin.

Kasvin iällä vaikuttaa siis olevan merkitystä mansikoiden kivennäis- ja hivenainekoostumuksen kannalta (Hargreaves ym. 2008; Conti ym. 2014), mutta saman satokauden aikana kypsien mansikoiden kivennäis- ja hivenaineprofiilin voi olettaa olevan melko stabiili (Wold ja Opstad 2007). Toisaalta myös osittain raakojen mansikoiden joutuminen elintarviketeollisuuden raaka-aineiden joukkoon voi vaikuttaa tuotteista määritettävään kivennäisaineprofiiliin (Mahmood ym. 2012).

Taulukko 4. Yhteenveto keskeisimmistä fysiologian vaikutusta mansikan kivennäisaineprofiiliin käsitellessä tutkimuksissa määritetyistä alkuaineista ja tutkituista mansikkalajikkeista.

Viite	Määritetyt alkuaineet	Mansikkalajikkeet
Conti ym. 2014	Ca, Mg, K, Cu, Fe, Zn, kloridi, nitraatti, fosfaatti, sulfaatti	Camarosa
Hargreaves ym. 2008	K, S, P, Ca, Mg, Na, Fe, B, Mn, Zn, Cu	Sable
Mahmood ym. 2012	K, Na, P, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Al, Cu	Korona, Tufts
Wold ja Opstad 2007	N, P, K, Ca, Mg	Korona

2.5 Kivennäisaineprofiilien erot mansikan ja muiden kasvilajien välillä

Elintarviketutkimusten kannalta on sitä parempi, mitä enemmän eri kasvilajien väliset kivennäis- ja hivenaineprofiilit eroavat toisistaan. Tutkimustieto mansikan ja eri kasvilajien kivennäisaineprofiilien eroista on melko vähäistä, mutta esimerkiksi koostumustietotaulukoiden perusteella kasvilajien kivennäis- ja hivenainepitoisuudet vaikuttavat eroavan toisistaan.

Esimerkiksi mansikan ja pensasmustikan kivennäisainepitoisuuksia on vertailtu Huan ym. (2014) tutkimuksessa, jossa mansikan todettiin sisältävän enemmän haitallisia alkuaineita (Al, As, Cd ja Pb) kuin pensasmustikan. Hivenainepitoisuuksien suurimmat erot havaittiin nikkelin, kuparin, raudan, mangaanin ja sinkin pitoisuuksissa: pensasmustikassa oli selkeästi enemmän rautaa, sinkkiä ja mangaania kuin mansikassa. Mahmoodin ym. tutkimuksessa (2012) mansikan, kirsikan ja mulperien kivennäis- ja hivenainepitoisuuksissa havaittiin tilastollisesti merkitseviä eroja sekä kasvilajien että kypsyyssasteiden välillä. Hegedusin tutkimusryhmä (2008) vertaili neljän eri marjalajin (mansikka, vadelma, punaherukka ja mustaherukka) sekä omenan alkuainekoostumuksia todeten, että marjat sisälsivät tilastollisesti merkitsevästi enemmän useimpia määritettyjä

alkuaineita verrattuna omena tuorepainoa kohden. Tutkimuksessa käytettiin kolmea lajiketta jokaisesta kasvilajista ja myös saman lajin eri lajikkeiden välillä havaittiin vaihtelua. Mansikoiden boorin, natriumin ja fosforin pitoisuudet erosivat tilastollisesti merkitsevästi niiden pitoisuuksista omenoissa, vadelmissa, punaherukoissa ja mustaherukoissa. Kaliumin ja natriumin välinen suhde (K/Na) oli lisäksi matalimmillaan omenoissa ja korkeimmillaan mansikoissa. Wasim ym. (2012) vertasivat saamiaan tuloksia mansikan alkuainepitoisuuksista kirjallisuudesta löytyviin hedelmien (muun muassa omena, aprikoosi, banaani, mango, appelsiini, persikka, päärynä, luumu, granaattiomena ja vesimeloni) vastaaviin todeten, että mansikka sisälsi vertailluista kasvilajeista eniten mangaania ja toiseksi eniten kaliumia. Myös muiden marjalajien ja niistä valmistettujen hillojen kivennäisaineprofiilien välillä on havaittu eroja. Plessin ym. tutkimuksessa (2007) pääteltiin, että genomi oli tärkein kivennäisaineiden pitoisuutta ohjaava tekijä karhunvatukassa, vadelmassa, punaherukassa ja mustaherukassa, ja että nämä marjat ja niistä tehdyt hillot voidaan erottaa toisistaan hyödyntäen määritettyjen metallien, antosyaanien ja polyfenolien pitoisuuksia sekä kemometrisia menetelmiä. Kyseisessä tutkimuksessa eri kasvisukuihin *Rubus* (karhunvatukka ja vadelma) ja *Ribes* (punaherukka ja mustaherukka) kuuluneista marjoista valmistetut hillot pystyttiin erottamaan toisistaan kivennäisaineprofiilien perusteella hyödyntäen pääkomponenttianalyysiä, mutta samaan sukuun kuuluvat eri kasvilajit erottuivat toisistaan vain osittain.

Myös eri kasvilajien kivennäisaineprofiilien vertaileissa tutkimuksissa on määritetty eri alkuaineita sisältäviä kivennäisaineprofiileja ja käytetty erilaisia mansikkalajikkeita (taulukko 5). Mansikan kivennäisaineprofiili eroaa esimerkiksi pensasmustikan, omenan, vadelman, punaherukan, mustaherukan ja päärynän profiileista tiettyjen alkuaineiden osalta (Hegedüs ym. 2008; Wasim ym. 2012; Hua ym. 2014). Perintötekijät ohjaavat kivennäisaineiden kertymistä marjoihin, mutta samaan kasvisukuun kuuluvien lajien profiilit eivät välttämättä erotu aivan täysin toisistaan (Plessi ym. 2007).

Taulukko 5. Yhteenveto keskeisimmistä eri kasvilajien kivennäisaineprofiilien vertailua sisältäneissä tutkimuksissa määritetyistä alkuaineista ja tutkituista mansikkalajikkeista.

Viite	Määritetyt alkuaineet	Mansikkalajikkeet
Hegedüs ym. 2008	Al, As, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, P, Pb, Zn	Elsanta, Honeoye, Onebor
Hua ym. 2014	B, Na, Mg, Al, P, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Ge, As, Se, Cd, Pb	–
Mahmood ym. 2012	K, Na, P, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Al, Cu	Korona, Tufts
Plessi ym. 2007	P, Zn, Fe, Mg, Mn, Ca, Na, K	–
Wasim ym. 2012	As, Ba, Br, Ca, Cd, Ce, Cl, Co, Cr, Cs, Fe, Hf, K, La, Mg, Mn, Na, Pb, Rb, Ru, Sb, Sc, Sm, Sr, Th, Zn	–

– Merkintä ”–” tarkoittaa, että lajiketietoja ei ole kerrottu kyseisessä tutkimuksessa.

2.6 Kivennäisaineprofiilin määrittäminen ja hyödyntäminen

2.6.1 Kivennäisaineiden merkitys elintarvikkeissa

Elintarvikkeissa esiintyy oppikirjatiedon mukaan ainakin kahtakymmentäviittä elämälle välttämätöntä alkuainetta (Miller 2008). Eliöihin voi kertyä ympäristöstä myös muita kuin välttämättömiä alkuaineita, minkä lisäksi elintarvikkeisiin voi päätyä alkuaineita kontaminaationa tai niitä voidaan lisätä tarkoituksella. Kivennäis- ja hivenaineet jaotellaan pitoisuutensa mukaan: esimerkiksi kalsium (Ca), fosfori (P), magnesium (Mg) ja kalium (K) ovat kivennäisaineita, mutta rauta (Fe), sinkki (Zn) ja kupari (Cu) ovat hivenaineita. Kivennäis- ja hivenaineet voivat esiintyä elintarvikkeissa monissa erilaisissa muodoissa eli spesiaatioissa, joista vesiliukoiset muodot ovat yleensä paremmin biosaatavia kuin veteen liukenemattomat muodot. Eläinperäisten elintarvikkeiden kivennäis- ja hivenainekoostumus vaihtelee vähemmän kuin kasviperäisten elintarvikkeiden: eläimen ruokavalion muutoksilla on yleensä homeostaattisen säätelyn vuoksi vain vähän vaikutusta esimerkiksi lihan kivennäis- ja hivenainekoostumukseen. Myöskään kasveille ja ihmisille välttämättömien kivennäis- ja hivenaineiden listat eivät ole samanlaiset: esimerkiksi seleeni ja jodi ovat välttämättömiä ihmisille, mutta eivät kasveille. Suomessa on tutkittu kasviperäisten elintarvikkeiden kivennäisainekoostumuksen muutoksia 30 vuoden aikana (Ekholm ym. 2007). Pääasiassa kivennäisaineiden pitoisuus on säilynyt melko muuttumattomana 30 vuoden ajan, mutta hivenaineiden pitoisuus viljoissa ja kasviksissa on pienentynyt lukuun ottamatta seleeniä. Keskimääräinen päivittäinen kivennäis- ja hivenaineiden saanti on laskenut Suomessa aikavälillä 1980–2007, vaikka kasvien kulutus on noussut.

Kivennäisainekoostumuksella ja -pitoisuudella elintarvikkeessa on ravitsemuksellista merkitystä. Välttämättömien kivennäis- ja hivenaineiden liian pienestä saannista seuraa puutosoireita ja liian suuri saanti voi johtaa myrkytysoireisiin (Miller 2008). Useimpien kivennäis- ja hivenaineiden turvallisen ja riittävän saannin alue ihmisillä on melko laaja, koska niiden pitoisuutta elimistössä säädellään homeostaattisesti. Pelkkä kivennäis- tai hivenaineen pitoisuus elintarvikkeessa kuitenkin ei tee siitä vielä hyvää kivennäis- tai hivenaineen lähdeä, sillä alkuaineiden biosaatavuus elimistössä voi vaihdella välillä <1–90 %. Mikroravintoaineiden, esimerkiksi raudan, jodin, seleenin ja sinkin, puute on yksi aliravitsemuksen muodoista. Kivennäis- ja hivenainekoostumuksella on merkitystä myös elintarviketurvallisuuden kannalta. Kaikki metallit voivat aiheuttaa myrkytysoireita suurilla altistustasoilla, mutta raskasmetallien, esimerkiksi elohopean (Hg), lyijyn (Pb) ja kadmiumin (Cd), katsotaan olevan merkittävä riski elintarvikkeissa. Raskasmetalleja voi

päätyä kasveihin juurien kautta maaperästä tai ilmasta niiden pinnalle viljelyn ja prosessoinnin aikana.

2.6.2 Määrittämenetelmät alkuaineanalytiikassa

Elintarvikkeiden kivennäis- ja hivenainepitoisuuksia voidaan määrittää monilla eri menetelmillä. Tuhkan määrä (g) orgaanisen aineksen polton jälkeen kuvaa kivennäis- ja hivenaineiden kokonaispitoisuutta elintarvikkeessa (Miller 2008). Yksittäisiä kivennäis- tai hivenaineita voidaan määrittää tuhkaamalla näyte (märkä- tai kuivapolttamalla), liuottamalla näyte (yleensä happoon) ja mittaamalla liuoksen kivennäis- ja hivenainepitoisuus. Atomiabsorptiospektroskopiolla (AAS) voidaan määrittää kivennäis- ja hivenaineita yksitellen, mutta induktiivisesti kytkettyyn plasmaan perustuvalla spektrometrialla (esimerkiksi ICP–OES tai ICP–MS) voidaan määrittää useita alkuaineita kerrallaan. Alkuaineita voidaan määrittää myös radiokemiallisilla menetelmillä, joita on käytetty esimerkiksi Wasimin ym. (2012) tutkimuksessa mansikoiden alkuaine-koostumuksen määrittämiseen yhdessä AAS-menetelmän kanssa.

Tämän tutkielman kokeellisessa osassa kivennäis- ja hivenaineprofiili määritettiin induktiivisesti kytkettyyn plasmaan ja optiseen emissiospektrometriaan (ICP–OES) perustuvalla menetelmällä. ICP–OES-menetelmässä nestemäiseksi esikäsitelty näyte sumutetaan radiotaajuuksilla aikaansaatuun argonplasmaan, jonka korkeassa lämpötilassa (6 000–7 000 K) liuotin haihtuu ja alkuaineet ensin atomisoituvat ja sitten virittyvät (Hou ja Jones 2000). Induktiivisesti kytketty plasma ICP (engl. Inductively Coupled Plasma) on siis menetelmän ionisaatiolähde. ICP–OES-tekniikka perustuu fotonien emissioon, jota mitataan joko aksiaalisessa tai radiaalisessa konfiguraatiossa. Detektorina toimiva optinen emissiospektrometri OES (engl. Optical Emission Spectrometer) kerää säteilystä peilien ja linssien avulla valitut emissioviiat, signaali muutetaan fotodetektorilla sähköiseksi ja spektrometrin tulokset siirtyvät tietokoneelle. Emission aallonpituus riippuu alkuaineesta, josta se on lähtöisin. Emission voimakkuus eli fotonien määrä on puolestaan suoraan verrannollinen alkuaineen määrään näytteessä. ICP–OES-menetelmä soveltuu tunnettuna rutiinianalytiikkamenetelmänä hyvin elintarvikeväärengösten tutkimisessa tarvittavan kivennäisaineprofiilin määrittämiseen. Menetelmää käytetään jo valmiiksi monissa elintarvikelaboratorioissa ja sen tiedetään olevan toiminnaltaan luotettava elintarvike-analytiikassa.

2.6.3 Kivennäisaineprofiilin hyödyntäminen elintarvikkeiden väärentämisen ja aitouden osoittamisessa

Kivennäisaineanalytiikkaa voidaan hyödyntää elintarvikeväärennösten paljastamisessa. Elintarvikkeiden kivennäisaineprofiileja on hyödynnetty aiemmin väärennösten tunnistamisessa ainakin kasvupaikan määrittämiseen: esimerkiksi Gonzalvezin ym. tutkimusryhmä on julkaissut katsausartikkelin EU:n elintarvikkeiden nimisuoja-järjestelmään kuuluvien suojattua alkuperäisnimitystä (PDO, engl. Protected Designation of Origin) käyttävien elintarvikkeiden erottamisesta vuonna 2009. Aiempaa tutkimusta kivennäisaineprofiilien hyödyntämisestä on tehty hyvin erilaisten elintarvikematriisien alkuperän, kuten esimerkiksi viinin (Baxter ym. 1997; Castiñeira ym. 2004; Thiel ym. 2004; Shen ym. 2013; Cugnetto ym. 2014), riisin (González ym. 2011; Cheajesadagul ym. 2013), kahviuoman (Oliveira ym. 2015), hunajan (Chudzinska ja Baralkiewicz 2010), simpukoiden (Costas-Rodríguez ym. 2010), punasipulin (Furia ym. 2011), aasinmaidon (Potortì ym. 2013), kirsikoiden (Matos-Reyes ym. 2013), artisokan (Mir-Marqués ym. 2016), mansikan, pensasmustikan ja päärynän (Perez ym. 2006), anisjuomien (Jurado ym. 2005) ja varhaisperunan (Zampella ym. 2011) aitouden osoittamiseksi. Lisäksi esimerkiksi luomukahvin viljelytavan osoittamista kivennäisaineprofiilin perusteella on tutkittu (Barbosa ym. 2014). Erilaisten elintarvikkeiden kivennäisaineprofiilien käyttöä niiden alkuperän selvittämisessä on siis tutkittu laajasti, mutta eri elintarvikkeiden erottamista toisistaan tai muulla elintarvikkeella jatkettun elintarvikeväärennöksen paljastamista kivennäisaineprofiilin perusteella ei ilmeisesti ole tutkittu.

2.6.4 Tilastolliset monimuuttujamenetelmät kivennäisaineprofiilien erojen tulkinnassa

Tilastolliset menetelmät voidaan jakaa yhden muuttujan menetelmiin (engl. univariate), kaksiulotteisiin menetelmiin (engl. bivariate) ja monimuuttujamenetelmiin (engl. multivariate) (Nunes ym. 2015). Kemometrialla pyritään mallintamaan analyysituloksia matemaattisesti ja tilastollisesti, jotta niistä saataisiin eristettyä kemiallisesti mielekäästä tietoa (Vandeginste 2013). Elintarvikkeiden ”sormenjälkitutkimuksien” (engl. food fingerprinting studies) käyttöä rutiinianalytiikassa ja valvonnassa rajoittaa validointistrategioiden puute, vaikka niistä odotetaan tulevan tärkeä työkalu aitoustutkimuksiin (Riedl ym. 2015). Sormenjälkitutkimuksilla tarkoitetaan elintarvikkeiden kemiallisen profiilin analysointia (engl. non-targeted chemical analysis) ja sen tarkastelua tilastollisilla monimuuttujamenetelmillä. Elintarvikkeiden aitoustutkimuksissa saatetaan tarvita niiden monimutkaisuuden vuoksi useita tilastollisia malleja yhden monimuuttujamenetelmän käytön sijaan. Menetelmät on jaettu ryhmittely-

menetelmiin ja luokittelumenetelmiin: ryhmittelymenetelmät jakavat olemassa olevaa tulosaineistoa muuttujien perusteella ryhmiin, mutta luokittelumenetelmillä voidaan testata, kuuluuko näyte johonkin ennalta määriteltyyn luokkaan vai ei. Monimuuttujamenetelmien suurimmat ongelmat liittyvät näytteiden pieneen määrään ja muuttujien suureen määrään eli pieneen näytteiden ja muuttujien suhteeseen (Szymańska ym. 2015). Usein oletetaan, että näytteiden määrän pitäisi olla vähintään yhtä suuri kuin mitattavien muuttujien määrän, ja usein muuttujien määrää pitää vähentää tilastomallin optimoimiseksi. Seuraavissa luvuissa käsitellään yleisimpiä aitoustutkimuksissa käytettyjä monimuuttujamenetelmiä katsausartikkeleiden perusteella ja annetaan esimerkkejä tutkimuksista, joissa kyseistä menetelmää on käytetty.

Ryhmittelymenetelmät

Pääkomponenttianalyysi PCA (Principal Component Analysis)

Pääkomponenttianalyysillä (PCA) voidaan tiivistää muuttujajoukon informaatiota pienemmäksi määräksi muuttujia, joita kutsutaan pääkomponenteiksi (PC) (Gleason ym. 2015). Ensimmäinen pääkomponentti (PC1) on suurimman mahdollisen määrän kokonaisvaihtelusta selittävä yhdistelmä, eli se on lähtömuuttujajoukon parhaiten tiivistävä lineaarikombinaatio (engl. linear combination). Toinen pääkomponentti (PC2) selittää mahdollisimman suuren määrän lähtömuuttujien jäljelle jäävästä vaihtelusta, jota ensimmäinen pääkomponentti ei selitä. Loput pääkomponentit selittävät yhä pienemmän osan jäljelle jäävästä vaihtelusta. Pääkomponenttianalyysi on yksi käytetyimmistä kemometrisistä menetelmistä elintarviketutkimuksessa (Nunes ym. 2015). Pääkomponenttianalyysi keskittyy tulosaineiston maksimivaihteluun (Esslinger ym. 2014). Elintarvikkeiden koostumuksen lisäksi maksimivaihteluun voi vaikuttaa esimerkiksi näytteenkäsittely tai analyysimenetelmä, mikä voi vaikeuttaa tulosten tulkintaa tai johtaa väärään ryhmittelyyn. Kemiallisen analytiikan laadunvarmistusmenetelmien käyttö on siis tärkeää, jottei analyysitulosten vaihtelu olisi merkitsevä tekijä pääkomponenttianalyysissä.

Yleensä näytteet ryhmitellään ominaisuuksiensa perusteella PCA-kuvaan, joka voi olla kaksi- tai kolmiulotteisessa muodossa. Kuvan akseleiden tulisi olla vertailukelpoiset keskenään, jotta näytteiden voitaisiin sanoa olevan samanlaisia paikkansa perusteella silmämääräisesti tarkasteltuna. Pääkomponenttien selittämä vaihtelu on myös otettava huomioon kuvien tulkinnassa: esimerkiksi kaksiulotteisessa kuvassa x -akselilla oleva ensimmäinen pääkomponentti voi selittää huomattavasti suuremman osan vaihtelusta kuin y -akselilla oleva toinen pääkomponentti. Pääkomponentteihin 1 ja 2 tiivistyy siis yleensä eri määrät aineiston kokonaisvaihtelusta, mikä pitää ottaa huomioon tulkittaessa kuvaa.

Esimerkiksi tilanteessa, jossa ensimmäisen pääkomponentin selitysaste olisi 80 % ja toisen pääkomponentin 10 %, olisi näytteiden etäisyys x -akselilla tulkinnan kannalta paljon merkityksellisempi kuin niiden etäisyys y -akselilla. Myös selitetyn vaihtelun yhteissummalla on merkitystä kuvien tulkinnan kannalta: kuvien tulkinnan epävarmuus on suurta jos vaihtelusta selittyy pääkomponenteilla 1 ja 2 alle 70–80 % (CAMO Software AS 2006).

Pääkomponenttianalyysiä on käytetty tulosten tulkinnassa esimerkiksi Cugnetton tutkimusryhmän (2014) viinin kasvupaikan erottamista kivennäisaineprofiilin perusteella käsittelevässä tutkimuksessa sekä Potortin tutkimusryhmän (2013) aasinmaidon alkuperän erottamista kivennäisaineprofiilin perusteella käsittelevässä tutkimuksessa. Khanin tutkimusryhmä (2010) vertasi analysoimiensa pakistanilaisten mansikoiden kivennäisaineprofiilia kirjallisuudesta löytämiinsä suomalaisten ja amerikkalaisien mansikoiden kivennäisaineprofiileihin: mansikat saatiin erotettua pääkomponenttianalyysillä kasvumaansa mukaan.

Klusterianalyysi CA (Cluster Analysis)

Klusterianalyysi (CA) koostuu erilaisista menetelmistä, joilla voidaan luokitella joukkoa klustereiksi, kategorioiksi tai ryhmiksi (Gleason ym. 2015). Tulokset esitetään yleensä dendrogrammina eli klusterointipuuna (Nunes ym. 2015). Klusteriin kuuluvat osat muistuttavat toisiaan, mutta eroavat toisten klustereiden osista (Gleason ym. 2015). Klusterianalyysiä käytetään yleensä, kun halutaan tunnistaa erillisiä ryhmiä isommasta populaatiosta. Klusterianalyysille ei kuitenkaan ole vain yhtä oikeaa tekotapaa, joten erilaiset menetelmät voivat johtaa erilaisiin luokitteluihin. Käytetyin klusterianalyysin muoto elintarviketutkimuksessa on hierarkkinen lähestymistapa HCA (engl. hierarchical approach) (Nunes ym. 2015). Klusterianalyysiä on käytetty yhdessä pääkomponenttianalyysin kanssa esimerkiksi hunajan (Chudzinska ja Baralkiewicz 2010) sekä mansikoiden (Khan ym. 2010) alkuperän tutkimiseen.

Luokittelumenetelmät

Luokittelevat monimuuttujamenetelmät voidaan jakaa kahteen ryhmään: luokkamallinnusmenetelmiin (engl. class-modeling methods) ja diskriminanttiluokittelumenetelmiin (engl. discriminant-classification techniques) (Oliveri ja Downey 2012). Luokkamallin rakentamiseksi pitää ensin kerätä ryhmä luokkaan kuuluvia näytteitä (Vandeginste 2013). Luokittelun onnistumisprosenttia ”%CC” (engl. % Correct Classification) voidaan käyttää mallien toiminnan arvioimisessa (Riedl ym. 2015). Luokittelumenetelmien totuudenmukaisuutta (engl. trueness) on yleensä hankalaa validoida, sillä aitoustutkimuksiin voi olla hankalaa saada varmasti autenttisia näytteitä. Luokittelumallien valmistus rutiinianalytiikkakäyttöön vaatii paljon stabiiliustarkistuksia. Rutiinianalytiikkaa varten etenkin mallin pitkäaikaisstabiilius tulisi tarkistaa: muutoksia voi aiheutua laitteistosta tai elintarvikematriisista (esimerkiksi kausivaihtelu tai prosessien muutokset). Käytännössä mallia luotaessa luokkaan kuuluvista näytteistä pitää erottaa mallinnussarja ja testisarja: testaukseen käytettävä osanäyte voidaan valita sattumanvaraisesti tai käyttäen lähdekirjallisuudesta löytyviä menetelmiä ottaa osanäyte isommasta näytteestä (Vandeginste 2013). Luokittelevia monimuuttujamenetelmiä on useita erilaisia: esimerkiksi lajikkeen, kasvuvuoden, kasvupaikan ja pakastuksen vaikutusta mansikan haihtuvien yhdisteiden muodostamaan profiiliin (SPME–GC–MS) on tutkittu aiemmin itseorganisoituvien karttojen (SOM, engl. Self-Organizing Map) eli Kohosen karttojen avulla, mikä on neuroverkkomalli (ANN, engl. Artificial Neural Network) (Boishebert ym. 2006).

PLS–DA (Partial Least Squares Discriminant Analysis)

PLS–DA on diskriminanttiluokittelumenetelmä, jota käytetään yleensä, kun halutaan tietää kuuluuko näyte luokkaan A vai B (Riedl ym. 2015). Tässä menetelmässä molemmat luokat pitää määritellä etukäteen edustavalla näytejoukolla. Luokkaan kuulumattomat näytteet pitää siis määritellä kattavasti ja edustavasti, sillä niillä on vaikutusta mallin päätöksentekoprosessiin (Oliveri ja Downey 2012). Aitoustutkimuksissa pitäisi siis kerätä edustava otos väärennöksiä, mikä ei ole käytännössä mahdollista. Epäedustava otos väärennettyjä näytteitä johtaa PLS–DA-mallin vääristymiseen, sillä lopputulos riippuu paljolti väärennöksiä edustavasta otoksesta. Diskriminanttiluokittelumenetelmiä voidaan siis käyttää vain, kun tutkimuksen tavoitteena on erotella tietty määrä ennalta määriteltyjä luokkia toisistaan, mikä ei ole kovin yleistä aitoustutkimuksissa. Siitä huolimatta luokittelumenetelmiä on käytetty elintarviketutkimuksissa useammin kuin luokkamallinnusmenetelmiä, koska niitä on yleisesti saatavilla kemometrisissä ohjelmistoissa. PLS–DA-menetelmää on käytetty esimerkiksi selvittäessä varhaisperunan alkuperää

kivennäisaineiden perusteella (Zampella ym. 2011), selvittäessä artisokkien alkuperää kivennäisaineprofiilien perusteella (Mir-Marqués ym. 2016) sekä erotettaessa riisiviinejä tuotantopaikan mukaan (Shen ym. 2013). Akhatoun ja Recamalesin tutkimuksessa (2013) PLS–DA-menetelmää käytettiin mansikoiden lajikkeiden sekä viljelymenetelmän (tavanomainen tai vesiviljelty) erottelemiseen monien eri muuttujien avulla. Viljelytapa vaikutti mansikkalajikkeiden erottumiseen, mutta toisaalta myös tutkitut viljelymenetelmät voitiin erottaa toisistaan (Akhatou ja Recamales 2013).

SIMCA (Soft Independent Modelling of Class Analogies)

SIMCA on yksi tärkeimmistä luokkamallinnusmenetelmistä (Oliveri ja Downey 2012). SIMCA on yhden luokan luokittelumenetelmä, jota käytettäessä vain tutkittava luokka pitää määritellä etukäteen, jotta voidaan tutkia, kuuluvatko uudet näytteet samaan luokkaan (Riedl ym. 2015). Luokkamallinnusta voidaan siis käyttää selvittäessä kuuluvatko näytteet yhteen tiettyyn luokkaan, mikä on yleistä elintarvikkeiden aitoustutkimuksissa (Oliveri ja Downey 2012). Luokkamallinnusmenetelmillä voidaan toisin sanoen kuvailla yhtä näyteluokkaa kerrallaan ja testata tuntemattomien näytteiden yhteensopivuutta mallin kanssa. Diskriminanttiluokittelumenetelmistä (esim. PLS–DA) poiketen luokkamallinnusmenetelmissä (esim. SIMCA) tarvitaan siis vain yksi edustava näyteotos, eikä luokan ulkopuolelle jääviä näytteitä tarvitse erikseen määritellä. Väärennöstutkimuksien kannalta tämä tarkoittaa, että vain aidoista näytteistä tarvitaan kattava otos ja mahdollinen väärennös voidaan testata aitojen näytteiden otosta vasten peilaten.

SIMCA:a voi myös tarvittaessa käyttää mallintamalla siihen kaksi tai useampia luokkia: esimerkiksi Lópezin tutkimusryhmä (2014) vertasi kahta mallinnustapaa hasselpähkinätahnän väärentämisen toteamisessa NIR-spektrien perusteella – toisessa tavassa (engl. *untargeted modelling*) mallinnuksessa käytettiin vain aitoa hasselpähkinätahnaa ja toisessa mallinnustavassa (engl. *targeted modelling*) käytettiin sekä aitoa hasselpähkinätahnaa että 7 % mantelitahnaa sisältävää väärennettyä hasselpähkinätahnaa. Molemmilla mallinnustavoilla saatiin tyydyttäviä tuloksia testattaessa niitä aidolla hasselpähkinätahnalla ja mantelilla tai kikkerneellä väärennetyllä hasselpähkinätahnalla, eli molemmilla SIMCA-malleilla voitiin luokitella aidot ja väärennetyt hasselpähkinätahnat tyydyttävästi erilleen. Loppupäätelmänä todettiin, että toinen tutkittu mallinnustapa (engl. *untargeted*) soveltuu tutkimuksiin, joissa halutaan vain tietää onko näyte aito vai ei, mutta toinen mallinnustapa (engl. *targeted*) soveltuu tapauksiin, joissa halutaan tietoa yleisistä tai tunnetuista väärennöksistä, eli esimerkiksi hasselpähkinätahnän tapauksessa onko siihen sekoitettu mantelia (López ym. 2014).

SIMCA-menetelmää käytettiin myös punasipulin kasvupaikan selvittämisessä kivennäisaineprofiilin perusteella. SIMCA:n avulla punasipulinäytteet saatiin luokiteltua 95,5 %:n ennustustarkkuudella oikeaan maantieteelliseen ryhmään (Furia ym. 2011). Costas-Rodríguezin ym. (2010) tutkimuksessa simpukat saatiin luokiteltua 40 alkuaineen kivennäisaineprofiilin perusteella 100 %:n ennustustarkkuudella eri maantieteelliseltä alueelta peräisin oleviksi, mutta vain 75 %:n ennustustarkkuudella mallin mukaiselta maantieteelliseltä alueelta tuleviksi. Samassa tutkimuksessa molemmat ennustustarkkuudet nousivat 100:iin, kun kivennäisaineprofiiliin otettiin mukaan vain 21 kivennäisainetta johtuen ilmeisesti tilastollisesti vähemmän merkitsevien alkuaineiden aiheuttamasta ”kohinasta” ja sen poistumisesta (Costas-Rodríguez ym. 2010). Juradon tutkimusryhmä (2005) käytti SIMCA-menetelmää anisjuomien alkuperän selvittämiseen niiden alkuainepitoisuuksien (Zn, B, Fe, Mg, Ca, Na ja Si) perusteella: yhtäkään mallille vierasta juomanäytettä ($n = 38$) ei luokiteltu mallinnuksessa käytettyihin kolmeen luokkaan ($n = 22$, $n = 8$ ja $n = 6$), eli suojattua alkuperänimitystä käyttävät anisjuomat saatiin erotetuksi muista anisjuomista.

2.7 Kirjallisuuskatsauksen yhteenveto

Mansikkahillon jatkaminen muilla kasviraaka-aineilla ilmoittamatta siitä pakkausmerkinnöissä on lainvastaista. Mansikkahilloväärengösten toteamiseen ei kuitenkaan ole kehitetty vakiintunutta menetelmää. Valtaosa mansikkahillon kivennäis- ja hivenainepitoisuudesta on oletettavasti peräisin mansikoista, koska hillon pääasiallisia raaka-aineita ovat mansikat, sokeri ja vesi. Hillon muut valmistus- ja lisäaineet voivat kuitenkin laimentaa mansikoiden kivennäisainekoostumusta tai joissain tapauksissa myös vaikuttaa siihen.

Raaka-aineväärengösten paljastamisen kannalta on tärkeää, että mansikoiden välinen kivennäisaineprofiilien vaihtelu ei ole suurempaa kuin eri lajien välinen vaihtelu. Mansikan kivennäisaineprofiiliin vaihtelua aiheuttavat lajike, ympäristötekijät sekä prosessointi. Vaikutuksien suunnasta ja määrästä ei voi tehdä luotettavia johtopäätöksiä saatavilla olevien tutkimusten perusteella, sillä niissä on määritetty eri alkuainekoostumuksia, käytetty eri lajikkeita ja mansikoita on kasvatettu erilaisissa ympäristöissä. Lajikkeen aiheuttaman vaihtelun on todettu olevan suurempaa kuin ympäristötekijöiden aiheuttaman, mutta toisaalta täysin eri alkuperämaista olleiden mansikoiden kohdalla kasvu- paikan on todettu aiheuttaneen suurempaa vaihtelua kuin lajikkeen (Perez ym. 2006; Singh ym. 2010). Osa mansikkaan kertyvistä alkuaineista riippuu ilmeisesti vahvemmin ympäristön vaikutuksesta ja osaa puolestaan säädellään tarkemmin homeostaattisesti. Mansikan kivennäisainepitoisuuksien vaihtelu on melko pientä juuri homeostaattisen säätelyn vuoksi (Hakala ym. 2003).

Toisaalta raaka-aineväärengösten osoittamisen kannalta on tärkeää, että lajien välinen kivennäisaineprofiilien ero on riittävän suuri. Mansikan ja muiden kasvilajien kivennäisainekoostumuksissa on todettu eroja ainakin boorin, natriumin, fosforin, mangaanin, kaliumin, raudan ja sinkin pitoisuuksissa (Hegedüs ym; 2008, Wasim ym. 2012; Hua ym. 2014). Kivennäisaineiden kertymistä säädellään homeostaattisesti myös muissa marjoissa ja hedelmissä. Toisaalta perimän vaikutus tarkoittaa myös sitä, että sukulaislajit eivät välttämättä eroa toisistaan kivennäisaineprofiiliensa perusteella (Plessi ym. 2007).

Kivennäis- ja hivenaineprofiilin käyttö elintarvikkeiden väärengösten tai aitouden osoittamisessa on mahdollista tilastollisia monimuuttujamenetelmiä hyödyntämällä. Mallinnusmenetelmiä varten kerätyn mansikka-aineiston riittävä kattavuus on olennaista, jotta esimerkiksi lajikevaihtelu tai kasvuolosuhteet eivät pääse vaikuttamaan tuloksiin.

3 KOKEELLINEN TUTKIMUS

3.1 Tutkielman kokeellisen osan tavoitteet

Tutkimuksen kokeellisen osan päätavoitteena oli tutkia tulosaineiston hyödyntämistä uudella tavalla: voiko määritettyä kivennäisainekoostumusta käyttää mansikkahilloväärennösten toteamiseen? Tavoitteena oli määrittää mansikoiden, mansikkahillojen sekä mansikkahillosta omena-, päärynä- ja kurpitsahillon kanssa sekoitettujen malliväärennösten kivennäisaineprofiilit ICP–OES-menetelmällä ja hyödyntää tuloksia mansikkahilloväärennösten tutkimisessa tilastollisten monimuuttujamenetelmien avulla. Näytteiden kivennäisaineprofiili haluttiin määrittää luotettavasti käyttäen rutiini-analytiikkaan soveltuvaa menetelmää. Hankitun mansikka-aineiston avulla haluttiin luoda malli, jota vasten mansikkahillonäytteitä peilattaisiin väärennösten havaitsemiseksi. Mallin erotuskyky varmistettiin hilloväärennösmallien sekä positiivisten kontrollinäytteiden avulla. Mallia haluttiin lisäksi hyödyntää väärennöksien etsimisessä kaupallisista mansikkahilloista.

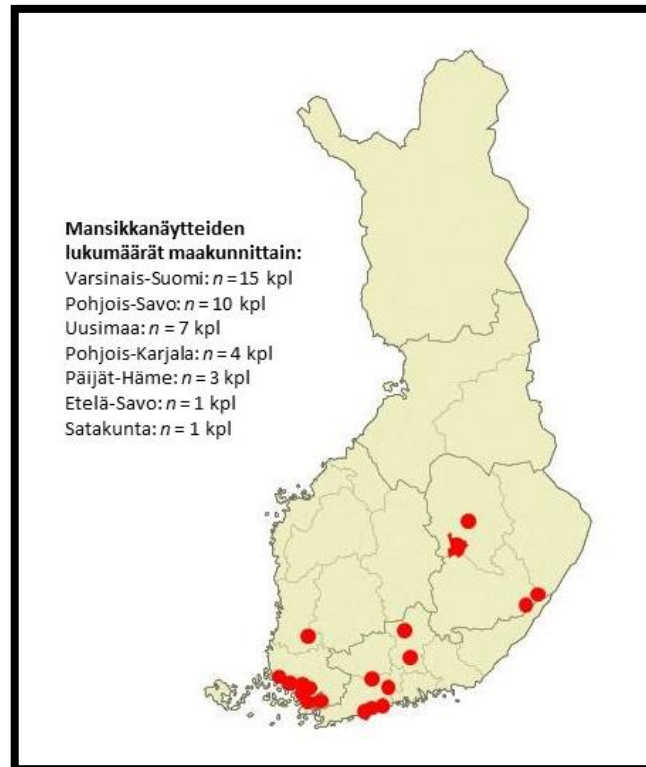
Kivennäisaineprofiilin käyttöön mansikkahillon raaka-aineväärennösten toteamisessa liittyi useita osatavoitteita. Mansikkahillon kivennäisaineprofiiliin voi kirjallisuuskatsauksen perusteella vaikuttaa esimerkiksi käytetty mansikkalajike ja sen kasvupaikka sekä hillon prosessointi, joten näiden vaikutusta mansikan kivennäisaineprofiiliin tarkasteltiin. Malliväärennösten avulla selvitettiin omenan, päärynän ja kurpitsan sekoittamisen vaikutusta mansikkahillon kivennäisaineprofiiliin sekä eri seossuhteiden erottumista. Menetelmän rajoja eri kasvilajien kivennäisaineprofiilien erottamisessa tutkittiin lisäksi pienimuotoisesti muiden marja-, hedelmä- ja vihannesnäytteiden avulla. Tavoitteena oli siis luoda mansikkahilloja kivennäisaineprofiilin perusteella luokitteleva tilastollinen malli ja arvioida sen toimintamahdollisuuksia väärennösten osoittamisessa. Mallilla myös etsittiin kaupallisista tuotteista väärennöksiä.

3.2 Materiaalit ja menetelmät

3.2.1 Näytemateriaalit

Näytemateriaaleina oli tuoreita mansikoita, kaupallisia mansikkahilloja, muutamia muita tuoreita marjoja, hedelmiä tai kasviksia sekä Tullilaboratoriossa tarkoituksella valmistettuja mansikkahilloväärennöksiä ja aitoa mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsahilloa. Tuoreet mansikat ostettiin tori- ja vähittäiskaupasta kesällä 2015 (aikavälillä 18.6.–1.9.2015). Tavoitteena oli kerätä mahdollisimman kattava otos erilaisia mansikkalajikkeita erilaisilta kasvupaikoilta ja mahdollisimman pitkältä aikaväliltä, jotta lajikkeiden ja kasvupaikan vaikutus kivennäisaineprofiiliin voitaisiin ottaa huomioon. Mansikkänäytteiden tarkat tiedot on kerätty liitteeseen 1: mansikkänäytteitä oli

tutkimuksessa yhteensä 51 kpl, joiden joukossa oli 14 eri lajiketta viidestä eri maasta ja Suomesta 19 eri paikkakunnalta. Mansikoiden lajike- ja kasvupaikkatiedot saatiin myyjältä kysymällä. Mansikkanäytteistä 41 oli suomalaisia ja loput 10 näytettä olivat Ruotsista ($n = 5$), Hollannista ($n = 2$), Virosta ($n = 2$) ja Saksasta ($n = 1$). Suomalaiset näytteet olivat seitsemän eri maakunnan alueelta (kuva 1). Tutkimuksen lajikkeet olivat Polka ($n = 15$), Honeoye ($n = 8$), Sonata ($n = 7$), Rumba ($n = 4$), Hella ($n = 3$), Malviina ($n = 3$), Flair ($n = 2$), Kimberly ($n = 2$), Elsanta ($n = 1$), Wendy ($n = 1$), Korona ($n = 1$), Salsa ($n = 1$), Elianny ($n = 1$) ja Florence ($n = 1$). Yhden näytteen lajiketta ei ole tiedossa.



