

Metropolia Ammattikorkeakoulu  
Bio- ja elintarviketekniikan koulutusohjelma

**Eija Toppinen**

**Kaurapohjaisen öljy vedessä -emulsion valmistusprosessin  
optimointi mikrokapselointia varten**

Insinööriyö 28.2.2010

Ohjaaja: tutkijakoulutettava Pia Laine

Ohjaavat opettajat: yliopettaja Riitta Lehtinen  
ja yliopettaja Veli-Matti Taavitsainen

## **KIITOKSET**

Tahtoisin kiittää erityisesti insinööriyöni ensisijaista ohjaajaa, tutkijakoulutettava Pia Lainetta arvokkaista neuvoista ja tuesta, erinomaisesta tavoitettavuudesta sekä työn onnistumisen edesauttamisesta.

Lisäksi tahtoisin kiittää seuraavia henkilöitä, jotka ovat edesauttaneet insinööriyöni valmistumista:

ETM Reetta Kivelä, FT yliopettaja Veli-Matti Taavitsainen, laboratorioinsinööri Tomi Kempas, ETT Jussi Lojonen, professori Kirsi Jouppila sekä insinööri (AMK) Outi Brinck.

Espoossa 28.2.2010

Eija Toppinen

Tekijä	Eija Toppinen
Otsikko	Kaurapohjaisen öljy vedessä -emulsion valmistusprosessin optimointi mikrokapselointia varten
Sivumäärä	119 sivua
Koulutusohjelma	bio- ja elintarviketekniikka
Tutkinto	insinööri (AMK)
Ohjaaja	tutkijakoulutettava Pia Laine
Ohjaavat opettajat	yliopettaja Riitta Lehtinen, yliopettaja Veli-Matti Taavitsainen
<p>Insinööriyön tarkoituksena oli optimoida kuivattua modifioitua kauraleseuutetta (KMK) sisältävän öljy vedessä -emulsion valmistusprosessia stabiilin sumutuskuivaukseen soveltuvan emulsion aikaansaamiseksi. Emulsioiden kuiva-ainepitoisuudet vakioitiin 20 prosenttiin kuivatulla maissisiirapilla (DE 34). Emulsiot esihomogenoitiin Ultra-Turrax®-homogenisaattorilla ja varsinainen homogenointi suoritettiin Microfluidizer®-korkeapainehomogenisaattorilla.</p> <p>Työssä tutkittiin emulsion homogenointiajan, homogenointipaineen ja KMK:n pitoisuuden vaikutuksia emulsion ominaisuuksiin. Koesuunnitelmana käytettiin central composite -koesuunnitelmaa. Emulsioiden laatua arvioitiin määrittämällä emulsioiden keskimääräiset pisarakoot, viskositeettia kuvaavat K-arvot ja kermostumisindeksit (creaming index). Tulosten pohjalta tehtiin matemaattiset mallit. Mallien ja vasteiden arvojen haluttavuuksia kuvaavien haluttavuusfunktioiden avulla tehtiin yhdistetyn haluttavuuden vastepinta, jonka pohjalta arvioitiin jatkokeiteita varten optimaalisin emulsion valmistusprosessi. Sumutuskuivausta varten teoreettisesti edullisinta emulsiota etsittiin kyseisen optimin läheisyydestä haarukointikokeilla.</p> <p>Insinööriyön tulokset osoittivat, että KMK:lla on mahdollista valmistaa stabiileja, pisarakooltaan pieniä ja viskositeetiltaan pieniä öljy vedessä -emulsioita. Painottoman yhdistetyn haluttavuuden vastepinta ennusti varsin hyvin optimaalisimman KMK:n pitoisuuden 1,55 %. Mikrokapselointia varten teoreettisesti optimaalisin emulsio saatiin aikaan KMK:n pitoisuudella 1,55 %, 600 baarin homogenointipaineella ja 10 minuutin homogenointiajalla. Muuttujista KMK:n pitoisuudella oli selkeästi merkittävin vaikutus emulsion ominaisuuksiin, ja matemaattisten mallien mukaan KMK:n pitoisuus oli ainoa tilastollisesti merkitsevä muuttuja. Jatkokeiteiden tulosten perusteella homogenointipaineen nosto näyttäisi kuitenkin laskevan emulsion viskositeettia.</p>	
Hakusanat	emulsio, mikrokapselointi, kauraproteiini, β-glukaani

Author Title	Eija Toppinen Optimization of the production process of an oat-based emulsion for microencapsulation
Number of Pages Date	119 28 February 2010
Degree Programme	Biotechnology and Food Engineering
Degree	Bachelor of Engineering
Instructor Supervisors	Pia Laine, PhD Candidate Riitta Lehtinen, Principal Lecturer Veli-Matti Taavitsainen, Principal Lecturer
<p>The aim of this thesis project was to optimize the production process of an emulsion containing spray-dried modified oat bran extract (MOB) to produce a stable emulsion suitable for spray-drying. The solids concentration of the emulsions was kept as 20 % by using corn syrup solids (DE 34). Emulsions were homogenized first by using Ultra-Turrax® homogenizer and then by using Microfluidizer® high-pressure homogenizer.</p> <p>The effect of MOB concentration and the homogenization conditions (pressure and time) on the properties of an emulsion were tested. The experimental setup was made by using a central composite design. Mathematical models were estimated based on the results. The optimum conditions were predicted by using multi-criteria optimization based on the mathematical models and desirability functions. Additional tests were made near the predicted optimum until the real optimum conditions for the production process of a stable emulsion suitable for spray-drying were found.</p> <p>The results of this project showed that it is possible to produce stable low viscosity emulsions of small droplet size by using MOB. The optimum conditions for emulsion production were well estimated by the multi-criteria optimization. The optimum emulsion for spray-drying was obtained by using a MOB concentration of 1.55 %, a homogenization pressure of 600 bar and a homogenization time of 10 minutes. The MOB concentration had the greatest influence of the three factors on the emulsion properties and the MOB concentration was the only factor that was statistically significant according to the mathematical models. However, the further experiments indicated that increasing the homogenization pressure seems to lower the emulsion viscosity.</p>	
Keywords	emulsion, microencapsulation, oat protein, $\beta$ -glucan

# Sisällys

Tiivistelmä

Abstract

Lyhenteet

1 Johdanto .....	9
KIRJALLISUUSOSA .....	10
2 Öljy vedessä -emulsio .....	10
2.1 Emulsion yleiset ominaisuudet .....	10
2.2 Emulgointiprosessi .....	13
2.2.1 Homogenointilaitteistot .....	13
2.2.2 Microfluidizer .....	13
2.2.3 Emulgointiprosessin vaikutus emulsion stabiiliuteen .....	14
2.3 Menetelmiä emulsion stabiilisuuden määrittämiseen .....	16
2.3.1 Stabiilisuusmäärittäminen .....	16
2.3.2 Keskimääräisen partikkelikoon määrittäminen .....	17
2.3.3 PAMAS SBSS-C -hiukkaslaskin .....	18
2.4 Emulsioiden viskositeettimäärittäykset .....	19
3 Mikrokapselointi sumutuskuivaamalla .....	21
3.1 Yleistä mikrokapseloinnista .....	21
3.1 Mikrokapselointi sumutuskuivaamalla .....	22
3.2 Öljy vedessä -emulsion ja kapselimateriaalin ominaisuudet mikrokapselointia ajatellen .....	22
3.3 Sumutuskuivauksessa käytettyjä kapselointimateriaaleja .....	24
4 Kauraleseen potentiaalisuus emulsion muodostajana ja kapselointimateriaalina .....	27
4.1 Kauralese .....	27
4.1.1 Kauraproteiini .....	27
4.1.2 Kauran $\beta$ -glukaani .....	30

KOKEELLINEN OSA.....	32
5 Työn tarkoitus .....	32
6 Materiaalit ja menetelmät.....	33
6.1 Materiaalien valmistus ja esikokeet .....	33
6.1.1 Kauran kuituosuuden uutto .....	33
6.1.2 Kuituliuosten viskositeettimittaukset.....	34
6.1.3 Kuitupitoisuuden haarukointi.....	35
6.1.4 Kauraleseutteen happohydrolyysi .....	36
6.1.5 Modifioidun kauraleseutteen sumutuskuivaus.....	37
6.1.6 Kuivatun modifioidun kauraleseutteen pitoisuuden haarukointi .....	38
6.2 Emulsiokoesuunnitelma .....	39
6.2.1 Emulsioiden valmistus .....	43
6.2.2 Emulsioiden viskositeettimääritys .....	45
6.2.3 Emulsioiden pisarakokomääritys .....	45
6.2.4 Emulsioiden stabiilisuuspääritys.....	46
6.3 Mallintaminen .....	47
6.3.1 Haluttavuusfunktioiden muodostaminen .....	47
7 Tulokset ja tulosten tarkastelu.....	50
7.1 Esikokeet .....	50
7.1.1 Kuituliuosten viskositeettimittaukset.....	50
7.1.2 Kuitupitoisuuden haarukointi emulsiokokein .....	51
7.1.3 KMK:n pitoisuuden haarukointi .....	51
7.2 Emulsiomääritykset.....	52
7.3 Mallintaminen .....	54
7.4 Yhdistetyn haluttavuuden vastepintakuvat .....	60
7.5 Optimin etsintä haarukointikokein.....	62
7.6 Tulosten tarkastelu .....	67
7.7 Mallien muuttujien tilastollisten merkitsevyyksien arviointi jatkokokeiden tulosten perusteella.....	70
8 Yhteenveto .....	74

Lähteet.....	75
Liite 1: Kuitumateriaalin vesiliuosten reseptit ja K-arvot.....	84
Liite 2: Esikoe-emulsioiden reseptit eri kuitupitoisuuksilla.....	85
Liite 3: Esikoe-emulsioiden reseptit eri KMK:n pitoisuuksilla .....	86
Liite 4: CC-koesuunnitelman R-komennot ja satunnaistettu koesuunnitelma.....	87
Liite 5: Koesuunnitelma 1 ja emulsioiden lämpötilat homogenoitien jälkeen.....	88
Liite 6: R-komennot matemaattisten mallien luomiseen ja arviointiin ja ennustaminen mallin avulla.....	94
Liite 7: D <sub>43</sub> -malli ja kanoninen analyysi .....	100
Liite 8: Viskositeettimalli ja kanoninen analyysi.....	102
Liite 10: Haluttavuusfunktiot .....	106
Liite 12: Yhdistetyn haluttavuuden vastepintakuva ilman D <sub>43</sub> -mallia ja haluttavuusvastepinnat vain viskositeetin, stabiilisuuden sekä pisarakoon suhteen.	109
Liite 13: Koesuunnitelma 2.....	113
Liite 14 : Koesuunnitelma 3 .....	115
Liite 15: Koesuunnitelma 4.....	116
Liite 17: Jatkokokeet ja niiden tulokset .....	119

## Lyhenteet

KMK	Kuivattu modifioitu kauraleseute
KMS	Kuivattu maissisiirappi (DE 34)
Microfluidizer®	Korkeapainehomogenisaattori
Ultra-Turrax®	Homogenisaattori
CC-koesuunnitelma	Central Composite -koesuunnitelma



## 1 Johdanto

Mikrokapseloinnilla tarkoitetaan kapseloitavan materiaalin ympäröimistä sitä suojaavalla materiaalilla (Rosenberg 1990). Mikrokapseloinnilla voidaan parantaa kapseloidun materiaalin ominaisuuksia kuten säilyvyyttä (Gibbs ym. 1999).

Mikrokapseloitaessa emulsion öljyliukoiset komponentit liuotetaan öljyfaasiin ja vesiliukoiset vesifaasiin. Kapseloitavaa materiaalia ja kapselin muodostavaa materiaalia sisältävä dispersio homogenoidaan, minkä jälkeen emulsio sumutskuivataan.

Kuivauksessa suurin osa emulsion sisältämästä vedestä haihtuu ja kapselimateriaali muodostaa suojaavan kerroksen kapseloitavan materiaalin ympärille. (Reineccius 1994; McClements 2005.) Emulsion stabiilisuus on tärkeää mikrokapseloinnin onnistumisen kannalta (Barbosa ym. 2005; Danviriyakul ym. 2002; Liu ym. 2001; Liu ym. 2000; Lee & Ying 2008: 378). Mikrokapselointia varten optimaalisen emulsion viskositeetin tulee olla pieni emulsion pumppaamisen ja sumuttamisen onnistumiseksi, emulsion pisarakoon tulee olla pieni ja pisarakokojakauman kapea ja kuiva-ainepitoisuuden tulee olla korkea suojaavan matriisin muodostumiseksi. (Reineccius 1994; Bae & Lee 2008.) Sumutskuivauksessa käytettävien kapselointimateriaalien valikoima on vielä rajoitettu (Gouin 2004; Forssell ym. 2007).

Kauraleseutetta ei ole kirjoittajan tiedon mukaan aiemmin käytetty kapselointimateriaalina. Kauraleseen sisältämän kauraproteiinin emulgointiominaisuudet ja kaurakuitu- $\beta$ -glukaanin kyky nostaa liuoksen viskositeettia ja siten parantaa emulsion stabiiliutta tekevät kauraleseutteesta kiinnostavan kapselointimateriaalivaihtoehdon (Ma 1983; Burkus & Temelli 2000).

Insinöörityön tavoitteena oli optimoida modifioitua kauraleseutetta sisältävän öljy vedessä -emulsion valmistusprosessia. Tarkoituksena oli selvittää, vaikuttavatko emulsion valmistusolosuhteet (homogenointipaine ja -aika) ja modifioidun kauraleseutteen pitoisuus emulsion ominaisuuksiin. Kokeellisesti haettiin sellaiset emulsion valmistusolosuhteet ja modifioidun kauraleseutteen pitoisuus, joilla saatiin

aikaan stabiili sumutuskuivaukseen soveltuva emulsio. Emulsiotutkimuksella saatiin tärkeää tietoa kauran komponenttien potentiaalisuudesta kapselointimateriaaleina. Tutkimus tehtiin osana ETM Pia Laineen (HY, elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos) väitöskirjatutkimusta. Tutkimusryhmään kuuluivat Pia Laineen ja allekirjoittaneen lisäksi ETM Reetta Kivelä (HY, elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos), yliopettaja FT Veli-Matti Taavitsainen (Metropolia, bio- ja elintarviketekniikan koulutusohjelma), MMM Ossi Knuutila (HY, maataloustieteiden laitos), yliopistonlehtori Tuula Sontag-Strohm (HY, elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos), professori Kirsi Jouppila (HY, elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos) ja ETT Jussi Lopenen (HY, elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos). Insinööriyön ohjaajina toimivat Pia Laine, yliopettaja Riitta Lehtinen (Metropolia, bio- ja elintarviketekniikan koulutusohjelma) ja Veli-Matti Taavitsainen ja lisäksi ohjausryhmään kuuluivat Reetta Kivelä ja Jussi Lopenen. Emulsiotutkimuksesta on tarkoitus julkaista artikkeli alkuvuodesta 2010.