Kuva 1. Mansikkanäytteiden ilmoitetut kasvupaikkakunnat Suomessa (19 kpl) merkittynä palloilla sekä näytteiden lukumäärät maakunnittain.

Mansikkahilloja hankittiin 17 kappaleen otos vähittäiskaupasta (liite 2, taulukko 1) sekä saatiin Tullilaboratoriosta 16 kpl Harmasen (2016) aiempaa maisterintutkielmaa varten hankittuja kaupallisia hillonäytteitä (liite 2, taulukko 2). Ostetuista ja Tullilaboratoriosta saaduista hillonäytteistä 8 kpl oli keskenään samaa tuotemerkkiä, mutta eri erää. Kaupalliset mansikkahillot on koodattu tulososioon satunnaisessa järjestyksessä esimerkiksi merkinnällä ”hillo 1” tai ”hillo A” eikä tuotemerkejä ole tarkoituksellisesti tuotu esille. Lisäksi Tullilaboratoriosta saatiin Harmasen (2016) maisterintutkielman yhteydessä itse valmistettuja aitoja hilloja (mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsahilloa) sekä niistä sekoitussuhteilla 5 %, 10 %, 20 % ja 50 % valmistettuja malliväärennöksiä (liite 3). Tullilaboratoriossa valmistetuista hilloista on käytetty nimityksiä ”puhdashillo” ja ”hilloseos”, jotta kävisi ilmi, ettei kyse ole kaupallisista hillonäytteistä. Lisäksi hankittiin

10 kpl muita kasvilajeja kuin mansikkaa (liite 4). Näiden näytteiden tarkoituksena oli toimia positiivisena kontrollina tilastomallin testaamisessa, eli olla materiaalia, jonka kivennäisaineprofiili ei ole sama kuin mansikan.

3.2.2 Vertailumateriaalit

Menetelmän laadunvarmistukseen käytettiin kahta kaupallista vertailumateriaalia ja kahta laboratorion sisäistä vertailunäytettä. Kaupalliset vertailumateriaalit olivat Yhdysvaltojen kansallisen standardoinnin ja teknologian laitoksen (NIST, engl. National Institute of Standards and Technology) tomaatinlehtivertailumateriaali NIST 1573A ”Tomato Leaves” ja vehnä jauhovertailumateriaali NIST 1567A ”Wheat Flour”. Laboratorion sisäiset vertailunäytteet olivat Koivistoisen (1980) julkaisussa esiintyvät jauho- ja viherrehunäytteet (”Flour control sample” ja ”Green feed meal control sample”), joita on käytetty Helsingin yliopiston elintarvike- ja ympäristötieteiden laitoksen alkuaine-analyysien laadunvarmistuksessa yli 30 vuotta. Käytettyjen vertailumateriaalien varmennetut alkuainemäärät on koottu taulukkoon 6.

Taulukko 6. Kaupallisten ja laboratorion sisäisten vertailumateriaalien vertailuarvot (Varo ym. 1980; NIST 1988; NIST 1995).

Alkuaine	Kaupalliset vertailunäytteet		Laboratorion sisäiset vertailunäytteet	
	NIST1573A Vertailuarvo mg/kg	NIST1567A Vertailuarvo mg/kg	Jauho 1 Vertailuarvo mg/kg	Viherjauhe Vertailuarvo mg/kg
Alumiini	598 ± 12	5,7 ± 1,3	8,4 ± 2,49	174 ± 14
Boori	33,3 ± 0,7	–	0,69 ± 0,13	7,5 ± 0,25
Kalsium	50 500 ± 900	191 ± 4	291 ± 13	7 140 ± 520
Kadmium	1,52 ± 0,04	0,026 ± 0,002	0,06 ± 0,005	0,082 ± 0,0085
Kupari	4,70 ± 0,14	2,1 ± 0,2	4,8 ± 0,39	7,7 ± 0,65
Rauta	368 ± 7	14,1 ± 0,5	51 ± 5,2	188 ± 11,3
Kalium	27 000 ± 500	1 330 ± 30	3 600 ± 290	24 800 ± 810
Magnesium	12 000	400 ± 20	1 180 ± 69	1 840 ± 56
Mangaani	246 ± 8	9,4 ± 0,9	31 ± 2,5	67 ± 2,0
Molybdeeni	0,46	0,48 ± 0,03	<0,2	0,4 ± 0,09
Fosfori	2 160 ± 40	1 340 ± 60	3 610 ± 81	3 390 ± 87
Lyijy	–	<0,020	<0,05	1,25 ± 0,43
Rikki	9 600	1 650 ± 20	1 890 ± 64	2 560 ± 62
Pii	–	–	45 ± 5,1	5 400 ± 127
Sinkki	30,9 ± 0,7	11,6 ± 0,4	35,0 ± 2,09	36,6 ± 0,97

– Merkitä ”–” tarkoittaa, että arvoa ei ole määritelty kirjallisuudessa.

3.2.3 Esikäsittelymenetelmät

Näytteet esikäsiteltiin pakastamalla, kuivaamalla ja jauhamalla, koska käytetyn menetelmän määrittelyt tehdään homogeenisesta kuiva-aineesta. Tuoreista mansikoista poistettiin kannat ja ne halkaistiin sekä aseteltiin rasioihin halkaisupinta ylöspäin ennen pakkasvarastointia –20 °C:ssa. Hilloista punnittiin 50,0 gramman näyte, joka levitettiin pakastusrasian pohjalle, jotta kuivuminen pääsisi tapahtumaan mahdollisimman suurelta pinta-alalta. Muut kasvikset kuorittiin, paloitetiin ja mahdolliset syötäväksi

kelpaamattomat osat poistettiin tarvittaessa. Myös hilloja ja muita kasvinäytteitä varastoitiin -20 °C :n lämpötilassa. Näytteet siirrettiin ennen kuivausta pakastimesta riippuen -80 °C :n tai -70 °C :n lämpötilaan yön yli, mistä ne siirrettiin pakkaskuivaimeen kuivumiseen tarvittavaksi ajaksi (vähintään 3 vrk). Näytteiden suuren määrän vuoksi kuivaamiseen käytettiin kolmea eri kylmäkuivainta (kylmäkuivain HETO Drywinner, kylmäkuivain Dura Dry ja pakkaskuivuri Christ Alpha 2-4 LD plus). Kuivia näytteitä jauhettiin näytemyllyllä 30 sekunnin ajan nopeudella 6 000 rpm (laboratorioleikkumylly Retsch Grindomix GM200), minkä jälkeen jauheet siirrettiin suljettavissa muovipusseissa -20 °C :seen varastoon. Ennen analysointia näytteet siirrettiin lämpökaappiin (Memmert) 70 °C :seen yön yli ennen punnitusta, jotta mahdollinen jäännöskosteus haihtuisi. Kuivat näytteet säilytettiin huoneenlämmössä eksikaattorissa (Dry Keeper Sanplatec corp.).

Varsinainen esikäsitteily tapahtui mikroaaltomärkäpolttamalla. Märkäpoltton tarkoituksena oli päästä eroon elintarvikematriisista ja muuntaa kivennäisaineet liukoiseen muotoon. Mikroaaltomärkäpolttolaitteessa oli 40 paikkaa, joten yhteen polttosarjaan punnittiin aina kymmenen analysoitavaa näytettä kolmena rinnakkaisena ja neljä vertailunäytettä kahtena rinnakkaisena sekä kaksi reagenssinollanäytettä. Näytteitä punnittiin (analyysivaaka Mettler Toledo ME204) tarkasti noin 0,5 g punnitusaluustojen avulla mikroaaltomärkäpolttolaitteen teflonputkiin, joihin lisättiin ensin 5 ml väkevää typpihappoa (Romil-SpATM Super Purity Acid, 2,5 l, 67–69 %, erä E641394, B639434 ja M543413) ja sitten 2 ml vetyperoksidia (Merck Emsure Hydrogen Peroxide 30 %, erä 1.07209.1000). Putkien annettiin seistä huoneenlämmössä vähintään puoli tuntia ennen korkkien sulkemista. Märkäpoltto tapahtui mikroaaltomärkäpolttolaitteeseen (MARSXpress, Mars 5 Microwave Accelerated Reaction System) etukäteen ohjelmoidulla poltto-ohjelmalla (taulukko 7), jonka maksimilämpötila oli 170 °C ja kokonaiskesto 2 h 10 min. Märkäpoltton jälkeen näytteiden annettiin jäähtyä yön yli vetokaapissa, minkä jälkeen ne huuhdeltiin teflonputkista MilliQ[®]-veden (Millipore Corporation) avulla lasisiin happopestyihin 50 ml:n A-luokan mittapulloihin, jolloin lopullinen typpihappopitoisuus oli 2 %.

Taulukko 7. Mikroaaltomärkäpolttolaitteen poltto-ohjelma.

Ohjelman vaihe	Lämpötila	Aika
1	70 °C	nousu 20 min
2	130 °C	nousu 40 min
3	170 °C	nousu 30 min
4	170 °C	pito 40 min

3.2.4 Standardien valmistus

Tulokset kvantitoitiin ulkoisen standardin menetelmällä. Standardisuorien määrittämistä varten valmistettiin standardiliuokset sekoittamalla yksittäisistä alkuainestandardikantaliuoksista (liite 5, taulukko 1). Ensin valmistettiin kaksi perusliuosta: toiseen pipetoitiin rikki, fosfori sekä pii ja toiseen loput alkuaineet (Al, B, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Pb ja Zn). Perusliuoksia varten alkuainestandardeja laimennettiin suhteilla 1:200 (Al, B, Cd, Cu, Fe, Mn, Pb, Si ja Zn), 1:100 (Ca ja Mg), 1:20 (Mo) ja 1:10 (K, P ja S). Laimennokset tehtiin 1:10 laimennettuun typpihappoon (Romil-SpA™ Super Purity Acid, 67–69 %). Käyttöstandardit (liite 5, taulukko 2) valmistettiin perusliuoksista laimentamalla niitä typpihappoon suhteilla 1:1 000 (standardi 1 ja 6), 1:100 (standardi 2 ja 7), 1:10 (standardi 3 ja 8), 1:5 (standardi 4 ja 9) ja 1:2 (standardi 5 ja 10). Käyttöliuokset 1–5 valmistettiin kahdentoista alkuaineen perusliuoksesta ja käyttöliuokset 6–10 valmistettiin kolmen alkuaineen perusliuoksesta. Perusliuokset valmistettiin erikseen mahdollisen saostumisen estämiseksi. Suorien pysyvyyttä seurattiin määrittämällä standardit 4 ja 9 sekä standardinolla eli typpihappo uudelleen 15 näytteen välein laitteen automaattisena sisäisenä uudelleenkalibrointina (engl. re-slope). Myös hiilipiikin (engl. C-peak) pysyvyyttä seurattiin rutiinitoimenpiteenä.

3.2.5 Analyysimenetelmä

Määrittäykset tehtiin ICP–OES-laitteistolla, johon kuului induktiivisesti kytketty plasma – optinen emissiospektrometri (Thermo Scientific iCAP 6000 series ICP Spectrometer, Hosmed Oy), automaattinen näytteensyöttäjä (Cetac ASX-260 Autosampler), konsentrinen sumutin, vesikiertojäähdytin (Thermo Electron Corporation Neslab Merlin M33, 18 °C ja 40 psi) sekä tietokone, jossa oli iTEVA-ohjelmisto laitteen käyttämiseksi. Laitteparametrit olivat seuraavat: RF-teho 1 150 W, kantajakaasun virtausnopeus 0,5 l/min, sumutinkaasun virtausnopeus 0,5 l/min, pumpun nopeus 50 rpm, näytteen huuhtelu-aika ennen mittausta 30 s, yksittäisen mittauksen toistojen määrä 2 kpl, huuhtelu-aika näytteiden välillä 15 s. Mittaukset suoritettiin ja käytettävä menetelmä luotiin laitteen käyttöohjeen (Collander ja Ekholm 2014) pohjalta. Laitteistoa huuhdottiin näytteiden välillä 2-prosenttisellä typpihapolla. Mittaukseen käytetyt aallonpituudet on koottu taulukkoon 8. Mittaukset tehtiin radiaalisesti lukuun ottamatta kuparin mittausta aallonpituudella 324,7 nm, mikä tapahtui sekä aksiaalisesti että radiaalisesti. Aallonpituuksien valinnassa pyrittiin välttämään mitattavan ja muiden alkuaineiden emissioviivojen päällekkäisyyttä (engl. spectral overlap). Lisäksi alkuaineen odotettu pitoisuustaso näytteessä otettiin huomioon aallonpituutta valittaessa. Alkuainemäärittysten tulokset laskettiin käytettyjen aallonpituuksien

tulosten keskiarvona. Näytteiden tulokset ilmoitettiin kolmen rinnakkaisnäytteen keskiarvona.

Taulukko 8. Mittaukseen käytetyt aallonpituudet alkuaineittain.

Al	B	Ca	Cd	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Mo	P	Pb	S	Si	Zn
nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm	nm
308,2	208,9	315,8	214,4	324,7	238,2	766,4	279,5	257,6	202,0	177,4	216,9	180,7	212,4	206,2
396,1	249,6	422,6	228,8	324,7	259,9		285,2	260,5	204,5	178,2	220,3	182,0	221,6	
	249,7			327,3						178,7			251,6	
										213,6				

3.2.6 Tulostenkäsittelymenetelmät

Kivennäisainemäärittysten tulosten käsittely

Analyysitulokset käsiteltiin MS Excel -ohjelmalla, jolla laskettiin määrittysten keskiarvot, -hajonnat ja variaatiokertoimet. Variaatiokertoimet laskettiin jakamalla keskihajonta keskiarvolla ja muuntamalla luku prosenteiksi kertomalla sadalla. Selkeältä kontaminaatiolta vaikuttavat rinnakkaismäärittysten epäillyt ääriarvot testattiin Dixonin ääriarvotestillä ja poistettiin aineistosta, jos ne olivat testin mukaan todellisia ääriarvoja 95 %:n luottamustasolla (NMKL 1990). Ääriarvotestejä käytettiin vain selkeästi esimerkiksi kertaluokkaa muista rinnakkaisista poikkeaviin yksittäisiin tuloksiin. Dixonin testissä luvut asetetaan ensin kasvavaan suuruusjärjestykseen pienimmästä alkaen (NMKL 1990). Sitten epäillyn ääriarvon a ja sen viereisen arvon b erotus jaetaan viimeisen arvon c ja epäillyn ääriarvon a erotuksella (kaava 1). Saatua tulosta verrattiin lopuksi taulukkoarvoon (Caulcutt ja Boddy 1983) ja saadun tuloksen ollessa suurempi kuin taulukossa oleva kriittinen arvo sitä voitiin pitää ääriarvona 95 %:n luottamustasolla. Todetut ääriarvot hylättiin tulosaineistosta Dixonin testin jälkeen.

$$\text{Dixonin testisuure} = \frac{a-b}{c-a} \quad (1)$$

Mansikkahillon määrittystulokset haluttiin muuntaa laskennallisesti vastaamaan mansikoiden määrittystuloksia, jotta tilastollisessa tarkastelussa voitiin hyödyntää myös mansikka-aineiston tuloksia. Tämä tapahtui laskemalla ensin, kuinka monta prosenttia mansikkahillon kuiva-aineesta oli peräisin mansikasta (kaava 2), ja sitten kuinka monta kertaa tulos pitäisi kertoa, jotta osuus olisi 100 % (kaava 3). Valmiiden mansikkahillojen tapauksessa kaavaan 2 jäi jakajaksi vain pakkauksessa esitetty sokerin määrä, sillä pakkausmerkintöjen kokonaissokeripitoisuus määritetään refraktometrisesti ja se sisältää itsessään jo ainakin marjojen luonnostaan sisältämät sokerit (Evira 2009b). Kaavan 2 kerroin 0,1 tulee mansikan kuiva-aineen määrästä, joka on pyöristetty lähimpään tasalukuun. Yhdysvaltain maatalousministeriön (USDA, engl. United States Department of

Agriculture) ylläpitämän elintarvikkeiden koostumustietokannan mukaan mansikan vesipitoisuus on raakana 90,95 % ja pakastettuna 89,97 % (USDA 2015a; USDA 2015b).

$$\text{Prosenttiosuus kuiva-aineessa} = \frac{\text{Mansikan määrä} \frac{g}{100g} \times 0,1}{\text{Sokerin määrä} \frac{g}{100g} + \text{mansikan määrä} \frac{g}{100g} \times 0,1} \times 100 \% \quad (2)$$

$$\text{Korjauskertoimen} = \frac{100 \%}{\text{Mansikan osuus kuiva-aineessa} \%} \quad (3)$$

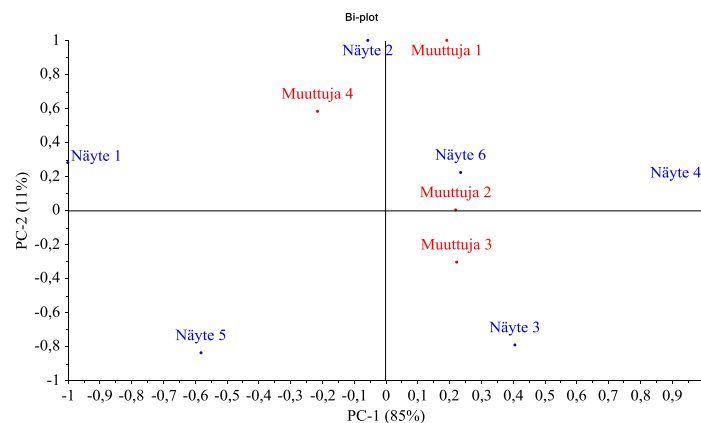
ICP-OES-menetelmän toiminnan arviointi

ICP-OES-menetelmän toimintaa arvioitiin tarkastelemalla menetelmän luotettavuutta kuvaavia parametreja: oikeellisuutta, toistettavuutta, uusittavuutta, määritys- ja havaitsemisrajoja sekä mittausepävarmuutta. Mittauksen oikeellisuutta kuvaa mittaustuloksista lasketun keskiarvon yhtäpitävyys mitattavan suureen vertailuarvon kanssa (MIKES 2005). Oikeellisuus laskettiin vertailumateriaalien määritystulosten prosenttiosuutena varmennetusta vertailuarvosta. Vastaavasti oikeellisuuden vaihteluväli ilmoitettiin vertailumateriaalien määritystulosten oikeellisuuksien minimi- ja maksimiarvojen (%) perusteella. Toistettavuus tarkoittaa mittaustulosten täsmällisyyttä lyhyellä aikavälillä ja samana pysyvissä olosuhteissa (MIKES 2005). Uusittavuudella puolestaan tarkoitetaan mittaustulosten pysyvyyttä muuttuneissa olosuhteissa (MIKES 2005). Tässä koeasetelmassa voitiin arvioida uusittavuutta vain laboratorion sisäisesti eri määrityspäivien tuloksia toisiinsa verraten, eli käyttäen aikaa muuttujana. Toistettavuutta ja uusittavuutta tarkasteltiin vertailemalla määritystulosten variaatiokertoimia (engl. CV %, Coefficient of Variation tai RSD %, Relative Standard Deviation) ohjeessa NMKL 1996 pitoisuustasoinen esitettyihin raja-arvoihin. Toteamis- ja määritysrajoilla tarkoitetaan pienimpiä pitoisuuksia, jotka voidaan havaita tai kvantitoida näytteestä (MIKES 2005). Toteamisraja laskettiin lisäämällä reagenssinollanäytteiden keskiarvoon kolminkertainen keskihajonta. Määritysraja laskettiin kertomalla toteamisraja kahdella. Tulokset muunnettiin näytteiden määritystuloksia vastaavaan yksikköön (mg/kg) kertomalla ne laimennuskertoimella 0,1. Mittausepävarmuutta arvioitiin karkeasti kaupallisten ja laboratorion sisäisten vertailunäytteiden tulosten perusteella laskemalla, kuinka monta prosenttia määritysten kaksinkertainen keskihajonta oli määritysten keskiarvosta ohjetta NMKL 1997 mukailien. Vertailunäytteiden ($n = 4$) alkuainepitoisuudet olivat keskenään erilaiset, joten niiden kaksinkertaisten keskihajontojen vertailu prosentteissa oli mielekkäämpää kuin suoraan yksikössä mg/kg.

Tulosten käsittely monimuuttujamenetelmillä

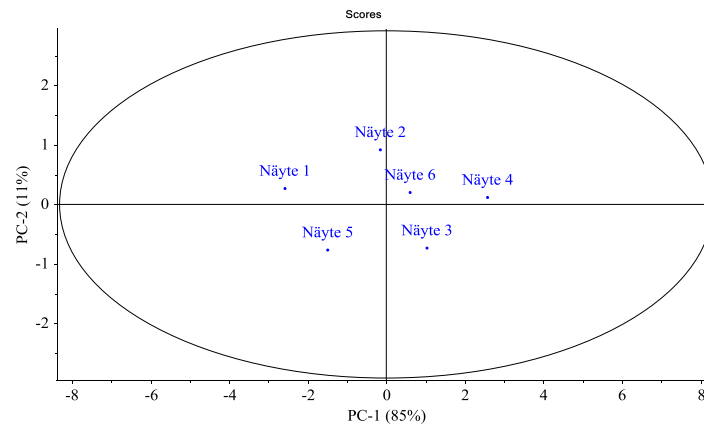
Tulosten tilastollinen monimuuttujatarkastelu tehtiin The Unscrambler 10.1x -ohjelmalla. Analyysien tekemiseen käytettiin rinnakkaismääritysten keskiarvoja. Pääkomponenttianalyysin avulla tutkittiin aineiston näytteiden samankaltaisuutta tai eroja suhteessa määritettyihin alkuaineisiin, eli tiivistettiin aineistoa kaksiulotteiseen PCA-kuvaan. Pääkomponenttianalyysi suoritettiin käyttäen ohjelman oletusasetuksia kaikessa muussa paitsi painotuksessa (engl. weights). Ohjelman oletusasetus olisi ollut käyttää painottamatonta aineistoa, mutta tämä ei ollut mielekäästä, koska eri alkuaineita esiintyy elintarvikkeissa hyvin erilaisia pitoisuuksia ja erilaisilla vaihteluväleillä. Painotukseen käytettiin vaihtoehtoa $A / (SDev + B)$, jossa A oli 1 ja B oli 0. Käytännössä aineisto siis standardoitiin, mikä antaa kaikille muuttujille mahdollisuuden vaikuttaa pääkomponenttianalyysiin yhtä paljon (CAMO Software AS 2006). Standardointia käytetään yleensä, jos aineisto on mitattu eri mittayksiköissä tai erilaisella vaihteluvälillä tai jos muuttujat ovat erilaisia. Pääkomponenttianalyysin oletusasetuksina komponenttien maksimimäärä oli 5, käytössä oli ristivalidointi (engl. cross validation) ja NIPALS-algoritmi (engl. Non-linear Iterative Partial Least Squares).

Pääkomponenttianalyysin avulla taulukoitu laaja ja monimuuttujainen tulosaineisto esitettiin visuaalisessa muodossa PCA-kuvana (CAMO Software AS 2006). Tässä tutkielmassa kuvan x-akselilla esitettiin ensimmäinen pääkomponentti (PC1) ja y-akselilla toinen pääkomponentti (PC2). Pääkomponenttianalyysin tulokset voidaan esittää usealla eri tavalla, joista valittiin esitettäväksi tilanteeseen sopivin. Esimerkiksi Bi-plot-kuvaajista tulkittiin samanaikaisesti näytteiden ominaisuuksia ja muuttujien suhteita toisiinsa (kuva 2). Mitä lähempänä näyte sijaitsee muuttujaa, sitä suurempia arvoja kyseinen muuttuja oli saanut. Lähellä kuvan keskustaa sijaitsevia muuttujia puolestaan ei voitu käyttää näytteiden erojen vertailuun.



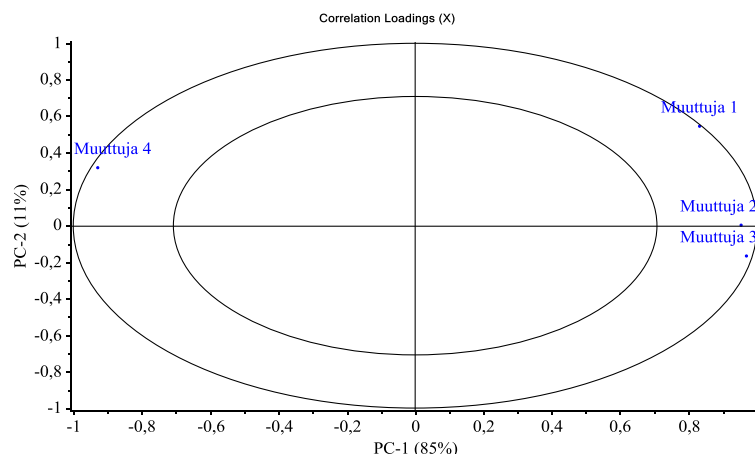
Kuva 2. Esimerkki pääkomponenttianalyysin bi-plot -kuvaajasta. Muuttujat (esimerkiksi alkuaineet) on merkitty punaisella tekstillä ja näytteet (esimerkiksi mansikat tai hillot) sinisellä tekstillä. Kokonaiselitysaste 96 % (PC1 85 %, PC2 11 %).

Aineistosta etsittiin ääriarvoja Hotellin T^2 -ellipsin avulla (kuva 3). Ääriarvoilla tarkoitettiin tässä tapauksessa näytteitä, jotka olivat erilaisia suhteessa muihin näytteisiin. Ääriarvot voivat johtua aineistonkeruussa tapahtuneista virheistä tai olla näytteitä, jotka eivät kuulu tarkasteltavaan populaatioon (CAMO Software AS 2006).



Kuva 3. Esimerkki pääkomponenttianalyysin poikkeavien näytteiden etsimiseen soveltuvasta kuvaajasta (Hotelling T^2 -kuvaaja). Näytteet (esimerkiksi mansikkahillot) on merkitty sinisellä tekstillä. Ellipsin ulkopuolelle jäävät näytteet ovat pääkomponenttianalyysin ääriarvoja suhteessa muihin näytteisiin (esimerkiksi väärennetyjä mansikkahilloja). Kokonaisselitysaste 96 % (PC1 85 %, PC2 11 %).

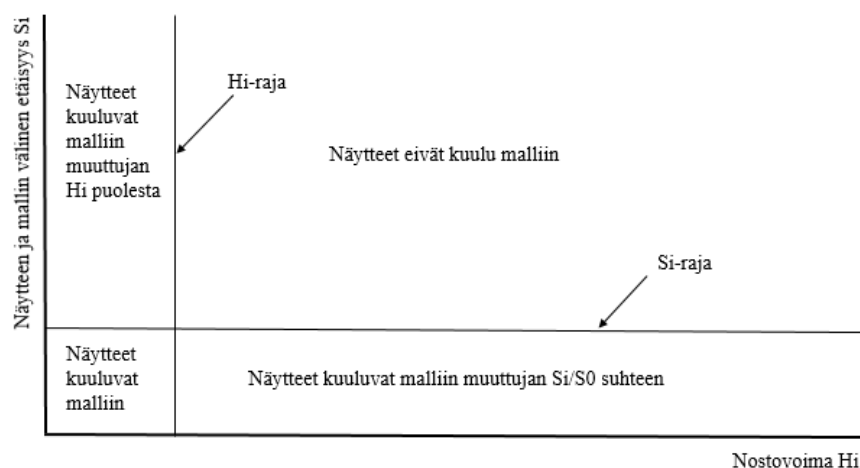
Korrelaatiokuvaajan avulla tarkasteltiin aineiston muuttujia (kuva 4). Korrelaatiokuvaajassa on kaksi sisäkkäistä ellipsiä, joista ulompi kuvaa sataa prosenttia selitetystä aineiston vaihtelusta ja sisempi kuvaa viittäkymmentä prosenttia selitetystä vaihtelusta (CAMO Software AS 2006). Sisemmän ellipsin sisäpuolelle jäävät muuttujat eivät sisällä tarpeeksi järjestelmällistä vaihtelua, jotta näytteitä voitaisiin erotella niiden perusteella. Yksittäisten muuttujien tärkeys pääkomponenttianalyysin kannalta näkyy selkeämmin korrelaatiokuvaajassa kuin muissa aineiston esitystavoissa. Myös muuttujien välistä korrelaatiota eli riippuvuutta voitiin tarkastella. Lähelle toisiaan sijoittuvat muuttujat korreloivat keskenään positiivisesti ja vastaavasti vastakkaisissa suunnissa sijaitsevat muuttujat korreloivat keskenään negatiivisesti.



Kuva 4. Esimerkki pääkomponenttianalyysin korrelaatiokuvaajasta (Correlation Loadings (X) -kuvaaja). Muuttujat (esimerkiksi alkuaineet) on merkitty sinisellä tekstillä Kokonaisselitysaste 96 % (PC1 85 %, PC2 11 %).

SIMCA-mallin avulla aineistoa luokiteltiin ennalta määrättyihin luokkiin 95 %:n todennäköisyydellä, eli selvitettiin, kuuluuko näyte aitojen mansikoiden luokkaan vai ei (kyllä/ei-luokittelu). SIMCA perustuu PCA-malliin, joten aitoja mansikoita kuvaavasta aineistosta tehtiin ensin PCA-malli samalla tavalla kuin tehtäessä pelkkää pääkomponentti-analyysiä. Uusien näytteiden luokittelu perustuu SIMCA:ssa siihen, kuinka hyvin ne sopivat mallin tekemiseen käytettyjen näytteiden muodostamaan PCA-malliin (CAMO Software AS 2006). Käytännössä SIMCA-luokittelu tehtiin seuraten ohjelmiston ohjeita ja käyttäen oletusasetuksia, jotka riippuivat käytetystä mallista: (Max PC/LVs (kpl), Suggested (kpl), Use (kpl), Model type: PCA, Centered). SIMCA:ssa peilataan siis uusia näytteitä valmiiseen PCA-malliin ja päätetään sen pohjalta kuuluvatko uudet näytteet tietyllä todennäköisyydellä samaan luokkaan PCA-mallin tekoon käytettyjen näytteiden kanssa vai eivät.

Myös SIMCA-mallin luokittelu esitettiin lisäksi visuaalisesti Si vs. Hi -kuvaajana (kuva 5). Kuvan viivoilla rajattuun vasempaan alakulmaan jäävät näytteet täyttävät mallin molemmat ehdot. Näytteen ja mallin välinen etäisyys Si (engl. sample-to-model distance) y-akselilla kuvaa sitä, kuinka kaukana näyte on mallin tekoon käytetystä luokasta: pieni etäisyys tarkoittaa, että malli kuvaa hyvin näytettä ja että näyte kuuluu luultavasti mallin tekoon käytettyyn luokkaan (CAMO Software AS 2006). Näytteen nostovoima Hi (engl. sample leverage) x-akselilla kuvaa sitä kuinka kaukana näytteen projektio malliin on mallin luokan keskipisteestä. Hi kuvaa siis sitä, kuinka erilainen näyte on verrattuna muihin luokan jäseniin riippumatta siitä, kuinka hyvin luokkamalli kuvaa sitä.



Kuva 5. SIMCA-mallin luokitteluun liittyvä Si vs. Hi -kuvaaja (CAMO Software AS 2006, suomennettu).

3.3 Tulokset

3.3.1 ICP–OES-menetelmän toimivuus ja luotettavuus

Vertailuarvojen ja määritettyjen arvojen vastaavuus

Kaupallisen vertailunäytteen NIST 1567A määritetyt arvot (keskiarvo \pm keskihajonta) ($n = 26$) vastasivat vertailuarvoja alumiinin, kalsiumin, kadmiumin, kuparin, raudan, magnesiumin, mangaanin, molybdeenin, fosforin, lyijyn ja sinkin osalta (taulukko 9). Vastaavasti kaupallisen tomaatinlehtivertailunäytteen NIST 1573A määritetyt pitoisuudet vastasivat vertailuarvoja boorin, kalsiumin, kuparin, molybdeenin ja rikin osalta. Laboratorion sisäisen vertailunäytteen ”jauho 1” määrittystulokset vastasivat vertailuarvoja alumiinin, boorin, kadmiumin, kuparin, raudan, magnesiumin, mangaanin ja rikin osalta. Viherrehuvertailumateriaalin kohdalla määritetyt arvot vastasivat vertailuarvoja boorin, kalsiumin, kadmiumin, molybdeenin, fosforin, lyijyn ja rikin osalta. Kummankaan laboratorion sisäisen vertailumateriaalin määritetty piipitoisuus ei vastannut vertailuarvoja.

Oikeellisuus

Kaikkien määritysten ($n = 26$) keskiarvosta laskettu oikeellisuus oli hyväksyttävällä tasolla (80–120 %) vertailumateriaalissa NIST 1573A kaikilla muilla alkuaineilla paitsi alumiinilla (taulukko 9). Vertailumateriaalissa NIST 1567A oikeellisuus oli hyväksyttävällä tasolla kaikilla muilla alkuaineilla paitsi alumiinilla, raudalla ja molybdeenilla. Kalsiumin, rikin, kaliumin, fosforin, magnesiumin ja mangaanin oikeellisuuden vaihteluvälit olivat molemmissa vertailumateriaaleissa hyväksyttävät. Oikeellisuutta ei voitu laskea alkuaineille, joilla ei ollut vertailuarvoa kyseisessä vertailumateriaalissa. Laboratorion sisäisten vertailunäytteiden määrittystulosten keskiarvot olivat oikeellisia jauhovertailunäytteessä kaikilla muilla alkuaineilla paitsi alumiinilla, boorilla ja piillä sekä viherrehuvertailunäytteessä edellisten lisäksi myös kadmiumilla, kuparilla, raudalla ja lyijyllä. Oikeellisuuden vaihteluväli oli hyväksyttävällä tasolla molemmissa laboratorion sisäisissä vertailunäytteissä määritettäessä kalsiumia, kaliumia, magnesiumia, mangaania, fosforia ja rikkiä.

Toistettavuus

Menetelmän toistettavuutta arvioitiin vertailumateriaalien määritysten variaatiokerroimien avulla (taulukko 9). Pääsääntönä on, että toistettavuus on hyvä, kun variaatiokerroin on pieni. Menetelmän toistettavuus oli hyvä kalsiumille, kaliumille, magnesiumille, mangaanille, fosforille, rikille ja sinkille, eli menetelmällä saatiin yhtäpitäviä tuloksia näiden alkuaineiden määrityksistä ($n = 26$). Menetelmän toistettavuus oli kyseenalainen lyijyn, boorin, molybdeenin, kadmiumin, piin, alumiinin, kuparin ja raudan kohdalla.

Uusittavuus

Laboratorion sisäistä uusittavuutta arvioitiin tarkastelemalla vertailunäytteiden eri määrittämissä saatuja määrittäytulosten samankaltaisuutta variaatiokertoimien perusteella (liite 6 taulukko 1). Alkuaineilla, joilla oli hyvä toistettavuus (Ca, K, Mg, Mn, P, S, Zn), oli pääsääntöisesti myös hyvä laboratorion sisäinen uusittavuus, eli niiden variaatiokertoimet pysyivät matalina määrittämissajankohdasta riippumatta. Boorin, piin ja lyijyn uusittavuus oli huono kaupallisissa vertailumateriaaleissa. Laboratorion sisäisissä vertailumateriaaleissa boorin, alumiinin, molybdeenin, lyijyn ja piin uusittavuus oli huono.

Mittausepävarmuus

Mittausepävarmuutta arvioitiin karkeasti vertailunäytteiden määrittätyjä keskiarvoja ja -hajontoja hyödyntäen (taulukko 9). Mittausepävarmuudet eri vertailumateriaaleissa ilmaistiin kaksinkertaisena keskihajonnan prosenttiosuutena keskiarvosta. Hyvin pieninä pitoisuuksina esiintyvien alkuaineiden (Pb, Cd, Mo) mittaamiseen liittyi suuri epävarmuus. Kaliumin, kalsiumin, magnesiumin, mangaanin, fosforin, rikin ja sinkin mittausepävarmuudet olivat kaikissa vertailumateriaaleissa alle 16 %.

Havaitsemis- ja määrittämissrajat

Havaitsemisraja ja määrittämissraja laskettiin kaikkien tutkimuksen aikana määrittätyjen reagenssinollanäytteiden ($n = 26$) avulla (taulukko 9). Esimerkiksi kalsiumin määrittämissraja oli 1,38 mg/kg, kaliumin 5,19 mg/kg, magnesiumin 0,16 mg/kg, mangaanin 0,23 mg/kg, fosforin 1,84 mg/kg, rikin 0,82 mg/kg ja sinkin 0,14 mg/kg. Näytteistä voitiin siis määrittää nämä pitoisuudet ylittäviä määriä kyseisiä alkuaineita.

Taulukko 9. Yhteenvedo ICP–OES–menetelmän toiminnasta. Kaupallisten vertailunäytteiden ”NIST1573A” ($n = 26$) ja ”NIST 1567A” ($n = 26$) sekä laboratorion sisäisten vertailunäytteiden ”Jauho 1” ($n = 26$) ja ”Viherjauhe” ($n = 26$) määritetyt keskiarvot \pm keskihajonnat ja vertailuarvot, määrittysten oikeellisuudet vertailuarvon suhteen (%), variaatiokertoimet (%) alkuaineittain, mittausepävarmuudet prosentteina mitatusta keskiarvosta ja havaitsemis- ja määritysrajat näytteissä (mg/kg).