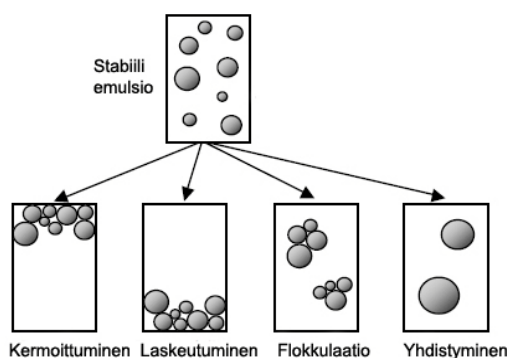
## **KIRJALLISUUSOSA**

### **2 Öljy vedessä -emulsio**

#### **2.1 Emulsion yleiset ominaisuudet**

Emulsio koostuu vähintään kahdesta toisiinsa sekoittumattomasta nesteestä. Nestettä, joka on sekoittuneena pieninä pisaroina toiseen nesteeseen, kutsutaan dispergoituneeksi faasiksi, ja pisaroita ympäröivää nestettä kutsutaan jatkuvaksi faasiksi. Vedestä ja öljystä koostuvat emulsiot jaotellaan dispergoituneen faasin mukaan öljy vedessä -emulsioihin ja vesi öljyssä -emulsioihin. (McClements 2005: 3–4; Karbstein & Schubert 1995.) Makroemulsioiden pisaroiden keskimääräinen halkaisija on yleensä 0,1–50 µm, kun taas mikroemulsiot sisältävät pisaroita, joiden keskimääräinen halkaisija on alle 300 nm (Karbstein & Schubert 1995). Emulsion katsotaan olevan stabiili, kun sen ominaisuudet eivät muutu merkittävästi ajan kuluessa (McClements 2005).

Makroemulsiot ovat termodynaamisesti epästabiileja. Emulsio pyrkii aina termodynaamisesti suotuisimpaan tilaansa, jossa öljy- ja vesifaasin kosketuspinta on mahdollisimman pieni. Öljypisarat pyrkivät yhdistymään, ja lopulta emulsio erottuu kahdeksi erilliseksi faasiksi. Nesteiden tiheusero saa aikaan pisaroiden hitaan liikkumisen emulsion pinnalle (kermoittuminen, creaming) tai pohjalle (laskeutuminen, sedimentation), mikä voi lopulta johtaa faasien erottumiseen (kuva 1). Suuremmat pisarat liikkuvat jatkuvassa faasissa pieniä pisaroita nopeammin. Stokesin lain mukaan pisaran liikkumisnopeus on verrannollinen sen säteen neliöön, joten emulsion pisarakokoa pienentämällä voidaan vähentää gravitaation aiheuttamaa erottumista. Pienen pisarakoon emulsioiden stabiilisuus onkin yleensä parempi kuin suuremman pisarakoon emulsioilla. Flokkulaatiossa pisarat ovat liittyneet yhteen, mutta ne ovat säilyttäneet eheytensä. (Francis 1999; McClements 2005; Dalgleish 2003; Karbstein & Schubert 1995.)

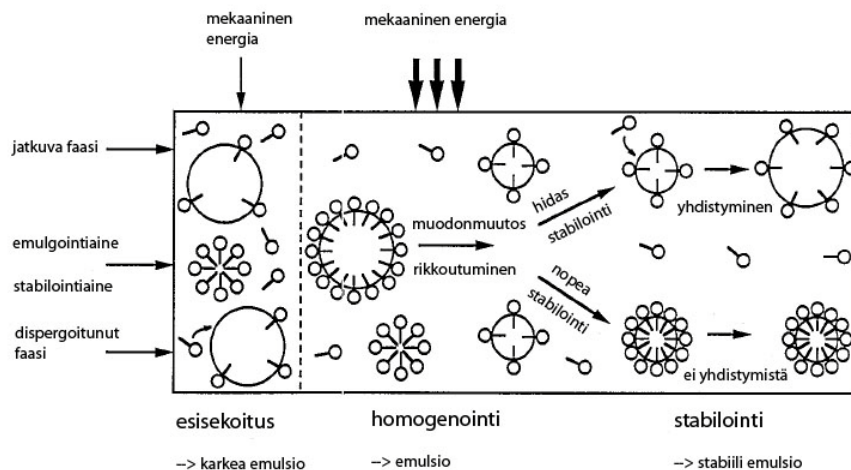


Kuva 1. Emulsion epästabiiliutta aiheuttavia mekanismeja. (Muokattu lähteestä McClements 2005: 6.)

Emulsion stabiilisuutta voidaan parantaa käyttämällä emulgointiaineita ja/tai stabilointiaineita. Emulgointiaineet sisältävät lipofiilisiä ja hydrofiilisiä molekyyli ryhmiä, minkä ansiosta ne adsorboituvat öljy- ja vesifaasin väliselle rajapinnalle. Emulgointiaineet helpottavat pisaroiden muodostumista pienentämällä öljy- ja vesifaasin välistä jännitystä ja parantavat emulsion stabiilisuutta muodostamalla suojaavan adsorboituneen kerroksen pisaroiden faasienväliselle rajapinnalle estämään pisaroiden yhdistymistä. (Dickinson & Stainsby 1988; Karbstein & Schubert 1995.) Emulgointiaineita ovat muun muassa pienimolekyyliset pinta-aktiiviset aineet ja amfifiiliset biopolymeerit. Hyvä emulgointiaine adsorboituu nopeasti faasienväliselle

pinnalle, vähentää merkittävästi faasienvälistä jännitystä ja estää pisaroiden yhdistymisen homogoinnin aikana. (McClements 2005.) Rakenteen muokkaajat, joita voidaan kutsua myös stabilointiaineiksi, lisäävät emulsion stabiiliutta nostamalla jatkuvan faasin viskositeettiä tai muodostamalla geelin, jolloin pisaroiden liike jatkuvassa faasissa hidastuu (Francis 1999; McClements 2005; Karbstein & Schubert 1995). McClements (2005) määrittelee rakenteen muokkaajiksi sakeuttamisaineet (thickening agents) ja geelinmuodostajat (gelling agents). Useat polysakkaridit voivat toimia stabilointiaineina muokkaamalla vesifaasin reologisia ominaisuuksia (Dickinson & Stainsby 1988). Liukenematon kuitumateriaali voi sitoa vettä moninkertaisesti oman painonsa verran ja siten nostaa emulsion viskositeettiä muuttamalla dispergoituneen ja jatkuvan faasin tilavuussuhteita (Francis 1999).

Eräs emulsion stabiilisuutta vähentävä ilmiö on Ostwaldin ”kypsyminen” (Ostwald ripening), mikä tarkoittaa emulsion suurempien pisaroiden kasvua pienempien kustannuksella. Ilmiö johtuu liukoisen dispergoituneen materiaalin siirtymisestä jatkuvassa faasissa. Pisanan koon pienentyessä sen sisältämän materiaalin liukoisuus kasvaa, jolloin liukenemista tapahtuu enemmän pienistä kuin suurista pisaroista. Pienien pisaroiden materiaalia siirtyy suurempiin pisaroihin, ja emulsion keskimääräinen pisarakoko kasvaa. Ilmiötä voidaan hidastaa muodostamalla pienen pisarakokojakauman emulsioita, pienentämällä faasienvälistä jännitystä, kasvattamalla pisarakokoa ja lisäämällä dispergoituneeseen faasiin liukenematonta materiaalia. (Dickinson 2009; McClements 2005; Taylor 1995.)



Kuva 2. Emulsion muodostus. (Muokattu lähteestä Karbstein & Schubert 1995: 207.)

## **2.2 Emulgointiprosessi**

Emulsion valmistaminen (kuva 2) on energiaa vaativa prosessi (Dickinson & Stainsby 1988). Ennen öljy- ja vesifaasin sekoittamista keskenään emulsion öljyliukoiset komponentit yleensä liuotetaan öljyfaasiin ja vesiliukoiset vesifaasiin. Emulsion muodostusta kahdesta toisiinsa sekoittumattomasta nesteestä yhdessä tai useammassa vaiheessa kutsutaan homogoinniksi. Sekoittumattomien nesteiden homogointia kutsutaan esihomogoinniksi, kun taas emulsion homogointia pisaroiden pienentämiseksi kutsutaan sekundäärihomogoinniksi. (McClements 2005; Karbstein & Schubert 1995; Reineccius 1994.)

### **2.2.1 Homogointilaitteistot**

Voimakkaalla sekoittamisella voidaan valmistaa karkeita emulsioita, mutta hienojakoiset emulsiot valmistetaan yleensä korkeapainehomogenisaattorilla. Muita emulsion valmistukseen soveltuvia laitteita ovat kolloidimylly (colloid mill) ja hammastettu levydispergointilaitte (toothed disc dispersing machine). Emulsioita valmistetaan myös ultraäänen avulla (sonication). (Dickinson & Stainsby 1988; Karbstein & Schubert 1995.)

### **2.2.2 Microfluidizer**

Microfluidizer® M-110Y -korkeapainehomogenisaattorin pumppu kohdistaa toistuvasti halutun paineen nestevirtaukseen vakiotahdilla. Paineisku ajaa nesteen vakioaineella tietyn geometrian omaavien mikrokanavien läpi sekoituskammiossa. Kammiossa nestevirtaus jaetaan kahteen nestevirtaan, jotka törmäävät suurella voimalla toisiinsa. Pääasialliset virtaavaan nesteeseen vaikuttavat voimat ovat virtausnopeuden muutosten aiheuttamat leikkausvoimat ja nestevirtausten törmäyksen aiheuttama voima. (Microfluidics1 2009; Microfluidics2 2009; M-110Y 2009; Andjelic 2007.) Laitteistolla voidaan tuottaa 200–1586 baarin homogointipaine (M-110Y 2009).

Microfluidizer®-laitteistoa on perinteisesti käytetty farmaseuttisten emulsioiden valmistuksessa. Laitteistolla on nykyisemmin valmistettu myös homogenoitua maitoa sekä aromeja sisältäviä emulsioita. (Jafari ym. 2006.) Microfluidizer®-laitteistolla voidaan valmistaa todella hienojakoisia emulsioita (noin 1 µm:n pisarakoko) (Maa & Hsu 1999). Jafari ym. (2006) totesivat, että Microfluidizerilla® voitiin tuottaa pienemmän kokojakauman emulsioita kuin ultraäänellä. Microfluidizerin® (m-110, Microfluidics) heikkoutena oli sen hankalampi käytettävyys ja puhdistettavuus verrattuna ultraäänilaitteistoon (W-225, Heat Systems-Ultrasonics) ja homogenisaattoriin (Templest IQ, Virtis) (Jafari ym. 2006; Maa & Hsu 1999).

### **2.2.3 Emulgointiprosessin vaikutus emulsion stabiiliuteen**

Hogan ym. (2001) homogenoivat emulsioita, jotka sisälsivät 5 % natriumkaseinaattia ja vaihtelevissa määrin soijaöljyä 10–50 MPa:n paineilla. Tutkijat havaitsivat emulsioiden keskimääräisen pisarakoon pienenevän homogenoitipaineen noustessa, mikä johtuu todennäköisesti leikkausvoimien ja turbulenssin lisääntymisestä homogenoitaessa. Kun emulgaattoria on riittävästi, paineen nostolla voidaan siis pienentää keskimääräistä pisarakokoa tietyllä painealueella.

Pienemmän pisarakoon emulsiot pysyvät todennäköisemmin stabiileina kuin suuremman pisarakoon emulsiot (McClements 2005). Korkeapainehomogenisaattorilla emulsion pisarakokoa voidaan pienentää tiettyyn pisteeseen asti homogenoitipainetta ja homogenoitiantaikkaa lisäämällä. Liiallinen homogenoitipaineen nostaminen ja homogenoitiantajan lisääminen voi kuitenkin johtaa jopa suurempien pisaroiden muodostumiseen. Ilmiön todennäköisenä syynä on, että energian lisääminen johtaa pisaroiden särkymisen lisäksi myös pisaroiden todennäköisempään törmäämiseen. Mikäli pinta-aktiivinen aine ei ehdi peittää homogenoitikäsitellyssä muodostuneen pienen pisaran koko pintaa ennen uutta pisaratörmäystä, törmäävät pisarat yhdistyvät yhdeksi suuremmaksi pisaraksi. Homogenoitiosuhteiden optimointi on siis tärkeää pienen pisarakoon emulsioiden aikaansaamiseksi. (Jafari ym. 2006: 475–485; Desrumaux & Marcand 2002.)

Homogenointiolosuhteiden optimointi on tärkeää myös makromolekyylien kannalta, sillä liian suuri homogenointipaine voi aiheuttaa ei-toivottuja muutoksia proteiinien ja polysakkaridien rakenteeseen (Galazka ym. 1996; Flourey 2003).

Homogenointikäsitteilyn olosuhteet, kuten korkea paine, leikkausvoimat ja lämpötilan nousu, voivat johtaa proteiinin stabilointiominaisuuksien heikentymiseen (Flourey ym. 2000). Korkeapainehomogenoinnissa emulsioon kohdistuvat suuret voimat voivat vaikuttaa emulsion sisältämien proteiinien rakenteeseen ja vuorovaikutuksiin, mikä taas voi johtaa proteiinien denaturaatioon, aggregaatioon tai geeliytymiseen. Proteiinien flokkulaatio voi johtaa viskositeetin nousuun ja aiheuttaa emulsion leikkausohentuvaa käytöstä. Leikkausohentuvuus johtuu siitä, että leikkausnopeuden kasvaessa aggregaattien rakenne hajoaa ja viskositeetti laskee. Proteiinin rakenteen muutoksella voi myös olla vaikutuksia sen liukoisuuteen sekä mahdollisesti myös emulgointiominaisuuksiin. (Flourey ym. 2002a; Desrumaux & Marcand 2002; Campanella ym. 1995; Flourey ym. 2000.) Galazka ym. (1996) havaitsivat korkeapainekäsitteilyn (200–800 MPa) paineen ja käsitteilyajan lisäyksen johtavan  $\beta$ -laktoglobuliinin heikentyneeseen emulgointikykyyn ja emulsioiden (0,4 m-%  $\beta$ -laktoglobuliinia, 20 tilavuus-% öljyä, pH 7) heikompaan stabiiliuteen. Tutkijoiden mukaan emulgointikyvyn heikentyminen johtuu luultavasti proteiinien aggregoitumisesta.

Proteiniemulgaattorit voivat menettää emulgointikykyään, mikäli niiden lämpötila kohoaa liian korkeaksi. Denaturoitumislämpötilan ylittyessä proteiinien rakenne muuttuu siten, että reaktiokykyiset ryhmät tulevat esille lisäten pisaroiden välisiä puoleensavetäviä vuorovaikutuksia, mikä voi johtaa pisaroiden flokkulaatioon. (McClements 2005.)

Rakenteen muokkaajat voivat stabiloida emulsion nostamalla jatkuvan faasin viskositeettiä tai muodostamalla jatkuvaan faasiin elastisen verkoston, joka estää dispergoituneen faasin erottumisen (Francis 1999). Homogenointipaineen nostaminen voi saada aikaan emulsion polymeerien pilkkoutumista (Flourey 2002b). Flourey ym. (2002b) havaitsivat homogenointipaineen noston laskevan emulsion viskositeettiä, mikä johtuu luultavasti polymeeriketjun kovalenttisten sidosten katkeamisesta

homogenoinnin aikana. Viskositeetin lasku oli voimakkainta homogenointipaineen vaihdellessa välillä 50–200 MPa. Stabilointiaineen pilkkoutuminen

homogenointikäsitellyssä voi siis heikentää sen stabiloimisominaisuuksia.

Homogenoidun metyyliiselluloosan stabilointi- ja sakeuttamisominaisuuksien on todettu olevan heikommät kuin natiivilla metyyliiselluloosalla (Floury 2003).

Korkeapainehomogenoinnin on todettu heikentävän ksantaanikumin 1 % vesiliuoksen sakeuttamis- ja stabilointiominaisuuksia (Lagoueyte & Paquin 1998).  $\beta$ -glukaanin on todettu pilkkoutuvan noin neljäsosaansa homogenointikäsitellyssä Microfluidizer®-korkeapainehomogenisaattorilla painevälillä 60–100 MPa (Kivelä ym. 2010).

Pisarakoon pienentämisen kannalta välttämättömällä energian lisäyksellä voi siis olla vaikutuksia pisaroiden hajoamisen lisäksi myös niiden uudelleenyhdistymisen todennäköisyyteen sekä emulgaattorin ja stabilointiaineen rakenteisiin ja siten myös niiden toimintaan.

## **2.3 Menetelmiä emulsion stabiilisuuden määrittämiseen**

### **2.3.1 Stabiilisuusmäärittäminen**

Emulsioiden pitkäaikaisen stabiilisuuden ennustaminen on periaatteessa mahdollista sen fysikaaliskemiallisten ominaisuuksien ja sopivan matemaattisen mallin avulla.

Emulsioiden käyttäytymisen ennustamisen vaikeuden vuoksi on usein kuitenkin käytännöllisempää mitata suoraan emulsion erottumista. Yksinkertaisin menetelmä on siirtää emulsiota läpinäkyvään koeputkeen ja tietyn säilytysajan jälkeen mitata erottuneiden kerrosten korkeudet. (McClements 2005: 287.)

Demetriades & McClements (2000) tutkivat öljy vedessä -emulsioiden stabiilisuutta siirtämällä 10 g tutkittavaa emulsiota koeputkeen (sisähalkaisija 16 mm, korkeus 160 mm) ja säilyttämällä näytettä 30 °C:n lämpötilassa 24 tunnin ajan. Säilytyksen jälkeen näytteelle laskettiin kermoittumisindeksi (creaming index), joka kuvaa pohjalle erottuneen seerumikerroksen korkeuden ( $H_s$ ) suhdetta putkessa olevan emulsion



kokonaiskorkeuteen ( $H_E$ ). Mitä suurempi kermoittumisindeksi on, sitä epästabiilimpi emulsio on kyseessä.

$$\text{Kermoittumisindeksi} = 100 \times \frac{H_S}{H_E}$$

Kermoittumisindeksin määrittäystä öljy vedessä -emulsioiden stabiilisuuden tutkimiseen ovat käyttäneet myös Kulmyrzaev ym. (2000), Onsaard ym. (2006) ja Sun ym. (2007) sekä useat muut tutkijat. Emulsioiden säilytyslämpötiloissa sekä säilytysajoissa voi olla eroja eri tutkimusten kesken. Sun ym. (2007) lisäsivät emulsioihin natriumatsidia mikrobikasvun estämiseksi pitkän säilytysajan (1 kk, ympäristön lämpötila) aikana. Myös Kulmyrzaev ym. (2000) (24 h, 30 °C) ja Onsaard ym. (2006) (huoneenlämpö, 24 h) käyttivät natriumatsidia antimikrobisena aineena emulsioiden säilyvyyden parantamiseksi.

### 2.3.2 Keskimääräisen partikkelikoon määrittäminen

Koska pienen pisarakoon emulsiot säilyvät yleensä paremmin stabiilina kuin suuremman pisarakoon emulsiot, on emulsion pisarakoon määrittäminen yksi tapa arvioida emulsion stabiilisuutta. Mikrokapselointiin käytettävän emulsion pisarakokojakauman tulisi myös olla mahdollisimman kapea (Bae & Lee 2008: 550).

Emulsioiden, joiden kaikki pisarat ovat samankokoisia, pisarakoko voidaan ilmaista helposti pisaran halkaisijana tai säteenä. Emulsioiden, jonka pisarakoko vaihtelee, pisarakoon ilmaisu on hankalampaa. Toisinaan tarvitaan tietoa emulsioiden koko pisarakokojakaumasta, toisinaan keskimääräinen pisarakoko riittää. Eräs yleisesti käytetty tapa ilmaista vaihtelevan pisarakoon emulsioiden (polydisperse emulsion) keskimääräistä pisarakokoa on  $D_{43}$ -arvo (McClements 2005: 9–14).

$$D_{43} = \frac{\sum_i n_i D_i^4}{\sum_i n_i D_i^3},$$

missä  $n_i$  = halkaisijaltaan  $D_i$ :n kokoisten pisaroiden lukumäärä.

Tutkijoista keskimääräistä pisarakokoa tulostensa vertailuun ovat käyttäneet muun muassa Soottitantawat ym. (2005) ja Jafari ym. (2007).  $D_{43}$ -arvo on herkempi emulsioon suurien pisaroiden suhteen kuin  $D_{32}$ -arvo, joten se on herkempi esimerkiksi flokkulaation suhteen (McClements 2005).

### 2.3.3 PAMAS SBSS-C -hiukkaslaskin

PAMAS SBSS-C -hiukkaslaskinta voidaan käyttää hydraulisten nesteiden, liuottimien, öljyjen ja vesiliuosten partikkelimäärien laskemiseen (Käyttöohje 2006). Hiukkaskokoa määritettäessä tietty tilavuus näytettä johdetaan tasaisella virtauksella sensorin läpi, jolloin optinen hiukkaslaskin mittaa näytteessä olevien partikkelien määrän ja koon. Partikkelikoon määrittäminen perustuu partikkelin muodostaman varjon pinta-alan määrittämiseen. Kun hiukkanen saapuu valotielle, se saa aikaan varjon. Detektori havaitsee varjon pinta-alaan verrannollisen valomäärän vähenemisen, ja tämä aiheuttaa detektorin ulostulossa jännitemuutoksen eli pulssin. Pulssin korkeus on verrannollinen partikkelin kokoon. Myös läpinäkyvät partikkelit aiheuttavat valomäärän vähenemistä, sillä ne taittavat valoa pois detektorilta. Mikäli näytteen hiukkaspitoisuus ylittää hiukkaslaskentasektorin erottelukyvyn, voi esiintyä niin sanottua koinsidenssivirhettä, jossa sensori mittaa virheellisesti kaksi tai useampia partikkeleita yhdeksi suuremmaksi hiukkaseksi. (Niiranen 2005.)

Partikkelikoinformaatio lähetetään sähköisessä muodossa sensorilta analysaattorille, joka muuttaa sähköisen tiedon luettavaan numeeriseen muotoon ja luokittelee jännitepulssit käyttäjän valitsemiin kokoluokkiin. Partikkelien määrää ja kokojakaamaa voidaan tarkastella myös tietokoneella numeerisessa ja graafisessa muodossa. Mittaustarkkuuteen vaikuttavat sensorin suorituskyky sekä näytteen virtausnopeus ja

tasaisuus. Näytekammio voidaan alipaineistaa, jolloin mittausta häiritsevät ilmakuplat saadaan poistumaan näytteestä. (Niiranen 2005.)

## 2.4 Emulsioiden viskositeettimääritykset

Emulsioiden reologiset ominaisuudet voivat vaihdella matalan viskositeetin liuoksista melko jähmeisiin emulsioihin. Emulsion reologisiin ominaisuuksiin vaikuttavat sen ainesosien tyyppi ja konsentraatio sekä sen prosessointi- ja säilytysolosuhteet. Monien emulsioiden stabiilisuus riippuu niiden faasien reologisista ominaisuuksista.

Esimerkiksi emulsion jatkuvan faasin suurella viskositeetilla on hidastava vaikutus emulsion kermoittumiseen (creaming). (McClements 2005.)

Emulsion partikkelien konsentraatio ja keskinäiset vuorovaikutukset vaikuttavat emulsion viskositeettiin. Mikäli emulsion partikkelit ovat kaukana toisistaan eivätkä ole vuorovaikutuksessa keskenään, emulsio on juoksevaa ja jatkuvan faasin viskositeetti vaikuttaa merkittävimmin koko emulsion viskositeettiin. Partikkelien konsentraation noustessa ja keskinäisten vuorovaikutusten kasvaessa emulsion viskositeetti kasvaa. Konsentraation edelleen kasvaessa partikkelien liikkuvuus on entistä rajoittuneempaa, eivätkä ne lopulta voi liikkua toistensa ohi. Tällainen emulsio käyttäytyy kiinteän aineen tavoin pienillä leikkausnopeuksilla ja nesteen tavoin suuremmilla leikkausnopeuksilla, kun partikkelit pääsevät toistensa ohi. Konsentraation edelleen noustessa emulsio käyttäytyy lopulta kuin elastinen kiinteä aine. (McClements 2005.)

Pisaroiden aggregaatio tai flokkulaatio voi aiheuttaa emulsion leikkausohentuvaa käytöstä. Pienillä leikkausnopeuksilla emulsion viskositeetti pysyy muuttumattomana, mutta leikkausnopeuden kasvaessa aggregaattien rakenne hajoaa ja viskositeetti laskee. Kun aggregaatit ovat hajonneet kokonaan, leikkausnopeuden kasvattaminen ei enää vaikuta viskositeettiin. (Campanella ym. 1995; Flourey ym. 2000; McClements 2005.) Rakenteen muokkaajat voivat nostaa jatkuvan faasin viskositeettiä tai muodostaa jatkuvaan faasiin elastisen verkoston (Francis 1999).

Viskositeettitulosten vertailussa voidaan käyttää emulsioiden  $K$ -arvoja.  $K$ -arvo on matemaattinen kuvaus emulsion viskositeettikäyrästä ja perustuu Ostwaldin–de Waelen yhtälöön (Muller 1973: 63–64).

Leikkausohenevien liuosten tai nesteiden viskositeetti laskee leikkausnopeuden kasvaessa, ja viskositeettia kuvaava virtauskäyrä (flow curve) on lineaarinen vain todella korkeilla leikkausnopeuden arvoilla. Tämän tyyppisten fluidien käyttäytymistä kuvaa de Waelen ja Ostwaldin alun perin ehdottama kaava (power law):

$$\tau = K \left( \frac{du}{dy} \right)^n,$$

missä  $\tau$  on leikkausjännitys [Pa],  $\frac{du}{dy}$  on leikkausnopeus [ $s^{-1}$ ] ja  $K$  ja  $n$  ovat vakioita

( $n < 1$ ) tietyille fluidille.  $K$  [ $Pa s^n$ ] on fluidin konsistenssiluku. Mitä korkeampi fluidin  $K$ -arvo on, sitä viskoosimpi fluidi on.  $n$  kertoo fluidin virtauskäyrän luonteen. Newtonisten fluidien  $n$ -arvo on 1. Mitä kauempana fluidin  $n$ -arvo on 1:stä, sitä korostuneemmat ovat sen ei-newtoniset ominaisuudet. Ostwaldin–de Waelen yhtälön mukaan käyttäytyvän fluidin viskositeetti  $\eta$  voidaan ilmaista  $K$ :n ja  $n$ :n arvoilla:

$$\eta = K \left( \frac{du}{dy} \right)^{n-1}$$

(Tanner 2002: 17; Flourey 2002b.)

Lagoueyte & Paquin (1998) valmistivat ksantaanikumin 1 % vesiliuoksia 75 MPa:n korkeapainehomogenointikäsitteilyllä ja sumutuskuiivasivat kyseiset liuokset. Korkeapainehomogenoitujen liuosten (läpimenokertoja 2–20), jotka myös sumutuskuivattiin,  $K$ -arvot olivat välillä 0,348–0,226.  $K$ -arvoja tulostensa vertailuun ovat käyttäneet muun muassa Flourey (2002 b) ja Flourey (2003).