		Alumiini	Boori	Kalsium	Kadmium	Kupari	Rauta	Kalium	Magnesium	Mangaani	Molybdeeni	Fosfori	Lyijy	Rikki	Pii	Sinkki
Määritetyn ja vertailuarvon vastaavuus																
NIST1573A	Määritetty	413 \pm 32	33 \pm 5	50 719 \pm 1943	1,23 \pm 0,08	4,6 \pm 0,54	299 \pm 13	25 164 \pm 742	11 017 \pm 377	226 \pm 7	0,39 \pm 0,29	2 013 \pm 78	0,19 \pm 0,20	9 242 \pm 434	195 \pm 63	26,1 \pm 0,6
	Vertailu	598 \pm 12	33,3 \pm 0,7	50 500 \pm 900	1,52 \pm 0,04	4,7 \pm 0,14	368 \pm 7	27 000 \pm 500	12 000	246 \pm 8	0,46	2 160 \pm 40	–	9 600	–	30,9 \pm 0,7
NIST1567A	Määritetty	4,3 \pm 1,1	2,0 \pm 3,8	194 \pm 5	0,021 \pm 0,016	2,2 \pm 0,5	17,1 \pm 9,3	1 255 \pm 12	389 \pm 3	9,8 \pm 0,1	0,61 \pm 0,25	1 318 \pm 43	0,018 \pm 0,240	1 528 \pm 46	15 \pm 5	12,2 \pm 0,9
	Vertailu	5,7 \pm 1,3	–	191 \pm 4	0,026 \pm 0,002	2,1 \pm 0,2	14,1 \pm 0,5	1 330 \pm 30	400 \pm 20	9,4 \pm 0,9	0,48 \pm 0,03	1 340 \pm 60	<0,020	1 650 \pm 20	–	11,6 \pm 0,4
Jauho 1	Määritetty	5,6 \pm 1,8	4,6 \pm 9,1	262 \pm 4	0,06 \pm 0,03	4,2 \pm 0,5	47 \pm 2	3 121 \pm 37	1 125 \pm 18	30 \pm 0,3	0,5 \pm 0,6	3 337 \pm 107	0,07 \pm 0,22	1 783 \pm 52	29 \pm 9,1	32 \pm 0,5
	Vertailu	8,4 \pm 2,49	0,69 \pm 0,13	291 \pm 13	0,06 \pm 0,004 9	4,8 \pm 0,4	51 \pm 5,2	3 600 \pm 290	1 180 \pm 69	31 \pm 2,5	< 0,2	3 610 \pm 81	< 0,05	1 890 \pm 64	45 \pm 5,1	35 \pm 2,1
Viherjauhe	Määritetty	57 \pm 5	11,1 \pm 4,94	6 412 \pm 443	0,065 \pm 0,016 1	5,8 \pm 0,45	143 \pm 25	23 096 \pm 453	1 697 \pm 48	61 \pm 3	0,4 \pm 0,11	3 165 \pm 155	0,95 \pm 0,15	2 446 \pm 81	224 \pm 57	30,0 \pm 7,7
	Vertailu	174 \pm 14	7,5 \pm 0,25	7 140 \pm 520	0,082 \pm 0,008 5	7,7 \pm 0,65	188 \pm 11,3	24 800 \pm 810	1 840 \pm 56	67 \pm 2	0,4 \pm 0,09	3 390 \pm 87	1,25 \pm 0,43	2 560 \pm 62	5 400 \pm 127	36,6 \pm 0,97
Oikeellisuus																
Keskiarvon oikeellisuus %	NIST1573A	69	98	100	81	97	81	93	92	92	84	93	–	96	–	84
	NIST1567A	75	–	101	81	106	122	94	97	104	128	98	–	93	–	105
	Jauho 1	66	664	90	101	88	92	87	95	96	–	92	–	94	64	92
	Viherjauhe	33	148	90	79	75	76	93	92	91	104	93	76	96	4	82
Oikeellisuuden vaihteluväli %	NIST1573A	52–75	67–132	91–107	69–86	87–144	66–84	85–98	82–96	82–95	53–388	84–99	–	85–103	–	80–89
	NIST1567A	33–113	–	94–106	54–152	90–173	99–441	92–96	95–99	102–106	90–273	93–106	–	88–98	–	99–143
	Jauho 1	36–129	–1 048–6 185	88–92	20–262	79–128	89–110	85–89	92–98	94–98	–	85–96	–	89–99	30–90	89–95
	Viherjauhe	28–39	21–358	80–101	36–100	65–88	65–126	87–96	86–97	84–113	62–215	85–104	54–106	88–101	2–6	79–88
Toistettavuus																
Variaatiokerroin %	NIST1573A	8 ^{*)}	15 ^{*)}	4	7	12 ^{*)}	5	3	3	3	74 ^{*)}	4	105 ^{*)}	5 ^{*)}	32 ^{*)}	2
	NIST1567A	26 ^{*)}	190 ^{*)}	3	75 ^{*)}	21 ^{*)}	54 ^{*)}	1	1	1	41 ^{*)}	3	1 316 ^{*)}	3	36 ^{*)}	8 ^{*)}
	Jauho 1	31 ^{*)}	198 ^{*)}	1	46 ^{*)}	13 ^{*)}	5	1	2	1	110 ^{*)}	3	329 ^{*)}	3	32 ^{*)}	2
	Viherjauhe	9 ^{*)}	45 ^{*)}	7 ^{*)}	25 ^{*)}	8	18 ^{*)}	2	3	5	26 ^{*)}	5 ^{*)}	16 ^{*)}	3	26 ^{*)}	3
Mittausepävarmuus																
%	NIST1573A	16	31	8	13	24	9	6	7	6	149	8	209	9	65	4
	NIST1567A	52	380	5	151	42	108	2	2	3	82	7	2 632	6	72	16
	Jauho 1	63	395	3	92	26	9	2	3	2	219	6	658	6	63	3
	Viherjauhe	17	89	14	50	15	35	4	6	11	53	10	32	7	51	5
Havaitsemisraja	mg/kg	0,26	0,7	0,69	0,002	0,08	0,85	2,59	0,08	0,012	0,046	0,92	0,027	0,41	0,68	0,07
Määritysraja	mg/kg	0,52	1,41	1,38	0,004	0,15	1,71	5,19	0,16	0,023	0,092	1,84	0,054	0,82	1,36	0,14

– Merkki ”–” tarkoittaa, että vertailuarvoa ei ole määritetty kyseiselle alkuaineelle.

*) Variaatiokerroin ei ole hyväksyttävällä tasolla ohjeen NMKL 1996 mukaan.

3.3.2 Mansikoiden kivennäisaineprofiili

Mansikoiden kivennäisainekoostumus

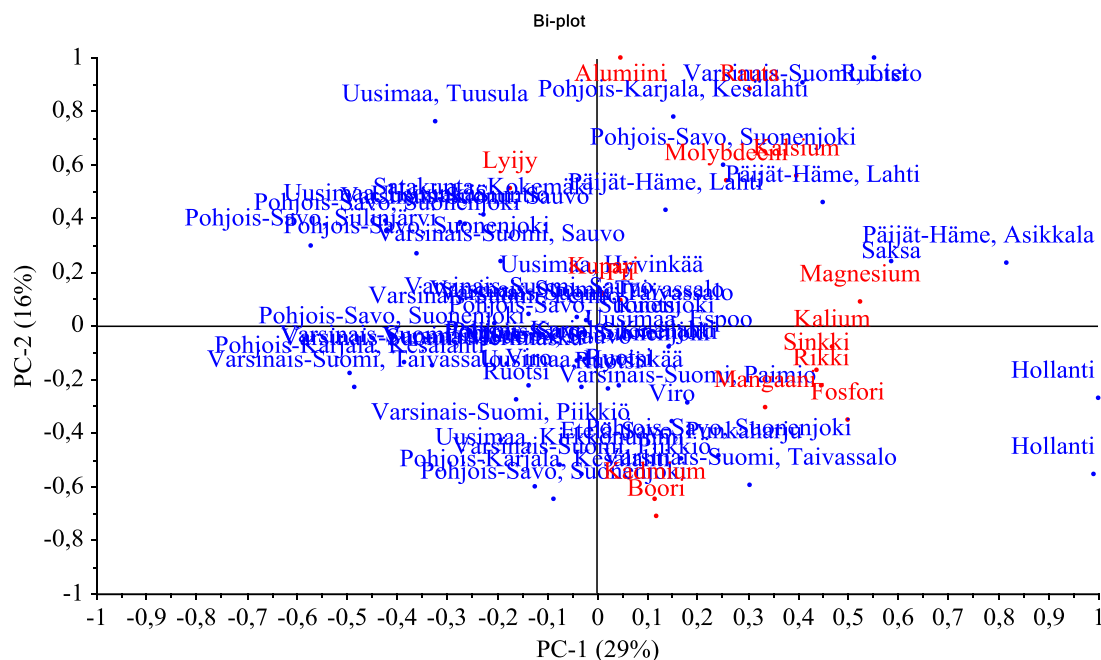
Mansikat ($n = 51$) sisälsivät määritetyistä alkuaineista keskimääräisesti eniten kaliumia (12 292 mg/kg), fosforia (1 926 mg/kg), kalsiumia (1 519 mg/kg), magnesiumia (1 049 mg/kg) ja rikkiä (620 mg/kg) (taulukko 10). Raskasmetallien (Pb ja Cd) pitoisuudet mansikan kuiva-aineessa olivat pieniä. Lisäksi mansikan kuiva-aineesta määritettiin keskimäärin 52 mg/kg piitä, 23 mg/kg rautaa, 20 mg/kg mangaania, 14 mg/kg booria, 9 mg/kg sinkkiä, 8 mg/kg alumiinia, 3 mg/kg kuparia ja 0,5 mg/kg molybdeeniä. Pienimmät näytteiden väliset variaatiokerroimet olivat magnesiumilla (11 %), kaliumilla (15 %), fosforilla (17 %), rikillä (18 %), kuparilla (21 %), kalsiumilla (24 %), raudalla (29 %), sinkillä (33 %) ja mangaanilla (44 %). Suurimmat näytteiden väliset variaatiokerroimet olivat lyijyllä (389 %), kadmiumilla (205 %), alumiinilla (99 %), molybdeenillä (57 %), piillä (51 %) ja boorilla (47 %). Mansikoiden kivennäisainemääritysten yksityiskohtaiset tulokset ääriarvojen poiston jälkeen on koottu liitteeseen 7.

Taulukko 10. Mansikoiden ($n = 51$) kivennäis- ja hivenainepitoisuuksien keskiarvot ja -hajonnat, mediaanit, minimi, maksimi ja variaatiokerroimet.

Alkuaine	Keskiarvo mg/kg	Keskihajonta mg/kg	Mediaani mg/kg	Minimi mg/kg	Maksimi mg/kg	Variaatiokerroin %
Alumiini	8,1	8,1	5,1	0,46	33,4	99
Boori	14,1	6,7	13,6	3,2	40,5	47
Kalsium	1 519	372	1 468	909	2 758	24
Kadmium	0,012	0,025	0,012	-0,032	0,087	205
Kupari	3,2	0,7	3,2	2,0	4,4	21
Rauta	22,6	6,6	21,1	13,7	44,0	29
Kalium	12 292	1 806	11 978	9 068	17 461	15
Magnesium	1 049	114	1 035	863	1 378	11
Mangaani	20,2	8,8	18,2	5,8	53,1	44
Molybdeeni	0,51	0,29	0,43	0,03	1,21	57
Fosfori	1 926	321	1 891	1 434	2 891	17
Lyijy	-0,024	0,093	-0,010	-0,198	0,157	389
Rikki	620	110	630	418	856	18
Pii	52	27	45	21	125	51
Sinkki	8,7	2,8	8,2	4,3	20,3	33

Kasvupaikan vaikutus mansikoiden kivennäisaineprofiiliin

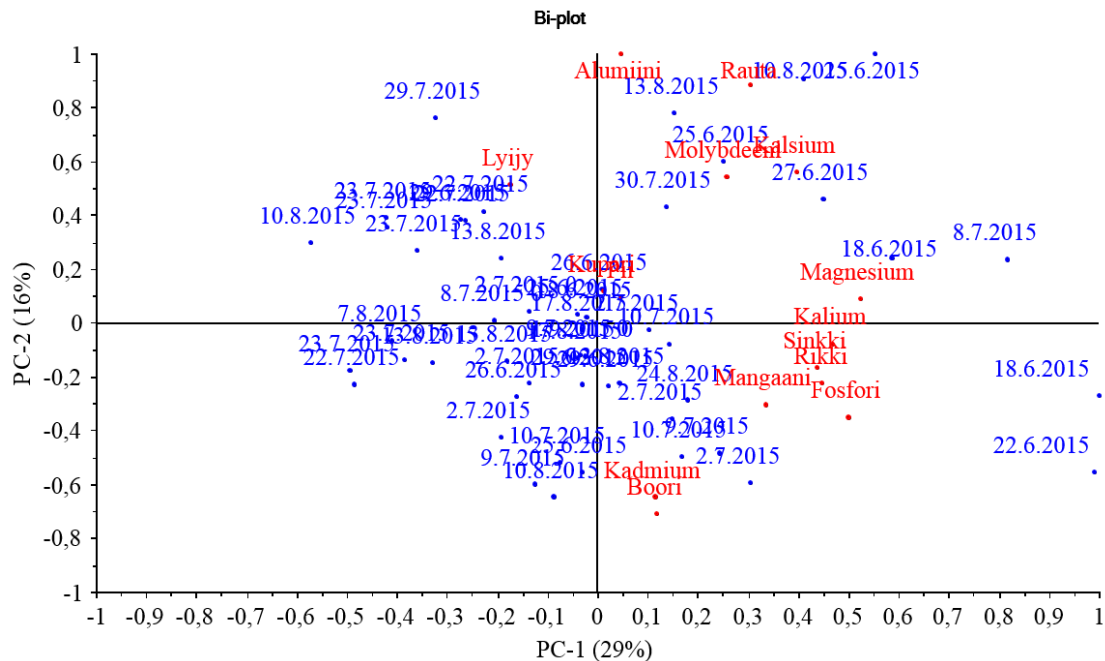
Myös mansikoiden kasvupaikan vaikutusta kivennäisaineprofiiliin tarkasteltiin pääkomponenttianalyysillä (kuva 7). Mansikka-aineisto ei jakautunut kasvupaikkojen mukaan selkeisiin toisistaan erottuviin ryhmiin. Kaikkein kauimpana muista näytteistä ovat kaksi hollantilaista mansikkanäytettä, mutta esimerkiksi ruotsalaisten tai virolaisten mansikkanäytteiden kivennäisaineprofiilit eivät eronneet selkeästi suomalaisten mansikoiden vastaavista. Viidentoista alkuaineen perusteella tehdyn pääkomponenttianalyysin selitysaste on matala (PC1 29 %, PC2 16 %, yhteensä 45 %).



Kuva 7. Pääkomponenttianalyysi mansikoiden kasvupaikkojen eroista (bi-plot-kuvaaja). PCA:n tekemiseen käytetyt muuttujat eli alkuaineet (punaisella): Al, B, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, P, Pb, S, Si, Zn. Sinisellä tekstillä PCA:n tekemiseen käytetyt näytteet eli mansikka-aineisto ($n = 51$). Kokonaisselitysaste 45 % (PC1 29 %, PC2 16 %).

Kasvuajankohdan vaikutus mansikoiden kivennäisaineprofiiliin

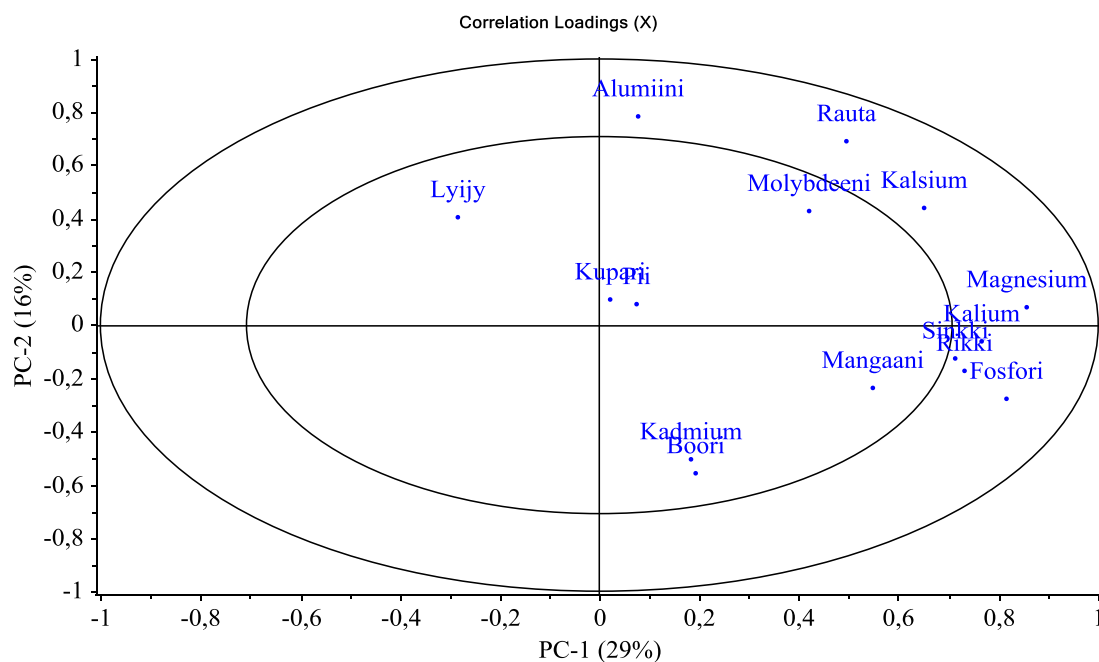
Lisäksi viidentoista alkuaineen muodostaman kivennäisaineprofiilin perusteella tehtiin pääkomponenttianalyysi kasvuajankohdan vaikutuksen tutkimiseksi (kuva 8). Mansikka-näytteet eivät jakautuneet selkeisiin ryhmiin myöskään ostoajankohtansa perusteella, eli tässä aineistossa mansikoiden kivennäisaineprofiili ei riippunut ainakaan kovin selkeästi mansikoiden kasvuajankohdasta saman kasvukauden aikana. Mansikoiden poimimis-ajankohdalla saman kasvukauden aikana ei vaikuttanut aineiston perusteella olevan juurikaan vaikutusta mansikan kivennäisaineprofiiliin.



Kuva 8. Pääkomponenttianalyysi mansikkalajikkeiden ostopäivämäärien eli kasvuajankohdan eroista (bi-plot-kuvaaja). PCA:n tekemiseen käytetyt muuttujat eli alkuaineet (punaisella): Al, B, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, P, Pb, S, Si, Zn. Sinisellä tekstillä PCA:n tekemiseen käytetyt näytteet eli mansikka-aineisto ($n = 51$). Kokonaisselitysaste 45 % (PC1 29 %, PC2 16 %).

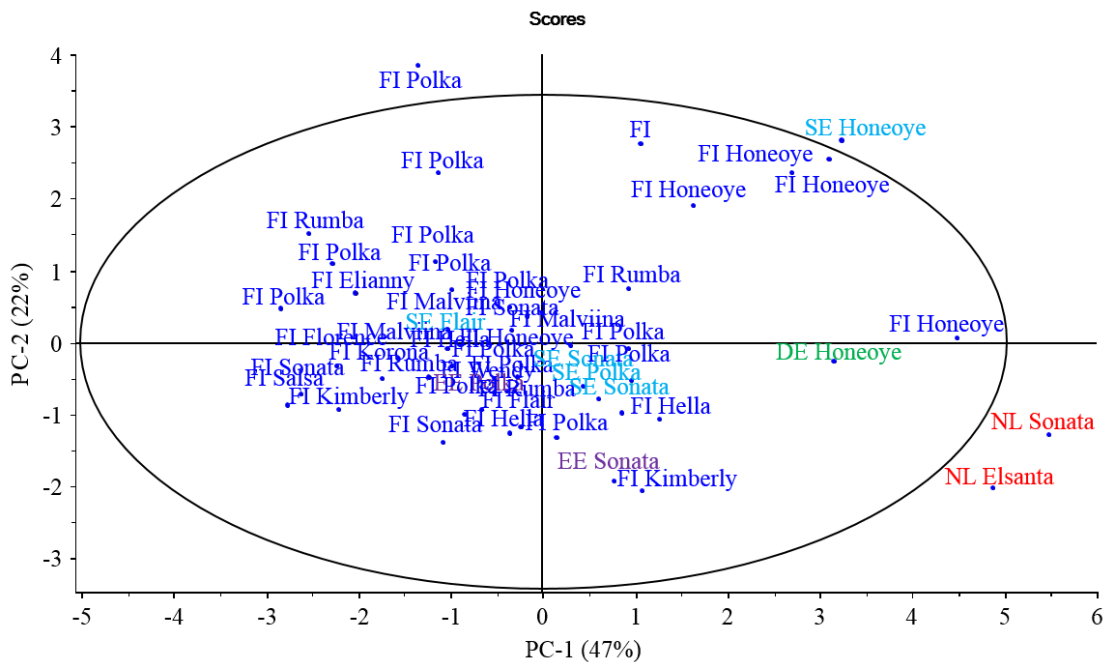
Muuttujien eli alkuaineiden valinta kivennäisaineprofiiliin

Muuttujien merkitystä pääkomponenttianalyysin kannalta tarkasteltiin tilastollisesti korrelaatiokuvaajan avulla. Korrelaatiokuvaajassa sisemmän ellipsin sisälle sijoittuneet muuttujat eivät sisältäneet tarpeeksi järjestelmällistä vaihtelua, jotta niiden perusteella olisi voitu erottaa käytetyn aineiston näytteitä toisistaan. Korrelaatiokuvaajan (kuva 9) perusteella Pb, Cu, Si, Cd, B, Mo ja Mn eivät olleet mansikka-aineiston vaihtelun kannalta tärkeitä aineistoa kuvaavia muuttujia. Mansikka-aineiston sisäistä vaihtelua kuvasivat parhaiten Al, Fe, Ca, Mg, K, Zn, S ja P.



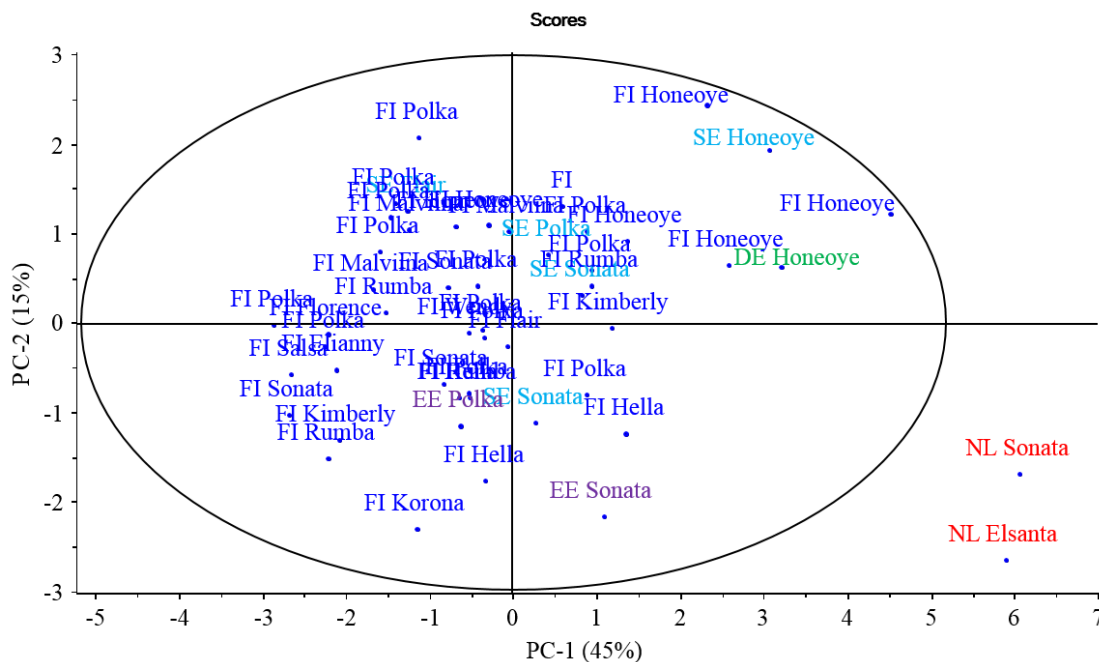
Kuva 9. Korrelaatiokuvaaja mansikka-aineiston ($n = 51$) muuttujista (Correlation Loadings (X) -kuvaaja). PCA:n tekemiseen käytetyt alkuaineet (sinisellä): Al, B, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, P, Pb, S, Si, Zn. Kokonaisselitysaste 45 % (PC1 29 %, PC2 16 %).

Mansikka-aineiston ($n = 51$) ryhmittymistä tarkasteltiin uudestaan sen jälkeen, kun muuttujia karsittiin korrelaatiokuvaajan (kuva 9) perusteella. Pääkomponenttianalyysissä ei vielääkään havaittu kovin selkeitä lajike- tai kasvupaikkaryhmittymiä (kuva 10). Esimerkiksi virolaiset tai ruotsalaiset mansikat eivät erottuneet suomalaisista. Hollantilaiset mansikkanäytteet ryhmittyivät muista erilleen yhteen ja osa Honeoye-lajikkeen näytteistä ryhmittyi kuvan oikeaan yläkulmaan. Hotelling T^2 -ellipsin perusteella neljä mansikkanäytettä oli aineistossa ääriarvoja. Ääriarvonäytteet olivat kolmesta eri maasta ja neljää eri lajiketta, mikä ei viittaa kasvupaikan tai lajikkeen olevan johdonmukaisesti mansikoiden kivennäisaineprofiileja erottelevia tekijöitä.



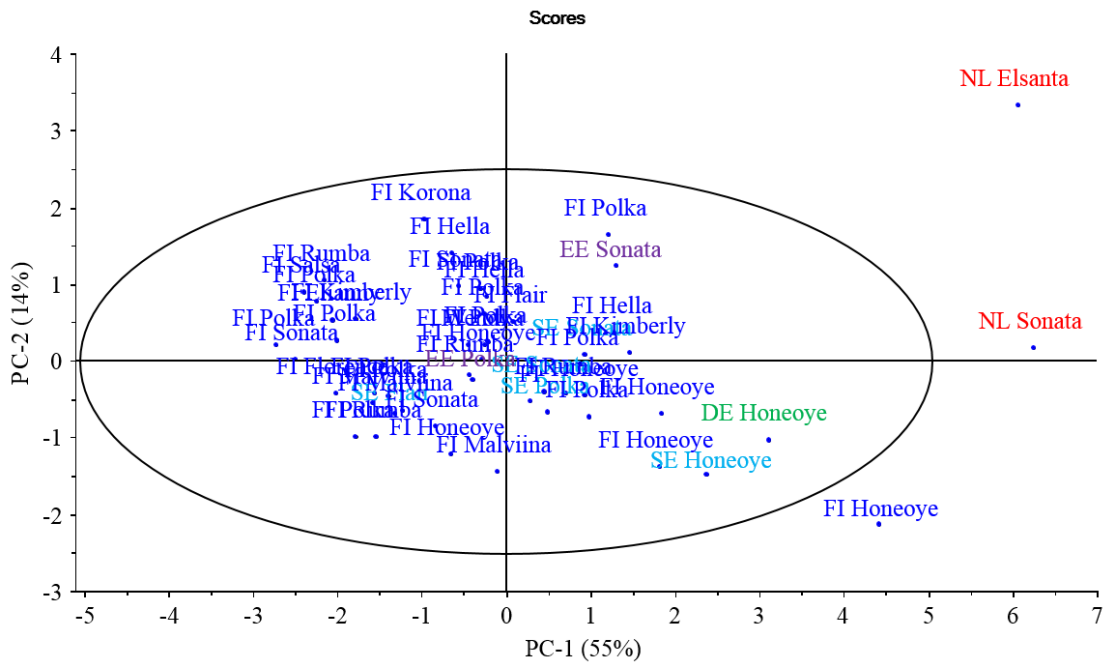
Kuva 10. Mansikka-aineistosta ($n = 51$) tehty uusi pääkomponenttianalyysi muuttujien karsimisen jälkeen (Hotelling T^2 -kuvaaja). PCA:n tekemiseen käytetyt alkuaineet: Mg, K, P, S, Ca, Fe, Zn, Al. Mansikkanäytteet on merkitty maakoodilla (FI Suomi, EE Viro, SE Ruotsi, NL Alankomaat, DE Saksa) ja lajiketiedoilla. Selvyiden vuoksi erimaalaiset näytteet on esitetty eri väreillä. Kokonaisselitysaste 69 % (PC1 47 %, PC2 22 %).

Tarkoituksena oli luoda mahdollisimman hyvin mansikoita kasvilajina kuvaava malli, joten pääkomponenttianalyysi tehtiin myös mansikka-aineistossa pienimmän variaatiokertoimen saaneiden alkuaineiden (taulukko 10) perusteella, koska niiden ajateltiin kuvaavan parhaiten mansikoita kasvilajina (kuva 11). Edelleen lähinnä hollantilaiset mansikat erottuivat muusta mansikka-aineistosta. Myös osa Honeoye-lajikkeeseen mansikoista on ryhmittynyt kuvan oikeaan yläneljännekseen, mutta ne eivät ole olleet aineistossa ääriarvoja Hotelling T^2 -ellipsin perusteella.



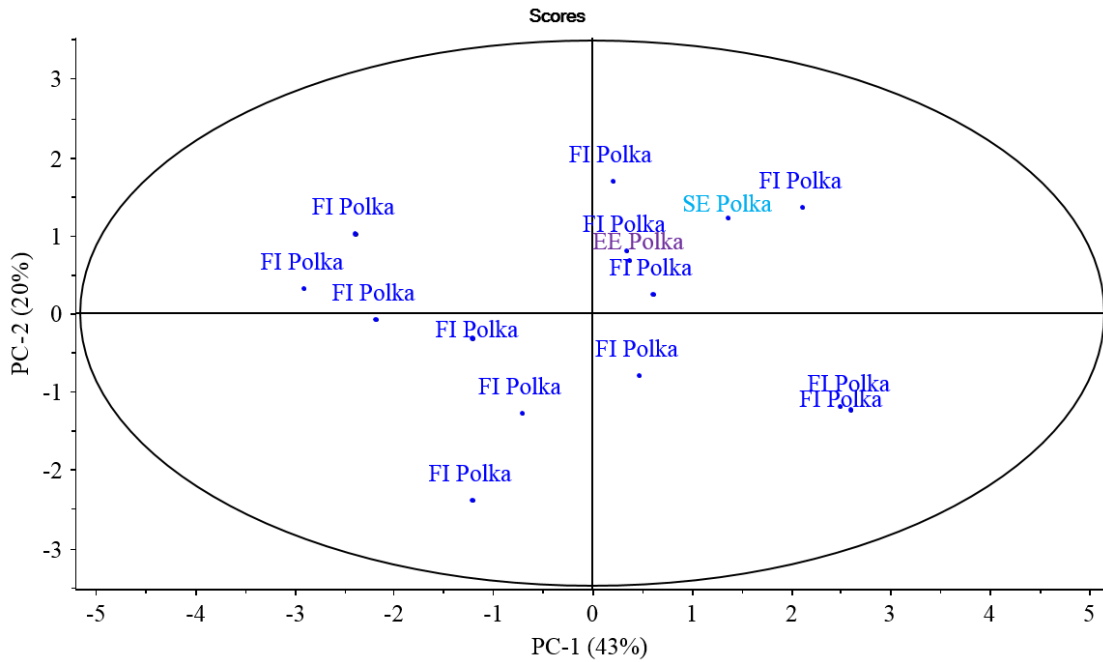
Kuva 11. Pääkomponenttianalyysi mansikka-aineistosta ($n = 51$), kun muuttujiksi on valittu pienimmät näytteiden väliset variaatiokertoimet saaneet alkuaineet (Hotelling T^2 -kuvaaja). PCA:n tekemiseen käytetyt alkuaineet: Mg, K, P, S, Cu, Ca, Fe, Zn, Mn. Mansikkänäytteet on merkitty maakoodilla (FI Suomi, EE Viro, SE Ruotsi, NL Alankomaat, DE Saksa) ja lajiketiedoilla. Selvytyden vuoksi erimaalaiset näytteet on esitetty eri väreillä. Kokonaisselitysaste 60 % (PC1 45 %, PC2 15 %).

Myös määritysmenetelmän (ICP–OES) toiminta otettiin huomioon valittaessa pääkomponenttianalyysiin käytettävää kivennäisaineprofiilia (kuva 12). Edelleen kaksi Hollantilaista mansikkanäytettä ryhmittyi erilleen muusta aineistosta, mutta muita selkeitä ryhmittymiä ei ollut havaittavissa. Myös suomalainen Honeoye-lajikkeen näyte on ollut Hotelling T^2 -ellipsin perusteella ääriarvo. Pääpiirteissään aineiston mansikkanäytteet olivat keskenään hyvin samanlaisia eikä esimerkiksi suomalaisia, ruotsalaisia ja virolaisia mansikoita tai eri mansikkalajikkeita voitu erottaa luotettavasti toisistaan.

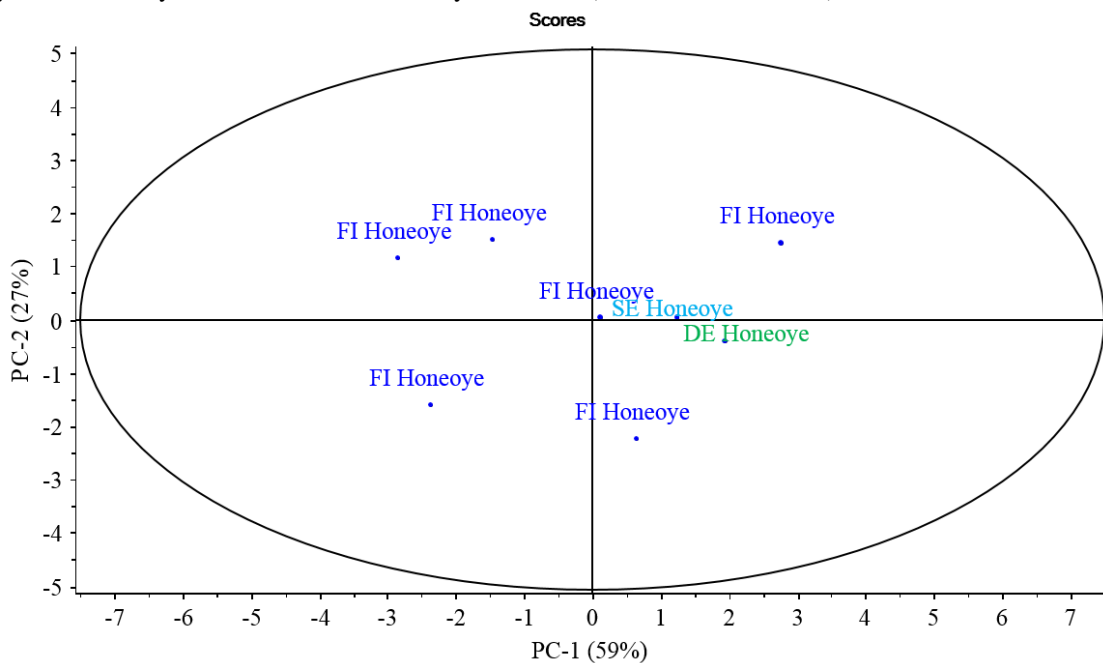


Kuva 12. Pääkomponenttianalyysi mansikka-aineistosta ($n = 51$), kun muuttujiksi on valittu ICP–OES-menetelmän toiminnan kannalta luotettavimmat alkuaineet (Hotelling T^2 -kuvaaja). PCA:n tekemiseen käytetyt alkuaineet: Mg, K, P, S, Ca, Zn, Mn. Mansikkanäytteet on merkitty maakoodilla (FI Suomi, EE Viro, SE Ruotsi, NL Alankomaat, DE Saksa) ja lajiketiedoilla. Selvyyden vuoksi erimaalaiset näytteet on esitetty eri väreillä. Kokonaisselitysaste 69 % (PC1 55 %, PC2 14 %).

Vastaavasti kasvupaikat (Suomi, Viro, Ruotsi, Saksa) eivät ryhmittyneet erilleen tehtäessä pääkomponenttianalyysi vain yhden mansikkalajikkeen (Polka tai Honeoye) sisältäneellä aineistolla (kuva 14 ja kuva 15).



Kuva 14. Pääkomponenttianalyysi Polka-lajikkeen mansikkänäytteiden ($n = 15$) ryhmittymisestä, kun muuttujiksi on valittu ICP–OES-menetelmän toiminnan kannalta luotettavimmat alkuaineet (Hotelling T^2 -kuvaaja). PCA:n tekemiseen käytetyt alkuaineet: Mg, K, P, S, Ca, Zn, Mn. Mansikkänäytteet on merkitty maakoodilla (FI Suomi, EE Viro, SE Ruotsi) ja lajiketiedoilla. Selvyyden vuoksi erimaalaiset näytteet on esitetty eri väreillä. Kokonaisselitysaste 63 % (PC1 43 %, PC2 20 %).



Kuva 15. Pääkomponenttianalyysi Honeoye-lajikkeen mansikkänäytteiden ($n = 8$) ryhmittymisestä, kun muuttujiksi on valittu ICP–OES-menetelmän toiminnan kannalta luotettavimmat alkuaineet (Hotelling T^2 -kuvaaja). PCA:n tekemiseen käytetyt alkuaineet: Mg, K, P, S, Ca, Zn, Mn. Mansikkänäytteet on merkitty maakoodilla (FI Suomi, SE Ruotsi, DE Saksa) ja lajiketiedoilla. Selvyyden vuoksi erimaalaiset näytteet on esitetty eri väreillä. Kokonaisselitysaste 86 % (PC1 59 %, PC2 27 %).

3.3.3 Mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsahillon sekä niistä sekoitettujen malliväärennösten kivennäisaineprofiilit

Puhtaan mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsahillon kivennäisainekoostumukset

Omena-, päärynä- ja kurpitsahillojen kivennäisainekoostumukset erosivat mansikkahillon kivennäisainekoostumuksesta (taulukko 11). Puhdashillojen ja niistä sekoitettujen malliväärennösten alkuperäistulokset on koottu liitteeseen 8. Kurpitsahillossa oli enemmän useimpia määritettyjä kivennäisaineita kuin mansikkahillossa, mutta omena- ja päärynähilloissa oli puolestaan vähemmän useimpia määritettyjä kivennäisaineita kuin mansikkahillossa. Selkeimpiä eroja neljän hillon kuiva-aineen kivennäisaineprofiileissa oli kalsiumin, kaliumin, magnesiumin, fosforin ja rikin pitoisuuksissa. Lisäksi mansikkahillossa oli enemmän mangaania kuin muissa hilloissa. Mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsahillojen tuloksista alkuaineittain laskettujen variaatiokertoimien avulla arvioitiin vaihtelua eri kasvilajeista tehtyjen hillojen kivennäisaineprofiileissa. Variaatiokertoimet olivat: Mn (131 %), S (113 %), Si (107 %), Mo (90 %), P (78 %), Mg (77 %), Ca (65 %), Cd (58 %), Zn (54 %), Pb (50 %), K (44 %), B (42 %), Cu (35 %), Fe (29 %) ja Al (9 %).

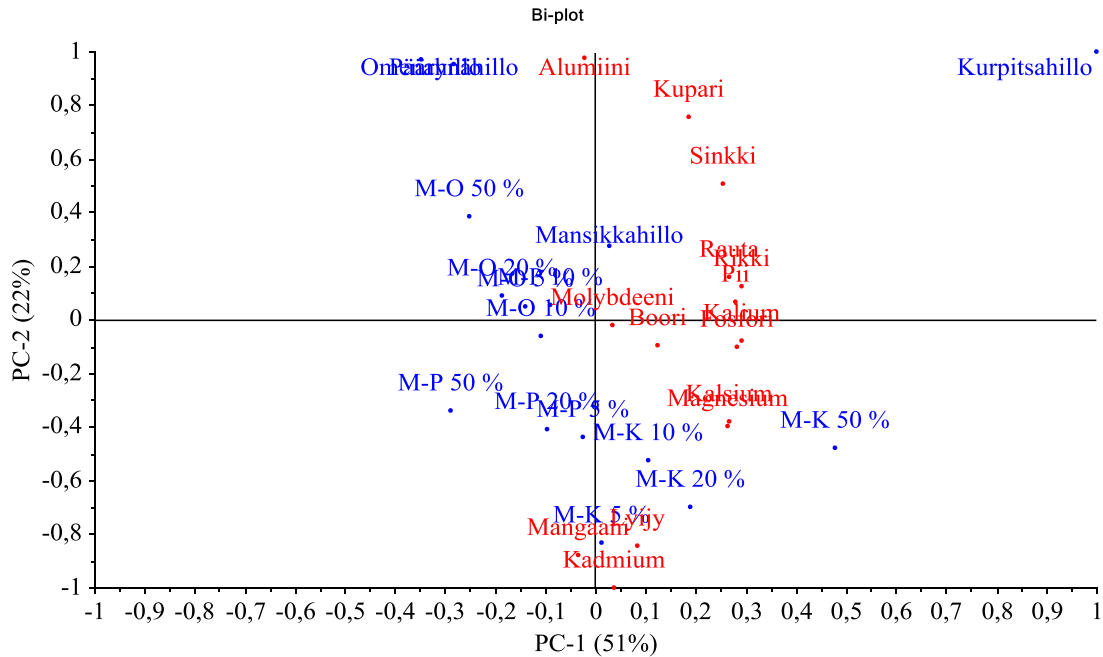
Taulukko 11. Mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashillojen kuiva-aineen kivennäisaineprofiilit (vasemmalla alkuperäiset mittaustulokset ja oikealla sokeripitoisuus otettu laskennallisesti huomioon olettaen kaiken kuiva-aineen olevan peräisin mansikoista).