### 3 Mikrokselointi sumutuskuivaamalla

#### 3.1 Yleistä mikrokseloinnista

Mikrokseloinnilla tarkoitetaan kapseloitavan materiaalin ympäröimistä suojaavalla ohuella materiaalikerroksella tai sen sulkemista suojaavaan matriisiin (Forssell ym. 2007: 511; Rosenberg ym. 1990; Madene ym. 2006). Mikrokselit ovat kooltaan mikrometrikokoisia jauhepartikkeleita (1–2000 µm riippuen kapselointimenetelmästä). Kooltaan alle 100 nm:n kapselleita kutsutaan nanokapselleiksi. (Augustin & Hemar 2009; Forssell 2007; Hogan ym. 2001a.)

Mikrokselointi on mahdollistanut monien ennen teknisesti toteuttamattomissa olevien uusien tuotteiden kehittämisen (Gharsallaoui ym. 2007). Mikrokselointia voidaan käyttää vähentämään kapseloidun materiaalin reaktiivisuutta ympäristön kanssa. Kapseli suojaa tuotetta hapelta, jolloin kapseloidun materiaalin säilyvyys paranee.

Mikrokselointi myös ehkäisee kapseloidun materiaalin reaktioita elintarvikkeen muiden ainesosien kanssa. Mikrokseloinnilla voidaan myös säädellä kapseloidun materiaalin vapauttamista. Kapseloidun materiaalin vapauttamiseen voidaan käyttää esimerkiksi pH-muutosta, lämpötilan muutosta tai mekaanista rasitusta. (Reineccius 1994; Gouin 2004; Gibbs ym. 1999; Dziezak 1988: 136; Forssell ym. 2007; Rosenberg ym. 1990; Uddin ym. 2001.) Mikrokselointia voidaan käyttää nesteiden muuttamiseen helposti käsiteltäviksi kiinteiksi aineiksi ja kapseloitavan materiaalin maun peittämiseen (Gouin 2004). Mikrokseloinnilla ruokaan voidaan lisätä terveellisiä ravintoarvoa parantavia ainesosia heikentämättä kokonaistuotteen makua, rakennetta ja väriä (Vasishtha 2003).

Mikrokseloitujen tuotteiden kehittämisen haasteena on sopivimman kapselointimateriaalin ja -prosessin valinta taloudelliset näkökulmat huomioon ottaen (Vasishtha 2003). Elintarviketeollisuudessa käytettyjen kapselointimateriaalien tulee olla turvallisiksi todettuja (Rosenberg ym. 1990).

### **3.1 Mikrokapselointi sumutuskuivaamalla**

Sumutuskuivaus on elintarviketeollisuudessa vanhin ja yleisimmin käytetty kapselointitekniikka. Sumutuskuivauksessa liuos, emulsio tai suspensio sumutetaan pieninä pisaroina kuumaan kaasuvirtaan. Pisaroiden vesi haihtuu nopeasti ja muodostuu kuivaa jauhetta. Sumutuskuivauksen etuja ovat menetelmän edullisuus, laitteistojen hyvä saatavuus ja mahdollisuus säädellä kuivausprosessin olosuhteita. (Forssell ym. 2007: 512; Gharsallaoui ym. 2007; Gibbs ym. 1999.) Sumutuskuivauksessa käytettävien kapselointimateriaalien valikoima on rajoitettu, joten kiinnostus uusien kapselointimateriaalien löytämiseen on kasvanut (Gouin 2004; Forssell ym. 2007).

Valmistettaessa mikrokapseleita sumutuskuivaamalla kapseloitava materiaali liuotetaan ensin samaan liuokseen kapselimateriaalin kanssa ja dispersio homogenoidaan. Homogenoinnin jälkeen emulsio sumutuskuivataan, jolloin suurin osa emulsion sisältämästä vedestä haihtuu ja kapselimateriaali muodostaa suojaavan kerroksen kapseloitavan materiaalin ympärille eli muodostuu mikrokapseleita. Sumutuskuivauksessa emulsion veden haihtuminen jäähdyttää kuivauskammion sisään tulevaa kuumaa kuivausilmaa eikä kuivattavien partikkelien lämpötila ylitä kammiosta poistuvan ilman lämpötilaa. (Reineccius 1994: 106; Gouin 2004.)

Mikrokapselointia sumutuskuivaamalla on käytetty useiden hydrofobisten yhdisteiden kapseloimiseen. Kapseloituja yhdisteitä ovat muun muassa aromit, luonnolliset väriaineet, vitamiinit, rasvahapot, öljyt ja rasvat. (Bhandari ym. 1992; Liu ym. 2001; Barbosa ym. 2005; Loksuwan 2007; Gibbs ym. 1999; Uddin ym. 2001; Minemoto ym. 2002; Kim ym. 1996; Danviriyakul ym. 2002.)

### **3.2 Öljy vedessä -emulsion ja kapselimateriaalin ominaisuudet mikrokapselointia ajatellen**

Stabiilin emulsion aikaansaaminen on edellytyksenä onnistuneelle mikrokapseloinnille (Barbosa ym. 2005; Danviriyakul ym. 2002; Liu ym. 2001; Lee & Ying 2008: 378).

Emulsion ominaisuuksilla, kuten öljypisaroiden koolla ja pisarakokojakaumalla, viskositeetillä, kuiva-ainepitoisuudella, emulgointiaineella, kapselimateriaalilla ja sen suhteella kapseloitavaan materiaaliin sekä homogenointi- ja kuivausolosuhteilla on merkittävä vaikutus valmistettävien mikrokapselien ominaisuuksiin, kuten kapselointitehokkuuteen, kapselien rakenteeseen ja fysikaalisiin ominaisuuksiin, kapselien pinnalle jäävän vapaan öljyn määrään ja oksidatiiviseen stabiiliuteen. (Rosenberg ym. 1990; Bae & Lee 2008; Liu ym. 2001; Soottitantawat ym. 2003; Lee & Ying 2008: 378.)

Sumutuskuivauksessa käytetyn kapselointimateriaalin tulee olla vesiliukoinen ja emulsion tulee säilyä stabiilina sumutuskuivausajankohtaan saakka (Reineccius 1994: 106). Emulsion öljypisaroiden koon tulisi olla pieni ja pisarakokojakauman kapea (Bae & Lee 2008: 550; Lee & Ying 2008). Emulsion pisarakoon pienentämisen on todettu johtavan kapseloitavan materiaalin parempaan säilymiseen kuivauksessa ja kapselien pienempään pintarasvapitoisuuteen (Soottitantawat ym. 2003; Keogh ym. 2001). Mikrokapselien korkean pintarasvapitoisuuden on todettu johtavan hapettumisen nopeutumiseen (Granelli ym. 1996). Granellin ym. (2006) artikkelissa oli määritetty erikseen pintarasvapitoisuus (ESCA-määrittäminen) ja uutetun vapaan rasvan pitoisuus. Emulsion pienen pisarakoon on todettu johtavan myös mikrokapselien parempaan kykyyn suojata linolihappoa hapettumiselta (Ishido ym. 2002). Tosin Soottitantawat ym. (2005) havaitsivat kapseloidun aromin hapettumisen olevan säilyvyyskokeessa vähäisempää suurempipisaraisista emulsioista valmistetuissa kapseleissa, ja tulokset ovat ristiriidassa Ishidon ym. (2002) saamien tulosten kanssa.

Hyvä kapselimateriaali muodostaa filmin, joka pidättää kapseloitavan materiaalin sisäänsä kuivausvaiheessa. Kapselointimateriaalilla tulee olla hyvät kuivausominaisuudet, eli se ei saa muuttua tahmeaksi sumutuskuivauksessa, mikä voisi huonontaa kuivauksen saantoa. Materiaali ei saisi myöskään olla hygroskooppista kuivauksen jälkeen. Kuivatun materiaalin tulee säilyttää kapseloitu materiaali, suojata sitä säilytyksen aikana ympäristön vaikutuksilta, kuten hapelta, ja vapauttaa se lopputuotteessa. Kapselimateriaali ei saa reagoida kapseloidun materiaalin kanssa.

(Reineccius 1994: 106; Bae & Lee 2008: 550; Lee & Ying 2008; Gouin 2004; Madene ym. 2006.)

Sumutuskuivattavan emulsion kuiva-ainepitoisuuden tulee olla riittävä jatkuvan suojaavan matriisin muodostamiseksi öljypisaroiden ympärille kuivauksessa (Lee & Ying 2008; Bae & Lee 2008: 550). Liukoisten kuiva-aineiden pitoisuuden lisääminen nopeuttaa kuoren syntymistä pisaran pinnalle ja parantaa näin kapseloitavan materiaalin säilymistä kuivauksessa. Viskositeetin nousu tiettyyn pisteeseen asti parantaa materiaalin säilymistä kuivauksessa, mutta liiallinen viskositeetin nousu taas heikentää kapselointitehokkuutta. (Rosenberg 1990.) Kapselointitehokkuus ilmaisee kapseloidun öljyn osuuden kokonaisöljymäärästä (Bae & Lee 2008). Sumutuskuivattavan emulsion liian korkea viskositeetti voi aiheuttaa ongelmia materiaalin pumppaamisessa, sumutuksessa ja pisaroiden muodostumisessa. Korkea viskositeetti voi aiheuttaa suurempien pisaroiden muodostumista, mikä hidastaa kuivausaikaa. (Young ym. 1993b; Rosenberg ym. 1990; Bae & Lee 2008: 550; Reineccius 1994.) Korkean viskositeetin on havaittu johtavan mikrokapselien suureen partikkelikokoon sumutuskuivauksessa (Hogan ym. 2001b). Emulsion viskositeetin tulee olla pieni, jottei kapselien sisälle jäisi kuivauksessa ilmaa (Drusch 2007), mikä voi johtaa nopeampaan kapseloidun materiaalin hapettumiseen (Keogh ym. 2001). Kapselimateriaalin tulee siis olla viskositeetiltaan matala korkeillakin konsentraatiolla ja kapselimateriaalin ja kapseloitavan öljyn suhteen tulisi olla mikrokapselointiin soveltuva (Bae & Lee 2008: 550).

### **3.3 Sumutuskuivauksessa käytettyjä kapselointimateriaaleja**

Tyypillisesti kapselointimateriaaleina on käytetty kasvikumeja, muunneltuja tärkkelyksiä, hydrolysoituja tärkkelyksiä, proteiineja sekä mono- ja disakkarideja. (Reineccius 2004; Bae & Lee 2008; Gouin 2004). Eri kapselimateriaaleilla on hyvät ja huonot puolensa, joten eri kapselimateriaaleja käytetään usein yhdistelminä (Madene ym. 2006).



Arabikumi on laajasti käytetty kapselointimateriaali sumutuskuivauksissa (Reineccius 2006: 367; Young ym. 1996; McNamee ym. 1998; Liu ym. 2001; Minemoto ym. 2002; Barbosa ym. 2005; Gouin 2004). Arabikumi on luonnollinen materiaali, jolla on emulgointiominaisuus ja joka on maultaan neutraali (Reineccius 1994; Forssell 2007). Arabikumi on monimutkainen polysakkaridi, jonka rakenteesta noin 2 % on proteiinia (Williams & Phillips 2003). Se muodostaa matalan viskositeetin liuoksia korkeilla konsentraatioilla. (Williams & Phillips 2003; Islam ym. 1997: 503). Islamin ym. (1997) mukaan 50-prosenttisen arabikumiliuoksen viskositeetti on noin 250 mPas ja arabikumin 30 %:n konsentraatiolla voidaan saada aikaan viskositeetiltaan noin 80 mPas:n liuoksia. Arabikumin saatavuudessa ja laadussa on vaihteluita. Arabikumin funktionaaliset ominaisuudet vaihtelevat sen mukaan, mistä puusta ja mistä akasiasuvun puulajista kumi on kerätty. (Reineccius 2006.) Arabikumin kyky suojata materiaalia hapelta vaihtelee lajin mukaan (Forssell 2007). Arabikumin kapselointitehokkuuden on havaittu heikkenevän, kun kapseloitavan materiaalin suhde arabikumin määrään nousee (McNamee ym. 1998; Minemoto ym. 2002). Arabikumi on kalliimpi materiaali kuin esimerkiksi muokatut tärkkelykset. (Reineccius 1994.)

Muunnellut emulgointikykyiset tärkkelykset ovat erinomaisia emulgaattoreita, ja aromien säilyminen sumutuskuivauksessa on hyvä. Tosin muokattu tärkkelys suojaa huonosti aromia säilytyksen aikana. Aromin suojaamista hapelta voidaan parantaa käyttämällä kapselointimateriaalina muokatun tärkkelyksen lisäksi mono- tai disakkarideja tai kuivattua maissisiirappia (corn syrup solids). (Reineccius 1994; Reineccius 2004.) Muokatun tapiokatärkkelyksen kapselointitehokkuuden on osoitettu olevan tehokkaampi kuin muokkaamattomalla tapiokatärkkelyksellä (Loksuwan 2007).

Maltodekstriinit ja kuivattu maissisiirappi ovat halpoja kapselointimateriaaleja, mutta niiltä puuttuu emulgointikyky. Maltodekstriinit ja kuivattu maissisiirappi on valmistettu tärkkelyksestä happo- tai entsyymikäsittelyllä. Kun hydrolysoidun tärkkelyksen DE-luku on alle 20, sitä kutsutaan maltodekstriiniksi. DE-luvun ollessa 20 tai suurempi tuote on kuivattu maissisiirappi. (Reineccius 1994.) Dekstroosiekvivalentti (DE) kuvaa tärkkelyspolymeerin hydrolysoitumisastetta (DE 100 ilmaisee täysin pilkkoutunutta tärkkelystä) (Hogan 2001 a). Kuivattu maissisiirappi suojaa kapseloitua materiaalia

hyvin hapelta, mutta kapseloitavan materiaalin säilyminen kuivauksessa on huono. (Reineccius 1994.) Maltodekstriineillä saadaan aikaan alhaisen viskositeetin liuoksia korkeilla kuiva-ainepitoisuuksilla, joten niitä käytetään kuivaamalla valmistettävien mikrokapselien kuiva-ainepitoisuuden lisäämiseen. Maltodekstriinit lisäävät lopputuotteen rakenteellista eheyttä, ja yksinkertaisten sokerien korvaaminen maltodekstriinillä vähentää kapselimateriaalin tahmeutta kuivauksen aikana maltodekstriinin korkeamman lasisiirtymälämpötilan ansiosta. (Augustin & Hemar 2009.)