Alku- aine	Alkuperäistulokset				Sokeripitoisuus otettu huomioon			
	Mansikka- hillo mg/kg	Omena- hillo mg/kg	Päärynä- hillo mg/kg	Kurpitsa- hillo mg/kg	Mansikka- hillo mg/kg	Omena- hillo mg/kg	Päärynä- hillo mg/kg	Kurpitsa- hillo mg/kg
Al	2,7	2,2	2,3	2,3	30	25	25	25
B	3,8	1,9	5,0	5,9	42	21	55	65
Ca	164	49	67	221	1 803	544	739	2 429
Cd	0,003	0,001	0,003	0,001	0,034	0,013	0,035	0,016
Cu	0,7	1,3	1,1	1,7	8	14	12	19
Fe	4,0	2,8	2,8	5,0	44	31	30	55
K	1 758	1 239	1 325	2 974	19 338	13 627	14 575	32 710
Mg	115	31	35	172	1 261	346	389	1 887
Mn	2,6	0,3	0,3	0,3	29	3	3	3
Mo	0,14	0,00	-0,01	0,10	1,54	-0,03	-0,08	1,09
P	215	75	59	352	2 369	826	654	3 875
Pb	-0,096	0,022	-0,029	0,046	-1,057	0,246	-0,322	0,510
S	67	30	28	250	735	327	308	2 753
Si	6,6	8,7	9,9	46,5	73	96	108	511
Zn	1,5	1,4	2,1	4,0	17	15	24	45

Hilloseoksien erottuminen puhtaasta mansikkahillosta

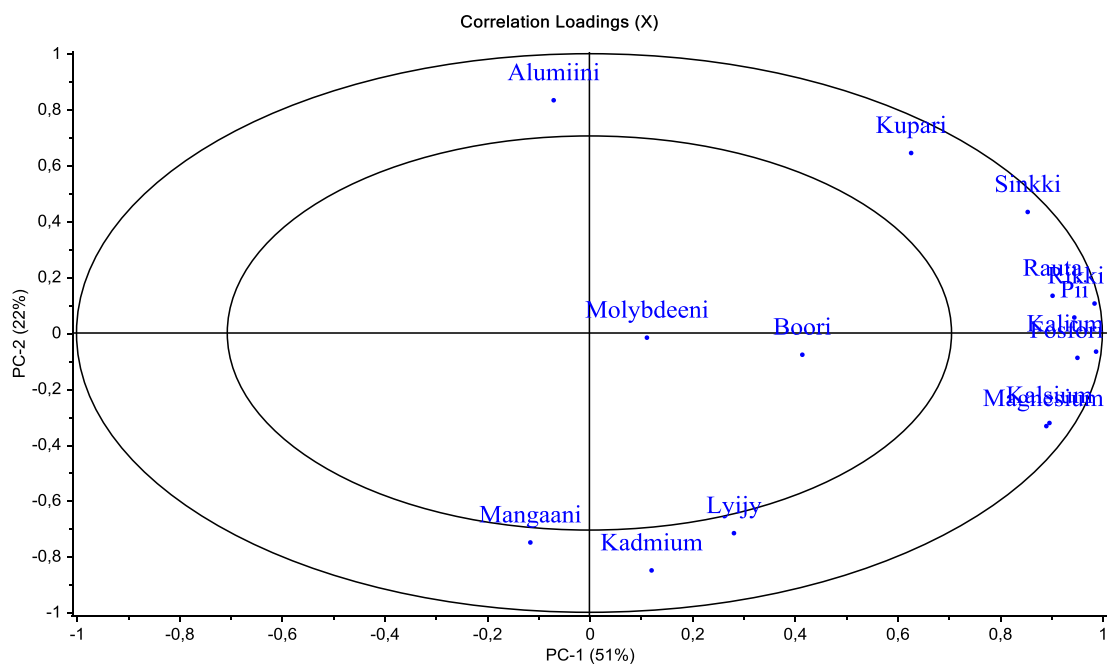
Puhdashillojen ja hilloseosten erottelu toisistaan pääkomponenttianalyysin avulla

Kaikkien viidentoista määritetyn alkuaineen perusteella tehdyssä pääkomponentti-analyysissä mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashillot erottuivat toisistaan, mutta niistä sekoitetut malliväärennökset (5 %, 10 %, 20 % ja 50 %) eivät jakaantuneet kovin selvästi niiden hillojen välille, joista ne oli sekoitettu (kuva 16). Pääkomponentti-analyysin selitysaste oli riittävä (PC1 51 %, PC2 22 %, yhteensä 73 %).



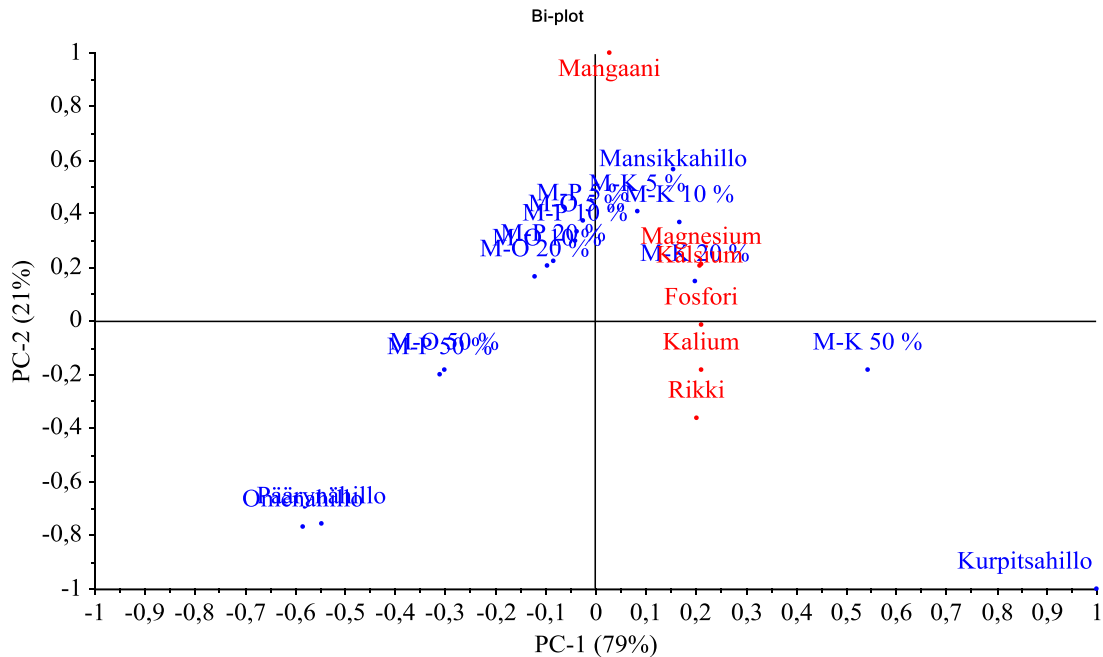
Kuva 16. Pääkomponenttianalyysi mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashillojen sekä niistä sekoitettujen hilloseoksien (5 %, 10 %, 20 % ja 50 %) eroista (bi-plot-kuvaaja). Lyhenteiden selitykset: M-O = mansikka–omena, M-P = mansikka–päärynä ja M-K = mansikka–kurpitsa. PCA:n tekemiseen käytetyt muuttujat eli alkuaineet (punaisella): Al, B, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, P, Pb, S, Si, Zn. Sinisellä tekstillä PCA:n tekemiseen käytetyt näytteet. Kokonaisselitysaste 73 % (PC1 51 %, PC2 22 %).

Muuttujien merkitystä pääkomponenttianalyysissä tarkasteltiin mansikkahilloista omena-, päärynä- ja kurpitsahillon kanssa sekoitettuja malliväärennöksiä sisältävässä aineistossa tilastollisesti korrelaatiokuvaajan avulla. Korrelaatiokuvaajassa sisemmän ellipsin sisälle sijoittuneet muuttujat eivät sisältäneet tarpeeksi järjestelmällistä vaihtelua, jotta niiden perusteella olisi voitu erottaa aineiston näytteitä toisistaan. Korrelaatiokuvaajan (kuva 17) perusteella Mo ja B eivät olleet kyseisen aineiston vaihtelun kannalta tärkeitä kuvaavia muuttujia. Muuttujien karsinta korrelaatiokuvaajan perusteella ei ollut tässä tapauksessa mielekäästä, koska myös osa määritysrajojen alle jääneistä muuttujista (Al, B, Cd, Mo, Pb) oli tilastollisesti merkitseviä.



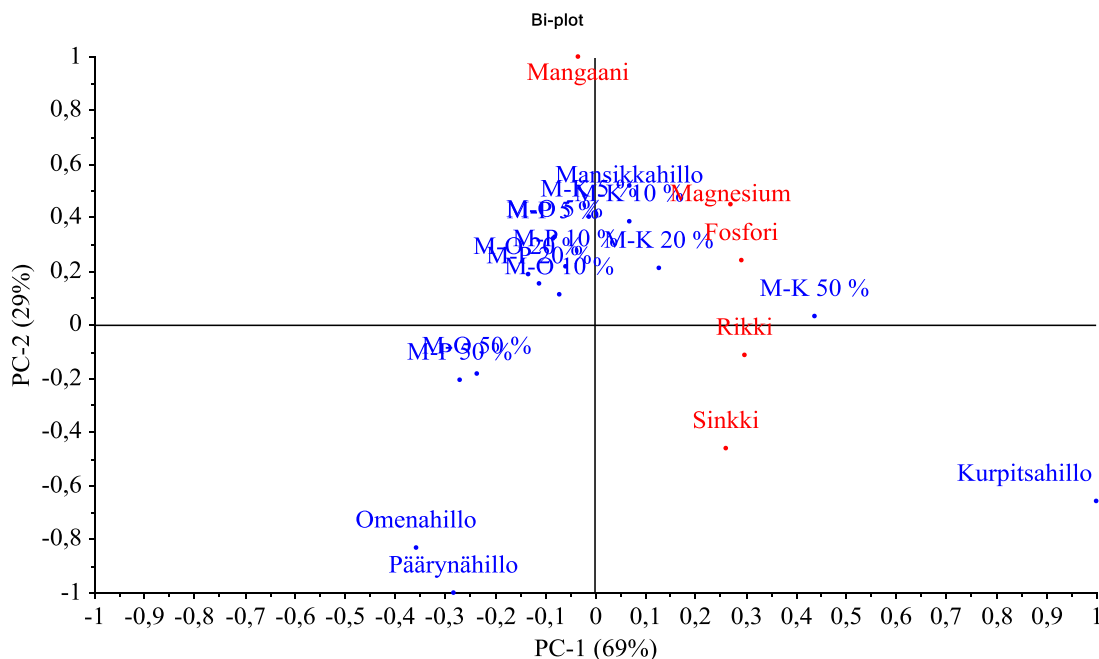
Kuva 17. Korrelaatiokuvaaja mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashillot sekä niistä sekoitetut hilloseokset (5 %, 10 %, 20 % ja 50 %) sisältävän aineiston muuttujista (Correlation Loadings (X) -kuvaaja). PCA:n tekemiseen käytetyt alkuaineet (sinisellä): Al, B, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, P, Pb, S, Si, Zn. Kokonaisselitysaste 73 % (PC1 51 %, PC2 22 %).

PCA-kuvan selkeys parani huomattavasti verrattuna kaikkien viidentoista alkuaineen perusteella tehtyyn ja malliväärennökset ryhmittivät puhdashillojen välille sekoitus-suhteidensa mukaiseen järjestykseen (kuva 18), kun pääkomponenttianalyysiin käytettiin eniten puhdashillojen koostumuksissa (taulukko 11) eronneita alkuaineita (K, Ca, P, S, Mg ja Mn). Samalla selitysaste nousi 100 %:iin aineiston kokonaisvaihtelusta (PC1 79 %, PC2 21 %).



Kuva 18. Pääkomponenttianalyysi mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashillojen sekä niistä sekoitettujen hilloseosten (5 %, 10 %, 20 % ja 50 %) eroista mallilla, jonka muuttujat on valittu tarkastelemalla eri hillojen kivennäisainekoostumuksissa havaittavaa vaihtelua silmämääräisesti alkuperäistuloksia vertaamalla (bi-plot-kuvaaja). Lyhenteiden selitykset: M-O = mansikka-omena, M-P = mansikka-päärynä ja M-K = mansikka-kurpitsa. PCA:n tekemiseen käytetyt muuttujat eli alkuaineet (punaisella): K, Ca, P, S, Mg ja Mn. Sinisellä tekstillä PCA:n tekemiseen käytetyt näytteet. Kokonais selitysaste 100 % (PC1 79 %, PC2 21 %).

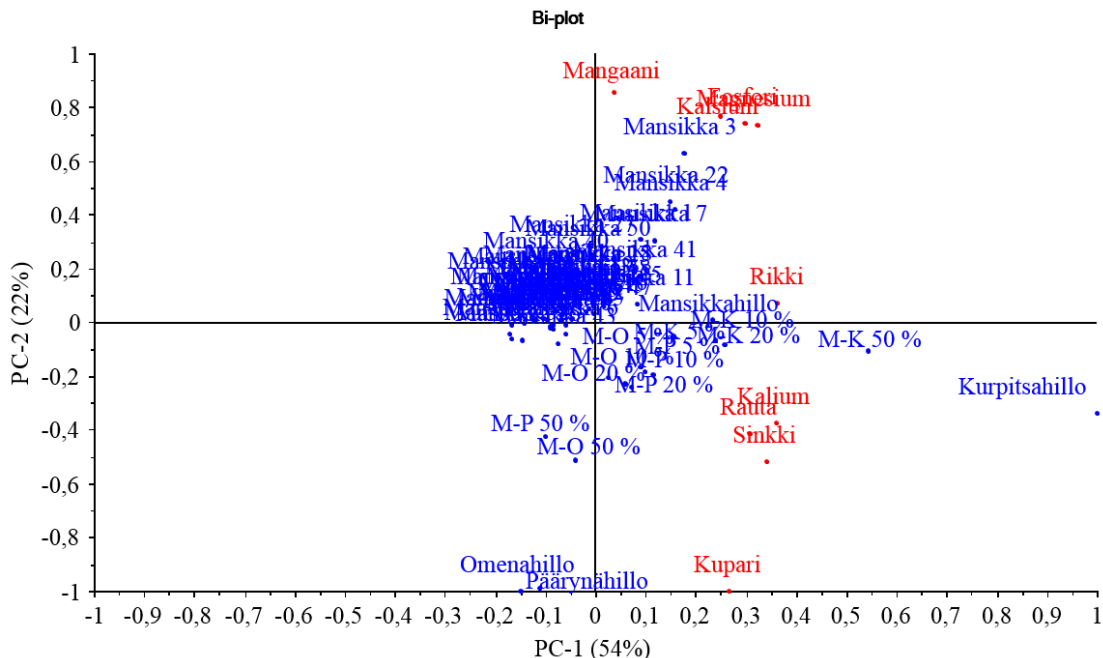
Kaupallisten mansikkahillojen kalsiumin ja kaliumin määrä voi vaihdella lisäainekäytön vaikutuksesta, joten hilloseosten erottumista mansikkahillosta testattiin myös mallilla, josta kalsium ja kalium oli poistettu (kuva 19). Pääkomponenttianalyysin perusteella lajien erottuminen toisistaan ei välttämättä riipu kalsiumin ja kaliumin käyttämisestä mallissa (selitysaste 98 % aineiston kokonaisvaihtelusta, PC1 69 % ja PC2 29 %).



Kuva 19. Pääkomponenttianalyysi mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashillojen sekä niistä sekoitettujen hilloseosten (5 %, 10 %, 20 % ja 50 %) eroista mallilla, jossa ei ole huomioitu hillojen lisäaineissa yleisesti esiintyviä kaliumia ja kalsiumia (bi-plot-kuvaaja). Lyhenteiden selitykset: M-O = mansikka–omena, M-P = mansikka–päärynä ja M-K = mansikka–kurpitsa. PCA:n tekemiseen käytetyt muuttujat eli alkuaineet (punaisella): Mn, Mg, P, S ja Zn. Sinisellä tekstillä PCA:n tekemiseen käytetyt näytteet. Kokonaisselitysaste 98 % (PC1 69 %, PC2 29 %).

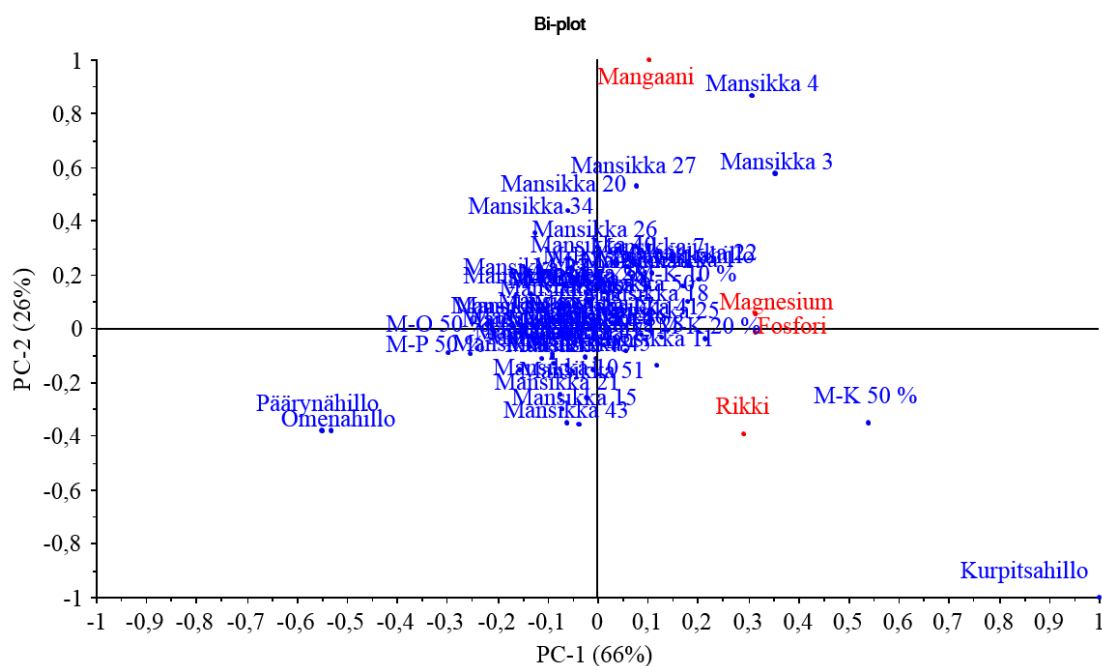
Puhdasmansikkahillon ja mansikoiden kivennäisaineprofiilien vastaavuus

Pääkomponenttianalysejä tehtiin myös lisäämällä puhdashilloja ja hilloseoksia sisältävään aineistoon mansikka-aineiston ($n = 51$) kivennäisaineprofiilit, jotta nähtäisiin, miten mansikan sisäinen vaihtelu vaikuttaa PCA-kuviin ja omena-, päärynä- ja kurpitsahillon sekä malliväärennösten erottumiseen sekä vastaako puhdasmansikkahillon kivennäisaineprofiili mansikoiden profiilia. Pääkomponenttianalyysiin valittiin mansikka-aineistossa pienimmät variaatiokertoimet saaneet alkuaineet (kuva 20). Lajien välinen vaihtelu vaikuttaisi olevan suurempaa ja erisuuntaista kuin mansikan sisäinen vaihtelu, sillä mansikat ovat ryhmittyneet kuvan keskivaiheille yhteen, ja omena-, päärynä- ja kurpitsahillot ovat sijoittuneet kuvassa aivan vastakkaisiin suuntiin kuin mansikat. Toisaalta myös puhdasmansikkahillo on hieman erossa mansikoista.



Kuva 20. Pääkomponenttianalyysi mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashilloista sekä niistä sekoitetuista hilloseoksista (5 %, 10 %, 20 % ja 50 %) yhdessä mansikka-aineiston ($n = 51$) kanssa (bi-plot-kuvaaja). PCA-kuvan tekoon käytetyt muuttujat eli alkuaineet (punaisella): Mg, K, P, S, Cu, Ca, Fe, Zn, Mn. Muuttujien valinta perustui niiden pieneen variaatiokertoimeen mansikka-aineistossa. Sinisellä tekstillä PCA:n tekemiseen käytetyt näytteet. Lyhenteiden selitykset: M-O = mansikka–omena, M-P = mansikka–päärynä ja M-K = mansikka–kurpitsa. Kokonaisselitysaste 76 % (PC1 54 %, PC2 22 %).

Toisaalta esimerkiksi vähennettäessä pääkomponenttianalyysin tekemiseen käytettävien alkuaineiden määrä vain neljään (Mn, Mg, P ja S) mansikkahillo ryhmittyi täysin mansikoiden joukkoon ja osa hilloseoksista jäi mansikan sisäisen vaihtelun alle, mutta eri kasvilajien puhdashillot erottuivat edelleen mansikoista (kuva 21). Pääkomponenttianalyysi selitti 92 % tulosaineiston vaihtelusta (PC1 66 % ja PC2 26 %). Mansikkahillon kivennäisaine-profiili oli mahdollista saada laskennallisesti vastaamaan mansikoiden kivennäisaine-profiilia.

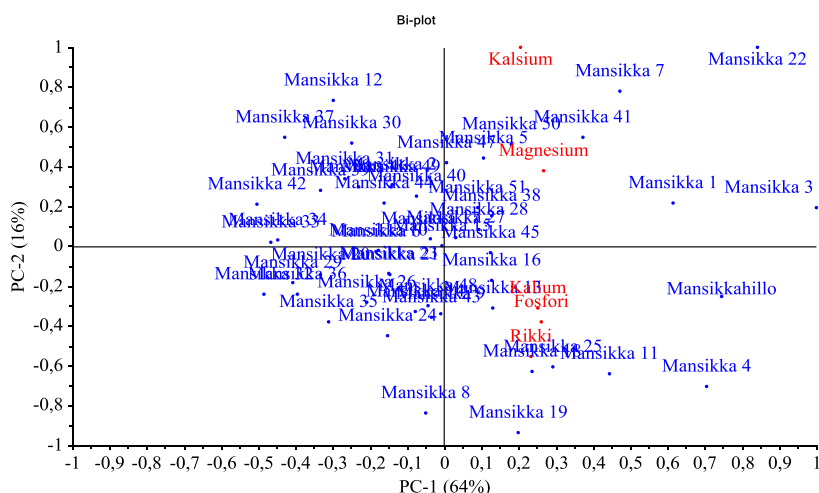


Kuva 21. Pääkomponenttianalyysi mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashilloista sekä niistä sekoitetuista hilloseoksista (5 %, 10 %, 20 % ja 50 %) yhdessä mansikka-aineiston ($n = 51$) kanssa (bi-plot-kuvaaja). PCA-kuvan tekoon käytetyt muuttujat eli alkuaineet (punaisella): Mn, Mg, P ja S. Sinisellä tekstillä PCA:n tekemiseen käytetyt näytteet. Lyhenteiden selitykset: M-O = mansikka–omena, M-P = mansikka–päärynä ja M-K = mansikka–kurpitsa. Kokonaisselitysaste 92 % (PC1 66 %, PC2 26 %).

Puhdashillojen ja hilloseosten luokittelu 95 %:n todennäköisyydellä SIMCA-malleilla

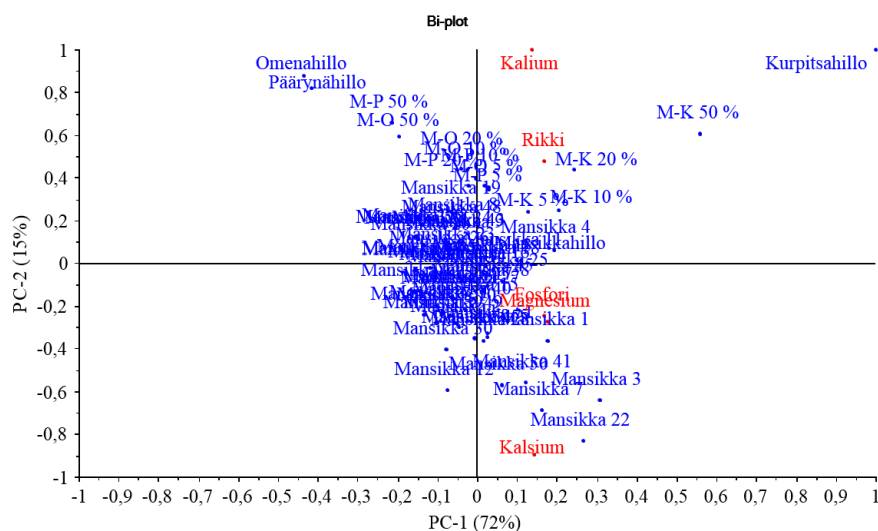
Mansikkahilloseoksien sekä omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashillojen tilastolliseen luokitteluun kokeiltiin useita erilaisiin kivennäisaineprofiileihin perustuvia SIMCA-malleja, joissa mallinnussarja koostui mansikoiden ja puhdasmansikkahillon kivennäisaineprofiileista ja testisarja vastaavasti mansikoiden, puhdashillojen ja malliväärennösten tuloksista (taulukko 12). Käytännössä mallit siis luokittelivat, kuuluvatko testiryhmän näytteet 95 %:n todennäköisyydellä samaan luokkaan mansikoiden ja puhdasmansikkahillon kanssa vai eivät. Kaikki testatut mallit, erimerkiksi kaikkien viidentoista mitatun muuttujan perusteella tehty malli tai mansikka-aineiston variaatiokertoimien perusteella tehty malli (Mg, K, P, S, Cu, Ca, Fe, Zn, Mn), eivät luokitelleet edes puhdasmansikkahilloa samaan luokkaan mansikoiden kanssa. Puhdasmansikkahillo saatiin luokiteltua mansikoiden kanssa samaan joukkoon vasta vähentämällä luokitteluun käytettävien alkuaineiden määrää: mansikkahillon oikein luokitelleiden SIMCA-mallien ennusteiden tulokset on koottu taulukkoon 12. Alkuaineiden valinnassa kiinnitettiin huomiota siihen, että niiden pitoisuus näytteissä ylitti ICP-OES-menetelmän määrittämissä rajat, vaihtelu mansikka-aineiston sisällä oli pientä ja toisaalta vaihtelu mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsahillojen välillä oli mahdollisimman suurta.

Esimerkin vuoksi esitetään viiteen alkuaineeseen (Ca, K, Mg, P, S) perustuvan SIMCA-mallin tekoon käytetyn mallinnussarjan pääkomponenttianalyysi (kuva 22).



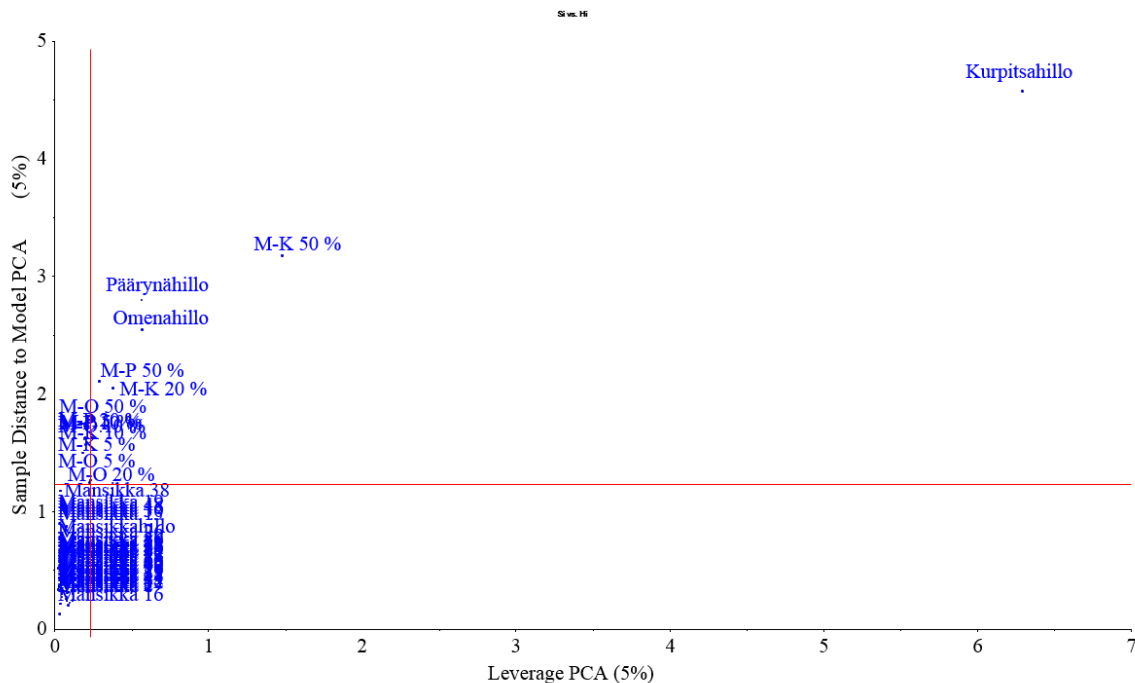
Kuva 22. Pääkomponenttianalyysi SIMCA-mallin tekoon käytystä mallinnussarjasta, eli mansikkänäytteet ($n = 51$) ja mansikkapuhdashillo yhdessä PCA-kuvassa (bi-plot-kuvaaja). Punaisella tekstillä muuttujat eli alkuaineet: Ca, K, Mg, P, S. Sinisellä tekstillä näytetiedot. Kokonaisselitysaste 80 % (PC1 64 %, PC2 16 %).

Samana aineiston testisarja on esitetty PCA-kuvana alla (kuva 23). Testisarjaa peilattiin SIMCA-mallissa mallinnussarjan perusteella tehtyyn pääkomponenttianalyysiin (kuva 22).



Kuva 23. Pääkomponenttianalyysi SIMCA-mallin tekoon käytystä testisarjasta, eli mansikkänäytteet ($n = 51$) ja mansikkapuhdashillo sekä omena-, päärinä ja kurpitsahillo ja niistä sekoitetut mallivärennökset yhdessä PCA-kuvassa (bi-plot-kuvaaja). Punaisella tekstillä muuttujat eli alkuaineet: Ca, K, Mg, P, S. Sinisellä tekstillä näytetiedot. Kokonaisselitysaste 87 % (PC1 72 %, PC2 15 %).

Eri puhdashillot erosivat selvimmin toisistaan kalsiumin, kaliumin, magnesiumin, fosforin ja rikin pitoisuuksissa (taulukko 11), minkä lisäksi edellä mainittujen alkuaineiden variaatiokertoimet olivat melko pieniä mansikka-aineistossa (taulukko 10). Näiden alkuaineiden perusteella tehty SIMCA-malli luokittelikin puhdashillot ja hilloseokset todella tarkasti: mansikkahillo luokiteltiin oikein mansikoiden joukkoon, kaikki puhdashillot ja niistä mansikkahillon kanssa sekoitetut malliväärennökset luokiteltiin muihin kuin mansikkanäytteiden ja mansikkapuhdashillon muodostamaan luokkaan ja mansikkanäytteistä vain yksi uudelleenluokiteltiin väärin 95 %:n luottamustasolla (taulukko 12). Sama asia voidaan esittää tarkemmin myös kuvana: punaisilla viivoilla rajattuun vasempaan alakulmaan jäävät näytteet täyttävät mallin molemmat ehdot (kuva 24). Vastaavasti oikeaan reunaan rajatulle alueelle sijoittuvat näytteet eivät täytä mallin kumpaakaan ehtoa.



Kuva 24. Mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashillojen sekä niistä sekoitettujen malliväärennösten (5 %, 10 %, 20 % ja 50 %) luokittelu SIMCA-mallin perusteella (Si vs. Hi -kuvaaja). Mallinnussarja: mansikoiden ($n = 51$) ja mansikkapuhdashillon ($n = 1$) kivennäisaineprofiilit (Ca, K, Mg, P ja S). Testisarja: mansikoiden ($n = 51$), puhdashillojen ($n = 4$) ja seoshillojen ($n = 12$) kivennäisaineprofiilit (Ca, K, Mg, P ja S). Lyhenteiden selitykset: M-O = mansikka–omena, M-P = mansikka–päärynä ja M-K = mansikka–kurpitsa.

SIMCA-mallien luokittelutarkkuus riippui kivennäisaineprofiiliin käytetyistä alkuaineista (taulukko 12). Luokittelun onnistumisprosenttia %CC (engl. Correct Classification) seurattiin luokittelemalla mallin tekemiseen käytettyä mansikka-aineistoa uudelleen ja se oli mallista riippuen 96–98 %. Teoriassa kivennäisaineprofiilin (Ca, K, Mg, P ja S tai Ca, K, Mg, P, S ja Mn) perusteella oli siis mahdollista ennustaa 95 %:n todennäköisyydellä jopa vain 5 % omenaa, päärynää tai kurpitsaa sisältävän hillon olevan väärennös.

Taulukko 12. Kokoomataulukko SIMCA-mallien kyvystä erottaa omena-, päärynä- ja kurpitsahillo sekä niistä sekoitetut malliväärennökset aidosta mansikkahillosta. Mallinnussarja: mansikoiden ($n = 51$) ja mansikkapuhdashillon ($n = 1$) kivennäisaineprofiilit. Testisarja: mansikoiden ($n = 51$), puhdashillojen ($n = 4$) ja seoshillojen ($n = 12$) kivennäisaineprofiilit. Merkintä ”x” tarkoittaa, että näyte kuuluu ennusteen mukaan mansikoiden ja mansikkapuhdashillon kanssa samaan luokkaan, eli on mallin perusteella aito mansikkahillo.

Mallin numero ^{*)}	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Näyte									
<i>Puhdashillot ja hilloseokset^{**)}</i>									
Mansikkahillo	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Omenahillo									
Päärynähillo									
Kurpitsahillo									
Mansikka–omenahillo 5 %	x		x	x	x			x	x
Mansikka–omenahillo 10 %			x	x					
Mansikka–omenahillo 20 %	x		x	x	x	x			x
Mansikka–omenahillo 50 %				x					
Mansikka–päärynähillo 5 %	x		x	x	x				x
Mansikka–päärynähillo 10 %	x		x	x					x
Mansikka–päärynähillo 20 %	x		x	x	x				x
Mansikka–päärynähillo 50 %	x			x					
Mansikka–kurpitsahillo 5 %	x		x	x	x			x	x
Mansikka–kurpitsahillo 10 %	x		x	x	x				x
Mansikka–kurpitsahillo 20 %									
Mansikka–kurpitsahillo 50 %									
<i>Mansikkanäytteiden uudelleenluokittelu^{***)}</i>									
Luokiteltu oikein (kpl)	49	50	50	49	49	50	50	50	49
Luokiteltu väärin (kpl)	2	1	1	2	2	1	1	1	2
Luokittelun onnistumisprosentti (%CC)	96	98	98	96	96	98	98	98	96

^{*)} Malleihin käytetyt kivennäisaineprofiilit:

Malli 1: Zn, Mn, Mg, P, S

Malli 4: Mn, Mg, P, S

Malli 7: Ca, K, Mn, Mg, P, S

Malli 2: Ca, K, Mg, P, S

Malli 5: Ca, Zn, Mn, Mg, P, S

Malli 8: Fe, K, Ca, Zn, Mn, Mg, P, S

Malli 3: Mg, P, S

Malli 6: K, Ca, Zn, Mn, Mg, P, S

Malli 9: Fe, Zn, Mn, Mg, P, S

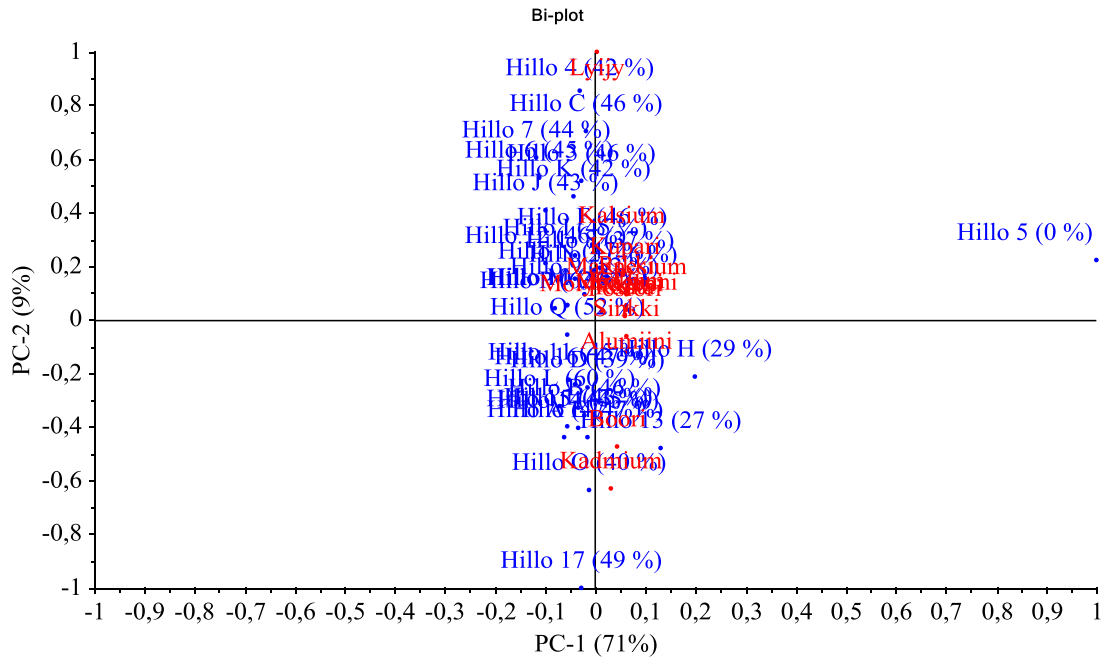
^{**)} Merkintä ”x” tarkoittaa, että näyte on luokiteltu SIMCA-ennusteen mukaan 95 %:n todennäköisyydellä mansikoiden ja mansikkapuhdashillon muodostamaan ryhmään kivennäisaineprofiilinsa perusteella.

^{***)} Mallien toimintaa tarkasteltiin luokittelemalla mallin tekemiseen käytettyä mansikka-aineistoa ($n = 51$) uudestaan kuten ne olisivat tuntemattomia näytteitä.