Mono- ja disakkaridit, kuten glukoosi, sakkaroosi ja laktoosi ovat edullisia kapselimateriaaleja. Niitä käytetään usein yhdessä muokatun tärkkelyksen tai arabikumin kanssa parantamaan kapselin kykyä suojata kapseloitua materiaalia hapelta tai laskemaan kapselimateriaalin kustannuksia. Tosin mono- ja disakkaridien filminmuodostusominaisuudet ovat heikot ja niiden lasisiirtymälämpötila on matala. (Reineccius 2004.)

Proteiinit ovat pinta-aktiivisia molekyyliä, jotka absorboituvat öljy- ja vesifaasin väliselle rajapinnalle stabiloiden emulsion (Stauffer 1999). Proteiinit alentavat faasien välistä jännitystä, jolloin emulsion muodostamiseen tarvitaan vähemmän energiaa (Bos & van Vliet 2001). Heraproteiineja ja natriumkaseinaattia on käytetty onnistuneesti sumutuskuivauksen kapselointimateriaaleina (Rosenberg & Sheu 1996; Young ym. 1993a; Kim ym. 1996). Heraproteiinia on käytetty onnistuneesti myös yhdessä hiilihydraattien kanssa mikrokapselointimateriaalina (Sheu & Rosenberg 1995; Young ym. 1993b), ja hiilihydraattien lisäyksellä on päästy jopa parempaan kapselointitehokkuuteen (Rosenberg & Sheu 1996; Young ym. 1993a). Tutkijoiden mukaan tämä johtuu luultavasti laktoosin kyvystä parantaa kapselimateriaalin kuivausominaisuuksia sekä mahdollisesti sen kyvystä muodostaa jatkuva lasifaasi (Rosenberg & Sheu 1996). Youngin ym. (1993a) tutkimuksessa hiilihydraatit toimivat täyteaineina parantaen kapselin hydrofiilisiä ominaisuuksia rajoittaen kapseloidun materiaalin poistumista kapselin sisältä.

## **4 Kauraleseen potentiaalisuus emulsion muodostajana ja kapselointimateriaalina**

### **4.1 Kauralese**

Kauraa on perinteisesti käytetty suurimoina, leseinä tai hiutaleina puuroihin, leipään ja aamiaismuroihin. Kauraa on lisätty tuotteisiin esimerkiksi leseen muodossa lisäämään niiden terveysvaikutteisia ominaisuuksia, säätelemään makua ja ulkonäköä tai parantamaan vedensidontaominaisuuksia. Kauraan liitetyt terveysvaikutukset liittyvät pääosin kauran kokonaiskuituun ja  $\beta$ -glukaaniin. Kauralese koostuu kauran ytimen uloimmista kuorikerroksista sisältäen aleuronikerroksen. Lese valmistetaan kauran kokojyväjauhosta poistamalla siitä tärkkelyspitoinen endospermi. Leseeseen jäävän endospermin määrä vaihtelee tuotteittain. (Kaukovirta-Norja & Lehtinen 2007.)

Kauralese sisältää tyypillisesti 12–27 % proteiinia, 2–12 % rasvaa, 56–91 % hiilihydraatteja ja hehkutusjäännös on 2–9 % (Marlett 1993: 51). Tyypillinen kauralese sisältää 6–8 %  $\beta$ -glukaania, kun taas uusien kuivavalsaamalla valmistettujen kauralesekonsentraattien  $\beta$ -glukaanipitoisuus voi olla jopa 22 % (Kaukovirta-Norja & Lehtinen 2007). Kauralesetä ei ole kirjoittajan tiedon mukaan aiemmin käytetty emulsion muodostamiseen, stabiloimiseen ja mikrokapselointiin.

#### **4.1.1 Kauraproteiini**

Kauran proteiinifraktiot ovat globuliinit (52–56 %), albumiinit (10–19 %), prolamiinit (7–13 %) ja gluteliinit (21–27 %) (Ma & Harwalkar 1984; Peterson & Brinegar: 156). Proteiinien funktionaaliset ominaisuudet tekevät niistä potentiaalisia kapselointimateriaaleja (Charve & Reineccius 2009; Gharsallaoui ym. 2007). Ma (1983) totesi kauraproteiinikonsentraattien emulgointiaktiivisuusindeksin (EAI), rasvansidonta-, vedensidonta- ja vaahdonmuodostusominaisuuksien olevan verrattavissa paljon käytettyjen kasviproteiinien vehnägluteenin ja soijaproteiinin vastaaviin ominaisuuksiin. Tosin kauraproteiinikonsentraattien emulsion stabilointi-indeksit (ESI) olivat matalat. Veden- ja rasvansidontaominaisuudet kuvaavat

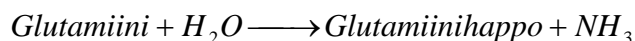
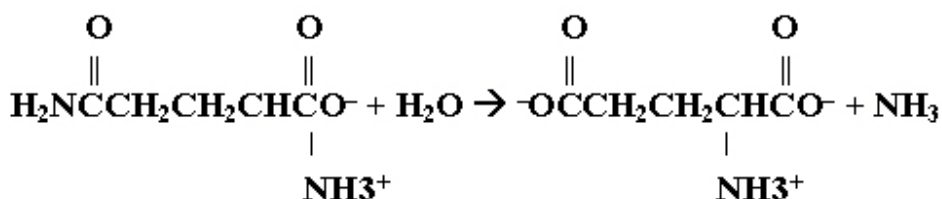
kauraproteiinkonsentraattien kykyä sitoa vettä ja rasvaa. Kauraproteiinkonsentraattien liukoisuudet olivat heikot pH-arvoilla 4–6. Liukoisuudet emäksisessä ja happamassa pH:ssa olivat korkeat (>65 %).

Emulsion sameusmittauksiin, dispergoituneen faasin tilavuuteen ja proteiinin massan määritykseen perustuva emulgointiaktiivisuusindeksi kuvaa emulsion faasienvälistä pinta-alaa suhteessa proteiinin määrään. Emulsion stabiilisuusindeksi ilmaisee SDS-stabiloidun emulsion sameusmuutosta ajan kuluessa. (Pearce & Kinsella 1978.) Man ja Harwalkarin (1984) mukaan eräillä kauraproteiinifraktioilla on hyvät emulgointi-, rasvansidonta- ja vedensidontakyvyt. Fraktioista gluteliineilla oli paras emulgointiaktiivisuusindeksi ( $45 \text{ m}^2/\text{g}$ ). Seuraavaksi parhaat EAI-arvot olivat prolamiineilla ( $36,8 \text{ m}^2/\text{g}$ ) ja albumiineilla ( $31,2 \text{ m}^2/\text{g}$ ). Heikoin EAI oli globuliineilla ( $27,6 \text{ m}^2/\text{g}$ ). Albumiinien ( $2,4 \text{ ml/g}$ ) ja gluteliinien ( $1,9 \text{ ml/g}$ ) vedensidontakyky oli huomattavasti parempi kuin globuliineilla ja prolamiineilla. Albumiinien rasvansidontakyky ( $2,8 \text{ ml/g}$ ) oli huomattavasti parempi kuin muilla proteiinifraktioilla. Albumiinien vaahdonmuodostusominaisuudet olivat erinomaiset (240 %) ja huomattavasti paremmat kuin muilla proteiinifraktioilla. Albumiinien liukoisuus oli erinomainen laajalla pH-alueella (pH 1–10). Globuliinien liukoisuus oli heikko pH-välillä 6–7 ja erinomainen (> 90 %) todella happamassa ja emäksisessä pH:ssa. Prolamiinien liukoisuus oli huono pH-arvoilla 5–6 ja niiden liukoisuus oli yli 90 % pH-arvolla 10,5. Gluteliinien liukoisuus oli huono pH-välillä 3–8, ja liukoisuus oli paras emäksisessä pH:ssa (noin 90 % pH-arvolla 10,5).

Sumutskuivaamalla pyritään saamaan tuote, joka veteen liuotuksen jälkeen on ominaisuuksiltaan hyvin samankaltainen kuin ennen kuivausta (Sliwinski 2003). Sumutskuivauksessa käytettävät korkeat lämpötilat voivat kuitenkin aiheuttaa globulaaristen proteiinien denaturaatiota. Sumutskuivauksessa proteiinit voivat myös denaturoitua ilma- ja nestefaasin väliselle rajapinnalle. (McClements 2004.) Emulsion (20,6 % maltodekstriiniä, 20 % soijaöljyä, 2,4 % proteiinia, 0,13 M NaCl, pH 6,7) stabilointiin käytetyn heraproteiinin denaturoitumisen ja aggregaation sumutskuivauksen aikana on todettu aiheuttavan pisarakokojakauman merkittävää kasvua uudelleenliuotettaessa, kun heraproteiinin osuus emulsion

kokonaisproteiinimäärästä oli yli 70 % (Sliwinski ym. 2003) Tutkimuksessa sumutskuivauksen sisääntulevan ilman lämpötila oli 150 °C ja poistumislämpötila 90 °C. Sliwinkin tutkimuksessa käytetyn heraproteiinin denaturoitumislämpötila vaihtelee välillä n. 60–80 °C (Francis 1999: 2654). Kauraglobuliinin denaturoitumislämpötila puolestaan on korkea (112 °C) (Marccone ym. 1998), joten globuliineja sisältävän materiaalin sumutskuivauksessa voidaan todennäköisesti käyttää korkeampia kuivauslämpötiloja kuin heraproteiineja kuivattaessa.

Ma ja Khanzada (1987) deamidoivat kauraproteiinia (miedolla happokäsittelyllä) ja havaitsivat, että kauraproteiinin emulgointiominaisuuksia ja liukoisuutta sekä veden ja rasvan sitomiskykyä on mahdollista parantaa deamidaation avulla. Proteiinin deamidaatiolla tarkoitetaan glutamiinin (tai asparagiinin) amidiryhmien hydrolyysiä, jossa glutamiinin amidiryhmiä muutetaan karboksyylihapporyhmiksi. Reaktion seurauksena glutamiini muuttuu glutamiinihapoksi, ja reaktiossa vapautuu ammoniakkia. Deamidaatio voi tapahtua kemiallisesti tai entsymaattisesti (Shih 1996; Lam & Cleland 1999: 1263). Reaktio kasvattaa proteiinin negatiivista varaustiheyttä, koska glutamiinihapon karboksyyliiryhmä on deprotoionoituneessa muodossa (COO<sup>-</sup>), jos pH on yli 4,25. Negatiivisen varauksen kasvun myötä proteiinista tulee hydrofiilisempi ja veteen liukoisempi sekä sen emulgointiominaisuudet paranevat. (Shih 1996; Lam & Cleland 1999; Ludescher 1996: 29–39; McMurry & Simanek 2007: 479.)

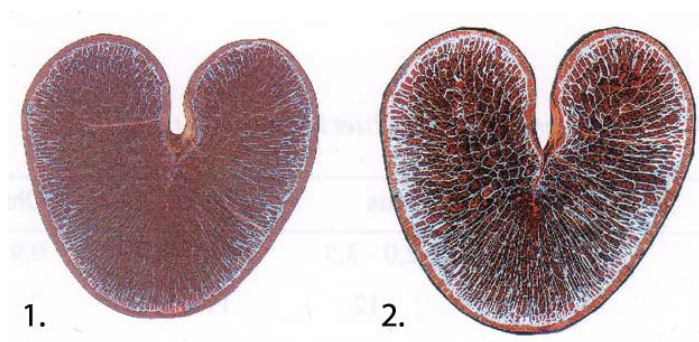


Deamidaatio saa aikaan myös proteiinin hydrofobisten alueiden esiin tulemistä proteiinin rakenteen avautumisen seurauksena, jolloin proteiinin emulgointiominaisuudet paranevat proteiinin pinnan kasvaneen hydrofobisuuden myötä (Shih 1996: 95–96).

Kemiallisella tai entsyymaattisella deamidaatiolla on pystytty parantamaan proteiinien funktionaalisia ominaisuuksia, kuten emulgointi- ja vaahdonmuodostusominaisuuksia sekä liukoisuutta myös muissa tutkimuksissa (Mirmoghtadaie ym. 2009; Matsudomi ym. 1985; Kato ym. 1987).

#### 4.1.2 Kauran $\beta$ -glukaani

Kauran (1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glukaani on lineaarinen homopolysakkaridi, jonka pitoisuus on suurempi kauran ja ohran soluseinissä kuin muilla viljoilla.  $\beta$ -glukaani on kauran ja ohran liukoisen ravintokuidun pääkomponentti, ja siihen on yhdistetty lukuisia terveysvaikutuksia. Näistä veren glukoosin säätelyn ja seerumin kolesterolin mahdollisen alentamisen uskotaan perustuvan kuidun viskositeettiin. (Johansson ym. 2008; Marlett 1993: 64; Wood 1993: 93.) Noin 75 % kauran endospermin soluseinästä koostuu  $\beta$ -glukaanista (Miller ym. 1995).

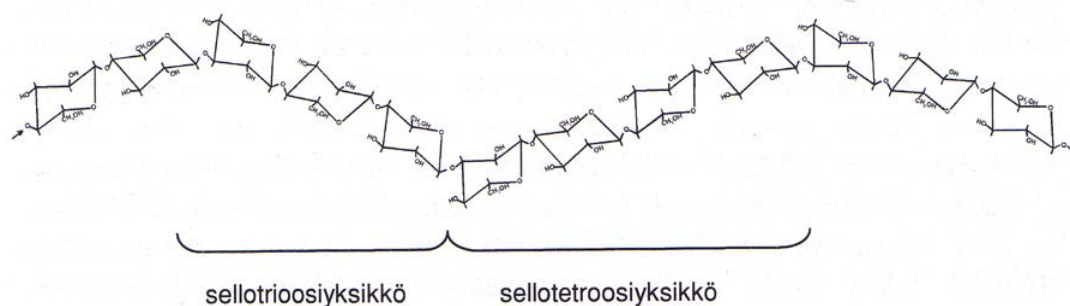


Kuva 3.  $\beta$ -glukaanin sijainti kauran jyvässä (merkitty sinisellä). (Muokattu lähteestä Nuutila 2000.)