3.3.4 Kaupallisten mansikkahillojen kivennäisaineprofiilit

Sokerin määrän huomioon ottamisen vaikutus hillojen kivennäisaineprofiileihin

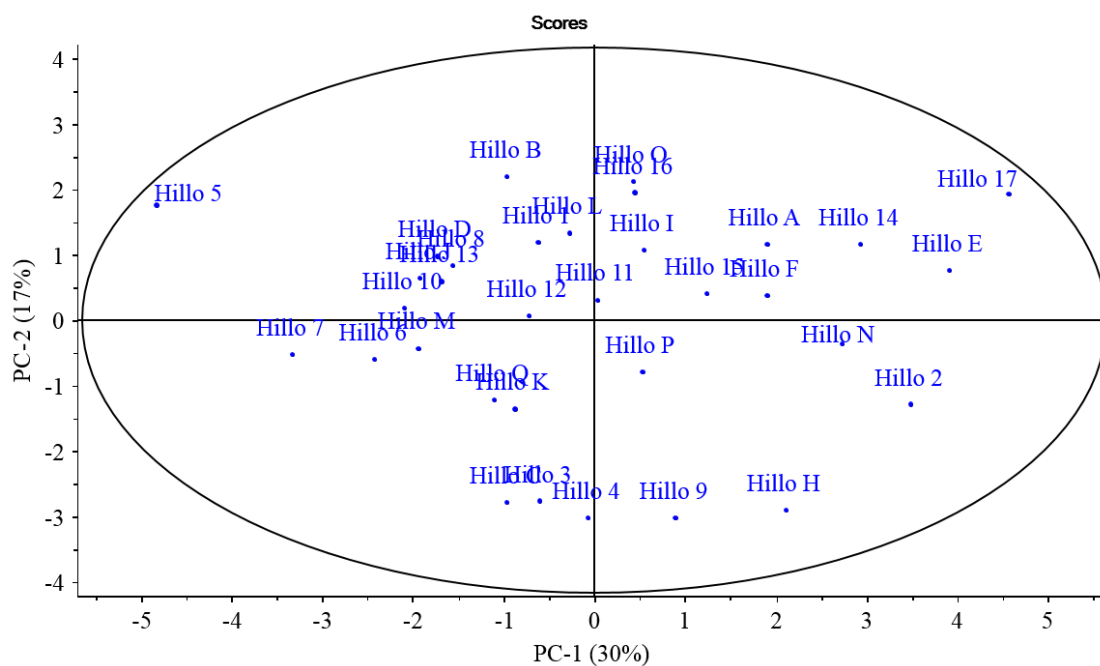
Kaupallisten mansikkahillojen kivennäisainemääritysten alkuperäistulokset on koottu liitteeseen 9 taulukoihin 1 ja 2. Sokerin määrän huomioon ottamisella havaittiin ennakkoodotusten mukaisesti olevan suuri vaikutus hillojen kivennäisaineprofiileihin. Eri määrillä sokeria laimentaminen vaikuttaa kuiva-aineesta määritettyihin kivennäisaineprofiileihin (kuva 25). Laimentamaton mansikkasose (hillo 5) on erottunut oikeaan reunaan muiden hillojen ryhmittäessä keskelle (selityssaste yhteensä 80 %, PC1 71 %, PC2 9 %).



Kuva 25. Pääkomponenttianalyysi kaupallisten hillonäytteiden eroista ilman sokeripitoisuuden huomioimista (bi-plot-kuvaaja). PCA:n tekemiseen käytetyt muuttujat eli alkuaineet (punaisella): Al, B, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, P, Pb, S, Si, Zn. Sinisellä tekstillä PCA:n tekemiseen käytetyt näytteet eli kaupalliset mansikkahillot ($n = 33$). Kokonaisselityssaste 80 % (PC1 71 %, PC2 9 %).

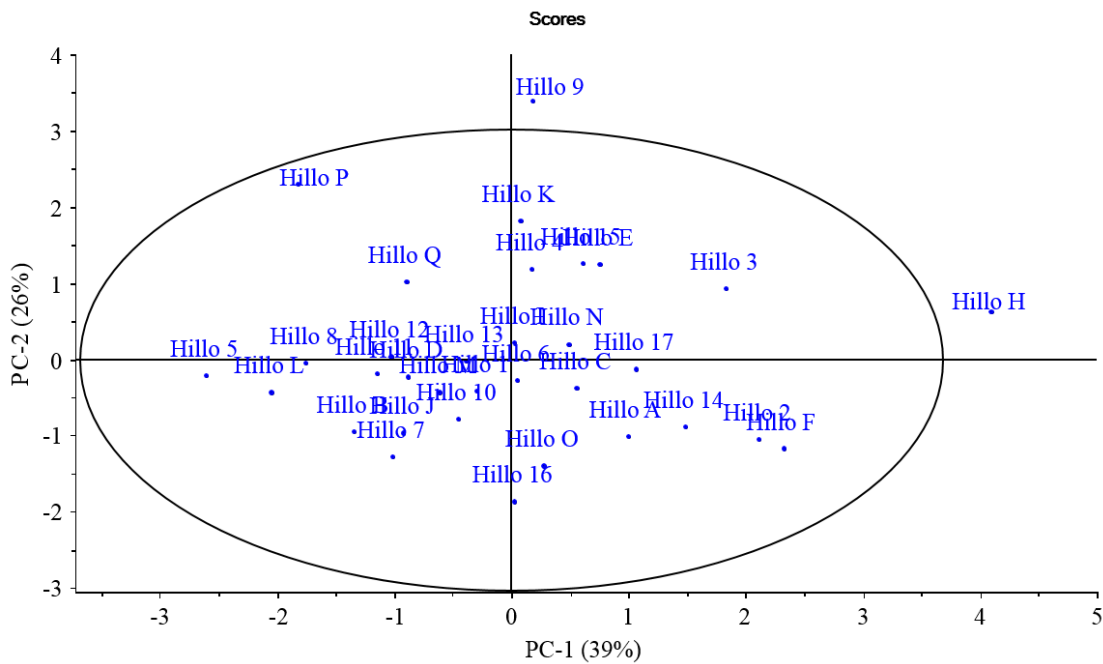
Kaupallisten mansikkahillojen kivennäisaineprofiilien erot

Vähittäiskaupasta ostettujen mansikkahillojen kivennäisaineprofiilien erot sokeripitoisuus huomioon otettuna on esitetty pääkomponenttianalyysinä yhdessä kaikkien 15 mitatun alkuaineen kanssa (kuva 26). Pääkomponenttianalyysin selitysaste on matala (PC1 30 %, PC2 17 %, yhteensä 47 %). Hillot ovat jakaantuneet ympäri kuvaa laajalle alueelle, eli aineistosta ei ole erottunut kovin selkeitä ryhmittymiä. Kaikki hillonäytteet ovat Hotelling T^2 -ellipsin sisäpuolella, eli viidentoista alkuaineen muodostaman profiilin perusteella mikään näytteistä ei ole ääriarvo. Tämä voi tarkoittaa sitä, että aineiston mansikkahilloissa ei ollut keskenään suuria eroja.



Kuva 26. Pääkomponenttianalyysi kaupallisten hillonäytteiden eroista sokeripitoisuuden vaikutus laskennallisesti korjattuna (Hotelling T^2 -kuvaaja). PCA:n tekemiseen käytetyt muuttujat eli alkuaineet: Al, B, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, P, Pb, S, Si, Zn. Sinisellä tekstillä PCA:n tekemiseen käytetyt näytteet eli kaupalliset mansikkahillot ($n = 33$). Kokonaisselitysaste 47 % (PC1 30 %, PC2 17 %).

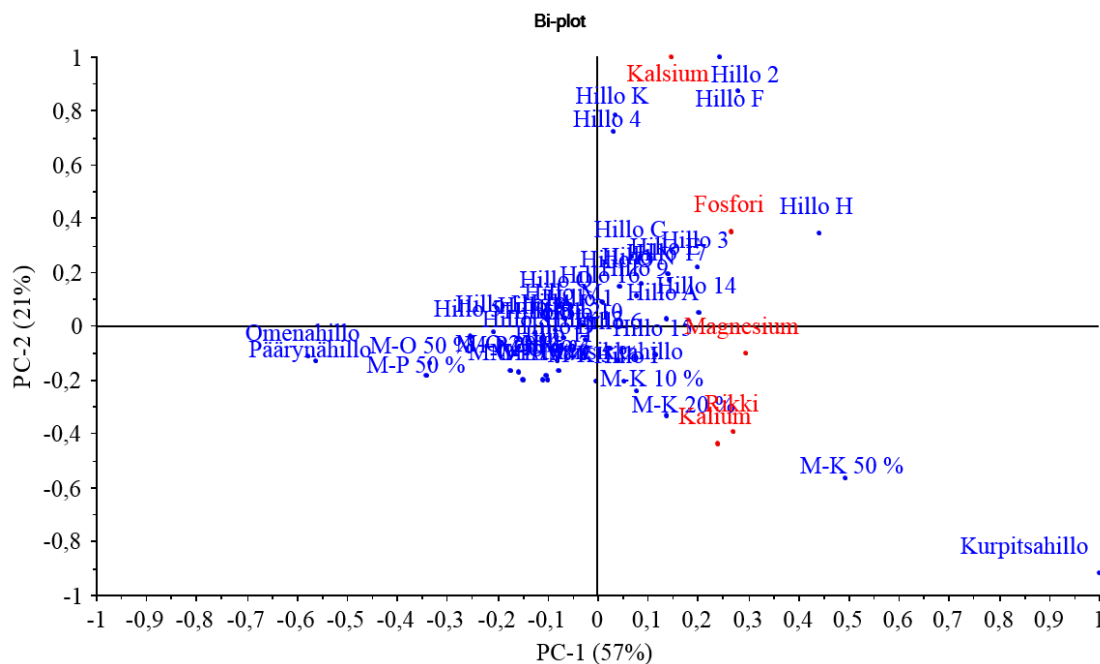
Samasta vähittäiskaupasta ostettujen mansikkahillojen kivennäisaineprofiilit sisältävästä aineistosta tehtiin pääkomponenttianalyysi myös hilloseosten tulosten perusteella valikoiduilla alkuaineprofiileilla (Ca, K, Mg, P, S) sokeripitoisuus huomioon ottaen (kuva 27). Hotelling T^2 -ellipsin perusteella hillot 9 ja H olivat aineistosta poikkeavia ääriarvoja. Valtaosa näytteistä on jakaantunut melko laajalle alueelle kuvassa, eikä havaittavissa ole kovin selkeitä ryhmittymiä. Pääkomponenttianalyysin selitysaste on kuitenkin matala (PC1 39 %, PC2 26 %, yhteensä 65 %). Tämäkin viittaa siihen, että kaupallisten mansikkahillojen kivennäisaineprofiileissa ei ollut keskenään kovin suuria eroja.



Kuva 27. Pääkomponenttianalyysi kaupallisten hillonäytteiden eroista sokeripitoisuuden vaikutus laskennallisesti korjattuna (Hotelling T^2 -kuvaaja). PCA:n tekemiseen käytetyt muuttujat eli alkuaineet: Ca, K, Mg, P, S. Sinisellä tekstillä PCA:n tekemiseen käytetyt näytteet eli kaupalliset mansikkahillot ($n = 33$). Kokonaisselitysaste 65 % (PC1 39 %, PC2 26 %).

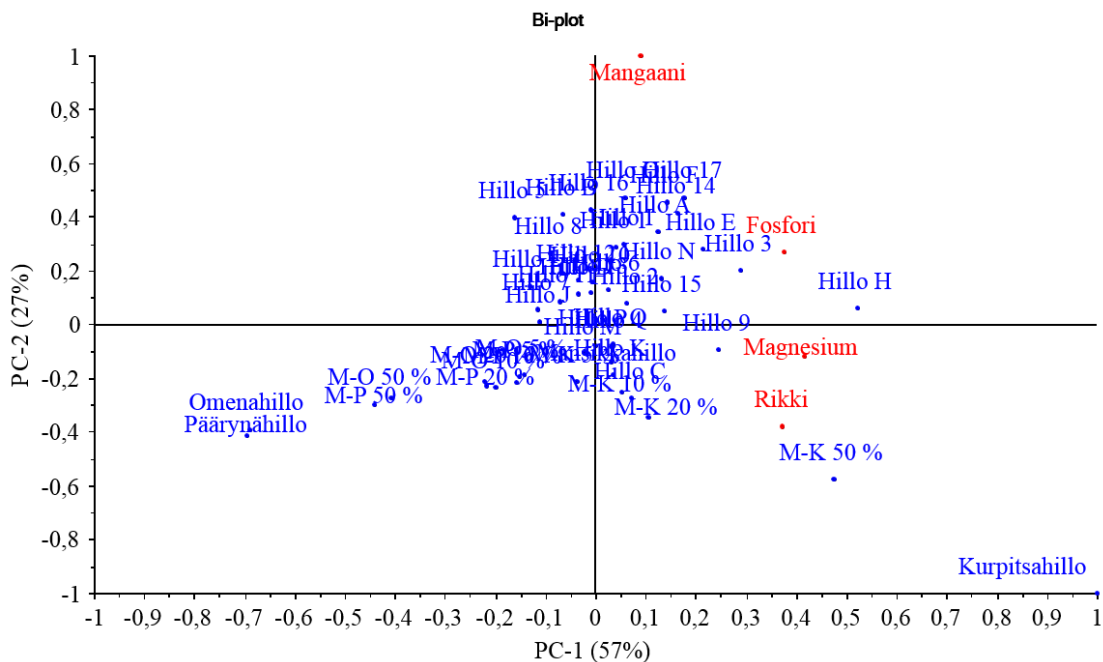
Kaupallisten mansikkahillojen ja eri hilloseosten erottuminen toisistaan

Aiemmin esitetyn pääkomponenttianalyysin (kuva 27) tekemiseen käytettiin kaupallisten mansikkahillojen lisäksi aitoja mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsahilloja sekä niistä sekoitettuja malliväärennöksiä (kuva 28). Omena-, päärynä-, kurpitsa- ja mansikkapuhdas-hillot erottuvat hyvin toisistaan. Lisäainekalsiumia sisältäneet näytteet (hillot 2, 4, F ja K) ryhmittäytyvät eron muista hilloista suuremman kalsiumpitoisuutensa vuoksi. Hillo H erottui hieman muiden hillojen muodostamasta joukosta. Pääkomponenttianalyysin selityssaste nousi 78 %:iin (PC1 57 % ja PC2 21 %).



Kuva 28. Pääkomponenttianalyysi kaupallisten hillonäytteiden ($n = 33$) sekä omena-, päärynä- ja kurpitsahillon sekä niistä sekoitettujen malliväärennösten eroista (bi-plot-kuvaaja). PCA:n tekemiseen käytetyt muuttujat eli alkuaineet (punaisella): Ca, K, Mg, P, S. Sinisellä tekstillä PCA:n tekemiseen käytetyt näytteet. Lyhenteiden selitykset: M-O = mansikka–omena, M-P = mansikka–päärynä ja M-K = mansikka–kurpitsa. Kokonaisselityssaste 78 % (PC1 57 %, PC2 21 %).

Pääkomponenttianalyysiin käytettävien alkuaineiden määrän laskiessa vain neljään (Mn, Mg, P, S) PCA-kuvaan tiivistyy yhä suurempi osa aineiston vaihtelusta (kuva 29): neljällä alkuaineella selittyi jo yhteensä 84 % aineiston kokonaisvaihtelusta (PC1 57 % ja PC2 27 %). Lisäaineina käytettävien kalsiumin ja kaliumin poisto pääkomponenttianalyysistä sai lisäainekalsiumia sisältävät hillot ryhmittymään paremmin muiden mansikkahillonäytteiden joukkoon. Kaupalliset mansikkahillot erottuivat puhdas-mansikkahillosta lähinnä mangaanin vaikutuksesta. Mangaanin variaatiokerroin mansikka-aineistossa (taulukko 10) olikin selkeästi suurempi kuin fosforin, magnesiumin tai rikin.

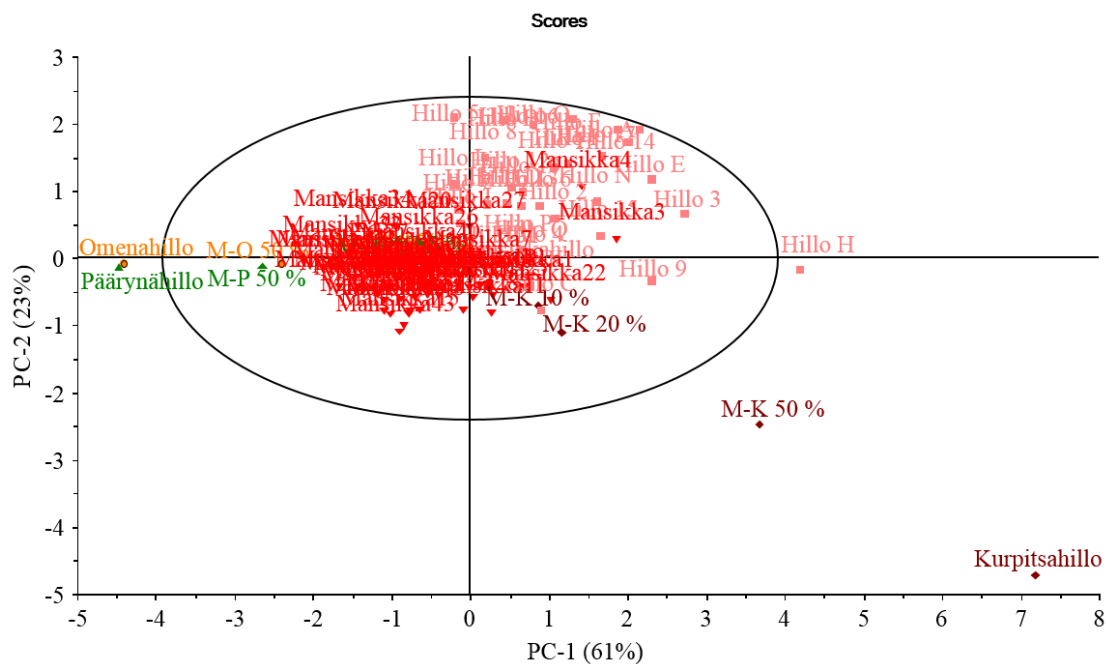


Kuva 29. Pääkomponenttianalyysi kaupallisten hillonäytteiden ($n = 33$) sekä omena-, päärynä- ja kurpitsahillon sekä niistä sekoitettujen malliväärennösten eroista (bi-plot-kuvaaja). PCA:n tekemiseen käytetyt muuttujat eli alkuaineet (punaisella): Mn, Mg, P, S. Sinisellä tekstillä PCA:n tekemiseen käytetyt näytteet. Lyhenteiden selitykset: M-O = mansikka–omena, M-P = mansikka–päärynä ja M-K = mansikka–kurpitsa. Kokonaisselitysaste 84 % (PC1 57 %, PC2 27 %).

3.3.5 Mansikoiden ja mansikkahillojen kivennäisaineprofiilien vastaavuus

Tarkastelu pääkomponenttianalyysin avulla

Mansikan kivennäisaineprofiilin sisäisen vaihtelun vaikutus väärennösten erottumiseen on oleellinen tieto arvioitaessa menetelmän toimivuutta: toisella kasvilajilla jatkettuja hilloväärennöksiä ei voida erottaa, jos lajin sisäinen vaihtelu on suurempaa kuin lajien välinen vaihtelu. Edellä esitetty pääkomponenttianalyysi (kuva 29) tehtiin myös lisäten mansikka-aineisto samaan kuvaan kaupallisten mansikkahillojen sekä omena-, päärynä- ja kurpitsahillojen ja niistä sekoitettujen malliväärennösten kanssa. Mansikka-aineisto ryhmittyi melko hyvin mansikkahillojen kanssa päällekkäin PCA-kuvassa, mikä kuvaa kivennäisaineprofiilien olevan samantyyllisiä (kuva 30). Puhtaat omena-, päärynä- ja kurpitsahillot sekä kurpitsahilloa 50 %:a sisältänyt väärennös erottuivat selkeästi mansikkahilloista ja mansikoista, mutta laimeimmat malliväärennökset jäävät mansikka-aineiston vaihtelun alle. Myös hillo H oli Hotelling T^2 -ellipsin perusteella ääriarvo.



Kuva 30. Pääkomponenttianalyysi mansikat, puhdashillot ja niistä sekoitetut hilloseokset ja kaupalliset mansikkahillot sisältäneestä aineistosta (Hotelling T^2 -kuvaaja). Pääkomponenttianalyysiin on käytetty neljää mitatuista alkuaineista (Mn, Mg, P, S). Lyhenteiden selitykset: M-O = mansikka–omena, M-P = mansikka–päärynä ja M-K = mansikka–kurpitsa.

Tilastollinen luokittelu SIMCA-mallin avulla 95 %:n todennäköisyydellä

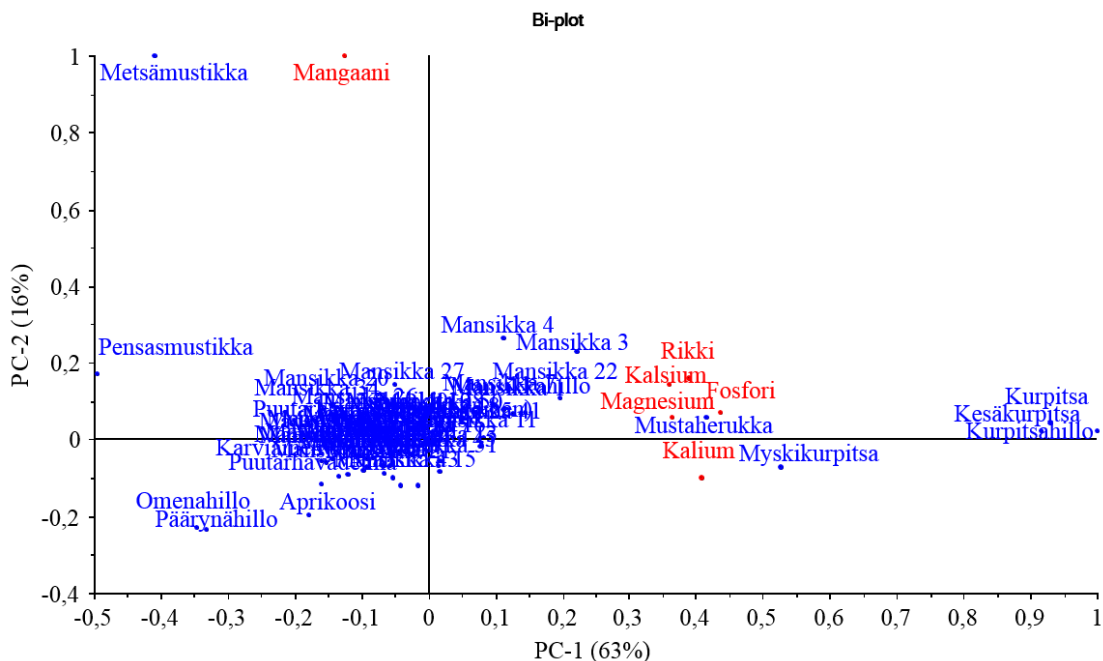
Kaupallisten mansikkahillonäytteiden kuulumista mansikoiden ja mansikkapuhdashillon kanssa samaan ryhmään 95 %:n todennäköisyydellä koskevat SIMCA-luokittelut on koottu taulukkoon 13. Vain hillot Q ja M luokiteltiin systemaattisesti aidoiksi. Viisitoista mansikkahillonäytettä (hillot 3, 9, 13, 14, 15, 17, A, B, C, E, F, H, N, O ja P) luokiteltiin systemaattisesti muuksi kuin mansikkahilloksi. Loput kuusitoista mansikkahillonäytettä (hillot 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 16, K, I, J, D ja L) luokiteltiin SIMCA-mallista riippuen joko aidoksi tai väärennökseksi. Kaupallisten näytteiden luokittelu SIMCA-malleilla oli ristiriidassa pääkomponenttianalyseissä todetun kivennäisaineprofiilien samankaltaisuuden kanssa. Valtaosa mansikkahilloista muistutti kivennäisaineprofiileiltaan toisiaan, joten SIMCA-mallien luokittelu kuvaa luultavasti mallin tekoon käytetyn mansikka-aineiston olevan erilainen kuin hillojen tekemiseen käytetyt mansikat, eikä niinkään kaupallisten mansikkahillojen olevan väärennöksiä.

Taulukko 13. Kokoomataulukko SIMCA-mallien ennusteista kaupallisten mansikkahillonäytteiden aitoudesta. Mallinnussarja: mansikoiden ($n = 51$) ja mansikkapuhdashillon ($n = 1$) kivennäisaineprofiilit. Testisarja: mansikoiden ($n = 51$) ja kaupallisten hillonäytteiden ($n = 33$) kivennäisaineprofiilit. Merkintä "x" tarkoittaa, että näyte on luokiteltu mallin perusteella aidoksi mansikkahilloksi.

Mallin numero ^{*)}	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>Kaupalliset hillonäytteet^{**)}</i>									
Hillo 1		x	x						
Hillo 2	x		x	x					
Hillo 3									
Hillo 4	x		x	x					
Hillo 5		x	x						
Hillo 6	x		x						
Hillo 7	x		x	x	x				x
Hillo 8		x	x						
Hillo 9									
Hillo 10	x	x	x		x				
Hillo 11			x						
Hillo 12			x						
Hillo 13									
Hillo 14									
Hillo 15									
Hillo 16			x						
Hillo 17									
Hillo A									
Hillo B									
Hillo C									
Hillo D		x	x						
Hillo E									
Hillo F									
Hillo H									
Hillo I			x						
Hillo J	x		x	x					
Hillo K	x		x	x					
Hillo L		x	x				x		
Hillo M	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Hillo N									
Hillo O									
Hillo P									
Hillo Q	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Mansikkanäytteiden uudelleenluokittelu^{***)}</i>									
Luokiteltu oikein (kpl)	49	50	50	49	49	50	50	50	49
Luokiteltu väärin (kpl)	2	1	1	2	2	1	1	1	2
Luokittelun onnistumisprosentti (%CC)	96	98	98	96	96	98	98	98	96
*) Malleihin käytetyt kivennäisaineprofiilit:									
Malli 1: Mn, Zn, Mg, P, S	Malli 4: Mg, Mn, P, S			Malli 7: Ca, S, K, P, Mg, Mn					
Malli 2: Ca, K, Mg, P, S	Malli 5: Ca, Mn, Zn, Mg, P, S			Malli 8: Fe, K, Ca, Mg, Mn, P, S, Zn					
Malli 3: Mg, P, S	Malli 6: K, Ca, Mg, Mn, P, S, Zn			Malli 9: Mn, Zn, Mg, P, S, Fe					
**) Merkintä "x" tarkoittaa, että näyte on luokiteltu SIMCA-ennusteen mukaan 95 %:n todennäköisyydellä mansikoiden ja mansikkapuhdashillon muodostamaan ryhmään kivennäisaineprofiilinsa perusteella.									
***) Mallien toimintaa tarkasteltiin luokittamalla mallin tekemiseen käytettyä mansikka-aineistoa ($n = 51$) uudestaan kuten ne olisivat tuntemattomia näytteitä.									

3.3.6 Muiden näytteiden kivennäisaineprofiilit

Muiden näytteiden kivennäisainemääritysten alkuperäistulokset on koottu liitteeseen 10. Positiivisten kontrollinäytteiden (metsämustikka, pensasmustikka, punainen ja keltainen puutarhavadelma, aprikoosi, myskikurpitsa, kurpitsa, kesäkurpitsa, karviainen ja mustaherukka) ja mansikka-aineiston sisäisen vaihtelun erottumista toisistaan tarkasteltiin pääkomponenttianalyysillä. PCA-malli tehtiin muiden näytteiden ($n = 10$), puhdashillo-näytteiden ($n = 4$) sekä mansikkanäytteiden ($n = 51$) kuuden alkuaineen muodostaman kivennäisaineprofiilin (Ca, K, Mn, Mg, P, S) perusteella (kuva 31). Mansikkanäytteet ovat ryhmityneet yhteen kuvan keskiosaan ja kurpitsanäytteet ovat ryhmityneet kuvan oikeaan laitaan. Omenahillo, päärynähillo ja aprikoosi ovat kuvan alalaidassa. Metsämustikat ja pensasmustikat ovat kuvan vasemmalla laidalla ja mustaherukka on kuvassa oikealla. Pääkomponenttianalyysin perusteella näytteiden kivennäisaineprofiileissa oli eroja: esimerkiksi eri kurpitsojen kuiva-ainessa oli enemmän useita alkuaineita kuin muissa näytteissä. Marjoista mustaherukan kuiva-ainessa oli eniten useimpia määritettyjä alkuaineita. Vadelmat ja karviainen ovat jääneet mansikoiden alle kuvassa, eli ne eivät ole eronneet kivennäisaineprofiileiltaan kovinkaan paljon mansikoista pääkomponenttien 1 ja 2 perusteella. Pääkomponenttianalyysin perusteella mansikoiden sisäinen vaihtelu on pääpiirteissään pienempää kuin lajien välinen vaihtelu.



Kuva 31. Pääkomponenttianalyysi positiivisten kontrollinäytteiden ($n = 10$), omena-, päärynä- ja kurpitsahillon sekä mansikka-aineiston ($n = 51$) eroista (bi-plot-kuvaaja). PCA:n tekemiseen käytetyt muuttujat eli alkuaineet (punaisella): Ca, S, K, P, Mg, Mn. Sinisellä tekstillä PCA:n tekemiseen käytetyt näytteet. Kokonaisselitysaste 79 % (PC1 63 %, PC2 16 %).

Muiden kasvilajien avulla testattiin, voidaanko niiden ennustaa olevan kivennäisaine-profiilinsa perusteella 95 %:n tarkkuudella muita kuin mansikoita, eli onko eri kasvilajien kivennäisaineprofileissa eroa. Mansikka-aineiston ($n = 51$) ja puhdasmansikkahillon profiilin perusteella tehdyt SIMCA-mallit ennustivat systemaattisesti toisen vadelma-näytteen olevan myös mansikka 95 %:n todennäköisyydellä (taulukko 14). Lajit eivät siis erottuneet toisistaan aivan täydellisesti.

Taulukko 14. Kokoomataulukko SIMCA-ennusteista siitä, eroavatko muiden kasvilajien kivennäisaineprofileit mansikoiden kivennäisaineprofileista 95 %:n todennäköisyydellä. Merkintä ”x” tarkoittaa, että näyte kuuluu ennusteen mukaan mansikoiden ja mansikkapuhdashillon kanssa samaan luokkaan, eli kivennäisaineprofileissa ei ole eroa.

Mallin numero ^{*)}	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Näyte									
<i>Muut kasvilajit^{**)}</i>									
Metsämustikka									
Pensasmustikka									
Puutarhavadelma	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Puutarhavadelma (keltainen)									
Aprikoosi									
Myskikurpitsa									
Kurpitsa									
Kesäkurpitsa									
Karviainen (punainen)									
Mustaherukka									
<i>Mansikkanäytteiden uudelleenluokittelu^{***)}</i>									
Luokiteltu oikein (kpl)	49	50	50	49	49	50	50	50	49
Luokiteltu väärin (kpl)	2	1	1	2	2	1	1	1	2
Luokittelun onnistumis- prosentti (%CC)	96	98	98	96	96	98	98	98	96

^{*)} Malleihin käytetyt kivennäisaineprofileit:

Malli 1: Mn, Zn, Mg, P, S

Malli 4: Mg, Mn, P, S

Malli 7: Ca, S, K, P, Mg, Mn

Malli 2: Ca, K, Mg, P, S

Malli 5: Ca, Mn, Zn, Mg, P, S

Malli 8: Fe, K, Ca, Mg, Mn, P, S, Zn

Malli 3: Mg, P, S

Malli 6: K, Ca, Mg, Mn, P, S, Zn

Malli 9: Mn, Zn, Mg, P, S, Fe

^{**)}

Merkintä ”x” tarkoittaa, että näyte on luokiteltu SIMCA-ennusteen mukaan 95 %:n todennäköisyydellä mansikoiden muodostamaan ryhmään kivennäisaineprofileinsa perusteella.

^{***)}

Mallien toimintaa tarkasteltiin luokittelemalla mallin tekemiseen käytettyä mansikka-aineistoa ($n = 51$) uudestaan kuten ne olisivat tuntemattomia näytteitä.

3.4 Pohdinta

3.4.1 Mansikoiden kivennäisainekoostumus ja kivennäisaineprofiilin vaihtelu

Mansikoiden ($n = 51$) kuiva-aineesta määritettiin eniten kaliumia, fosforia, kalsiumia, magnesiumia ja rikkiä (taulukko 10). Seuraavaksi eniten mansikan kuiva-aineesta määritettiin piitä, rautaa, mangaania, booria, sinkkiä, alumiinia, kuparia ja molybdeeniä. Kaliumin, fosforin, kalsiumin, magnesiumin, raudan, kuparin, mangaanin ja sinkin pitoisuudet olivat samaa kokoluokkaa kirjallisuudessa (luku 2.3) esitettyjen taulukkoon 1 koottujen arvojen kanssa (Wold ja Opstad 2007; Singh ym. 2010; Antunes ym. 2014). Raskasmetallien pitoisuudet mansikan kuiva-aineessa olivat pieniä: kadmiumin keskiarvo oli 0,012 mg/kg ja lyijyn pitoisuuden keskiarvo jäi alle menetelmän määrittämissä. Enimmillään kadmiumia mitattiin kuiva-aineesta 0,087 mg/kg ja lyijyä 0,157 mg/kg. Lainsäädännössä (komission asetus (EY) N:o 1881/2006 2006) lyijyn suurin sallittu pitoisuus marjoissa ja pienhedelmissä on 0,20 mg/kg tuorepainoa, joten tämän tutkimuksen mansikat alittivat raja-arvon reilusti, sillä raja ei ylittynyt edes kuivapainoa kohden. Kadmiumin raja-arvo on 0,050 mg/kg tuorepainoa hedelmissä ja vihanneksissa (komission asetus (EY) N:o 1881/2006 2006), joten mansikoiden raskasmetallipitoisuudet jäivät reilusti lainsäädännön enimmäisarvojen alle myös kadmiumin osalta.

Mansikoiden kivennäisaineprofiilin vaihtelua arvioitiin variaatiokertoimien avulla: mitä pienempi variaatiokerroin näytteiden ($n = 51$) välillä oli, sitä vähemmän vaihtelua mansikoiden kivennäisaineprofiilissa oli kyseisen alkuaineen kohdalla (taulukko 10). Pienimmät näytteiden väliset variaatiokertoimet olivat magnesiumilla, kaliumilla, fosforilla, rikillä, kuparilla, kalsiumilla, raudalla, sinkillä ja mangaanilla. Suurimmat näytteiden väliset variaatiokertoimet olivat lyijyllä, kadmiumilla, alumiinilla, molybdeenillä, piillä ja boorilla, mikä voi viitata niiden pitoisuuksien liittyvän enemmän ympäristön vaikutukseen kuin olevan tarkasti geenien ohjaamia. Aiemmin esimerkiksi Hakalan tutkimusryhmä (2003) on todennut, että mansikan kivennäisainepitoisuuksien minimi- ja maksimi-arvot eivät eronneet suuresti toisistaan. Aineiston ja kirjallisuuskatsauksen perusteella vaikuttaa siltä, että ainakin osaa mansikan kivennäisainekoostumuksesta säädellessään melko tarkasti homeostaattisesti, mutta toisaalta joidenkin alkuaineiden kohdalla vaihtelu lajin sisällä voi olla hyvin suurta. Esimerkiksi kadmium ja lyijy luokitellaankin ympäristömyrkyiksi ja elintarvikkeiden lyijyn tiedetään olevan peräisin pääosin ilmasta elintarvikkeiden pinnalle laskeutuvasta pölystä (Evira 2009a).

Lajikkeen vaikutus mansikan kivennäisaineprofiiliin

Mansikka-aineistosta ($n = 51$) tehtyjen pääkomponenttianalyysien perusteella mansikka-lajikkeet eivät jakaantuneet kivennäisaineprofiiliensa perusteella selkeisiin ryhmiin, eli mansikoiden kivennäisaineprofiili ei riippunut ainakaan täysin lajikkeesta (kuva 6 ja kuvat 10–13). Pääkomponenttianalyysien tekemiseen käytettyjen muuttujien karsinta perustui kaikkien viidentoista alkuaineen pääkomponenttianalyysin korrelaatiokuvaajaan (kuva 9), mansikka-aineiston variaatiokertoimiin (taulukko 10) ja menetelmän luotettavaan toimintaan alkuaineiden määrittämisessä (luku 3.3.1). Pääkomponenttianalyysien perusteella lajikkeen vaikutusta ei kuitenkaan voi kokonaan sulkea poiskaan, minkä lisäksi tämän tutkimuksen lajiketietoja ei ole voitu käytännön syistä varmistaa, vaan ne perustuivat myyjien ilmoitukseen. Myytävien mansikoiden lajikkeen ilmoittaminen on vapaaehtoista eikä siitä ole säädetty lainsäädännössä (Evira 2013). Kirjallisuuskatsauksen perusteella lajikkeiden välisissä kivennäisaineprofiileissa voisi olettaa olevan vaihtelua (mm. Hakala ym. 2003; Hegedüs ym. 2008; Singh ym. 2010; Kristl ym. 2013; Akhatou ja Recamales 2014; Antunes ym. 2014), mutta tämän maisterintutkielman aineistossa lajike ei ollut yksiselitteisesti kivennäisaineprofiiliin eniten vaikuttava tekijä. Mansikkahilloväärennösten paljastamisen kannalta onkin sitä parempi, mitä vähemmän vaihtelua mansikoiden kivennäisaineprofiilien välillä havaitaan.

Kasvupaikan vaikutus mansikoiden kivennäisaineprofiiliin

Kasvupaikalla saattoi olla pääkomponenttianalyysien perusteella vaikutusta mansikoiden kivennäisaineprofiileihin: hollantilaiset ($n = 2$) mansikkanäytteet erottuivat pääkomponenttianalyyseissä jonkin verran suomalaisista, virolaisista ja ruotsalaisista mansikkanäytteistä, mutta pienestä otoskoosta ei voi tehdä luotettavia tulkintoja (kuva 7 ja kuvat 10–12). Mansikoiden kasvupaikkatiedot saatiin lisäksi myyjältä kysymällä eikä niitä varmistettu. Mansikoiden alkuperämaan ilmoittamisesta on säädetty lainsäädännössä (Evira 2013). Helsingin kaupungin ympäristökeskus on tutkinut mansikoiden alkuperämaamerkintöjä ja jäljitettävyyttä Helsingissä kesällä 2010. Tutkimuksessa paljastui tapauksia, joissa myyntikylttiin oli esimerkiksi ilmoitettu eri maa kuin myyntipakkauksissa luki tai mansikoiden alkuperämaaksi oli merkitty Suomi, vaikka tuotteet olivat espanjalaisia (Paavola ja Pahkala 2011). Lisäksi kuormakirjojen yhdistämisen myytäviin marjaeriin todettiin olevan käytännössä mahdotonta ja mansikoiden uudelleenpakkaamista eri laatikkoon havaittiin (Paavola ja Pahkala 2011). Tuoreiden mansikoiden alkuperämaan väärentäminen on siis tässä aineistossa mahdollinen virhelähde, sillä mansikka-aineiston

kerääminen suoraan kasvupaikoilta ei ollut käytännön syistä mahdollista. Toisaalta mansikoiden alkuperä ja lajike kysyttiin vain, jotta aineistosta saataisiin mahdollisimman monipuolinen ja kattava. Tutkimuksen päätarkoituksena ei ollut tehdä kattavia päätelmiä erilaisten mansikoiden eroista, vaan kerätä mansikoita kasvilajina kuvaava aineisto, johon mansikkahillojen kivennäisaineprofiileja voitaisiin peilata. Mahdolliset alkuperä-väärennökset eivät siis vaaranna lopullisia tuloksia, mutta ne olisi hyvä ottaa huomioon mahdollisissa jatkotutkimuksissa. Mansikan maantieteellisen kasvupaikan määrittämisestä on julkaistu ainakin yksi tutkimus (Perez ym. 2006), jossa mansikan alkuperämaan aiheuttaman vaihtelun todettiin olevan lajikevaihtelua suurempaa ja USA:ssa kasvaneet mansikat saatiin erottaa kivennäisaineprofiilinsa perusteella Meksikossa kasvaneista mansikoista tilastollisten monimuuttujamenetelmien avulla. Lisäksi Khanin tutkimusryhmä (2010) vertasi tutkimustuloksiaan pakistanilaisten mansikoiden kivennäisainekoostumuksesta kirjallisuudesta löytämiinsä suomalaisten ja yhdysvaltalaisen mansikoiden vastaaviin todeten, että erimaalaiset mansikat erottuivat toisistaan PCA-kuvassa. Tämän maisterintutkielman aineiston perusteella kasvupaikka ei ollut selkeästi ainoa kivennäisaineprofiiliin vaikuttava tekijä, sillä naapurimaiden (Suomi, Ruotsi ja Viro) mansikkanäytteet eivät erottuneet toisistaan selkeästi pääkomponenttianalyysissä (kuva 7 ja kuvat 10–12 ja kuvat 14–15). Toisaalta kivennäisaineprofiilin käytöstä useiden erilaisten elintarvikkeiden kasvupaikan määrittämisessä on julkaistu monia tutkimuksia (luku 2.5.2), mikä viittaisi kivennäisaineprofiilin riippuvan monien elintarvikkeiden osalta kasvupaikasta. Pääkomponenttianalyysien sekä kirjallisuustietojen perusteella mansikan kivennäisaineprofiiliin vaikuttavat luultavasti yhdessä sekä alkuperämaa että lajike.