(1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glukaani koostuu  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-sitoutuneista ja  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-sitoutuneista glukopyranosyyliyksiköistä (Wood 1986; Lazaridou ym. 2007; Wood 1993).

$\beta$ -glukaanipolymeeri koostuu pääasiassa kahdesta erilaisesta rakenteellisesta jaksosta, joista toisessa yksi  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-sidos vaihtelee kahden  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-sidoksen kanssa ja toisessa yksi  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-sidos vaihtelee kolmen  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-sidoksen kanssa. Toisin sanoen polymeeri koostuu sellotriooosi- ja sellotetraooisyksiköistä, jotka ovat liittyneet toisiinsa  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-sidoksin (kuva 4). (Parrish ym. 1960; Wood 1993.) Pieni osa  $\beta$ -glukaanin

rakenteesta koostuu sellotetraosiyksiköitä pidemmistä  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-sitoutuneista selluloosan kaltaisista yksiköistä (Wood ym. 1994).



Kuva 4. Beetaglukaanin rakenne. (Nuutila 2000.)

$\beta$ -glukaanin rakenne ja molekyyli­massa vaikuttavat sen viskositeettiin ja liukoisuuteen (Wood 1993). Eri viljojen  $\beta$ -glukaanit eroavat rakenteellisesti toisistaan. Tri- ja tetrasakkaridien välinen suhde likenaasihydrolyysin jälkeen on korkein vehnällä, toiseksi korkein ohralla ja pienin kauralla. Korkea DP3:DP4-suhde viittaa rakenteen säännöllisyyteen, mikä voi johtaa heikompaan vesiliukoisuuteen. (Cui ym. 2000.) Liukoisen  $\beta$ -glukaanin määrän sekä liukoisen  $\beta$ -glukaanin ja kokonais- $\beta$ -glukaanipitoisuuden suhteen on havaittu olevan suuremmat kauralla kuin ohralajikkeilla (Lee ym. 1997).

Ohran  $\beta$ -glukaania voidaan käyttää emulsion stabiloimiseen yhdessä emulgaattorin kanssa.  $\beta$ -glukaanin kyky nostaa liuoksen viskositeettiä tekee siitä potentiaalisen stabilointiaineen emulsioille. Myös  $\beta$ -glukaanin kyky muodostaa geeli tietyissä olosuhteissa saattaa osaltaan parantaa emulsion stabiiliutta. (Burkus & Temelli 2000.) Viskositeetin lisäys parantaa emulsion stabiiliutta hidastamalla kuplien ja pisaroiden liikehdintää hidastaen näin partikkelien sedimentoitumista ja kerrostumista pinnalle. (Burkus & Temelli 2000; McClements 2005: 54.)

$\beta$ -glukaanin ominaisuuksia voidaan muokata happohydrolyysin avulla. Happohydrolyysi pienentää  $\beta$ -glukaanin keskimääräistä molekyyli­massaa ja viskositeettiä, ja happohydrolysoitu  $\beta$ -glukaani voi muodostaa tietyissä olosuhteissa geelin. Mahdollinen selitys hydrolysoidun  $\beta$ -glukaanin käytökselle on, että

hydrolysoidut makromolekyylit ovat pienemmän molekyylimassan ansiosta liikkuvaisempia ja aggregoituvat todennäköisemmin. Muodostuneet aggregaatit voisivat toimia siltoina  $\beta$ -glukaanimolekyylien välillä, jolloin syntyisi heikko verkosto. Pienemmän molekyylimassan  $\beta$ -glukaanin on todettu geeliintyvän nopeammin kuin  $\beta$ -glukaanin, jonka molekyylimassa on korkeampi. (Doublier & Wood 1995; Tosh ym. 2003.)

Vaikka  $\beta$ -glukaanin kyky nostaa emulsion viskositeettia parantaa emulsion stabiilisuutta, liiallinen viskositeetin kasvu voi aiheuttaa ongelmia sumutuskuivauksessa (Burkus & Temelli 2000; Young ym. 1993b; Rosenberg ym. 1990). Kontrolloidun happohydrolyysin avulla voitaisiin säädellä  $\beta$ -glukaanin kykyä nostaa liuoksen viskositeettia mikrokapselointia varten edullisemmiksi.

## **KOKEELLINEN OSA**

### **5 Työn tarkoitus**

Työn tarkoituksena oli optimoida sumutuskuivattavan emulsion valmistusprosessia mikrokapselointia varten teoreettisesti ihanteellisen emulsion aikaansaamiseksi. Kokeellisesti pyrittiin etsimään sellaiset homogointiolosuhteet ja emulsion kuivatun modifioidun kauraleseuutteen pitoisuus, joilla emulsion viskositeetti olisi mahdollisimman pieni ja öljypisaroiden keskimääräinen koko olisi mahdollisimman pieni. Emulsion tuli myös pysyä stabiilina vähintään 26 tuntia valmistamishetkestä. Kuivattua modifioitua kauraleseuutetta merkitään jatkossa KMK:lla.

Emulsion raaka-aineiksi valmistettiin pakkaskuivattua kauran kuitumateriaalia, jonka sisältämän  $\beta$ -glukaanin tarkoituksena oli lisätä emulsion stabiiliutta nostamalla sen jatkuvan faasin viskositeettiä sekä KMK:ta, jonka sisältämän kauraproteiinin tarkoituksena oli toimia emulgaattorina emulsiossa ja jonka sisältämä hydrolysoitu



$\beta$ -glukaani toimi emulsioissa stabilointiaineena. Esikokeilla haarukoitiin KMK:n ja kaurakuitumateriaalin pitoisuuksia emulsiossa sumutskuivausta varten selkeästi liian suuren viskositeetin aiheuttavien pitoisuuksien rajaamiseksi pois jatkokokeista. Esikokeiden perusteella kuitumateriaalin käytöstä emulsioiden valmistuksessa luovuttiin sen voimakkaan viskositeettia nostavan vaikutuksen vuoksi.

CC-koesuunnitelman mukaisesti valmistettiin 17 koe-emulsiota. Tulosten pohjalta tehtiin matemaattiset mallit. Mallien ja vasteiden arvojen haluttavuuksia kuvaavien haluttavuusfunktioiden perusteella määritettiin yhdistetty haluttavuusvastepinta, jonka pohjalta arvioitiin jatkokokeita varten optimaalisin emulsion valmistusprosessi. Sumutskuivausta varten teoreettisesti edullisinta emulsiota etsittiin kyseisen optimin läheisyydestä haarukointikokeilla.

## **6 Materiaalit ja menetelmät**

### **6.1 Materiaalien valmistus ja esikokeet**

#### **6.1.1 Kauran kuituosuuden uutto**

##### Materiaalit:

Milli-Q-vesi

Amylaasientsyymi (Termamyl® 300 L, Type DX, Novozymes, Tanska)

Kauralese (OatWell® 22%, CreaNutrition AG, Sveitsi) (proteiinia 19–22 %,  $\beta$ -glukaania 21–23 %)

##### Välineet ja laitteisto:

Sentrifuugi (RC-5C, Sorvall®, Du Pont company, Yhdysvallat)

Pakkaskuivuri (Drywinner DW 8-85, Heto-Holten A/S, Tanska)

Mylly (ZM 200, Retsch GmbH, Saksa)

Sauvasekoitin (Bamix®, Sveitsi)

4 kg milli-Q-vettä kuumennettiin kiehuvaan veteen lisättiin 12,5 ml lämpöresistenttiä  $\alpha$ -amylaasientsyymiä ja seoksen annettiin kiehua 5 minuutin ajan. Joukkoon lisättiin 200 g OatWell®-kauralesettä samalla sekoittaen ja seosta keitettiin 20 minuutin ajan, kunnes entsyymi oli pilkkonut kauraleseen sisältämän tärkkelyksen. Tärkkelyksen pilkkoutuminen tarkistettiin KI-liuoksella. Valmistuksessa muodostuneita paakkuja hajotettiin sauvasekoittimella noin 15 sekunnin ajan. Uutetta sentrifugoitiin nopeudella 10 000 rpm 10 minuutin ajan. Supernatantti siirrettiin 350 ml:n pakastusrasioihin (1 cm:n nestekerros), jonka jälkeen se pakastettiin (-20 °C, 1 vrk) ja pakkaskuivattiin (5 vrk, (0,5 mbar)). Pakkaskuivattu kuitumateriaali jauhettiin myllyllä halkaisijaltaan 0,5 mm:n kokoisiksi ja sitä pienemmiksi partikkeleiksi nopeudella 8000 rpm 3–4 sekunnin ajan. Jauhettu kuitumateriaali punnittiin välittömästi jauhamisen jälkeen ja sitä saatiin yhteensä 46,3 g. Kuitumateriaali siirrettiin fosforipentoksidia sisältävään vakuumiyksikköön (suhteellinen kosteus ~ 0 %) säilytyksen ajaksi.

### 6.1.2 Kuituliuosten viskositeettimittaukset

#### Materiaalit:

Milli-Q-vesi

Pakkaskuivattu kauran kuitumateriaali

Arabikumi, sumutuskuivattu jauhe (*Acacia Seyal*, Valspray F25500, Valmar, Ranska)

#### Välineet ja laitteisto:

Viskosimetri (ThermoHaake Rheostress 600, Thermo Electron GmbH, Saksa) (Levy: 60 mm, koetin: C60/1° Ti)

Työssä verrattiin erilaisten kuituliuosten viskositeettiarvoja 20-prosenttisen arabikumiliuoksen viskositeettiarvoon, jota voitiin pitää esimerkkinä liuoksesta, joka voidaan sumutuskuivata ongelmitta (Soottitantawat ym. 2005). Pakkaskuivatusta kauran kuitumateriaalista valmistettiin 0,8-; 1,0-; 1,2- ja 1,4-prosenttiset vesiliuokset

rinnakkaisineen. Arabikumista valmistettiin 20-painoprosenttinen vesiliuos. Arabikumijauheen vesipitoisuus 11,83 % otettiin reseptin suunnittelussa huomioon (liite 1). Liuotus suoritettiin magneettisekoittamalla näytteitä 25 minuutin ajan noin 60 °C:n lämpötilassa. Liuotusta jatkettiin magneettisekoittamalla näytteitä yön yli jääkaapissa ja lämmittämällä näytteitä kahden tunnin ajan ravistelevassa vesihauteessa (80 °C, 60 rpm). Näytteet laitettiin vesihauteeseen hauteen lämpötilan vielä ollessa 70 °C. Hauteen lämpenemiseen 80 °C:seen kului 15 minuuttia, ja ajanotto aloitettiin hetkestä, jolloin lämpöhauteen lämpötila oli saavuttanut 80 °C. Näytteitä kuumennettiin ja sekoitettiin vielä magneettisekoittajalla noin 80 °C:n lämpötilassa 10 minuutin ajan liukoisuuden parantamiseksi. Liuosten viskositeetit määritettiin viskosimetrillä.

### **6.1.3 Kuitupitoisuuden haarukointi**

#### Materiaalit:

Pakkaskuivattu kaurakuitumateriaali

Milli-Q-vesi

Kuivattu maissisiirappi CIDry A 01334 (DE 34) (Cerestar Scandinavia A/S, Holte, Tanska)

Rypsiöljy

#### Laitteisto:

Homogenisaattori (Ultra-Turrax® T 25 Basic (emulgointipää S25N-25F), IKA® Werke GmbH & Co. KG, Saksa)

Työssä testattiin kuitumateriaalin pitoisuuden ja jäähauteen käytön vaikutusta emulsioiden viskositeettiin. Kuitumateriaalista valmistettiin yhdet 0- ja 0,2-prosenttiset emulsiot sekä kaksi 1 % kuitumateriaalia sisältävää emulsiota. Jokainen emulsio sisälsi myös 2,5 % KMK:ta. Emulsioiden kuiva-ainepitoisuudet vakioitiin 20 %:ksi lisäämällä tarvittava määrä kuivattua maissisiirappia (DE 34), jota merkitään jatkossa KMS:lla.

Kutakin emulsiota valmistettiin 100 g. Reseptit ovat liitteessä 2. Kuiva-aineet sekoitettiin keskenään, minkä jälkeen milli-Q-vesi lisättiin joukkoon. Liuoksia magneettisekoitettiin 40–50 °C:n lämpötilassa tunnin ajan. Toinen 1 % kuitumateriaalia sisältävistä liuoksista jäähdytettiin 30 °C:n lämpötilaan liuotuksen jälkeen. Liuoksen joukkoon lisättiin 5 g rypsiöljyä ja seosta homogenoitiin Ultra-Turrax®-homogenisaattorilla (16 000 rpm, 4 min) ilman jäähaudetta. Muita liuoksia magneettisekoitettiin liuotuksen jälkeen jääkaapissa vielä tunnin ajan, jonka jälkeen kuhunkin liuokseen lisättiin 5 g rypsiöljyä reseptin mukaisesti. Homogenointi suoritettiin Ultra-Turrax®-homogenisaattorilla jäähauteessa (16 000 rpm, 4 min).