Kasvuajankohdan vaikutus mansikoiden kivennäisaineprofiiliin

Myöskään mansikoiden ostoajankohdalla ei havaittu vaikutusta mansikoiden ($n = 51$) kivennäisaineprofiiliin pääkomponenttianalyysin perusteella. Mansikoiden kivennäisaineprofiili ei riippunut niiden kypsymisajankohdasta saman kasvukauden aikana (kuva 8). Havainto on linjassa Woldin ja Opstadin (2007) tutkimuksen kanssa, jossa kasvukauden aikainen näytteenottoajankohta ei vaikuttanut mansikan kivennäisainekoostumukseen. Käytännön syistä mansikka-aineisto koottiin vain yhden kesän (2015) aikana kypsyneistä mansikoista. Mansikoiden kivennäisainekoostumus voi kuitenkin vaihdella jonkin verran eri vuosina, mikä olisi ollut hyvä ottaa huomioon aineistoa kerätessä (Hargreaves ym. 2008; Conti ym. 2014).

3.4.2 Mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsahillon sekä niistä sekoitettujen malliväärennösten kivennäisaineprofiilien erottuminen toisistaan

Puhtaan mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsahillon kivennäisaineprofiilien erot

Omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashillojen kivennäisaineprofiilit erosivat mansikkapuhdashillon kivennäisaineprofiilista: kurpitsahillossa oli enemmän useimpia mitattuja kivennäisaineita kuin mansikkahillossa, mutta omena- ja päärynähilloissa oli puolestaan vähemmän useimpia mitattuja kivennäisaineita kuin mansikkahillossa (taulukko 11). Myös Hegedüsin tutkimusryhmä (2008) totesi marjojen sisältävän enemmän useimpia mitattuja alkuaineita verrattuna omenaan. Selkeimpiä eroja neljän hillon kuiva-aineen kivennäisaineprofiileissa oli kalsiumin, kaliumin, magnesiumin, fosforin ja rikin pitoisuuksissa. Alumiinin, boorin, kadmiumin, kuparin, raudan, molybdeenin, lyijyn ja sinkin pitoisuuksien erot eri hillojen kuiva-aineissa olivat pienempiä, mutta eroja oli kuitenkin havaittavissa. Mansikkahillossa oli selkeästi enemmän mangaania kuin muissa hilloissa – omena-, päärynä- ja kurpitsahillon mangaanin pitoisuus puolestaan oli keskenään täysin sama. Mansikan korkea mangaanipitoisuus todettiin myös Wasimin ym. (2012) tutkimuksessa, jossa sen todettiin sisältävän eniten mangaania verrattuna monen hedelmän – mukaan lukien omenan ja päärynän – kirjallisuustietoihin. Mansikkahilloväärennösten havaitsemisen kannalta on hyvä, että eri kasvilajeista valmistettujen hillojen kivennäisainekoostumuksissa oli eroja.

Hilloseoksien ja eri puhdashillojen erottuminen puhtaasta mansikkahillosta

Puhdashillojen ja hilloseosten erottelu pääkomponenttianalyysin avulla

Hilloseoksien ja puhtaiden omena-, päärynä- ja kurpitsahillojen erottuminen kivennäisaineprofiilin perusteella mansikkapuhdashillosta riippui jonkin verran pääkomponenttianalyysin tekoon käytettyjen alkuaineiden yhdistelmästä, eli kivennäisaineprofiilin tekoon käytetyistä alkuaineista. Käytettäessä pääkomponenttianalyysiin kaikkia viittätoista määritettyä alkuainetta omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashillot erottuivat mansikkapuhdashillosta, mutta hilloseokset eivät jakautuneet kovin selkeästi niiden hillojen välille, joista ne oli sekoitettu (kuva 16). Poistettaessa pääkomponenttianalyysin tekoon käytettävästä kivennäisaineprofiilista alkuaineita mansikka-aineiston korrelaatiokuvaajan (kuva 17), menetelmän toiminnan (luku 3.3.1), mansikoiden variaatiokertoimien (taulukko 10) sekä mansikka-, omena-, päärynä ja kurpitsahillojen kivennäisainekoostumusten erojen (taulukko 11) perusteella malliväärennökset siirtyivät kuvassa mansikkapuhdashillon ja seokseen käytetyn toisen puhdashillon välille, eli kuva selkeytyi

(kuva 18 ja kuva 19). Samalla pääkomponenttianalyysin selitysaste nousi, eli siihen tiivistyi yhä suurempi osa aineiston vaihtelusta. Sama ilmiö on havaittu ainakin Costas-Rodríguezin ym. tutkimuksessa (2010), jossa SIMCA-mallin tarkkuus parani vähennettäessä mallin tekoon käytettävien alkuaineiden määrää. Ilmeisesti kyse on vähemmän merkityksellisten alkuaineiden aiheuttamasta kohinasta ja sen poistumisesta aineistosta. Käytettäessä pääkomponenttianalyysin tekemiseen vain kuutta alkuainetta (Ca, K, Mn, Mg, P ja S) määritetyistä viidestätoista puhdashilloit ja malliväärennökset erottuivat entistä paremmin ja pääkomponenttianalyysin selitysaste nousi 100 %:iin (kuva 18). Käytännössä mansikkahillojen kalsiumin ja kaliumin pitoisuus voi kuitenkin vaihdella lisäainekäytön vaikutuksesta, joten malliväärennösten erottumista mansikkahillosta testattiin myös mallilla, johon valittiin muuttujiksi mangaani, magnesium, fosfori, rikki ja sinkki (kuva 19). Tästä havaittiin, että eri lajien erottuminen toisistaan ei välttämättä riipu kalsiumin ja kaliumin käyttämisestä mallissa. Teoriassa mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsahillo sekä niistä sekoitetut malliväärennökset voitiin siis erottaa kivennäisaineprofiilinsa perusteella toisistaan hyödyntäen useita erilaisia alkuaineyhdistelmiä pääkomponenttianalyysin tekemiseen. Pääkomponenttianalyysiin tiivistyvän vaihtelun määrä riippui hieman profiiliin valitusta alkuaineyhdistelmästä, mutta kuvaan tiivistyi riittävästi (yli 70 %) tietoa useilla erilaisilla yhdistelmillä.

Kivennäisaineprofiilin perusteella ei luultavasti voitaisi kuitenkaan erottaa, onko mansikkahilloon sekoitettu omenaa vai päärynää, sillä niiden kivennäisaineprofiilit olivat hyvin samanlaiset ja ne ryhmittäytyivät lähes päällekkäin pääkomponenttianalyysissä (kuva 18 ja kuva 19). Päärynä ja omena ovatkin taksonomisesti läheisempää sukua toisilleen kuin mansikalle tai kurpitsalle, mikä tukee ajatusta siitä, että perimä ohjaisi kasvin kivennäisaineprofiilia. Plessin (2007) tutkimusryhmä päätyi samaan omassa marjalajeja ja niistä tehtyjä hilloja koskevassa tutkimuksessaan: *Rubus*- ja *Ribes*-sukuihin kuuluvat marjat voitiin erottaa kivennäisaineprofiilinsa avulla pääkomponenttianalyysillä toisistaan, mutta samaan sukuun kuuluvat marjalajit erottuivat toisistaan vain osittain. Puutarhamansikallakin on vastaavasti sukulaislajeja (esimerkiksi ahomansikka), joiden kivennäisaineprofiili saattaa olla hyvin samankaltainen. Eri kasvilajien kivennäisaineprofiileissa voi siis tämän tutkielman ja aiemman kirjallisuuden perusteella olettaa olevan eroja, mutta sukulaislajit saattavat olla kivennäisaineprofiiliin perustuvan menetelmän kannalta haastavia erottaa.

Mansikoiden ja puhdasmansikkahillon kivennäisaineprofilien vastaavuus

Mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashilloista sekä niiden seoksista koostuva aineisto kuvaa ainoastaan lajien välistä vaihtelua, mutta se ei kerro lajien sisäisestä vaihtelusta, sillä puhdashillot valmistettiin Tullilaboratoriossa hyvin pienessä mittakaavassa. Lajin sisäinen vaihtelu voitiin ottaa käytännön syistä tarkasteluun mukaan vain mansikan osalta lisäämällä edellä käytettyyn hilloaineistoon päälle kerätty mansikka-aineisto ($n = 51$). Tarkasteluun käytettiin matalimmat variaatiokertoimet mansikka-aineistossa saaneita alkuaineita, jolloin lajien välisen vaihtelun havaittiin olevan pääkomponenttianalyysin (Mn, Ca, P, Mg, S, Fe, K, Zn ja Cu) perusteella suurempaa kuin mansikan sisäisen vaihtelun (kuva 20). Toisaalta myös puhdasmansikkahillon huomattiin olevan hieman erossa mansikoista, mikä saattoi johtua esimerkiksi kirjallisuuskatsauksessa esitellyistä mansikan kivennäisaineprofiiliin vaikuttavista seikoista, kivennäisaineiden siirtymisestä hilloon valmistuksen aikana tai mansikkahillon laimennoskertoimen huomioon ottamiseen käytettävän laskun epävarmuudesta. Esitettäessä mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashillojen ja niiden seosten sekä mansikoiden ($n = 51$) kivennäisaineprofiilit neljän määritetyn alkuaineen (Mn, Mg, P ja S) perusteella eri kasvilajit erottuivat edelleen toisistaan, mutta laimeimmat malliväärennökset jäivät mansikoiden sisäisen vaihtelun alle – toisaalta myös mansikkahillo oli tässä pääkomponenttianalyysissä selkeämmin mansikoiden joukossa kuin aiemmassa (kuva 21).

Mansikkapuhdashillo ei siis ryhmittynytään automaattisesti mansikoiden joukkoon kaikilla mahdollisilla pääkomponenttianalyysin tekoon käytettävillä kivennäisaineyhdistelmillä. Tähän voi vaikuttaa esimerkiksi mansikoiden kasvuvuosi, sillä esimerkiksi Hargreavesin ym. tutkimuksessa (2008) mansikoiden kaliumin ja fosforin määrien todettiin vaihtelevan viljelyvuoden mukaan. Myös hillon homogointi pakkaskuivauksen jälkeen voi vaikuttaa, sillä aiemmissa tutkimuksissa on havaittu joidenkin alkuaineiden (Al, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb) siirtyvän näytteisiin jauhatuslaitteiden terästä sitä helpommin mitä kovempaa materiaalia myllyllä jauhetaan (Cubadda ym. 2001). Kuivattu mansikkahillo oli käytännössä huomattavasti kovempaa ja rakenteeltaan lasimaisempaa kuin kuivatut mansikat. Mahdollisissa jatkotutkimuksissa kontaminaatiota voisi yrittää vähentää homogoinnalla hillonäytteet jo ennen kuivatusta sekä käyttämällä kuivan hillon jauhamiseen mahdollisimman inerttiä materiaalia. Näytteiden homogointi ennen kuivaamista vähentäisi myös mahdollisesti näytteenotosta aiheutuvaa virhettä, sillä homogeenisesta materiaalista on helpompaa ottaa edustava näyte kuin kokonaisia mansikoita sisältävästä hillosta. Toisaalta mansikkahillon ja mansikoiden kivennäisaine-

profiili on täysin mahdollista saada ryhmittymään pääkomponenttianalyysissä päällekkäin valitsemalla sopiva alkuaineyhdistelmä (kuva 21), mutta laimeimmat mansikkahilloseokset hukkuvat tällöin hyvin todennäköisesti mansikan sisäisen vaihtelun alle eli menetelmän tarkkuus laskee.

Puhdashillojen ja hilloseosten luokittelu 95 %:n todennäköisyydellä SIMCA-malleilla

Mansikkahilloseoksien sekä omena- päärynä ja kurpitsahillon tilastolliseen luokitteluun käytettiin SIMCA-menetelmää, joka luokitteli, kuuluvatko hilloseokset 95 %:n todennäköisyydellä samaan luokkaan mansikoiden ja puhdasmansikkahillon kanssa vai eivät. Ensin mallin tekoon käytettiin kaikkia viittätoista määritettyä alkuainetta sekä mansikka-aineiston matalien variaatiokertoimien perusteella valittuja yhdeksää alkuainetta (Cu, Fe, Ca, Mg, K, Zn, P, S ja Mn), mutta mallit eivät luokitelleet edes puhdasmansikkahilloa samaan luokkaan mansikoiden kanssa. Tämä saattaa johtua siitä, että mallin tekoon on käytetty vain yhtenä kesänä kasvaneita pääkaupunkiseudulla myynnissä olleita mansikoita, eli malli luultavasti luokittelee liian tiukasti eikä kuvaa kunnolla mansikoita kasvilajina. Hilloon voi myös siirtyä alkuaineita prosessoinnin aikana. Puhdasmansikkahillo saatiin luokiteltua mansikoiden kanssa samaan joukkoon vähentämällä luokitteluun käytettävien alkuaineiden määrää. Alkuaineiden valinnassa huomioitiin muun muassa menetelmän määritysrajat, määritysten luotettavuus, alkuaineiden variaatiokertoimet mansikka-aineistossa sekä erot mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsahillojen kivennäis- ja hivenainekoostumuksissa.

Aineistosta tehtiin yhteensä yhdeksän SIMCA-ennustetta, joissa mansikkahillo saatiin luokiteltua oikein mansikoiden joukkoon (taulukko 12). Näistä viisi antoi melko samanlaisia tuloksia, vaikka niiden alkuaineyhdistelmät (1: Mn, Zn, Mg, P, S, 3: Mg, P, S, 4: Mg, Mn, P, S, 5: Ca, Mn, Zn, Mg, P, S, 9: Mn, Zn, Mg, P, S, Fe) poikkesivat toisistaan. Kaikilla edellä mainituilla SIMCA-malleilla saatiin eroteltua omena- päärynä- ja kurpitsapuhdashillot sekä osa vahvimmissa seoshilloista 95 %:n todennäköisyydellä muiksi kuin mansikoiden joukkoon kuuluviksi. Edeltävät mallit luokittelivat kuitenkin 1–2 mansikkanäytettä muiksi kuin mansikkanäytteiksi ($n = 51$), mikä voi johtua mallin tekoon käytetyn mansikka-aineiston pienestä määrästä ja suomalaisten mansikoiden ylikorostumisesta aineistossa. Eri kasvilajeista tehtyjen hillojen kivennäisaineprofiilien eroaminen toisistaan on todettu aiemmin jo Plessin ym. (2007) tutkimuksessa. Edellä mainituilla kivennäisaineprofiileilla pystyttiin erottamaan väärennökset lähes samalla tarkkuudella kuin Kemsleyn ym. (1996) tutkimuksessa, jossa omenan tai luumun

lisääminen vadelmasoseeseen voitiin havaita noin 20 %:n lisäyksestä lähtien IR-spektrien perusteella.

Eri puhdashillot ja niistä sekoitetut malliväärennökset erosivat selvimmin toisistaan kalsiumin, kaliumin, magnesiumin, fosforin ja rikin pitoisuuksiltaan, minkä lisäksi edellä mainittujen alkuaineiden variaatiokertoimet olivat pieniä mansikka-aineistossa. Kyseistä mallia käytettiin myös esimerkkinä SIMCA-mallin mallinnus- ja testisarjoista (kuva 22 ja kuva 23). Näiden alkuaineiden perusteella tehty SIMCA-ennuste luokittelikin puhdashillot ja hilloseokset todella tarkasti: mansikkahillo luokiteltiin oikein mansikoiden joukkoon, kaikki puhdashillot ja niistä sekoitetut seokset luokiteltiin muihin kuin mansikkanäytteiden ja mansikkapuhdashillon muodostamaan luokkaan ja mansikkanäytteistä vain yksi luokiteltiin väärin 95 %:n luottamustasolla (kuva 24). Teoriassa kivennäisaineprofiilin (Ca, K, Mg, P ja S) perusteella on siis mahdollista ennustaa 95 %:n todennäköisyydellä jopa vain 5 %:a omenaa, päärynää tai kurpitsaa sisältävän hillon olevan väärennös, jos mallin tekoon käytetty kerätty mansikka-aineisto vastaa profiililtaan hyvin hilloon käytettyjä mansikoita ja jos hilloon on lisätty vain hyvin maltillisesti kaliumia lisäaineena. Tullilaboratoriosta saatu mansikkapuhdashillo oli valmistettu suomalaisista Polka-lajikkeen mansikoista ja vastaavasti mallin mansikka-aineistossa oli eniten näytteitä Suomesta ja lajikkeista eniten Polkaa. Yhtä hyvä luokittelu saavutettiin myös kivennäisaineprofiililla, jossa edelliseen oli lisätty mangaani (Ca, K, Mg, P, S ja Mn). Lähes yhtä hyvä luokittelu saavutettiin myös edellisten lisäksi raudan ja sinkin sisältävillä kivennäisaineprofiileilla (6: Ca, K, Mg, P, S, Mn, Zn ja 8: Ca, K, Mg, P, S, Mn, Zn, Fe). Näissä malleissa muutama laimein malliväärennös luokiteltiin virheellisesti (taulukko 12). Raudan ja sinkin pitoisuudet hilloissa olivat melko lähellä ICP-OES-menetelmän määrittämissä rajoissa, mikä voi vaikuttaa siihen että niiden lisääminen profiiliin laskee mallien luokittelutarkkuutta.

3.4.3 Kaupallisten mansikkahillojen kivennäisaineprofiilit ja luokittelu

Sokerin määrän huomioon ottamisen vaikutus hillojen kivennäisaineprofiileihin

Sokerin määrän huomioon ottamisella havaittiin ennako-odotusten mukaisesti olevan suuri vaikutus hillojen kivennäisaineprofiileihin: kun pääkomponenttianalyysi tehtiin suoraan kaupallisten mansikkahillojen kuiva-aineesta määritetyistä tuloksista ottamatta huomioon sokerin laimentavaa vaikutusta, laimentamaton mansikkasose ja vähiten sokeria sisältäneet hillot ryhmittäytyivät PCA-kuvassa oikealle muiden hillojen ryhmittäytyessä keskelle (kuva 25). Eri määriä sokeria ja mansikkaa sisältävien hillojen kivennäisaineprofiileja ei

siis voi vertailla keskenään ottamatta huomioon mansikan kivennäisainekoostumuksen eriasteista laimentumista.

Kaupallisten mansikkahillojen kivennäisaineprofiilit

Esitettäessä vähittäiskaupasta ostettujen mansikkahillojen kaikkien määritettyjen viidentoista alkuaineen muodostama kivennäisaineprofiili PCA-kuvana hillot jakautuivat ympäri kuvaa laajalle alueelle, eikä mikään hilloista ollut ääriarvo muiden suhteen (kuva 26). Pääkomponenttianalyysin selitysaste jäi kuitenkin 15 alkuaineen profiililla niin matalaksi (alle 70 %), että kuvasta ei voi tehdä luotettavia päätelmiä hillojen eroista. Kaupallisista hillonäytteistä tehtiin pääkomponenttianalyysi myös jättämällä kivennäisaineprofiilista pois alkuaineita, joita joko siirtyy helposti ympäristöstä tai esiintyy hillon kuiva-aineessa vain hyvin pieniä pitoisuuksia ja jotka ovat siten alttiita mittausvirheiden kertaantumiselle sokerin laimentavan vaikutuksen huomioon ottamisessa. Pääkomponenttianalyysin selitysaste jäi edelleen melko matalaksi (alle 70 %) eikä havaittavissa ollut selkeitä ryhmittymiä (kuva 27). Hillot 9 ja H olivat aineistossa ääriarvoja, eli erosivat muista kaupallisista mansikkahilloista kivennäisaineprofiileiltaan. Hillo H oli pakkausmerkintöjen mukaan makeutettu muista hilloista poiketen hedelmä-sokerilla, eli hillon poikkeava resepti saattaa selittää sen erottumisen muista. Yksi mahdollinen syy mataliin selitysasteisiin on se, että aineisto ei sisältänyt tarpeeksi merkityksellistä informaatiota (CAMO Software AS 2006), eli mansikkahilloissa ei ollut tarpeeksi eroja. Tämä yhdistettynä aineiston jakautumiseen laajalle alueelle PCA-kuvissa voi tarkoittaa sitä, että kaupallisten mansikkahillojen joukossa ei ollut selkeästi muista kivennäisaineprofiililtaan poikkeavia väärennöksiä.

Kaupallisten mansikkahillojen ja eri hilloseosten erottuminen toisistaan

Omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashillo ja osa hilloseoksista olivat erotettavissa mansikkahillojen muodostamasta laajasta ryhmittymästä pääkomponenttianalyyseissä (kuva 28 ja kuva 29). Lisäainekalsiumin vaikutus kivennäisaineprofiiliin näkyi selkeästi PCA-kuvassa, jonka tekemiseen käytettiin kalsiumin, kaliumin, magnesiumin, fosforin ja rikin muodostamaa kivennäisaineprofiilia (kuva 28). Hillot 2, 4, F ja K ryhmittyyivät kuvan yläreunaan kalsiumin vaikutuksesta ja ne sisälsivätkin pakkausmerkintöjen (liite 2) mukaan kalsiumsitraattia (E333). Hillot sisälsivät lisäaineena myös kaliumsorbaattia (E202), mutta hillot eivät ryhmittyneet kaliumin vaikutuksesta pääkomponenttianalyysissä (kuva 28). Mansikat sisältävät luonnostaan paljon kaliumia, joten lisäainekäyttö saattaa peittyä mansikoiden luonnollisen vaihtelun alle tässä tapauksessa, vaikka kalsiumin

kohdalla vaikutus oli nähtävissä. Kaliumin keskimääräinen pitoisuus olikin tämän tutkimuksen mansikka-aineistossa noin kahdeksankertainen verrattuna kalsiumin pitoisuuteen (12 000 mg/kg vs. 1 500 mg/kg). Korjauskertoimen jälkeen pitoisuudet kaupallisissa mansikkahilloissa olivat 1 400–8 800 mg/kg (Ca) ja 11 500–23 300 mg/kg (K). Vastaavasti kirjallisuustietojen mukaan vaihteluvälit mansikassa ovat noin 4 100–20 600 mg/kg (K) ja 1 000–4 500 mg/kg (Ca) (Wold ja Opstad 2007; Singh ym. 2010; Antunes ym. 2014). Tullilaboratoriossa valmistetut puhdashillot keitettiin keskenään samalla reseptillä, johon kuului myös kaliumsorbaattia sisältävän hillosokerin lisäys. Mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsahillojen kalsiumin (1 800 mg/kg vs. 500 mg/kg vs. 700 mg/kg vs. 2 400 mg/kg) ja kaliumin (19 300 mg/kg vs. 13 600 mg/kg vs. 14 600 mg/kg vs. 32 700 mg/kg) pitoisuudet vaikuttavat riippuvan käytetystä kasvilajista eikä kaliumin lisäys säilöntäaineeksi ole nostanut sen pitoisuutta profiilissa yli mansikan odotetun luonnollisen vaihteluvälin. Kaliumin pitoisuus mansikkahilloissa on kuitenkin melko suuri, joten eri lisäainelisäysten vaikutusta hillojen luokitteluun olisi hyvä tutkia. Kalsiumsitraattia sisältäviä hilloja ei voida luokitella kalsiumia sisältävien kivennäisaineprofiilien perusteella. Vain pieni osa kaupallisista mansikkahilloista sisältää kalsiumsitraattia, mutta lähes kaikki sisältävät kaliumsorbaattia (liite 2).

Vähittäiskaupasta ostettujen hillonäytteiden sekä omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashillojen ja niistä valmistettujen hilloseosten eri alkuaineyhdistelmät sisältävistä kivennäisaineprofiileista tehdyistä pääkomponenttianalyseistä voi päätellä, että kaupalliset hillonäytteet eivät luultavasti sisältäneet ainakaan kovin suuria pitoisuuksia omenaa, päärynää tai kurpitsaa. Mansikkahillojen erilaiset reseptit eivät haitanneet omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashillojen erottumista mansikkahilloista. Täysin eri kasvilajista valmistettujen hillojen kivennäisaineprofiilit poikkesivat toisistaan enemmän kuin mansikkahilloina myytyjen hillojen kivennäisaineprofiilit poikkesivat toisistaan, vaikka mansikkahillojen muodostama ryhmittymä olikin laaja PCA-kuvissa.

Mansikoiden ja mansikkahillojen kivennäisaineprofiilien vastaavuus

Tarkastelu pääkomponenttianalyysin avulla

Vähittäiskaupasta ostettujen hillonäytteiden, mansikkanäytteiden sekä omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashillojen ja niistä valmistettujen hilloseosten kivennäisaineprofiileista tehtiin pääkomponenttianalyysi käyttäen neljään alkuaineeseen perustuvaa kivennäisaineprofiilia (Mn, Mg, P ja S) (kuva 30). Mansikat ja mansikkahillot ryhmittyvät tiiviisti yhteen, mutta osa seoshilloista erottui huonosti (kokonaisselitysaste 84 %). Mansikat 3 ja 4, eli aineiston ainoat hollantilaiset mansikkanäytteet, ryhmittyivät muita mansikkanäytteitä paremmin mansikkahillojen joukkoon (kuva 30). Tämä saattaa viitata siihen, että ne vastasivat kivennäisaineprofiileiltaan paremmin hillojen valmistukseen käytettyjä mansikoita kuin aineiston muut mansikat.

Tilastollinen luokittelu SIMCA-mallien avulla 95 %:n todennäköisyydellä

Kaupallisten mansikkahillonäytteiden kuulumista mansikoiden kanssa samaan luokkaan 95 %:n todennäköisyydellä kokeiltiin ennustaa yhdeksällä erilaisella SIMCA-mallilla (taulukko 13). Tulokset kuvasivat luultavasti enemmän mallin tekoon käytetyn mansikkaotoksen riittämättömyyttä kuin hillojen aitoutta. Vain kaksi hillonäytettä (hillot Q ja M) luokiteltiin systemaattisesti aidoksi mansikkahilloiksi. Hillon M luokittelu aidoksi oli kiintoisaa, sillä aiemmassa maisterintutkielmassa näytteet M ja F poikkesivat aromiyhdisteidensä perusteella muista mansikkahilloista (Harmanen 2016). Näytteestä M havaittiin alustavasti muun muassa vadelmalle tyypillisiä aromiyhdisteitä, mutta kivennäisaineprofiilinsa perusteella näyte siis luokiteltiin aidoksi mansikkahilloksi. Aiemmin onkin todettu, että elintarvikkeiden aitoustutkimuksissa saatetaan tarvita useita tilastollisia malleja tutkimusongelman monimutkaisuuden vuoksi (Riedl ym. 2015). Toisaalta aromikoostumuksensa puolesta Harmanen tutkielmassa (2016) muista näytteistä poikennut näyte F luokiteltiin muuksi kuin mansikkahilloksi myös tässä tutkielmassa – erotoin saattaa selittyä muillakin tekijöillä kuin väärentämisellä, sillä kyseinen hillo sisälsi lisättyä aromia eikä kivennäisainekoostumukseen mahdollisesti vaikuttavaa mansikoiden alkuperämaata ole mainittu pakkausmerkinnöissä. Harmanen tutkielmassa näytteet C ja H poikkesivat muista mansikkahillonäytteistä fenolikoostumuksensa perusteella, minkä arveltiin johtuvan erilaisesta lajikkeesta tai prosessointitavasta, sillä näytteiden fenoliset yhdisteet olivat kuitenkin mansikalle tyypillisiä, vaikka niiden intensiteetit poikkesivatkin muista. Vastaavasti näytteet C ja H poikkesivat myös kivennäisaineprofiilinsa perusteella

tämän tutkielman mansikka-aineistosta – mahdollisia syitä luokitteluun ovat esimerkiksi jo mainitut lajike-erot.

Myös hillojen esikäsitteilyllä voi olla vaikutusta luokitteluun, sillä Tullilaboratoriosta saadut hillot oli homogenoitu jo valmistusvaiheessa ennen kuivausta ja kaupalliset näytteet homogenoitiin vasta kuivauksen jälkeen. Myös hillojen lisäaineilla saattoi olla vaikutusta niiden luokittelemiseen. Kolmen alkuaineen (Mg, P, S) muodostaman profiilin perusteella tehdyn SIMCA-mallin luokittelun mukaan 95 %:n todennäköisyydellä 18 kaupallista mansikkahilloa oli aitoja ja loput 15 eivät, eli edes lisäaineiden sisältämien kalsiumin ja kaliumin poistaminen mallista ei luokitellut osaa kaupallisista hilloista aidoiksi mansikkahilloiksi. Vähittäiskaupasta ostettujen mansikkahillojen aitoutta ei luultavasti pystytty todistamaan SIMCA-luokittelujen perusteella, koska käytettävissä oleva mansikka-aineisto oli melko pieni ($n = 51$) ja riittämätön sekä painottui kotimaisiin mansikoihin. SIMCA-mallit luokittelivat myös pienen osan mansikkänäytteistä mansikoihin kuulumattomiksi, eli on hyvin mahdollista, että kaupallisten hillojen tekoon käytetyt mansikat ovat vain poikenneet kerätyn mansikkaotoksen mansikoista. Kirjallisuuskatsauksen perusteella valtaosa teollisuusmansikoista tuodaan Suomeen muualta (Roininen ja Morkkila 2007). Pakkausmerkintöjen mukaan kaupallisten mansikkahillonäytteiden valmistukseen oli käytetty ainakin puolalaisia ja kiinalaisia mansikoita (liite 2). Luotettavan ennusteen tekemiseksi mallin tekoon käytettävää mansikkaotosta pitäisi laajentaa. Tämän tutkimuksen mallit eivät luultavasti luokittele riittävän tarkasti, jotta niitä voitaisiin käytännössä hyödyntää hillojen aitouden toteamisessa. Toisaalta erilaiset SIMCA-ennusteet luokittelivat pienen osan hilloista systemaattisesti aidoiksi tai muuksi kuin mansikkahilloksi, eli menetelmä vaikuttaa kuitenkin olevan kehityskelpoinen.

3.4.4 Positiivisten kontrollinäytteiden kivennäisaineprofiilit ja luokittelu

Tarkastelu pääkomponenttianalyysin avulla

Mansikka-aineiston sisäisen vaihtelun vaikutusta positiivisten kontrollinäytteiden – eli metsämustikan, pensasmustikan, punaisen ja keltaisen puutarhavadelman, aprikoosin, myskikurpitsan, kurpitsan, kesäkurpitsan, karviaisen ja mustaherukan ($n = 10$) – erottumiseen tutkittiin pääkomponenttianalyysillä (kuva 31) yhdessä puhdashillonäytteiden ($n = 4$) sekä mansikkänäytteiden ($n = 51$) kuuden alkuaineen muodostaman kivennäisaineprofiilin perusteella (Ca, S, K, P, Mg, Mn). Mansikkänäytteet ryhmittäivät yhteen kuvan keskiosaan ja kurpitsanäytteet ryhmittäivät kuvan oikeaan laitaan. Omenahillo, päärynähillo ja aprikoosi ryhmittäivät kuvan alalaitaan. Metsämustikat ja pensasmustikat olivat

kuvan vasemmassa laidassa ja mustaherukka oli kuvassa oikealla. Vadelmat ja karviainen jäivät mansikoiden alle PCA-kuvassa, eli ne eivät ole eronneet kivennäisaineprofiileiltaan kovinkaan paljon mansikoista. Pääkomponenttianalyysi tuki siis ajatusta siitä, että kivennäisaineprofiili riippuisi kasvilajista, sillä keskenään sukua olevat lajit ryhmittivät melko lähekkäin. Mansikka, vadelma, omena, päärynä ja aprikoosi kuuluvat kaikki ruusukasvien heimoon, mutta näistä mansikka ja vadelma (alaheimo *Rosoideae*) ovat keskenään läheisempää sukua ja samoin omena, päärynä ja aprikoosi (alaheimo *Amygdaloideae*) ovat keskenään läheisempää sukua. Metsämustikat ja pensasmustikat ovat keskenään biologisesti samaa sukua (*Vaccinium*), samoin mustaherukka ja karviainen (*Ribes*) sekä erilaiset kurpitsat (*Cucurbita*). Kasvilajien kivennäisainekoostumuksessa on todettu eroja myös useissa aiemmissa tutkimuksissa (esimerkiksi Plessi ym. 2007; Hegedüs ym. 2008; Mahmood ym. 2012; Hua ym. 2014).

Tilastollinen luokittelu SIMCA-mallien avulla 95 %:n todennäköisyydellä

Muiden kasvilajien avulla testattiin, voidaanko niiden ennustaa olevan kivennäisaineprofiilinsa perusteella 95 %:n tarkkuudella muita kuin mansikoita, eli onko eri kasvilajien kivennäisaineprofiileissa eroa (taulukko 14). Vadelmat eivät erottuneet mansikoista yhdelläkään kokeillulla SIMCA-mallilla, mutta kaikki muut kasvilajit erottuivat mansikoista. Kasvilajia ei siis voitu ennustaa aineiston perusteella aivan täysin oikein, vaan mansikan kanssa taksonomisesti samaan alaheimoon kuuluvat vadelmat olivat kivennäisaineprofiililtaan hyvin samankaltaisia mansikoiden kanssa. Toisaalta kaikki muut tutkimuksen kasvilajit saatiin eroteltua mansikoista kivennäisaineprofiilinsa perusteella 95 %:n todennäköisyydellä. Kasvilajien erottumista koskevat tulokset ovat hyvin linjassa esimerkiksi Plessin tutkimusryhmän (2007) aiempien tulosten kanssa. Tulokset asettavat myös rajoja menetelmälle, sillä kivennäisaineprofiilin perusteella ei luultavasti voida erottaa mansikan sukulaislajien, esimerkiksi vadelman, käyttöä mansikkahillon väärentämisessä. Plessin ym. (2007) tutkimuksessa eri marjasuvut erosivat toisistaan ja saman suvun sisällä lajien erottuminen oli osittaista, mutta tässä maisterintutkielmassa erottumista häytti jo lajien kuuluminen samaan alaheimoon. Lisätutkimusta sukulaislajien kivennäisaineprofiilien eroista siis tarvitaan, jos kivennäisaineprofiiliin perustuvaa menetelmää aiotaan käyttää väärennösten paljastamisessa.

3.4.5 ICP–OES-menetelmän toiminnan ja laadun tarkastelu

Oikeellisuus

ICP–OES-menetelmän määrittystulokset olivat oikeellisia neljän erilaisen vertailumateriaalin perusteella määritettäessä kalsiumia, rikkiä, kaliumia, fosforia, magnesiumia ja mangaania, sillä kaikkien vertailumateriaalien kaikki rinnakkaismäärittystulokset olivat välillä 80–120 % vertailuarvosta (taulukko 9). Määrittystulosten keskiarvot olivat lisäksi oikeellisia kaikissa vertailumateriaaleissa sinkin osalta. Lyijylle oli määritetty vertailuarvo vain yhdessä laboratorion sisäisessä vertailumateriaalissa, josta sitä määritettiin melko pieniä pitoisuuksia, 54–106 %:a vertailuarvosta. Alumiinin ja piin määrittystulosten oikeellisuus oli systemaattisesti huono kaikissa vertailumateriaaleissa, joille oli ilmoitettu niiden vertailuarvot. Boorin, kadmiumin, kuparin, raudan ja molybdeenin määrittystulosten oikeellisuuksista saatiin hieman ristiriitaisia tuloksia ja rinnakkaismäärittysten oikeellisuuksien vaihteluvälin todettiin olevan näiden alkuaineiden kohdalla suuri kaikissa vertailumateriaaleissa. Näytteiden pullotukseen käytettiin borosilikaattilasista valmistettuja mittapulloja, mikä saattoi vaikuttaa boorin ja piin tulosten oikeellisuuteen, sillä kirjallisuuden perusteella (esimerkiksi Geisler ym. 2010) borosilikaattilasi liukenee happamissa olosuhteissa. Ongelman voisi välttää käyttämällä muovisia mittapulloja, sillä ainakin Dolanin ja Caparin (2002) tutkimuksessa booria on määritetty onnistuneesti ICP–OES-laitteistolla muoviastioita käyttäen. Alumiini ja lyijy puolestaan ovat alttiita laboratorion lähtöisin olevalle kontaminaatiolle (Dolan ja Capar 2002), mikä voi vaikuttaa myös tässä tutkielmassa tuloksiin. Kadmiumin, lyijyn, molybdeenin ja kuparin määrittämistä hankaloitti oletettavasti niiden matala pitoisuus vertailumateriaaleissa. Oikeellisuuden kannalta sopivimpia alkuaineita tulosten käsittelyyn monimuuttujamenetelmiä hyödyntäen olivat siis ainakin kalsium, rikki, kalium, fosfori, magnesium, mangaani ja sinkki.

Toistettavuus

Menetelmän toistettavuutta arvioitiin käytettyjen vertailumateriaalien määrittysten variaatiokertoimien avulla (taulukko 9). Menetelmän toistettavuuden todettiin olevan hyvä kalsiumille, kaliumille, magnesiumille, mangaanille, fosforille, rikille ja sinkille, eli menetelmällä saatiin yhtäpitäviä tuloksia näiden alkuaineiden määrittämisestä ($n = 26$). Menetelmän toistettavuus oli kyseenalainen lyijyn, boorin, molybdeenin, kadmiumin, piin, alumiinin, kuparin ja raudan kohdalla. Näistä monia alkuaineita esiintyi vain hyvin pieniä pitoisuuksia, mikä yleensä vaikeuttaa mittaamista ja nostaa variaatiokerrointa. Muita syitä huonolle toistettavuudelle ovat jo oikeellisuuden kohdalla mainitut kontaminaatio-ongelmat ja lasisten mittapullojen käyttö. Toistettavuuden kannalta sopivimpia alkuaineita

tulosten käsittelyyn monimuuttujamenetelmiä hyödyntäen olivat siis oletettavasti näytteissäkin suuremmissa määrin esiintyvät kivennäisaineet (Ca, K, Mg, P ja S) sekä hivenaineista mangaani ja sinkki.

Uusittavuus

Uusittavuutta voitiin tässä koeasetelmassa arvioida vain laboratorion sisäisesti ajan suhteen, eli vertaamalla eri määrittäspäivien variaatiokertoimia toisiinsa (liite 6 taulukko 1). Alkuaineilla, joilla oli hyvä toistettavuus (Ca, K, Mg, Mn, P, S, Zn), oli pääsääntöisesti myös hyvä laboratorion sisäinen uusittavuus, eli niiden variaatiokertoimet pysyivät pieninä määrittäsjankohdasta ja vertailumateriaalista rippumatta. Kadmiumin uusittavuus oli hyvä tomaatinlehtivertailunäytteessä, mutta huono muissa vertailunäytteissä, mikä liittyy luultavasti määritettävien pitoisuuksien eroihin ja sijoittumiseen lähelle määrittärajaa. Raudan, kuparin ja alumiinin variaatiokertoimet olivat joinain määrittäskertoina ja joissain materiaaleissa erinomaisia, mutta niiden uusittavuus oli silti kyseenalainen. Laboratorion sisäisistä vertailumateriaaleista viherjauheen variaatiokertoimet olivat pääsääntöisesti suurempia kuin muiden vertailunäytteiden, mikä voi johtua materiaalin epähomogeenisuudesta. Boorin, molybdeenin, lyijyn ja piin uusittavuus oli huono kaikissa neljässä vertailumateriaalissa.