#### **6.1.4 Kauraleseutteen happohydrolyysi**

##### Materiaalit:

Milli-Q-vesi

Amylaasientsyymi (Termamyl® 300 L, Type DX, Novozymes, Tanska)

Kauralese (OatWell® 22%, CreaNutrition AG, Sveitsi)

37 % HCl (Merck, Saksa)

4 M NaOH (J.T. Baker, Alankomaat)

##### Välineet ja laitteistot:

Sauvasekoitin (Bamix®, Die ESGE Ag, Sveitsi)

Suodatinkangas (Miracloth, Calbiochem) (Huokoskoko 22–25 µm)

Dialyysimembraani (Sigma-Aldrich inc., Yhdysvallat (molekyyli­massaltaan > 12,4 kDa olevista komponenteista pidättyy > 90 %))

Sentrifugi (RC-5C, Sorvall®, Du Pont company, Yhdysvallat)

4 kg milliQ-vettä kuumennettiin kiehu­vaksi, minkä jälkeen siihen lisättiin 12,5 ml termamyylientsyymiä. Seoksen annettiin kiehua 5 minuutin ajan, minkä jälkeen joukkoon lisättiin 250 g kauralesettä. Seokseen muodostuneita paakkuja hajotettiin

sauvasekoittimella puolen minuutin ajan. Seoksen annettiin kiehua 15 minuutin ajan, kunnes entsyymi oli pilkkonut kauraleseen sisältämän tärkkelyksen. Tärkkelyksen pilkkoutuminen tarkistettiin KI-liuoksella. Seokseen lisättiin 50 ml 8 M suolahappoa. Seosta keitettiin samalla magneettisekoittaen 2 tunnin ajan kannen alla. Seos jäähdytettiin huoneenlämpöiseksi vesihauteessa ja sen pH säädettiin 7:ään 4 M NaOH:lla. Seosta dialysoitiin RO-vettä vastaan jääkaapissa 1–1,5 vuorokauden ajan suolojen ja sokerien poistamiseksi. RO-vesi vaihdettiin dialyysin aikana 2 kertaa. Tämän jälkeen seos sentrifugoitiin (10 000 rpm, 10 min) ja supernatantti eli liukoinen osa suodatettiin suodatinkankaan läpi kiinteiden partikkelien poistamiseksi. Materiaalia (noin 3 l) säilytettiin jääkaapissa vuorokauden ajan ennen sumutuskuivausta. Modifioitua kauraleseuutetta valmistettiin yhteensä noin 12 litraa.

### **6.1.5 Modifioidun kauraleseuutteen sumutuskuivaus**

#### Välineet ja laitteistot:

Sumutuskuivain (Mini Spray Dryer B290, Büchi Labortechnik AG, Sveitsi)

Ennen varsinaisten näytteiden sumutuskuivausta sumutuskuivaimen suutin puhdistettiin 70-prosenttisella etanolilla, minkä jälkeen suuttimen läpi ajettiin etanolia ja vettä. Modifioitua kauraleseuutetta sumutuskuivattiin kahdella kuivauskerralla yhteensä noin 12 l. Sumutuskuivaimen sisääntulolämpötila oli 170 °C ja ulostulolämpötila noin 67 °C. Sumutuskuivaimen pumpun teho oli 80 % ja aspiraattorin teho 100 %. Syöttöilman todellinen virtaus oli 355–440 l/h. KMK:ta saatiin sumutuskuivauksien tuloksena yhteensä 198 g. KMK siirrettiin fosforipentoksidia sisältävään vakuumieksikkaattoriin (suhteellinen kosteus ~ 0 %) säilytyksen ajaksi.

### 6.1.6 Kuivatun modifioidun kauraleseutteen pitoisuuden haarukointi

#### Materiaalit:

Kuivattu modifioitu kauraleseute (KMK) ( $\beta$ -glukaania 27 m-%, proteiinia 4,6 m-%)

Kuivattu maissisiirappi CIDry A 01334 (DE 34) (Cerestar Scandinavia A/S, Holte, Tanska)

Pakkaskuivattu kaurakuitu-uute

Milli-Q-vesi

Rypsiöljy

#### Välineet ja laitteisto:

Homogenisaattori (Ultra-Turrax® T 25 Basic (pää S25N-25F), IKA® Werke GmbH & Co. KG, Saksa)

Korkeapainehomogenisaattori (M110-Y Microfluidizer®, Microfluidics, Yhdysvallat)

Viskosimetri (ThermoHaake Rheostress 600, Thermo Electron GmbH, Saksa) (Levy: 60 mm, koetin: C60/1° Ti)

PAMAS-SBSS-C-16 partikkelilaskin (HCB-LD-25/25 sensori) ja ASD-hiukkaskokojakauma-analyysiohjelma

Koe-emulsioita valmistettiin erilaisilla KMK:n pitoisuuksilla. Emulsioita varten valmistettujen vesiliuosten KMK:n pitoisuudet olivat 1,0; 2,5; 5,0; 10,0 ja 20,0 %. 1 % KMK:ta sisältävälle emulsiolle valmistettiin myös rinnakkainen näyte. Kuiva-ainepitoisuus vakioitiin emulsioissa 20 %:ksi kuivatulla maissisiirapilla. KMS:n kosteuspitoisuudeksi oli aiemmin määritetty 4,7 %, mikä otettiin huomioon koesuunnitelmassa. Kaurakuitumateriaalin pitoisuus oli kaikissa emulsioissa 0,1 %. Emulsioiden reseptit ovat liitteessä 3. Kuiva-aineet sekoitettiin keskenään, minkä jälkeen lisättiin huoneenlämpöinen milli-Q-vesi. Liuoksia sekoitettiin magneettisekoittimella tunnin ajan 40–50 °C:n lämpötilassa. Homogenointikäsitteilyyn

soveltuvia riittävän matalan viskositeetin liuoksia (5,0 g; 2,5 g ja 1,0 g KMK:ta sisältävät liuokset) sekoitettiin ravistelijassa (60 rpm) jääkaapissa yön yli.

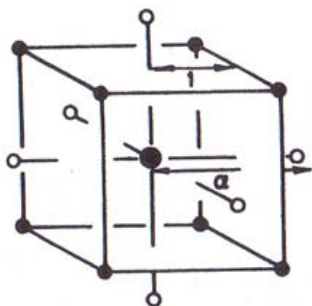
Homogenoitavat liuokset ja rypsiöljy otettiin seuraavana päivänä lämpeämään huoneenlämpöön. Vesiliuoksiin lisättiin 5 g rypsiöljyä ja niitä esihomogenoitiin Ultra-Turrax-homogenisaattorilla (16 000 rpm, 4 min) ilman jäähaudetta. Emulsioiden lämpötilat mitattiin esihomogenoinnin jälkeen (liite 5). Emulsiot homogenoitiin korkeapainehomogenisaattorilla (600 bar, 10 min) välittömästi esihomogenoinnin jälkeen. Emulsioiden viskositeetit mitattiin noin 2 tunnin kuluttua emulsioiden valmistamisesta.

## 6.2 Emulsiokoesuunnitelma

Kokeiden suunnittelussa käytettiin CC-koesuunnitelmaa, joka koostuu kaksitasoisesta faktoriaalisesta koesuunnitelmasta, jota on laajennettu keskipistekokeilla ja aksiaalikokeilla eli niin sanotuilla tähtipisteillä (kuva 5). Lisäkoepisteet mahdollistavat mallin kvadraattisten vaikutusten estimoinnin. (Box & Draper 2007: 304.)

Faktoriaalisena koesuunnitelmana käytettiin  $2^3$ -koesuunnitelmaa. Koesuunnitelmassa muuttujien arvot voidaan ilmaista käytännöllisyyden vuoksi koodatuissa yksiköissä. Kukin koesuunnitelman kolmesta muuttujasta voi saada koodatuissa yksiköissä arvon +1 tai -1. Arvolla +1 merkitään muuttujalle määriteltyä ylärajaa ja arvolla -1 muuttujalle määriteltyä alarajaa.  $2^3$ -koesuunnitelmassa on mukana kaikki yhdistelmävaihtoehdot, joita kolmella muuttujalla ja niiden kahdella tasovaihtoehdolla (+1/-1) voidaan saada aikaan.  $2^3$ -koesuunnitelmassa on siis mukana kaikki muuttujien ääriarvovaihtoehdot. Keskipistekokeissa kaikkien muuttujien koodatut arvot saavat arvon 0 eli keskipistekokeet merkitään (0,0,0). Keskipiste 0 voidaan laskea alarajan ja ylärajan perusteella. Aksiaalikokeissa kaksi muuttujaa saa arvon nolla yhden muuttujan koodatun arvon ollessa  $\pm\alpha$  eli yhdistelmävaihtoehdot ovat  $(\pm\alpha, 0, 0)$ ,  $(0, \pm\alpha, 0)$  ja  $(0, 0, \pm\alpha)$ .  $\alpha$  on etäisyys keskipisteestä. Koesuunnitelman pyöritettävyyden (rotatability) saavuttamiseksi aksiaalikokeiden etäisyyksien keskipisteestä tulisi olla  $\alpha = (2^3)^{1/4} = 1,682$ . Pyöritettävyydellä tarkoitetaan sitä, että tietyn pisteen ennustamisen tarkkuus vastepinnalla riippuu ainoastaan pisteen etäisyydestä keskipisteeseen. Täten

pisteiden, joiden etäisyys keskipisteestä on sama, ennustamisen tarkkuus on sama. (Box & Draper 2007: 470; Taavitsainen 2008; Derringer 1969.)



Kuva 5. CC-koesuunnitelma 3 muuttujalle. Aksiaalikoheet on merkitty valkoisella. (Box & Draper 2007: 470.)

Emulsion ominaisuuksien optimoimiseksi laadittiin CC-koesuunnitelma, jonka muuttujiksi valittiin homogointiaika, homogointipaine ja emulsion KMK:n pitoisuus. Aksiaalikoeteissa etäisyydeksi keskipisteestä valittiin  $2^{3/4}$ :n likiarvo 1,7.

Esikokeiden perusteella KMK:n pitoisuuden maksimiarvoksi arvioitiin 3 %. Tätä korkeammilla KMK:n pitoisuuksilla emulsioiden kuiva-aineiden vesiliuosten viskositeetti nousi niin suureksi, että liuokset geelityivät eivätkä siis voisi soveltua sumutuskuivattaviksi. Esikokeissa hyväksi todettu paine 600 bar valittiin paineen keskipisteeksi (taulukko 1). Yhdenkään emulsion paineen ei haluttu ylittävän 1000 baaria laiterajoitussyistä, joten paineen ylärajaksi valittiin 800 baaria. Homogointiajan ylärajaksi valittiin 10 minuuttia.

Taulukko 1. Valitut muuttujien ylä- ja alarajat.

	aika (min)	paine (bar)	KMK:n pitoisuus (%)
alaraja	3	400	0,7
yläraja	10	800	2,4
keskiarvo	6,5	600	1,55
vaihteluväli	7	400	1,7



Vasteiksi valittiin emulsion viskositeettia kuvaava K-arvo, öljypisaroiden keskimääräinen pisarakoko  $D_{43}$  ja emulsion stabiilisuutta kuvaava kermostumisindeksi (creaming index). Koesuunnitelma luotiin käyttäen tilastotieteellistä ilmaisohjelmaa R:ää. Apuna käytettiin yliopettaja Veli-Matti Taavitsaisen luomaa R-funktiokokoelmaa DOE-functions. Koesuunnitelma koodatuissa yksiköissä on esitetty taulukossa 2.

*Taulukko 2. Koesuunnitelma koodatuissa yksiköissä.*

	X1	X2	X3
1	-1	-1	-1
2	-1	-1	1
3	-1	1	-1
4	-1	1	1
5	1	-1	-1
6	1	-1	1
7	1	1	-1
8	1	1	1
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0
12	1,7	0	0
13	-1,7	0	0
14	0	1,7	0
15	0	-1,7	0
16	0	0	1,7
17	0	0	-1,7

Koesuunnitelma luotiin käyttämällä cc.design-funktiota. Koesuunnitelmassa käytettiin kolmea muuttujaa ja kolmea keskipistetoistoa ja aksiaalikoekoiden etäisyys keskipisteestä oli 1,7 (liite 4). Koesuunnitelma muutettiin koodatuista yksiköistä fysikaalisiin yksiköihin decode-funktiolla. Koesuunnitelma fysikaalisissa yksiköissä on esitetty taulukossa 3.

*Taulukko 3. Koesuunnitelma fysikaalisissa yksiköissä satunnaistamattomassa järjestyksessä.*

<b>emulsio</b>	t (min)	p (bar)	KMK (g)
<b>1</b>	3	400	0,7
<b>2</b>	3	400	2,4
<b>3</b>	3	800	0,7
<b>4</b>	3	800	2,4
<b>5</b>	10	400	0,7
<b>6</b>	10	400	2,4
<b>7</b>	10	800	0,7
<b>8</b>	10	800	2,4
<b>9</b>	6,5	600	1,55
<b>10</b>	6,5	600	1,55
<b>11</b>	6,5	600	1,55
<b>12</b>	12,45	600	1,55
<b>13</b>	0,55	600	1,55
<b>14</b>	6,5	940	1,55
<b>15</b>	6,5	260	1,55
<b>16</b>	6,5	600	2,995
<b>17</b>	6,5	600	0,105

Koevirheen selvittämiseksi tehtiin kolme toistokoetta. Kokeiden suoritusjärjestys satunnaistettiin randomize-funktiolla koetulosten tilastollisen riippumattomuuden varmistamiseksi. Toistokokeiden sijoittuminen eri valmistuskerroille varmistettiin tarvittavilla suoritusjärjestyksen muutoksilla mahdollisten ajasta riippuvaisten virhelähteiden havaitsemiseksi. Kokeiden suorituksen jälkeen tulokset järjestettiin satunnaistamattoman koesuunnitelman mukaiseen järjestykseen tulosten tarkastelua varten. Koesuunnitelma satunnaistetussa järjestyksessä on esitetty liitteessä 4.