Mittausepävarmuus

Mittausepävarmuutta arvioitiin karkeasti vertailunäytteiden määritettyjä keskiarvoja ja -hajontoja hyödyntäen ja se ilmaistiin kaksinkertaisena keskihajonnan prosenttiosuutena keskiarvosta (taulukko 9). Hyvin pieninä pitoisuuksina esiintyvien alkuaineiden (lyijy, kadmium ja molybdeeni) mittaamiseen liittyi suuri epävarmuus. Kaliumin, kalsiumin, magnesiumin, mangaanin, fosforin, rikin ja sinkin mittausepävarmuudet olivat kaikissa vertailumateriaaleissa alle 16 %. Alumiinin, boorin ja piin mittausepävarmuudet olivat suuria. Kuparin ja raudan mittausepävarmuus puolestaan vaihteli eri vertailumateriaalien välillä melko paljon.

Havaitsemis- ja määrittärajat

Havaitsemisraja ja määrittäraja laskettiin kaikkien tutkimuksen aikana määritettyjen reagenssinollanäytteiden ($n = 26$) avulla (taulukko 9). Aikaisempaan tutkimukseen verrattuna määrittärajat olivat samalla tasolla alumiinin, kuparin, mangaanin, molybdeenin, kaliumin ja sinkin osalta (Dolan ja Capar 2002). Tämän tutkielman määrittärajat olivat aiempaan verrattuna parempia kalsiumin, magnesiumin, kadmiumin ja lyijyn osalta, mutta hieman huonompia fosforin, raudan ja boorin kohdalla (Dolan ja Capar 2002). Osa laimeimpien hillonäytteiden alumiinin, boorin, kadmiumin, molybdeenin ja lyijyn määrittästuloksista jäi alle määrittärajan. Mansikoiden alumiinin, kadmiumin ja

lyijyn tuloksista osa jäi alle määritysrajan, mutta kaikkien muiden alkuaineiden tulokset ylittivät määritysrajan. Menetelmän määritysrajat olivat siis useimpien alkuaineiden osalta riittävän matalia tarkoitukseensa nähden, mutta alumiinin, boorin, kadmiumin, molybdeenin ja lyijyn määritystuloksien jääminen joissakin näytteissä alle määritysrajan rajoittaa niiden käytön mielekkyyttä kivennäisaineprofiileja verrattaessa. Myös mansikkahillonäytteiden kuparin määritystulokset olivat hyvin lähellä määritysrajaa. Mittauksien epävarmuus kasvaa lähellä määritysrajaa ja mahdolliset mittausrvirheet kertautuvat tässä menetelmässä, koska mansikkahillon kivennäisaineprofiili muunnetaan laskennallisesti vastaamaan mansikoiden kivennäisaineprofiilia. Oppikirjatiedon mukaan analyytin pitoisuuden tulisi ICP-OES-menetelmällä mitattaessa ylittää havaitsemisraja viisinkertaisesti semikvantitatiivista analyysiä varten ja satakertaisesti tarkkaa kvantitointia varten (Hou ja Jones 2000). Määritysrajojen kannalta sopivimpia alkuaineita tulosten käsittelyyn monimuuttujamenetelmiä hyödyntäen olivat siis kalsium, rikki, kalium, fosfori, magnesium, mangaani, sinkki, rauta ja pii.

3.4.6 Yhteenveto menetelmän hyvistä ja huonoista puolista

Kivennäisaineprofiilin määrittämisellä ICP–OES-menetelmällä yhdistettynä tulosten käsittelyyn tilastollisia monimuuttujamenetelmiä hyödyntäen on useita hyviä puolia: menetelmä esimerkiksi soveltuu rutiinianalytiikkaan ja on melko nopea. Kivennäisaineprofiili voidaan määrittää tarvittaessa muillakin kuin tässä maisterintutkielmassa kuvatulla ICP–OES-menetelmällä, eli mikä tahansa laboratoriossa käytössä oleva validoitu alkuaineanalytiikan menetelmä soveltuu periaatteessa myös mansikkahilloväärennösten tutkimiseen. Myös pääkomponenttianalyysin tai SIMCA-mallin käyttäminen uusien näytteiden testaamiseen on yksinkertaista ja nopeaa sen jälkeen, kun riittävän kattava aineisto on kerran kerätty. Menetelmän heikko kohta onkin juuri kattavan aineiston tarve: käytännössä aitoustutkimuksia varten pitäisi luoda hyvin kattava kirjasto erilaisten mansikoiden kivennäisaineprofiileista. Tämän maisterintutkielman perusteella menetelmän käyttöä rajoittaisivat myös sukulaislajien samankaltaiset kivennäisaineprofiilit, minkä vuoksi menetelmän soveltuvuusaluetta pitäisi tutkia lisää. Toisaalta kivennäisaineprofiilin riippuminen kasvin taksonomiasta on myös menetelmän suuri etu. Tämän tutkimuksen perusteella vaikuttaa hyvin todennäköiseltä, että menetelmällä saadaan erotettua ainakin omena-, päärynä- ja kurpitsahillon sekoittaminen mansikkahilloon. Kaikkiin menetelmiin liittyy aina epävarmuutta. Tässä menetelmässä sitä aiheuttaa erityisesti korjauskerroin, jolla mansikkahillon määritystulokset saadaan vastaamaan mansikoiden määritystuloksia. Lisätutkimusta tarvitaan myös erilaisten mansikkahillon valmistusprosessien, sallittujen valmistusaineiden ja lisäaineiden vaikutuksesta SIMCA-mallien luokittelukykyyn, sillä on hyvin mahdollista, että hillon resepti voi vaikuttaa sen kivennäisainekoostumukseen. Menetelmä vaikuttaa kuitenkin tulosten perusteella kehityskelpoiselta ja on luultavasti sovellettavissa myös muiden hillojen kuin mansikkahillon aitoustutkimuksiin.

4 PÄÄTELMÄT

Kivennäisaineprofiilia voi tutkielman perusteella hyödyntää mansikkahilloväärengösten toteamisessa. Mansikoiden kivennäisaineprofiileista voidaan luoda mansikkahilloja luokitteleva malli tilastollisten monimuuttujamenetelmien avulla.

Mansikkahillonäytteiden kivennäisaineprofiileja peilattiin väärengösten havaitsemiseksi hankitun mansikka-aineiston kivennäisaineprofiileihin SIMCA-menetelmällä. Tämän vuoksi mansikoiden kivennäisaineprofiilin sisäistä vaihtelua tarkasteltiin lajikkeen, kasvupaikan ja kypsymisajankohdan suhteen. Mansikkahilloväärengösten toteamisen kannalta mansikan kivennäisaineprofiilin vaihtelun olisi hyvä olla mahdollisimman pientä. Osa alkuaineista kertyy mansikan syötävään osaan geenien homeostaattisesti säätelämä, mutta osan kertymiseen vaikuttavat enemmän ympäristötekijät. Mansikoiden ($n = 51$) kivennäisainekoostumuksen vaihtelu oli pienintä magnesiumin, kaliumin, fosforin ja rikin kohdalla, mutta suurinta lyijyn, kadmiumin ja alumiinin kohdalla. Mansikkahillon kivennäisaineprofiili saatiin myös vastaamaan mansikoiden kivennäisaineprofiilia laimennoskerroin huomioon ottaen valitsemalla sopiva alkuaineyhdistelmä.

Mallin erotuskyky varmistettiin hilloväärengösmallien sekä positiivisten kontrollinäytteiden (metsämustikka, pensasmustikka, punainen ja keltainen puutarhavadelma, aprikoosi, myskikurpitsa, kurpitsa, kesäkurpitsa, karviainen ja mustaherukka) avulla. Mansikkahilloväärengösten toteamisen kannalta mansikan ja muiden kasvilajien välisten kivennäisaineprofiilien vaihtelun olisi hyvä olla mahdollisimman suurta. Malliväärengösten avulla selvitettiin omenan, päärynän ja kurpitsan sekoittamisen vaikutusta mansikkahillon kivennäisaineprofiiliin sekä eri seossuhteiden erottumista. Omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashillojen kivennäisaineprofiilit erosivat mansikkapuhdashillon kivennäisaineprofiilista: kurpitsahillossa oli enemmän useimpia mitattuja kivennäisaineita kuin mansikkahillossa, mutta omena- ja päärynähilloissa oli puolestaan vähemmän useimpia mitattuja kivennäisaineita kuin mansikkahillossa. Selkeimpiä eroja neljän hillon kuiva-aineen kivennäisaineprofiileissa oli kalsiumin, kaliumin, magnesiumin, fosforin ja rikin pitoisuuksissa, minkä lisäksi mansikkahillossa oli selkeästi enemmän mangaania kuin muissa hilloissa. Hilloseoksien ja puhtaiden omena-, päärynä- ja kurpitsahillojen erottuminen kivennäisaineprofiilin perusteella mansikkapuhdashillosta tarkasteltiin ensin pääkomponenttianalyysin avulla. Mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsahillo sekä niiden seokset voitiin erottaa kivennäisaineprofiilinsa perusteella toisistaan hyödyntäen useita erilaisia alkuaineyhdistelmiä pääkomponenttianalyysin tekemiseen. Mansikoiden kivennäisaineprofiilin sisäisen vaihtelun havaittiin olevan pienempää kuin tutkittujen

kasvilajien välisen vaihtelun, eli omenan, päärynän ja kurpitsan kivennäisaineprofiilit erosivat mansikoista enemmän kuin mansikat erosivat toisistaan. Kivennäisaineprofiilin (Ca, K, Mg, P, S tai Ca, K, Mg, P, S, Mn) perusteella oli lisäksi mahdollista ennustaa 95 %:n todennäköisyydellä jopa vain 5 %:a omenaa, päärynää tai kurpitsaa sisältävän hillon olevan väärennös SIMCA-mallin avulla.

Menetelmän rajoja eri kasvilajien kivennäisaineprofiilien erottamisessa tutkittiin lisäksi pienimuotoisesti positiivisten kontrollinäytteiden avulla (metsämustikka, pensasmustikka, puutarhavadelma, aprikoosi, myskikurpitsa, kurpitsa, kesäkurpitsa, karviainen ja musta-herukka). Vain vadelman kivennäisaineprofiili ei eronnut SIMCA-luokitteluiden perusteella 95 %:n todennäköisyydellä mansikoiden profiilista, mikä johtunee mansikoiden ja vadelmien kuulumisesta taksonomisesti samaan alaheimoon.

Malleja haluttiin hyödyntää myös väärennöksien etsimisessä kaupallisista mansikkahilloista. Kaupallisten mansikkahillojen kivennäisaineprofiileista tehdyissä pääkomponenttianalyseissä ei havaittu selkeitä ryhmittymiä ja myös selitysaste jäi matalaksi. Vähittäiskaupasta ostettujen hillonäytteiden sekä omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashillojen ja niistä valmistettujen hilloseosten kivennäisaineprofiileista tehdyistä pääkomponenttianalyseistä pääteltiin, että kaupalliset hillonäytteet eivät sisältäneet ainakaan kovin suuria pitoisuuksia omenaa, päärynää tai kurpitsaa. Vähittäiskaupasta ostetuista mansikkahilloista parhaimmillaan vain kaksi kolmasosaa luokiteltiin aidoiksi mansikkahilloiksi kivennäisaineprofiiliin pohjautuvan SIMCA-luokittelun perusteella, mikä kuvasi luultavasti enemmän mallin tekoon käytetyn mansikka-aineiston riittämättömyyttä kuin mansikkahillojen aitoutta. Luotettavan ennusteen tekemiseksi aineiston tulisi vastata paremmin teollisen mansikkahillon valmistukseen käytettäviä mansikoita kasvupaikoiltaan ja lajikkeiltaan.

Tutkielman tavoitteet täyttyivät: ICP–OES-menetelmällä määritetyn kivennäisaineprofiilin perusteella on mahdollista erottaa omena-, päärynä- ja kurpitsahillo sekä niiden yli 5-prosenttiset seokset mansikkahillosta hyödyntäen tilastollisia monimuuttujamenetelmiä (PCA ja SIMCA). Mansikkahillojen aitouden varmistaminen peilaamalla niistä määritettyä kivennäisaineprofiilia mansikkanäytteiden kivennäisaineprofiiliin tilastollisilla menetelmillä vaikuttaa mahdolliselta, mikäli käytetty mansikka-aineisto on tarpeeksi laaja ja vastaa teolliseen hillonvalmistukseen käytettäviä mansikoita esimerkiksi kasvupaikoiltaan ja lajikkeiltaan. Menetelmän hyödyntäminen käytännössä esimerkiksi valvonnassa vaatisi kuitenkin jatkotutkimusta menetelmän rajoituksista – esimerkiksi sukulaislajien erottumisesta – ja huomattavasti laajemman aineiston keräämistä.

LÄHDELUETTELO

- Akhatou I ja Recamales ÁF. 2014. Influence of cultivar and culture system on nutritional and organoleptic quality of strawberry. *Sci Food Agric* 94:866–875.
- Alonso-Blanco C, Aarts MGM, Bentsink L, Keurentjes JJB, Reymond M, Vreugdenhil D, ja Koornneef M. 2009. What Has Natural Variation Taught Us about Plant Development, Physiology, and Adaptation? *The Plant Cell* (21):1877–1896.
- Antunes MC, Cuquel FL, Zawadneak MAC, Mogor AF ja Resende JTV. 2014. Postharvest quality of strawberry produced during two consecutive seasons. *Horticultura Brasileira* 32:168–173.
- Barbosa R M, Batista B L, Varriquee R M, Coelho V A, Campiglia A D ja Barbosa F. 2014. The use of advanced chemometric techniques and trace element levels for controlling the authenticity of organic coffee. *Food Research International* 61:246–251.
- Baxter J, Crews H M, Dennis M J, Goodall I ja Anderson D. 1997. The determination of the authenticity of wine from its trace element composition. *Food Chemistry* 60(3):443–450.
- Boishebert DV, Giraudel J-L ja Montury M. 2006. Characterization of strawberry varieties by SPME-GC-MS and Kohonen self-organizing map. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 80:13–23.
- Bouzari A, Holstege D ja Barrett DM. 2014. Mineral, Fiber, and Total Phenolic Retention in Eight Fruits and Vegetables: A Comparison of Refrigerated and Frozen Storage. *J. Agric. Food Chem.* 63:951–956.
- CAMO Software AS. 2006. The Unscrambler User Manual. The Unscrambler Methods. 278 s. Saatavilla: <http://www.camo.com/downloads/U9.6%20pdf%20manual/The%20Unscrambler%20Methods.pdf>.
- Castellanos-Morales V, Villegas J, Wendelin S, Vierheilig H, Reinhard Eder R ja Cárdenas-Navarro R. 2010. Root colonisation by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* alters the quality of strawberry fruits (*Fragaria × ananassa* Duch.) at different nitrogen levels. *J Sci Food Agric* 90:1774–1782.
- Castiñeira Gómez MDM, Feldmann I, Jakubowski N ja Andersson JT. 2004. Classification of German White Wines with Certified Brand of Origin by Multielement Quantitation and Pattern Recognition Techniques. *J. Agric. Food Chem.* 52(10):2962–2974.
- Caulcutt R ja Boddy R. 1983. *Statistics for analytical chemists*. Chapman and Hall. London. New York.
- Cheajesadagul P, Arnaudguilhem C, Shiwatana J, Siripinyanond A, Szpunar J. 2013. Discrimination of geographical origin of rice based on multi-element fingerprinting by high resolution inductively coupled plasma mass spectrometry. *Food Chemistry* 141:3504–3509.
- Chen K, Hu GQ ja Lenz F. 1997. Effects of CO₂ concentration on strawberry. VI. Fruit yield and quality. *JOURNAL OF APPLIED BOTANY-ANGEWANDTE BOTANIK* 71(5-6):195–200.
- Choi HG, Moon BY, Kang NJ, Kwon JK, Bekhzod K, Park KS ja Lee SY. 2014. Yield Loss and Quality Degradation of Strawberry Fruits Cultivated Under the Deficient Insolation Conditions by Shading. *Hort. Environ. Biotechnol.* 55(4):263–270.
- Chudzinska M ja Baralkiewicz D. 2010. Estimation of honey authenticity by multielements characteristics using inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) combined with chemometrics. *Food and Chemical Toxicology* 48:284–290.
- Collander M ja Ekholm P. 2014. ICP-OES iCAP 6000 käyttöohje. Helsingin yliopisto, Elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos, Maaperätieteen osasto. Luonnos, versio 01. 11 s.
- Coman MS ja Popescu AN. 1997. Inheritance of some strawberry quantitative traits. *Acta Hort.* 439(1):81–88.
- Contia S, Villari G, Faugno S, Melchionna G, Somma S ja Caruso G. 2014. Effects of organic vs. conventional farming system on yield and quality of strawberry grown as an annual or biennial crop in southern Italy. *Scientia Horticulturae* 180:63–71.

Costas-Rodríguez M, Lavilla I, Bendicho C. 2010. Classification of cultivated mussels from Galicia (Northwest Spain) with European Protected Designation of Origin using trace element fingerprint and chemometric analysis. *Analytica Chimica Acta* 664:121–128.

Cubadda F, Daldini M, Carcea M, Pasqui LA, Raggi A ja Stacchini P. 2001. Influence of laboratory homogenization procedures on trace element content of food samples: an ICP-MS study on soft and durum wheat. *Food Additives and Contaminants* 18(9):778–787.

Cugnetto A, Santagostini L, Rolle L, Guidoni S, Gerbi V ja Novello V. 2014. Tracing the “terroirs” via the elemental composition of leaves, grapes and derived wines in cv Nebbiolo (*Vitis vinifera* L.). *Scientia Horticulturae* 172:101–108.

Dragovic-Uzelac V, Pospisil J, Levaj B ja Delonga K. 2005. The study of phenolic profiles of raw apricots and apples and their purees by HPLC for the evaluation of apricot nectars and jams authenticity. *Food Chemistry* 91:373–383.

Demont M, Boutakhrit K, Fekete V, Bolle F ja Loco JV. 2012. Migration of 18 trace elements from ceramic food contact material: Influence of pigment, pH, nature of acid and temperature. *Food and Chemical Toxicology* 50:734–743.

Dolan SP ja Capar SG. 2002. Multi-element Analysis of Food by Microwave Digestion and Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry. *JOURNAL OF FOOD COMPOSITION AND ANALYSIS* 15:593–615.

Ekholm P, Reinivuo H, Mattila P, Pakkala H, Koponen J, Happonen A, Hellström J ja Ovaskainen M-L. 2007. Changes in the mineral and trace element contents of cereals, fruits and vegetables in Finland. *Journal of Food Composition and Analysis* 20:487–495.

Elintarvikelaki 23/2006. 2006. Saatavilla: <https://www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/2006/20060023>. Viitattu 01.06.2015.

Esringü A, Turan M, Gunes A, Esitken A ja Sambo P. 2011. Boron application improves on yield and chemical composition of strawberry. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B – Soil and Plant Science* 61:245–252.

Esslinger S, Riedl J ja Fauhl-Hassek C. 2014. Potential and limitations of non-targeted fingerprinting for authentication of food in official control. *Food Research International* 60:189–204.

Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus (EU) N:o 1169/2011. 2011. elintarviketietojen antamisesta kuluttajille, Euroopan parlamentin ja neuvoston asetusten (EY) N:o 1924/2006 ja (EY) N:o 1925/2006 muuttamisesta sekä komission direktiivin 87/250/ETY, neuvoston direktiivin 90/496/ETY, komission direktiivin 1999/10/EY, Euroopan parlamentin ja neuvoston direktiivin 2000/13/EY, komission direktiivien 2002/67/EY ja 2008/5/EY sekä komission asetuksen (EY) N:o 608/2004 kumoamisesta. *EUVL* 304:18–63.

Euroopan yhteisöjen komissio. 2006. Komission kertomus neuvostolle ja Euroopan parlamentille tilanteesta jalostettaviksi tarkoitettujen marjojen ja kirsikoiden alalla. Bryssel. 11 s.

[Evira] Elintarviketurvallisuusvirasto. 2009a. Elintarvikkeiden ja talousveden kemialliset vaarat. Eviran julkaisuja 13/2009. 148 s.

[Evira] Elintarviketurvallisuusvirasto. 2009b. Ohje 17021/2. Marja- ja hedelmävalmisteiden koostumus ja pakkausmerkinnät – ohje valvojille ja toimijoille. 8 s.

[Evira] Elintarviketurvallisuusvirasto. 2013. Tuoreiden hedelmien ja vihannesten kaupan pitämistä koskevat vaatimukset. Ohje hedelmä- ja vihannesalalle. Eviran ohje 17061/1. 92 s.

[FAOSTAT 2016] Luettu 1.4.2016. Production: Crops. Regions: World. Elements: Production quantity. Items: strawberries. Year: 2013. <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>.

Fekete V, Deconinck E, Bolle F ja Loco JV. Modelling aluminium leaching into food from different foodware materials with multi-level factorial design of experiments. *Food Additives and Contaminants* 29(8):1322–1333.

- [FSA] Food Standards Agency. 2002. FINAL REPORT "Investigation Of The Significant Factors In Elemental Migration From Glass In Contact With Food". PROJECT CODE: A03029. 141 s. Viitattu: 29.1.2016. Saatavilla: <http://www.glass-ts.com/userfiles/files/2002-09%20-%20FSA%20-%20A03029%20Final%20Report%20-%20Investigation%20of%20the%20Significant%20Factors%20in%20Elemental%20migration%20from%20Glass%20in%20Contact%20with%20Food.pdf>.
- Furia E, Naccarato A, Sindona G, Stabile G ja Tagarelli A. 2011. Multielement Fingerprinting as a Tool in Origin Authentication of PGI Food Products: Tropea Red Onion. *J. Agric. Food Chem.* 59:8450–8457.
- Fügel R, Carle R ja Schieber A. 2005. Quality and authenticity control of fruit purées, fruit preparations and jams—a review. *Trends in Food Science & Technology* 16:433–441.
- Geisler T, Janssen A, Scheiter D, Stephan T, Berndt J ja Putnis A. Aqueous corrosion of borosilicate glass under acidic conditions: A new corrosion mechanism. *Journal of Non-Crystalline Solids* 356:1458–1465.
- Gleason PM, Boushey CJ, Harris JE, Zoellner J. 2015. Publishing Nutrition Research: A Review of Multivariate Techniques – Part 3: Data Reduction Methods. *JOURNAL OF THE ACADEMY OF NUTRITION AND DIETETICS* 115(7):1072–1082.
- González A, Armenta S ja de la Guardia M. 2011. Geographical traceability of "Arròs de Valencia" rice grain based on mineral element composition. *Food Chemistry* 126:1254–1260.
- Gonzalez A, Armenta S, de la Guardia M. 2009. Trace-element composition and stable-isotope ratio for discrimination of foods with Protected Designation of Origin. *Trends in Analytical Chemistry* 28(11):1295–1311.
- Grembecka M ja Szefer P. 2013. Comparative assessment of essential and heavy metals in fruits from different geographical origins. *Environ Monit Assess* 185:9139–9160.
- [GMA] Grocery Manufacturers Association. 2010. Consumer product fraud: deterrence and detection. 28 s.
- Günes A, Ataog˘lu N, Turan M, Es, itken A ja Ketterings QM. 2009. Effects of phosphate-solubilizing microorganisms on strawberry yield and nutrient concentrations. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 172:385–392.
- Hakala M, Lapveteläinen A, Huopalahti R, Kallio H ja Tahvonen R. 2003. Effects of varieties and cultivation conditions on the composition of strawberries. *Journal of Food Composition and Analysis* 16:67–80.
- Haldimann M, Alt A, Blanc A, Brunner K, Sager F ja Dudler V. Migration of antimony from PET trays into food simulant and food: determination of Arrhenius parameters and comparison of predicted and measured migration data. *Food Additives & Contaminants: Part A* 30(3):587–598.
- Hargreaves JC, Adl MS, Warman PR ja Rupasinghe HPV. 2008. The effects of organic and conventional nutrient amendments on strawberry cultivation: Fruit yield and quality. *J Sci Food Agric* 88:2669–2675.
- Harmanen I. 2016. Mansikkahillojen väärennösten tunnistaminen SPME-GC-MS- ja UHPLC-MS-tekniikoilla. Maisterintutkielma. Helsingin yliopisto. Elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos.
- Hegedüs A, Balogh E, Engel R, Sipos BZ, Papp J, Blázovics A ja Stefanovits-Bányai E. 2008. Comparative Nutrient Element and Antioxidant Characterization of Berry Fruit Species and Cultivars Grown in Hungary. *HORTSCIENCE* 43(6):1711–1715.
- Herting G, Odnevall Wallinder I ja Leygraf C. 2008. Corrosion-induced release of chromium and iron from ferritic stainless steel grade AISI 430 in simulated food contact. *Journal of Food Engineering* 87:291–300.
- Hietaranta T ja Linna M-M. 1997. Selecting cultivars for strawberry production in Finland – clone and cultivar trial. *Acta Hort.* 439(1):145–148.
- Holland JK, Kemsley EK ja Wilson RH. 1998. Use of Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Partial Least Squares Regression for the Detection of Adulteration of Strawberry Purées. *J Sci Food Agric* 76:263–269.

- Hou X ja Jones BT. 2000. Inductively Coupled Plasma/Optical Emission Spectrometry. s. 9468–9485. Teoksessa: Meyers RA. Encyclopedia of Analytical Chemistry. John Wiley & Sons Ltd. Chichester.
- Hua Z, Zhen-Yu W, Xin Y, Hai-Tian Z, Ying-Chun Z, Ai-Jun D, Jing J J W. 2014. Determination of free amino acids and 18 elements in freeze-dried strawberry and blueberry fruit using an Amino Acid Analyzer and ICP-MS with micro-wave digestion. Food Chemistry 147:189–194.
- Huang Y, Tong C, Xu F, Chen Y, Zhang C, Bao J. 2016. Variation in mineral elements in grains of 20 brown rice accessions in two environments. Food Chemistry 192:873–878.
- Ibáñez MV, Rincón F, Amaro M ja Martínez B. 1998. Intrinsic variability of mineral composition of chickpea (*Cicer arietinum*, L.). Food Chemistry 63(1):5–0.
- Jurado JM, Alcázar A, Pablos F, Martín MJ ja González AG. 2005. Classification of aniseed drinks by means of cluster, linear discriminant analysis and soft independent modelling of class analogy based on their Zn, B, Fe, Mg, Ca, Na and Si content. Talanta 66:1350–1354.
- Kamerud KL, Hobbie KA ja Anderson KA. 2013. Stainless Steel Leaches Nickel and Chromium into Foods during Cooking. J. Agric. Food Chem. 61:9495–9501.
- Kauppa- ja teollisuusministeriön asetus 474/2003. 2003. Kauppa- ja teollisuusministeriön asetus hedelmähilloista, hyytelöistä, marmeladeista ja tietyistä vastaavista valmisteista. Saatavilla: <http://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2003/20030474>. Viitattu 12.01.2016.
- Kauppa- ja teollisuusministeriön asetus 752/2007. 2007. Kauppa- ja teollisuusministeriön asetus elintarvikkeissa ja alkoholijuomissa käytettävistä muista lisäaineista kuin makeutusaineista ja väreistä. Saatavilla: <http://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2007/20070752>. Viitattu 26.1.2016.
- Kemsley EK, Holland JK, Defernez M ja Wilson RH. 1996. Detection of Adulteration of Raspberry Purees Using Infrared Spectroscopy and Chemometrics. J. Agric. Food Chem. 44:3864–3870.
- Keutgen AJ ja Pawelzik E. 2007. Quality and nutritional value of strawberry fruit under long term salt stress. Food Chemistry 107:1413–1420.
- Khan MN, Sarwar A, Bhutto S ja Wahab MF. 2010. Physicochemical characterization of the strawberry samples on regional basis using multivariate analysis. International Journal of Food Properties 13:789–799.
- Koivistoinen. 1980. Mineral Element Composition of Finnish Foods: N, K, Ca, Mg, P, S, Fe, Cu, Mn, Zn, Mo, Co, Ni, Cr, F, Se, Si, Rb, Al, B, Br, Hg, As, Cd, Pb and Ash. Acta Agriculturae Scandinavica Supplementum 22. Stockholm. 171 s.
- Komission asetus (EY) N:o 1881/2006. 2006. Tiettyjen elintarvikkeissa olevien vierasaineiden enimmäismäärien vahvistamisesta. EUVL 364. 35 s.
- Kristl J, Krajnc AU, Kramberger B ja Mlakar SG. 2013. Strawberries From Integrated and Organic Production: Mineral Contents and Antioxidant Activity. Acta Chim. Slov. 60:19–25.
- Kurz C, Münz M, Schieber A ja Carle R. 2008. Determination of the fruit content of apricot and strawberry jams and spreads and apricot and peach fruit preparations by gravimetric quantification of hemicellulose. Food Chemistry 109:447–454.
- Kurz C, Reinhold C ja Schieber A. 2008. Characterisation of cell wall polysaccharide profiles of apricots (*Prunus armeniaca* L.), peaches (*Prunus persica* L.), and pumpkins (*Cucurbita* sp.) for the evaluation of fruit product authenticity. Food Chemistry 106:421–430.
- López MI, Trullols E, Callao MP ja Ruisánchez I. 2014. Multivariate screening in food adulteration: Untargeted versus targeted modelling. Food Chemistry 147:177–181.
- Mahmood T, Anwar F, Iqbal T, Bhatti I A, ja Ashraf M. 2012. Mineral composition of strawberry, mulberry and cherry fruits at different ripening stages as analyzed by inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy. Journal of Plant Nutrition, 35:111–122.

Martínez-Ballesta MC, Dominguez-Perles R, Moreno DA, Muries B, Alcaraz-López C, Bastías E, García-Viguera C ja Carvajal M. 2010. Minerals in plant food: effect of agricultural practices and role in human health. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 30:295–309.

Makus DJ ja Morris JR. 1998. Preharvest Calcium Applications Have Little Effect on Mineral Distribution in Ripe Strawberry Fruit. *HortScience* 33(1):64–66.

Matos-Reyes MN, Simonot J, López-Salazar O, Cervera ML, de la Guardia M. 2013. Authentication of Alicante's Mountain cherries protected designation of origin by their mineral profile. *Food Chemistry* 141:2191–2197.

[MIKES] Mittatekniikan keskus. 2005. Kemian metrologian opas. Julkaisu J6/2005. Saatavilla: http://www.mikes.fi/mikes/Oppaat/j6_05_b5_nettiin.pdf.

Miller DD. 2008. Minerals. Teoksessa: Damodaran S, Parkin KL ja Fennema OR. *Fennemas's Food Chemistry*. 4. painos. CRC Press. Boca Raton.

Mir-Marqués A, Elvira-Sáez C, Cervera ML, Garrigues S ja de la Guardia M. 2016. Authentication of protected designation of origin artichokes by spectroscopy methods. *Food Control* 59:74–81.

Neuvoston direktiivi 2001/113/EY. 2001. Direktiivi elintarvikkeena käytettävistä hedelmähilloista, hyytelöistä ja marmeladeista sekä makeutetusta kastanjasoseesta. *EYVL* 10:67–72.

Nile SH ja Park SW. 2014. Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. *Nutrition* 30:134–144.

[NIST] National Institute of Standards & Technology. 1988. Certificate of analysis. Standard reference material 1567a wheat flour.

[NIST] National Institute of Standards & Technology. 1995. Certificate of analysis. Standard reference material 1573a Tomato Leaves.

[NMKL] Pohjoismainen elintarvikkeiden metodiikkakomitea. 1990. NMKL-raportti 8. Elintarvikelaboratorioiden GLP-periaatteet kemiallisia määrittämiä varten.

[NMKL] Pohjoismainen elintarvikkeiden metodiikkakomitea. 1996. NMKL Procedure No. 4. Validation of chemical methods. 24 s.

[NMKL] Pohjoismainen elintarvikkeiden metodiikkakomitea. 1997. NMKL Procedure No. 5. Estimation and expression of measurement uncertainty in chemical analysis. 15 s.

Nunes CA, Alvarenga VO, de Souza Sant'Ana A, Santos JS ja Granato D. 2015. The use of statistical software in food science and technology: Advantages, limitations and misuses. *Food Research International* 75:270–280.

Oliveira M, Ramos S, Delerue-Matos C ja Morais S. 2015. Espresso beverages of pure origin coffee: Mineral characterization, contribution for mineral intake and geographical discrimination. *Food Chemistry* 177:330–338.

Oliveri P ja Downey G. 2012. Multivariate class modeling for the verification of food-authenticity claims. *Trends in Analytical Chemistry* 35:74–86.

Paavola T ja Pahkala E. 2011. Marjojen ja sienten alkuperämaamerkinntä ja jäljitettävyyttä Helsingissä 2010. Helsingin kaupungin ympäristökeskuksen julkaisuja 7/2011. 13 s.

Perez AL, Smith BW ja Anderson KA. 2006. Stable Isotope and Trace Element Profiling Combined with Classification Models To Differentiate Geographic Growing Origin for Three Fruits: Effects of Subregion and Variety. *J. Agric. Food Chem.* 54(13):4506–4516.

Plessi M, Bertelli D ja Albasini A. 2007. Distribution of metals and phenolic compounds as a criterion to evaluate variety of berries and related jams. *Food Chemistry* 100:419–427.

- Primrose S, Woolfe M ja Rollinson S. 2010. Food forensics: methods for determining the authenticity of foodstuffs. *Trends in Food Science & Technology* 21:582–590.
- Potortù AG, Di Bella G, Lo Turco V, Rando R ja Dugo G. 2013. Non-toxic and potentially toxic elements in Italian donkey milk by ICP-MS and multivariate analysis. *Journal of Food Composition and Analysis* 31:161–172.
- Reganold JP, Andrews PK, Reeve JR, Carpenter-Boggs L, Schadt CW, Alldredge JR, Ross CF, Davies NM ja Zhou J. 2010. Fruit and Soil Quality of Organic and Conventional Strawberry Agroecosystems. *PLoS ONE* 5(9).
- Reid LM, O'Donnell CP ja Downey G. 2004. Potential of SPME-GC and Chemometrics to detect adulteration of soft fruit purées. *J. Agric. Food Chem.* 52:421–427.
- Riedl J, Esslinger S ja Fauhl-Hassek C. 2015. Review of validation and reporting of non-targeted fingerprinting approaches for food authentication. *Analytica Chimica Acta* 885:17–32.
- Roininen K ja Mokkila M. 2007. Selvitys marjojen ja marjasivuvirtojen hyödyntämispotentiaalista Suomessa. VTT. 36 s.
- Schieber A, Fügél R, Henke M ja Carle R. 2005. Determination of the fruit content of strawberry fruit preparations by gravimetric quantification of hemicellulose. *Food Chemistry* 91:365–371.
- Semwal AD, Padmashree A, Khan MA, Sharma GK ja Bawa AS. 2006. Leaching of aluminium from utensils during cooking of food. *J Sci Food Agric* 86:2425–2430.
- Sharma RR, Patel VB, Krishna H. 2006. Relationship between light, fruit and leaf mineral content with albinism incidence in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Scientia Horticulturae* 109:66–70.
- Shivashankara KS, Srinivasa Rao NK ja Geetha GA. 2013. Impact of Climate Change on Fruit and Vegetable Quality. Teoksessa: Singh HP ym. 2013. *Climate-Resilient Horticulture: Adaptation and Mitigation Strategies*. Springer India.
- Shen F, Wu J, Ying Y, Li B ja Jiang T. 2013. Differentiation of Chinese rice wines from different wineries based on mineral elemental fingerprinting. *Food Chemistry* 141:4026–4030.
- Singh A, Singh BK, Brajendra, Nath A ja Deka BC. 2010. Studies on the variability, inheritance, and inter-relationships of mineral macro-nutrients and micro-nutrients in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 85(6):551–555.
- Singh UM, Sareen P, Sengar RS ja Kumar A. 2013. Plant ionomics: a newer approach to study mineral transport and its regulation. *Acta Physiol Plant* 35:2641–2653.
- Szymańska E, Gerretzen J, Engel J, Geurts B, Blanchet L ja Buydens LMC. 2015. Chemometrics and qualitative analysis have a vibrant relationship. *Trends in Analytical Chemistry* 69:34–51.
- Tagliavini M, Baldi E, Lucchi P, Antonelli M, Sorrenti G, Baruzzi G ja Faedi W. 2005. Dynamics of nutrients uptake by strawberry plants (*Fragaria x Ananassa* Dutch.) grown in soil and soilless culture. *Europ. J. Agronomy* 23:15–25.
- Thiel G, Geisler G, Blechschmidt I ja Danzer K. 2004. Determination of trace elements in wines and classification according to their provenance. *Anal Bioanal Chem* 378:1630–1636.
- [USDA] United States Department of Agriculture. 2015a. USDA National Nutrient Database for Standard Reference Release 28. Basic Report 09316, Strawberries, raw. National Nutrient Database for Standard Reference Release 28 Software v.2.3.2 The National Agricultural Library.
- [USDA] United States Department of Agriculture. 2015b. USDA National Nutrient Database for Standard Reference Release 28. Basic Report 09318, Strawberries, frozen, unsweetened. National Nutrient Database for Standard Reference Release 28 Software v.2.3.2 The National Agricultural Library.

- Vandeginste B. 2013. 7 – Chemometrics in studies of food origin. Teoksessa: Brereton P. 2013. New analytical approaches for verifying the origin of food. Woodhead Publishing Limited. Oxford Cambridge Philadelphia New Delhi.
- Varo P, Lähelmä O, Nuurtamo M, Saari E ja Koivistoinen P. 1980. Mineral Element Composition Of Finnish Foods. Acta Agriculturae Scandinavica Suppl 22:89–113.
- Veríssimo MIS, Oliveira JABP ja Gomes TSR. 2006. Leaching of aluminium from cooking pans and food containers. Sensors and Actuators B 118:192–197.
- Welch RM ja Graham RD. 2002. Breeding crops for enhanced micronutrient content. Plant and Soil 245:205–214.
- Wasim M, Khalid N, Asif A, Arif M ja Zaidi JH. 2012. Elemental characterisation of strawberry grown in Islamabad by k_0 -instrumental neutron activation analysis and atomic absorption spectrophotometry and its dietary assessment. J Radioanal Nucl Chem 292:1153–1159.
- Wold A-B ja Opstad N. 2007. Fruit quality in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch. cv. Korona) at three times during the season and with two fertilizer strategies. Journal of Applied Botany and Food Quality 81:36–40.
- Xie J ja Zhao Y. 2004. Physical and physicochemical characteristics of three U.S. strawberry cultivars grown in the Pacific Northwest. Journal of Food Quality 27:181–194.
- Zampella M, Quérel C R, Paredes E, Asfaha D G, Vingiani S ja Adamo P. 2011. Soil properties, strontium isotopic signatures and multi- element profiles to authenticate the origin of vegetables from small-scale regions: illustration with early potatoes from southern Italy. Rapid Commun. Mass Spectrom. 25:2721–2731.
- Önal MK ja Topcuoğlu B. 2012. The Effects of Sewage Sludge on the Plant Nutrients and Heavy Metal Contents of Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch) Plant. Acta Hort. 944:87–91.

LIITTEET**Liite 1 Mansikkanäytteiden (n = 51) tiedot****Taulukko 1.** Mansikkanäytteiden ostopäivämäärä, kasvupaikka ja lajike.

Ostopäivämäärä	Kasvumaa	Kasvupaikkakunta	Lajike
18.6.2015	Saksa	–	Honeoye
18.6.2015	Suomi	Varsinais-Suomi, Taivassalo	Honeoye
18.6.2015	Hollanti	–	Sonata
22.6.2015	Hollanti	–	Elsanta
25.6.2015	Suomi	Pohjois-Savo, Suonenjoki	Honeoye
25.6.2015	Suomi	Varsinais-Suomi, Taivassalo	Polka
25.6.2015	Ruotsi	Öölanti	Honeoye
25.6.2015	Suomi	Varsinais-Suomi, Piikkiö	Hella
26.6.2015	Suomi	Uusimaa, Hyvinkää	Flair
26.6.2015	Ruotsi	Uppsala	Flair
27.6.2015	Suomi	Päijät-Häme, Lahti	Honeoye
29.6.2015	Suomi	Uusimaa, Siuntio	Polka
29.6.2015	Ruotsi	–	Sonata
29.6.2015	Suomi	Uusimaa, Hyvinkää	Wendy
2.7.2015	Suomi	Varsinais-Suomi, Sauvo	Honeoye
2.7.2015	Ruotsi	–	Sonata
2.7.2015	Viro	–	Polka
2.7.2015	Suomi	Varsinais-Suomi, Taivassalo	Hella
2.7.2015	Viro	–	Sonata
2.7.2015	Suomi	Varsinais-Suomi, Piikkiö	Korona
8.7.2015	Suomi	Varsinais-Suomi, Perniö	Rumba
8.7.2015	Suomi	Päijät-Häme, Asikkala	Honeoye
9.7.2015	Suomi	Pohjois-Karjala, Kesälahti	Polka
9.7.2015	Suomi	Pohjois-Karjala, Kesälahti	Sonata
9.7.2015	Suomi	Pohjois-Savo, Suonenjoki	Kimberly
10.7.2015	Suomi	Uusimaa, Kirkkonummi	Hella
10.7.2015	Suomi	Etelä-Savo, Punkaharju	Polka
10.7.2015	Suomi	Uusimaa, Espoo	Polka
22.7.2015	Suomi	Varsinais-Suomi, Taivassalo	Sonata
22.7.2015	Suomi	Satakunta, Kokemäki	Polka (2. lk)
22.7.2015	Suomi	Varsinais-Suomi, Sauvo	Polka
23.7.2015	Suomi	Pohjois-Karjala, Kesälahti	Salsa
23.7.2015	Suomi	Uusimaa, Hyvinkää	Polka
23.7.2015	Suomi	Pohjois-Savo, Suonenjoki	Rumba
23.7.2015	Suomi	Varsinais-Suomi, Sauvo	Kimberly
23.7.2015	Suomi	Pohjois-Savo, Suonenjoki	Elianny
29.7.2015	Suomi	Uusimaa, Tuusula	Polka
30.7.2015	Suomi	Päijät-Häme, Lahti	Rumba
7.8.2015	Suomi	Pohjois-Savo, Suonenjoki	Florence
10.8.2015	Suomi	Pohjois-Savo, Suonenjoki	Polka
10.8.2015	Suomi	Varsinais-Suomi, Lieto	Honeoye

Taulukko 1. Jatkuu.

Ostopäivämäärä	Kasvumaa	Kasvupaikkakunta	Lajike
10.8.2015	Suomi	Pohjois-Savo, Siilinjärvi	Polka
13.8.2015	Suomi	Varsinais-Suomi, Sauvo	Sonata
13.8.2015	Suomi	Varsinais-Suomi, Sauvo	Malviina
13.8.2015	Ruotsi	–	Polka
13.8.2015	Suomi	Varsinais-Suomi, Merimasku	Malviina
13.8.2015	Suomi	Pohjois-Karjala, Kesälahti	–
17.8.2015	Suomi	Pohjois-Savo, Suonenjoki	Rumba
17.8.2015	Suomi	Pohjois-Savo, Suonenjoki	Polka
24.8.2015	Suomi	Varsinais-Suomi, Paimio	Polka
1.9.2015	Suomi	Pohjois-Savo, Suonenjoki	Malviina

Liite 2 Vähittäiskaupasta hankittujen mansikkavalmisteiden (n = 33) tiedot**Taulukko 1.** Itse vähittäiskaupasta hankittujen hillojen näytetiedot.

Näytekoodi	Mansikoiden alkuperämaa	Marjaa g/100g	Sokeria g/100g	Ainesosat
Hillo 1		45	43	Mansikka, sokeri, glukoosi-fruktoosisiirappi, vesi, sakeuttamisaine (E440), happamuudensäätöaine (E330), säilöntäaineet (E211, E202).
Hillo 2		40	46	Mansikka, sokeri, vesi, sakeuttamisaineet (E440, E410), happamuudensäätöaineet (E330, E333), säilöntäaine (E202), aromi, värit (E120, E160a).
Hillo 3	Suomi	50	46	Suomalaisia mansikoita, sokeria, vettä, sakeuttamis- ja hyytelöimisainetta (E440), happamuudensäätöainetta (E330), säilöntäainetta (E211, E202).
Hillo 4		40	42	Mansikka, sokeri, vesi, sakeuttamisaine (pektiini), happo (sitruunahappo, trikalsiumsitraatti).
Hillo 5 (sose)		100	0	Mansikka.
Hillo 6	Puola ja Kiina	40	45	Mansikka, sokeri, vesi, hedelmätäysmehu, hyytelöimisaineet (E440, E415), happamuudensäätöaine (E330), säilöntäaine (E202).
Hillo 7		40	44	Sokeri, mansikka, vesi, sakeuttamisaine (pektiini), happo (sitruunahappo), säilöntäaine (kaliumsorbaatti).
Hillo 8		50	37	Sokeri, mansikka (50 %), vesi, sakeuttamisaine (pektiini), happamuudensäätöaine (sitruunahappo), säilöntäaineet (natriumbentsoaatti, kaliumsorbaatti).
Hillo 9		51	52	Mansikka 51,0 %, rypäle- ja taatelimehutiiviste, hyytelöimisaine: pektiini, sitruunamehu.
Hillo 10		52	46	Mansikka, sokeri, vesi, sakeuttamisaine (pektiini), happamuudensäätöaine (sitruunahappo), säilöntäaine (kaliumsorbaatti).
Hillo 11	Puola ja Kiina	40	45	Mansikka, sokeri, vesi, hyytelöimisaineet (E440, E415), happamuudensäätöaine (E330), säilöntäaine (E202).
Hillo 12		35	46	Sokeri, mansikka (35 %), vesi, sakeuttamisaine (E440), happamuudensäätöaine (E330) ja säilöntäaine (E202).
Hillo 13		52	27	Mansikka, sokeri, vesi, sitruunamehu, punainen viinirypäle mehu, hyytelöimisaine: E440, E410, säilöntäaine: E202.
Hillo 14		35	45	Sokeri, mansikka, vesi, sakeuttamisaineet (E440, E415), happamuudensäätöaine (E330), säilöntäaine (E202), vanilliini, vaniljatanko.
Hillo 15	Puola	35	43	Mansikka (Puola), sokeri, vesi, glukoosi-fruktoosisiirappi, sakeuttamisaineet (E440, E415), happo (E330), säilöntäaine (E202), rypälemehutiiviste.
Hillo 16		41	47	Mansikka, sokeri, vesi, sakeuttamisaineet (E440, E415), happamuudensäätöaine (E330), säilöntäaine (E202).
Hillo 17		35	49	Sokeri, mansikka, vesi, sakeuttamisaine (E440), happamuudensäätöaine (E330), säilöntäaine (E202).

Taulukko 2. Tullilaboratoriolta aiemmasta maisterintutkielmasta (Harmanen 2016) saatujen hillojen näytetiedot.

Näytekoodi	Mansikoiden alkuperämaa	Marjaa g/100g	Sokeria g/100g	Ainesosat
Hillo A		35	47	Sokeri, mansikka, vesi, sakeuttamisaine (E440), happamuudensäätöaine (E330), säilöntäaine (E202).
Hillo B		52	46	Mansikka, sokeri, vesi, sakeuttamisaine (pektiini), happamuudensäätöaine (sitruunahappo), säilöntäaine (kaliumsorbaatti).
Hillo C	Suomi	50	46	Suomalaisia mansikoita, sokeri, vesi, sakeuttamis- ja hyytelöimisaine (E440), happamuudensäätöaine (E330), säilöntäaine (E211, E202).
Hillo D		50	39	Osittain tiivistetty mansikka (50 %), fruktoosisiirappi, aroniatyösmehutiiviste, hyytelöimisaine (pektiini), happo (sitruunahappo), säilöntäaine (kaliumsorbaatti).
Hillo E		35	47	Sokeri, mansikka, vesi, sakeuttamisaine (pektiini), happamuudensäätöaine (sitruunahappo), säilöntäaine (kaliumsorbaatti).
Hillo F		40	46	Mansikka, sokeri, vesi, hyytelöimisaineet (E440, E410), happamuudensäätöaine (E330, E333), säilöntäaine (E202), aromi, värit (E120, E160a).
Hillo H		50	29	Mansikka 50 %, vesi, hedelmäsokeri 20 %, sakeuttamisaine (pektiini), happamuudensäätöaine (sitruunahappo), säilöntäaine (kaliumsorbaatti).
Hillo I	Puola ja Kiina	40	45	Mansikka, sokeri, vesi, hyytelöimisaineet (E440, E415), happamuudensäätöaine (E330), säilöntäaine (E202).
Hillo J	Puola	35	43	Mansikka (Puola), sokeri, vesi, glukoosi-fruktoosisiirappi, sakeuttamisaineet (E440, E415), happo (E330), säilöntäaine (E202), rypälemehutiiviste.
Hillo K		40	42	Mansikka, sokeri, vesi, sakeuttamisaine (pektiini), happo (sitruunahappo, trikalsiumsitraatti).
Hillo L		50	60	Mansikka, sokeri, glukoosi-fruktoosisiirappi, hyytelöimisaine (pektiini), happo (sitruunahappo).
Hillo M		45	43	Mansikka, sokeri, glukoosi-fruktoosisiirappi, vesi, sakeuttamisaine (E440), happamuudensäätöaine (E330), säilöntäaineet (E211, E202).
Hillo N		35	47	Sokeri, mansikka, vesi, sakeuttamisaine (pektiini), happamuudensäätöaine (sitruunahappo), säilöntäaine (kaliumsorbaatti).
Hillo O		41	40	Mansikka, sokeri, vesi, sakeuttamisaineet (E440, E415), happamuudensäätöaine (E330), säilöntäaine (E202).
Hillo P		45	62	Glukoosi-fruktoosisiirappi, mansikka, sokeri, happo (sitruunahappo), hyytelöimisaine (pektiini).
Hillo Q		51	52	Mansikkaa 51 %, rypäle- ja taatelimehutiiviste, hyytelöimisaine (pektiini), sitruunamehu.

Liite 3 Mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashillonäytteiden tiedot

Taulukko 1. Tullilaboratoriolta aiemmasta maisterintutkielmasta saatujen puhdashillojen näytetiedot (Harmanen 2016).

Näyte	Lajike ja alkuperämaa	Valmistuspäivä
Mansikkahillo (<i>Fragaria × ananassa</i>)	Polka (Suomi)	22.1. ja 28.1.2015
Omenahillo (<i>Malus domestica</i>)	Ida Red (Puola)	27.1.2015
Päärynähillo (<i>Pyrus communis</i>)	Conference (Hollanti)	23.1.2015
Kurpitsahillo (<i>Cucurbita moschata</i>)	Myskikurpitsa Butternutt (Portugali)	27.1.2015

Raaka-aineiden valinnassa oli kiinnitetty huomiota lajiketietojen saatavuuteen sekä omenan, päärynän ja kurpitsan kohdalla mahdollisimman halpaan hintaan (Harmanen 2016). Hillot valmistettiin seuraavasti: 1) osittain jäiset marjat tai kuoritut ja paloittelut kasvikset (250 g) homogenoitiin sauvasekoittimella, 2) lisättiin 125 ml vesijohtovettä ja kuumennettiin kiehuvaan, 3) lisättiin 250 g hillosokeria ja keitettiin sekoittaen 10 min, 4) kuumennus lopetettiin, säilöntäaineeksi lisättiin natriumbentsoaattia (0,25 g) ja sekoitettiin, 5) purkittiin metallikantisiin lasipurkkeihin, 6) jäähdytettiin n. 1 h huoneenlämmössä ja 7) varastoitiin jääkaapissa +4 °C:ssa (Harmanen 2016).

Liite 4 Muiden kasvinäytteiden tiedot

Taulukko 1. Muiden kasvinäytteiden tarkat tiedot.

Osto- päivämäärä	Kasvumaa	Kasvu- paikkakunta	Kasvilaji	Latinalainen nimi	Lajike
18.8.2015	Suomi	Etelä-Savo, Puumala	Metsämustikka	<i>Vaccinium myrtillus</i>	–
18.8.2015	Hollanti	–	Pensasmustikka	<i>Vaccinium corymbosum</i>	–
18.8.2015	Suomi	–	Puutarhaveldelma	<i>Rubus idaeus</i>	Glen Amble
18.8.2015	Suomi	Satakunta, Köyliö	Puutarhaveldelma (keltainen)	<i>Rubus idaeus</i>	–
3.9.2015	Ranska	–	Aprikoosi	<i>Prunus armeniaca</i>	Farbaly
3.9.2015	Israel	–	Myskikurpitsa	<i>Cucurbita moschata</i>	–
3.9.2015	Suomi	–	Kurpitsa	<i>Cucurbita pepo</i>	<i>C. pepo</i> var. <i>pepo</i>
3.9.2015	Suomi	Varsinais- Suomi, Salo	Kesäkurpitsa	<i>Cucurbita pepo</i>	<i>C. pepo</i> var. <i>cylindrica</i>
3.9.2015	Suomi	–	Karviainen (punainen)	<i>Ribes uva-crispa</i>	–
3.9.2015	Suomi	–	Mustaherukka	<i>Ribes nigrum</i>	–

Liite 5 Standardikantaliuosten tiedot ja ulkoisen standardisuoran pitoisuudet**Taulukko 1.** Standardikantaliuosten tiedot.

Alkuaine	Valmistaja	Pitoisuus
Alumiini	Accu	10 000 ppm
Boori	Accu	10 000 ppm
Kalsium	Accu	10 000 ppm
Kadmium	Romil	10 000 ppm
Kupari	Romil	10 000 ppm
Rauta	Romil	10 000 ppm
Kalium	Accu	10 000 ppm
Magnesium	Accu	10 000 ppm
Mangaani	Accu	10 000 ppm
Molybdeeni	Fluka	1 000 g/l
Fosfori	Accu	10 000 ppm
Lyijy	Accu	10 000 ppm
Rikki	Accu	10 000 ppm
Pii	Romil	10 000 ppm
Sinkki	Accu	10 000 ppm

Taulukko 2. Ulkoisen standardisuoran pitoisuudet (mg/l).

Alkuaine	STD 1	STD 2	STD 3	STD 4	STD 5	STD 6	STD 7	STD 8	STD 9	STD 10
	Piste 1 mg/l	Piste 2 mg/l	Piste 3 mg/l	Piste 4 mg/l	Piste 5 mg/l	Piste 1 mg/l	Piste 2 mg/l	Piste 3 mg/l	Piste 4 mg/l	Piste 5 mg/l
K	1	10	100	200	500					
Ca, Mg	0,1	1	10	20	50					
Al, B, Cd, Cu, Fe, Mn, Mo, Pb, Zn	0,05	0,5	5	10	25					
P, S						1	10	100	200	500
Si						0,05	0,5	5	10	25

Liite 6 Laboratorion sisäinen uusittavuus

Taulukko 1. Laboratorion sisäinen uusittavuus.

	Alumiini	Boori	Kalsium	Kadmium	Kupari	Rauta	Kalium	Magnesium	Mangaani	Molybdeeni	Fosfori	Lyijy	Rikki	Pii	Sinkki
NIST1573A #1	1	14 ^{*)}	1	1	3	0,4	1	1	1	5	0,5	26 ^{*)}	0,3	3	0,3
NIST1573A #2	15 ^{*)}	15 ^{*)}	6 ^{*)}	5	21 ^{*)}	4	5 ^{*)}	6 ^{*)}	4	110 ^{*)}	5 ^{*)}	164 ^{*)}	5 ^{*)}	30 ^{*)}	4
NIST1573A #3	12 ^{*)}	17 ^{*)}	4 ^{*)}	3	6	10 ^{*)}	4 ^{*)}	4 ^{*)}	5	5	3	22 ^{*)}	4 ^{*)}	5	2
NIST1573A #4	3	3	1	0,4	2	1	0,3	1	1	8	2	82 ^{*)}	1	4	0,4
NIST1573A #5	1	17 ^{*)}	1	1	2	1	1	1	1	13	1	344 ^{*)}	1	12 ^{*)}	1
NIST1573A #6	1	5	3	1	2	1	1	1	0,5	8	0,3	31 ^{*)}	0,1	5	1
NIST1573A #7	1	6	1	0,2	2	0,4	0,2	1	0,4	3	2	129 ^{*)}	1	8 ^{*)}	1
NIST1567A #1	35 ^{*)}	68 ^{*)}	0,4	9	13 ^{*)}	6	0,4	0,2	1	6	0,1	140 ^{*)}	0,3	9 ^{*)}	1
NIST1567A #2	20 ^{*)}	143 ^{*)}	2	15	28 ^{*)}	83 ^{*)}	1	1	2	50 ^{*)}	1	160 ^{*)}	1	18 ^{*)}	2
NIST1567A #3	38 ^{*)}	211 ^{*)}	4	42 ^{*)}	6	2	1	1	2	52 ^{*)}	3	309 ^{*)}	2	17 ^{*)}	3
NIST1567A #4	13 ^{*)}	60 ^{*)}	2	18	2	2	0,3	0,3	1	38 ^{*)}	2	1 436 ^{*)}	1	22 ^{*)}	2
NIST1567A #5	23 ^{*)}	41 ^{*)}	1	10	12 ^{*)}	3	1	0,1	1	2	1	348 ^{*)}	1	5	0,1
NIST1567A #6	19 ^{*)}	41 ^{*)}	1	12	3	3	1	1	2	6	3	105 ^{*)}	1	4	1
NIST1567A #7	6	39 ^{*)}	2	22 ^{*)}	3	9 ^{*)}	1	0,5	1	10	4	2 950 ^{*)}	1	10 ^{*)}	17 ^{*)}
Jauho 1 #1	22 ^{*)}	130 ^{*)}	1	2	1	2	1	1	1	45 ^{*)}	1	16	0,2	10 ^{*)}	0,2
Jauho 1 #2	22 ^{*)}	401 ^{*)}	1	42 ^{*)}	19 ^{*)}	8 ^{*)}	1	2	0,4	101 ^{*)}	3	91 ^{*)}	2	13 ^{*)}	2
Jauho 1 #3	12 ^{*)}	239 ^{*)}	1	19	3	1	1	1	1	136 ^{*)}	1	361 ^{*)}	1	7	1
Jauho 1 #4	12 ^{*)}	125 ^{*)}	1	7	3	1	1	1	1	11	3	114 ^{*)}	1	21 ^{*)}	1
Jauho 1 #5	22 ^{*)}	57 ^{*)}	1	59 ^{*)}	3	1	1	1	1	16 ^{*)}	2	126 ^{*)}	2	5	1
Jauho 1 #6	6	34 ^{*)}	1	17	1	1	1	2	2	23 ^{*)}	1	213 ^{*)}	0,2	1	1
Jauho 1 #7	20 ^{*)}	27 ^{*)}	1	25 ^{*)}	3	0,5	1	1	1	59 ^{*)}	1	126 ^{*)}	1	3	0,3
Viherjauhe #1	5	48 ^{*)}	1	1	9 ^{*)}	5	1	0,5	13 ^{*)}	2	0,2	6	1	2	2
Viherjauhe #2	15 ^{*)}	48 ^{*)}	8 ^{*)}	18	8 ^{*)}	6 ^{*)}	1	3	2	31 ^{*)}	5 ^{*)}	13 ^{*)}	1	37 ^{*)}	2
Viherjauhe #3	3	20 ^{*)}	10 ^{*)}	18	7	5	3	4	4	8	3	25 ^{*)}	3	5 ^{*)}	2
Viherjauhe #4	8 ^{*)}	51 ^{*)}	6 ^{*)}	4	9 ^{*)}	5	1	2	2	10	5 ^{*)}	5	3	6 ^{*)}	2
Viherjauhe #5	8 ^{*)}	14 ^{*)}	7 ^{*)}	8	5	30 ^{*)}	2	2	1	20 ^{*)}	6 ^{*)}	15 ^{*)}	1	8 ^{*)}	1
Viherjauhe #6	8 ^{*)}	16 ^{*)}	5 ^{*)}	7	2	5	1	3	3	6	4	7	1	13 ^{*)}	2
Viherjauhe #7	4	14 ^{*)}	4	6	8 ^{*)}	13 ^{*)}	1	1	1	43 ^{*)}	4	20 ^{*)}	2	9 ^{*)}	3

^{*)} Variaatiokerroin ei ole hyväksyttävällä tasolla ohjeen NMKL 1996 mukaan.

Liite 7 Mansikkanäytteiden alkuperäistulokset

Taulukko 1. Mansikkanäytteiden ($n = 51$) kivennäisainemäärittysten alkuperäistulokset.

Näyte	Al	B	Ca	Cd	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Mo	P	Pb	S	Si	Zn
DE Honeoye	6,0	7,7	2 048	0,010	3,5	27,6	15 450	1 266	26,2	1,05	2 315	-0,086	741	45,9	8,7
FI Honeoye	10,3	16,0	1 639	0,021	4,2	21,9	11 512	1 016	16,1	0,44	1 840	-0,065	537	105,5	12,1
NL Sonata	7,8	13,8	2 404	0,001	2,2	22,9	15 729	1 335	43,1	0,26	2 891	-0,155	847	125,3	15,0
NL Elsanta	5,6	19,8	1 517	-0,008	3,1	26,0	17 461	1 212	53,1	0,49	2 814	-0,187	753	23,1	20,3
FI Honeoye	17,2	16,9	1 881	0,002	2,7	34,9	12 876	1 115	19,0	0,81	1 783	0,082	630	97,6	12,1
FI Polka	6,3	16,4	1 427	0,033	4,0	18,2	11 392	965	13,8	0,90	1 956	0,157	554	92,3	14,4
SE Honeoye	20,3	9,2 ^{*)}	2 437	-0,006	3,2	41,8	14 582	1 176	26,8	1,17	2 267	0,034	619	68,3	8,2
FI Hella	2,7	16,0	1 052	0,062	2,1	21,4	12 279	943	18,3	0,34	2 212	-0,052	702	66,3	8,5
FI Flair	1,1	7,6	1 246	0,000	3,9	19,0	13 032	1 060	21,9	1,14	1 886	0,073	660	41,2	8,5
SE Flair	3,0 ^{*)}	26,2 ^{*)}	1 567	0,016	4,1	22,8	9 797	950	11,4	0,45	1 725	-0,120	721	24,4	7,2
FI Honeoye	28,8	22,1	1 554	0,010	2,6	44,0	14 731	1 099	16,7	0,43	2 349	-0,041	856	40,1	7,5
FI Polka	17,8	12,6	1 886	0,017	2,7	28,6	9 068	970	14,1	0,24	1 669	-0,010	521	40,1	7,3
SE Sonata	10,4	12,7	1 568	0,039	2,4	17,8	15 166	959	15,1	0,29	2 269	-0,012	596	25,6	8,1
FI Wendy	4,3	19,0	1 364	0,043	3,6	20,3	11 907	959	17,7	0,85	2 092	0,008	634	27,8	8,2
FI Honeoye	3,7	12,5	1 546	0,010	3,7	20,7	12 207	1 032	5,8	0,50	2 058	0,044	595	31,5	7,3
SE Sonata	3,7	9,3	1 489	0,019	4,0	20,7	13 715	1 082	17,6	0,48	2 032	0,066	656	50,3	11,3
EE Polka	2,2	15,7	1 427	-0,002	2,1	16,2	12 113	1 083	18,2	0,37	1 975	-0,004	568	41,2	7,0
FI Hella	2,2	15,0	1 379	0,087	2,3	26,1	12 770	1 057	22,4	0,43	2 348	-0,177	789	97,5	9,2
EE Sonata	1,1	13,6	909	0,005	2,5	19,4	14 232	1 151	26,7	0,49	2 042	0,022	793	35,2	8,9
FI Korona	3,0	13,7	1 157	0,042	2,0	18,5	11 217	980	35,4	0,26	1 510	-0,054	594	82,6	8,4
FI Rumba	0,6	13,4	1 490	-0,007	2,7	21,5	11 175	931	8,6	0,86	1 951	-0,099	637	45,0	4,9
FI Honeoye	5,1	20,2	2 758	0,042	3,2	27,3	15 212	1 378	27,5	1,21	2 158	0,106	805	29,8	10,9
FI Polka	5,1	10,6	1 169	0,016	3,8	21,1	12 288	1 069	22,4	0,67	1 861	-0,110	538	29,9	10,3
FI Sonata	1,6	19,6	1 081	0,017	3,8	15,6	11 734	1 011	22,6	0,20	1 916	-0,172	633	42,4	8,4
FI Kimberly	0,5	15,6 ^{*)}	1 402	0,009	4,4	16,4	12 508	1 093	20,1	0,55	2 453	-0,197	794	52,7	9,2

) Merkintä ”)” tarkoittaa, että rinnakkaismäärittysten $n = 2$, kun muissa $n = 3$. Ääriarvo on poistettu Dixonin testin perusteella.

Taulukko 1. Jatkuu.

Näyte	Al	B	Ca	Cd	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Mo	P	Pb	S	Si	Zn
FI Hella	5,1	20,3	1 071	0,052	3,1	23,1	11 156	1 030	28,6	0,26 ^{*)}	1 998	-0,125	542	45,2	8,3
FI Polka	1,3	23,8	1 453	0,034	4,1	15,6	11 840	1 134	39,3	0,55	1 919	0,024	635	46,7	11,3
FI Polka	4,3	10,7	1 602	0,037	4,1	23,3	10 048	1 148	17,3	0,39	1 993	0,005	738	88,8	12,9
FI Sonata	1,0	13,0	1 156	0,017	2,3	15,7	11 886	889	12,7	0,17	1 619	0,027	511	117,3	5,2
FI Polka	3,3	7,3	1 492	-0,022	4,2	28,3	9 097	1 116	14,9	0,58 ^{*)}	1 720	0,020 ^{*)}	511	41,1	8,0
FI Polka	11,8	4,7	1 456	-0,008	3,8	25,1	10 807	1 034	13,8	0,38	1 709	-0,054	489	78,9	7,4
FI Salsa	1,8	15,0	1 066	0,015	3,6	14,2	11 164	863	17,8	0,43	1 648	0,155	494	32,0	7,4
FI Polka	15,7	3,2	1 220	-0,008	3,2	21,1	10 893	893	21,4	0,50	1 667	0,046	454	51,7	6,9
FI Rumba	19,4	4,5 ^{*)}	1 331	-0,020	2,3	20,0	10 954	875	32,2	0,35	1 462	-0,010	543	57,0	4,3
FI Kimberly	3,6 ^{*)}	6,2	1 179	-0,030	2,8	13,9	9 919	904	20,1	0,34	1 830	-0,115	651	48,2 ^{*)}	5,8
FI Elianny	15,1	10,5	1 142	-0,032	3,0	19,6	10 951	918	17,1	0,61	1 434	-0,056	626	37,6	7,1
FI Polka	33,4	7,9	1 468	-0,006	2,9	31,9	10 563	998	22,0	0,03	1 470	0,005	418	93,2	7,6
FI Rumba	9,2	9,5	1 828	-0,021	3,2	28,8	14 065	1 062	24,0	0,62	1 590	0,009	737	83,6	8,2
FI Florence	2,0	14,4	1 597	0,012	3,0	15,1	10 496	908	16,6	0,42	1 680	0,100	532	39,4	5,7
FI Polka	1,6	40,5	1 498	0,013	3,1	13,7	11 978	1 100	26,0	0,24	1 891	0,057	522	45,4	7,6
FI Honeoye	22,9	8,0	2 134	-0,026	4,2	36,2	13 512	1 189	18,6	0,97	2 226	-0,044	632	37,5	9,6
FI Polka	9,7	4,9 ^{*)}	1 307	-0,022	3,3	16,5	10 421	895	16,9	0,27	1 621	0,111	422	55,0	6,0
FI Sonata	11,2	7,6	1 315	-0,020	3,3	23,0	12 992	1 014	7,2	0,26	1 767	-0,006	706	49,6	6,4
FI Malviina	7,5	24,5	1 405	0,015	4,0	20,5	13 383	1 053	12,6	0,43	1 767	-0,062	449	47,0	6,1
SE Polka	3,1	21,8	1 628	0,011	4,0	20,9	14 671	1 035	13,0	0,27 ^{*)}	2 143	0,008	567	35,8	9,1
FI Malviina	2,5	18,0	1 280	0,013	3,3	18,5	12 206	1 122	13,8	0,20	1 567	0,049	463	24,6	5,5
FI	30,9	10,2 ^{*)}	1 760	0,037	3,4	30,2	11 450	1 120	15,3	1,06	1 699	0,091	644	24,5	11,8
FI Rumba	4,2	17,5	1 242	0,006	2,4	20,0	13 252	1 068	14,0	0,82	1 623	-0,072	695	26,0	7,8
FI Polka	12,3	15,1	1 691	0,034	3,0	20,0	11 080	1 011	21,4	0,57 ^{*)}	1 619	-0,038	635	22,7	11,3
FI Polka	6,2	13,2	1 911	0,043	3,3	21,4 ^{*)}	10 992	1 184	21,8	0,23	2 110	-0,198	633	43,7	9,4
FI Malviina	5,5	11,2	1 823	0,013	3,4	22,8	12 980	1 021	9,5	0,15	2 099	-0,191	600	21,1	7,3

^{*)} Merkintä ^{**)} tarkoittaa, että rinnakkaismääritysten $n = 2$, kun muissa $n = 3$. Ääriarvo on poistettu Dixonin testin perusteella.

Liite 8 Puhdashillojen ja hilloseosten alkuperäistulokset

Taulukko 1. Tullilaboratoriolta aiemmasta maisterintutkielmasta (Harmanen 2016) saatujen mansikka-, omena-, päärynä- ja kurpitsapuhdashillon sekä niistä sekoitettujen malliväärennöksien alkuperäistulokset.

Näyte	Al	B	Ca	Cd	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Mo	P	Pb	S	Si	Zn
Mansikkahillo	2,7	3,8	164	0,003	0,7	4,0	1 758	115	2,6	0,14	215	-0,096	67	6,6	1,5
Omenahillo	2,2	1,9	49	0,001	1,3	2,8	1 239	31	0,3	0,00	75	0,022	30	8,7	1,4
Päärynähillo	2,3	5,0	67	0,003	1,1	2,8	1 325	35	0,3	-0,01	59	-0,029	28	9,9	2,1
Kurpitsahillo	2,3	5,9	221	0,001	1,7	5,0	2 974	172	0,3	0,10	352	0,046	250	46,5	4,0
Mansikka-omena 5 %	1,7	2,6	128	0,007	0,7	3,0	1 693	100	2,3	0,10	165	-0,050	55	5,4	1,2
Mansikka-omena 10 %	2,2	5,5	119	0,015	0,6	2,6	1 657	95	2,0	0,11	144	0,018	54	13,4	1,6
Mansikka-omena 20 %	2,3	4,1	113	0,005	0,6	2,8	1 614	89	2,0	0,07	156	0,068	52	6,3	1,1
Mansikka-omena 50 %	1,9	1,3	91	0,005	0,9	3,1	1 464	66	1,3	0,44	125	0,006	43	4,5	1,1
Mansikka-päärynä 5 %	0,8	4,5	136	0,015	0,8	3,4	1 735	102	2,3	0,02	150	0,090	55	14,5	1,3
Mansikka-päärynä 10 %	1,3	3,0	132	0,003	0,6	3,1	1 706	101	2,2	0,21	150	-0,034	56	13,3	1,5
Mansikka-päärynä 20 %	1,5	2,5	132	0,020	0,7	3,2	1 653	92	2,0	0,01*)	143	0,137	53	11,8	1,4
Mansikka-päärynä 50 %	1,0	2,2	93	0,015	0,6	2,3	1 547	68	1,3	0,17	100	0,174	39	9,4	1,1
Mansikka-kurpitsa 5 %	0,1	3,5	152	0,016	0,7	3,2	1 784	111	2,4	0,00	177	0,213	67	14,6	1,3
Mansikka-kurpitsa 10 %	1,0	3,1	162	0,013	0,8	3,5	1 865	118	2,3	0,15	194	0,216	80	16,2	1,5
Mansikka-kurpitsa 20 %	0,5	9,0	155	0,017	0,7	3,3	1 977	119	2,0	0,02	196	0,211	94	20,7	1,7
Mansikka-kurpitsa 50 %	1,1	2,7	189	0,023	1,1	4,0	2 397	145	1,5	0,35	255	0,246	155	29,3	2,3

*) Merkintä **) tarkoittaa, että rinnakkaismääritysten $n = 2$, kun muissa $n = 3$. Ääriarvo on poistettu Dixonin testin perusteella.

Liite 9 Vähittäiskaupasta hankittujen mansikkahillojen alkuperäistulokset

Taulukko 1. Itse vähittäiskaupasta hankittujen hillojen alkuperäistulokset. Sokeripitoisuutta ei ole otettu laskennallisesti huomioon.

Näyte	Al	B	Ca	Cd	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Mo	P	Pb	S	Si	Zn
Hillo 1	4,0	3,3	201	0,028	0,40	4,8	1 686	129	6,2	0,08	246	-0,087	70	25	1,4
Hillo 2	5,5	2,8	765	0,013	0,50	7,6	1 828	98	3,5	0,23	257	-0,075	65	27	1,2
Hillo 3	2,0	4,4	350	-0,016	0,72	5,0	1 841	163	5,7	0,04	355	-0,004	88	18	2,3
Hillo 4	4,0	2,3	605	-0,012	0,59	8,7	1 225	118	3,5	0,05	198	0,080	81	23	1,6
Hillo 5 (sose)	16,0	10,6	1 505	0,040	2,21	27,9	12 454	940	71,1	0,08	1 462	0,033	735	119	7,2
Hillo 6	2,2	2,7	216	-0,016	0,32	4,8	1 698	112	4,6	0,00	175	-0,012	69	18	1,0
Hillo 7	1,1	2,4	159	-0,004	0,50	2,7	1 769	92	4,0	0,03	173	0,077	66	14	1,0
Hillo 8	3,2	2,6	214	0,029	0,63	3,7	1 964	137	8,3	0,10	239	0,081	106	51	1,8
Hillo 9	2,8	3,3	229	0,009	0,71	5,4	1 161	128	3,7	0,13	289	-0,054	114	26	1,8
Hillo 10	2,5	2,1	209	0,016	0,55	4,5	2 037	122	5,5	0,06	284	-0,049	83	16	1,5
Hillo 11	3,2	4,5	164	0,015	0,59	3,4	1 550	92	4,3	0,08	166	-0,089	75	21	1,5
Hillo 12	2,5	2,2	153	0,008	0,43	4,7	1 256	78	4,0	0,03	164	-0,009	65	21	1,1
Hillo 13	4,6	8,8	464	0,031	0,72	5,6	3 424	239	10,2	0,05	328	-0,031	152	36	3,0
Hillo 14	3,5	4,6	243	0,015	0,41	5,4	1 814	88	5,0	0,07	262	-0,160	66	24	1,7
Hillo 15	3,0	4,7	211	0,018	0,29	4,0	1 555	107	4,1	0,06	179	-0,127	82	22	1,7
Hillo 16	3,3	5,4	240	0,022	0,39	3,7	1 731	94	5,6	0,06	228	-0,023	53	23	1,6
Hillo 17	3,4	6,3	231	0,017	0,36	6,4	1 374	85	5,0	0,07	229	-0,337	59	22	2,0

*) Merkintä ”***)” tarkoittaa, että rinnakkaismääritysten $n = 2$, kun muissa $n = 3$. Ääriarvo on poistettu Dixonin testin perusteella.

Taulukko 2. Tullilaboratoriolta aiemmasta maisterintutkielmasta (Harmanen 2016) saatujen hillojen alkuperäistulokset. Sokeripitoisuutta ei ole otettu laskennallisesti huomioon.

Näyte	Al	B	Ca	Cd	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Mo	P	Pb	S	Si	Zn
Hillo A	4,3	3,2	194	0,013	0,44	6,7	1 613	84	4,4	0,02	242	-0,216	58	16	1,1
Hillo B	4,2	4,2	175	0,023	0,42	7,1	1 880	103	7,4	0,05*)	276	-0,094	83	22	1,4
Hillo C	2,0	4,8	333	0,007	0,67	6,1	1 803	128	1,4	0,08	349	0,223	78	22	1,9
Hillo D	3,8	5,8	222	0,010	0,30	4,5	2 121	146	6,4	0,03	252	-0,083	98	20	2,5
Hillo E	4,3	6,9	228	0,015	0,37	7,7	1 266	82	4,3	0,02	263	-0,093	77	24	1,7
Hillo F	4,4	4,0	687	0,016	0,41	5,3	1 938	94	5,7	0,09	303	0,062	68	22	1,4
Hillo H	6,0	4,4	569	0,016	0,92	14,3	3 481	268	5,2	0,13	907	-0,172	141	42	3,5
Hillo I	3,6	3,9	187	0,022	0,31	5,0	1 827	104	5,9	0,07	184	0,139	84	25	1,8
Hillo J	2,4	3,0	204	0,014	0,22	3,7	1 442	89	3,4	0,04	141	0,138	56	23	0,9
Hillo K	3,9	2,6	645	0,017	0,28	5,4	1 141	116	3,0	0,04	195	0,110	90	24	1,3
Hillo L	3,3	5,1	118	0,012	0,32	3,6	1 088	83	4,1	0,07	154	-0,102	57	19	1,8
Hillo M	2,8	5,3	194	0,009	0,43	3,8	1 593	124	3,1	0,01	245	0,024	70	20	1,6
Hillo N	3,8*)	4,4	210	0,009	0,36	8,5	1 301	84	3,6	0,06	240	0,036	64	28	1,5
Hillo O	4,7	4,3	281	0,024	0,44	8,1	1 942	111	6,8	0,01	314	-0,214	67	22	1,3
Hillo P	2,3	4,0	121	0,016	0,44	2,9	831	72	2,9	0,09	152	0,024	80	22	1,5
Hillo Q	1,6	4,0	185	0,012	0,57	4,0	1 205	117	3,5	0,05	229	-0,067	81	31	1,4

) Merkintä ”)” tarkoittaa, että rinnakkaismääritysten $n = 2$, kun muissa $n = 3$. Ääriarvo on poistettu Dixonin testin perusteella.

Liite 10 Muiden kasvilajien alkuperäistulokset

Taulukko 1. Muiden näytteiden alkuperäistulokset.

Näyte	Al	B	Ca	Cd	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Mo	P	Pb	S	Si	Zn
Metsämustikka	23,6	9,0	1 140	0,016	3,9	21,7	5 329	513	149,6	0,09	1 134	-0,106	731	29,6	8,2
Pensämustikka	13,3	6,3	371	0,006	1,6	12,5	4 575	287	50,8	0,04	663	-0,081	536	50,6	4,0
Puutarhavadelma	2,5	10,9	1 098	0,013	3,0	17,4	9 336	923	9,7	0,66	1 658	-0,158	474	7,2	12,8
Puutarhavadelma (keltainen)	2,6	10,9	1 505	0,017	4,5	22,6	9 085	1 364	21,0	0,53	1 644	-0,249	657	6,9	14,0
Aprikoosi	9,1	30,2	740	0,046	3,4	17,4	19 161	533	6,7	0,13	1 661	-0,092	274	25,4	4,1
Myskikurpitsa	-0,3	21,9	1 502	0,017	6,8	20,1	31 996	858	5,5	0,50	3 794	0,195	1 933	234,8	14,9
Kurpitsa	-0,3	21,9	4 476	0,058	4,6	33,6	38 988	1 263	8,3	1,15	4 029	-0,010	1 847	208,9	28,8
Kesäkurpitsa	-0,4	21,3	2 588	0,023	8,3	29,5	32 261	2 977	7,3	0,37	5 119	0,147	1 430	311,0	28,3
Karviainen (punainen)	1,2	12,2	1 663	0,002	2,1	10,6	11 914	617	11,2	0,59	1 547	0,074	623	11,7	9,0
Mustaherukka	9,7	13,0	3 394	0,014	3,2	31,7	16 024	1 454	14,8	0,44	3 231	0,032	1 015	23,5	9,1
Hillosokeri	0,7	4,7	8	0,003	0,1	0,3	651	1	0,0	0,00	1	-0,097	3	8,2	0,6