### 6.2.1 Emulsioiden valmistus

#### Materiaalit:

Kuivattu modifioitu kauraleseuute (KMK)

Kuivattu maissisiirappi CIDry A 01334 (DE 34) (Cerestar Scandinavia A/S, Holte, Tanska)

Ionivaihdettu vesi

Rypsiöljy

#### Välineet ja laitteisto:

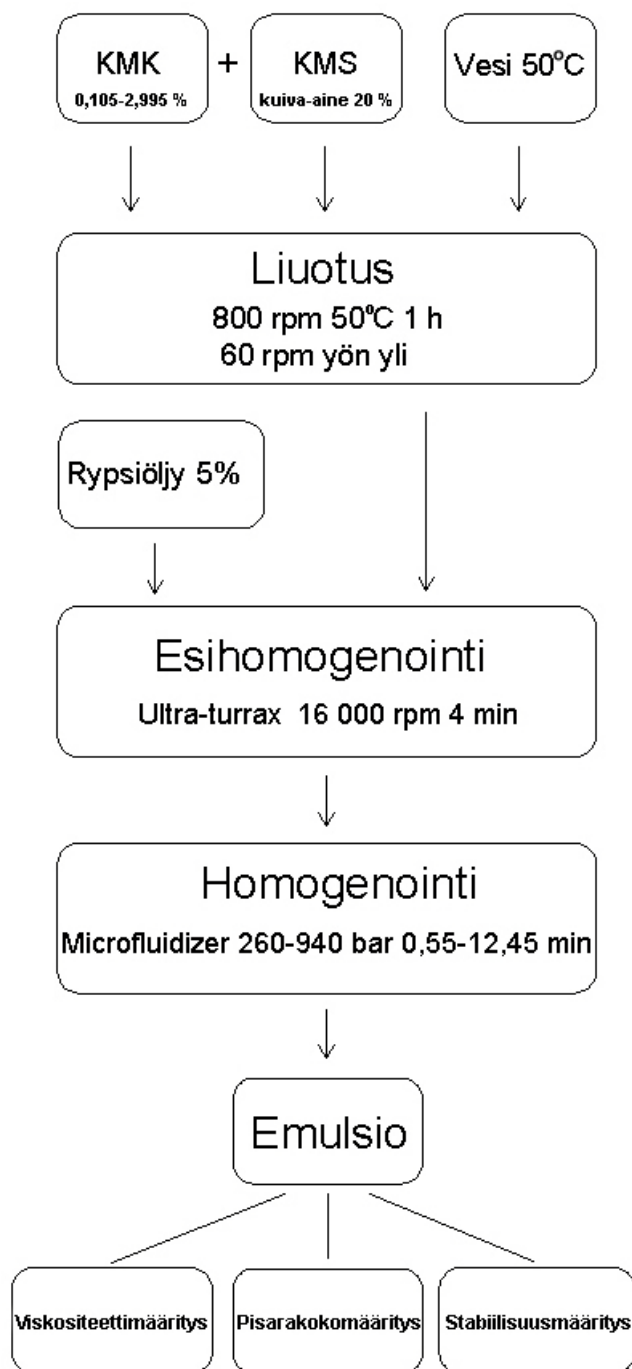
Homogenisaattori (Ultra-Turrax® T 25 Basic (pää S25N-25F), IKA® Werke GmbH & Co. KG, Saksa)

Korkeapainehomogenisaattori (M110-Y Microfluidizer®, Microfluidics, Yhdysvallat)

Emulsion valmistusprosessi on esitetty kuvassa 6. KMK:ta ja KMS:a punnittiin koesuunnitelman mukaisesti (liite 5) ylöspäin kapeneviin lasisiin 250 ml:n dekanterilaseihin. KMS:n kosteuspitoisuudeksi oli aiemmin määritetty 4,7 %, mikä otettiin huomioon koesuunnitelmassa. Keskenään sekoitettujen jauheiden joukkoon lisättiin esilämmitetty vesi (50 °C) ja dekanterilasien suut suljettiin foliolla. Liuoksia magneettisekoitettiin (800 rpm) lämpökaapissa 50 °C:n lämpötilassa tunnin ajan. Kauramateriaalin liuotusta jatkettiin sekoittamalla parafilmillä ja foliolla peitetyjä näytteitä ravistelijassa (60 rpm) jääkaapissa yön yli.

Jääkaappilämpöistä rypsiöljyä lisättiin koesuunnitelman mukaisesti jääkaappilämpöisiin edellisenä päivänä valmistettuihin KMK:n ja KMS:n vesiliuoksiin (liite 5). Kutakin emulsiota valmistettiin 150 g. Seoksia esihomogenoitiin Ultra-Turrax®-homogenisaattorilla (16 000 rpm, 4 min). Emulsioiden lämpötilat mitattiin välittömästi esihomogenoinnin jälkeen. Emulsioita homogenoitiin Microfluidizer®-korkeapainehomogenisaattorilla koesuunnitelman mukaisesti (liite 5). Liiallinen

emulsioiden lämmön nousu homogenoinnin aikana estettiin täyttämällä Microfluidizerin® lämmönvaihdinastia jäämurskalla. Emulsioiden lämpötilat mitattiin välittömästi homogenoinnin jälkeen. Näyte-emulsioiden välissä sekä ennen ensimmäisen näytteen homogenointia homogenisaattoria puhdistettiin ajamalla sen lävitse vettä.



Kuva 6. Emulsion valmistusprosessi ja analysointi.

## 6.2.2 Emulsioiden viskositeettimääritys

### Laitteisto:

Viskosimetri (ThermoHaake Rheostress 600, Thermo Electron GmbH, Germany)  
(Levy: 60 mm, koetin: C60/1° Ti)

Emulsioiden viskositeetit määritettiin viskosimetrillä eri kierrosnopeuksilla 20 °C:n vakioämpötilassa.

## 6.2.3 Emulsioiden pisarakokomääritys

### Materiaalit:

Emulsiot

Milli-Q-vesi

96 % etanoli (Altia Corporation, Suomi)

### Välineet ja laitteisto

Partikkelilaskin (SBSS-C-16 (HCB-LD-25/25 sensori), PAMAS GmbH, Saksa)

CC-koesuunnitelman mukaisesti valmistetut kaurapohjaiset emulsiot laimennettiin (1:100) milli-Q-vedellä. Kustakin emulsiosta tehtiin rinnakkaiset laimennokset. Laimennetut näytteet analysoitiin PAMAS-laitteistolla. Tulokset avattiin ASD-tietokoneohjelmalla. Ennen näytteiden ajoa laite puhdistettiin ajamalla läpi 96-prosenttista etanolia sekä milli-Q-vettä. Näyteajojen taustana käytettiin milli-Q-vedelle tehtyä partikkelimittausta. Jokainen laimennettu näyte analysoitiin kahteen kertaan, ja laite antoi tulokset kahden analyysin keskiarvoina.

Mahdollisen ylikonsentraatiosta johtuvan mittausvirheen pienentämiseksi ensimmäisen koesuunnitelman (17 ensimmäistä emulsiota) jälkeen jatkokokeita varten valmistetut kaurapohjaiset emulsiot laimennettiin suhteessa 1:1000 milli-Q-vedellä. Kustakin emulsiosta tehtiin rinnakkaiset laimennokset. Laimennokset valmistettiin juuri ennen partikkelikokomäärittäyksiä. Mittaukset ja tulosten tarkastelu tehtiin käyttäen ASD-ohjelmistoa. Ennen näytteiden ajoa laite puhdistettiin ajamalla läpi 96-prosenttista etanolia sekä milli-Q-vettä. Näyteajojen taustana käytettiin milli-Q-vedelle tehtyä partikkelimittausta. Mittauksen aikana käytettiin 10 sekunnin vakuumia ilmakuplien poistamiseksi näytteistä. Jokainen laimennettu näyte analysoitiin kolmeen kertaan, ja laite antoi tulokset kolmen analyysin keskiarvoina. Eri näyte-emulsioiden välissä laitetta puhdistettiin ajamalla sen läpi milli-Q-vettä.

#### 6.2.4 Emulsioiden stabiilisuusmäärittäminen

##### Tarvikkeet

15 ml:n asteikollisia ja steriilejä sentrifugiputkia (VWR, Yhdysvallat)

Stabiilisuusmäärittäystä varten jokaista näyte-emulsiota siirrettiin mahdollisimman pian valmistamisen jälkeen kolmeen 15 ml:n sentrifugiputkeen (15 ml emulsiota/putki). Putket suljettiin korkeilla välittömästi lisäyksen jälkeen. Emulsioita säilytettiin 25 °C:n lämpötilassa inkubaattorikaapissa seurannan ajan. Emulsionäytteiden pohjalle erottuneet seerumikerrokset arvioitiin 26 tunnin kuluttua emulsion valmistamisesta. Emulsioiden juoksevuutta ja ilmakuplien määrää arvioitiin silmämääräisesti. Emulsioputkien pohjalle erottuneiden seerumikerrosten korkeuden ( $H_S$ ) perusteella laskettiin kullekin emulsiolle kermoittumisindeksi (creaming index, %), joka kuvaa seerumikerroksen korkeuden suhdetta putkessa olevan emulsion kokonaiskorkeuteen ( $H_E$ ). Mitä suurempi kermoittumisindeksi on, sitä epästabiilimpi emulsio on kyseessä.

$$\text{Kermoittumisindeksi} = 100 \times \frac{H_S}{H_E}$$

### 6.3 Mallintaminen

Kokeiden suorittamisen jälkeen estimoitiin kvadraattiset mallit jokaisen vasteen suhteen `quad.model.fit`-funktiolla. R-komennot ovat liitteessä 6. Parittaiset yhdysvaikutukset sekä päävaikutusten neliöt otettiin malleissa huomioon käyttämällä funktion kolmantena argumenttina kahta. Mallien hyvyttä tutkittiin ristiinvalidoinnilla funktiolla `CV.plot`. Ristiinvalidoinnissa kukin koepiste jätetään yksitellen pois mallia tehtäessä ja näin saadulla mallilla ennustetaan kyseinen piste (Taavitsainen 2008; Hawkins ym. 2003). Malleja havainnollistettiin piirtämällä niistä vastepintakuvat ja malleille tehtiin myös kanoniset analyysit. Vastepintakuvat piirrettiin paineen ja KMK:n pitoisuuden suhteen erilaisilla ajan arvoilla. Toistokokeiden keskihajonnat laskettiin komennolla `sd`. Koska 17. emulsion homogeenointikäsitelyssä havaittiin öljypisaroiden jäämistä syöttösäiliön pohjalle luultavasti vähäisen emulgaattorimäärän seurauksena, mallin teossa käytettiin kyseisen emulsion pisarakokomääritystuloksen sijaan mallin ennustamaa pisarakokoa kyseiselle emulsiolle. 17. emulsion kokeellisesti määritetty  $D_{43}$ -arvo 20,585  $\mu\text{m}$  on siis korvattu mallilla ennustetulla arvolla 21,574  $\mu\text{m}$  (liite 6).

#### 6.3.1 Haluttavuusfunktioiden muodostaminen

Valmistettavan tuotteen erilaiset ominaisuudet vaikuttavat tuotteen kokonaislaatuun. Haluttavuusfunktio menetelmän avulla on mahdollista etsiä optimaalisinta tasapainoa tuotteen eri ominaisuuksille. Derringer & Gearyn (1988) mukaan haluttavuusfunktio menetelmän kehittäjä on Harrington (1965), ja menetelmää ovat myöhemmin kehittäneet Derringer & Suich (1980).

Haluttavuusfunktioita muodostettaessa jokainen vasteen arvo saa haluttavuusarvon  $d$  väliltä 0–1. Haluttavuusarvo kuvaa sitä, kuinka haluttava kyseinen vasteen arvo on. Arvo 1 vastaa ihanteellista vasteen arvoa, ja haluttavuusarvo 0 taas vastaa vasteen arvoa, jolla tuote ei ole enää hyväksyttävä. Asiantuntijat yleensä päättävät, minkä muotoinen haluttavuusfunktio kuvaa parhaiten vasteiden arvojen haluttavuuksia. Lopuksi yksittäiset haluttavuusfunktiot yhdistetään kokonaishaluttavuudeksi  $D$  käyttäen

niiden geometrista keskiarvoa. Geometrisen keskiarvon käyttäminen aritmeettisen keskiarvon sijaan takaa, että kokonaishaluttavuus  $D$  on nolla, kun jonkin muuttujan vasteen arvon haluttavuus on nolla. (Derringer & Geary 1988; Harrington 1965; Derringer & Suich 1980; Derringer 1983; Del Castillo 1996.)

$$D = (d_1 \times d_2 \times \dots \times d_k)^{\frac{1}{k}}$$

$D$ -arvo, joka on välillä 0–1, antaa kokonaisarvion yhdistettyjen vastetasojen haluttavuuksille.  $D$ :n arvo kasvaa, kun ominaisuuksien tasapainosta tulee suotuisampi. Yhdistetty haluttavuusfunktio  $D$  maksimoidaan matemaattisesti. Muuttujatasot, jotka johtavat maksimaaliseen  $D$ -arvoon, vastaavat yhdistelmää, jolla on paras mahdollinen tasapaino ominaisuuksien kesken. (Derringer & Suich 1980; Derringer & Geary 1988.) Yhdistetyn haluttavuuden menetelmää on käytetty onnistuneesti sokerin tuotannon optimoinnissa (Taavitsainen ym. 2009).

Eri ominaisuuksien tärkeysasteet kokonaishaluttavuuden suhteen voivat vaihdella. Tämä voidaan ottaa huomioon yhdistettyä haluttavuutta laskettaessa painottamalla eri ominaisuuksia eri tavalla. Painotus suoritetaan lisäämällä kunkin ominaisuuden painotus sitä kuvaavan haluttavuusfunktion eksponentiksi. (Derringer & Geary 1988.)

Haluttavuusfunktioiden piirtämiseksi jokaiselle vasteelle määriteltiin niin sanottu kelvoton arvo ja paras arvo. Pisarakoon optimiksi valittiin mahdollisimman pieni pisarakoko. Pisarakoon arvoksi, jossa haluttavuus on nolla, valittiin suurin emulsiokokeiden  $D_{43}$ -arvo 122  $\mu\text{m}$ . Viskositeetin optimiksi valittiin mahdollisimman matala viskositeetti, jotta emulsiot eivät tukkisi sumutuskuivainta. Viskositeetti-arvoksi, jonka haluttavuus on nolla, valittiin  $K$ -arvo 0,75. Stabiilisuuden optimiarvoksi valittiin 26 tunnin ajan stabiili emulsio eli creaming index nolla 26 tunnin kuluttua emulsion valmistamisesta. Koska ainoastaan stabiilit emulsiot olivat sumutuskuivauksen kannalta hyväksyttäviä, creaming index -arvoksi, jossa haluttavuus on nolla, valittiin arvo 0,25.

Muodostettiin yksipuolisia haluttavuusfunktioita. Funktion arvon (haluttavuuden) tahdottiin laskevan tasaisesti arvosta yksi nollaan, kun vasteen arvo siirtyy



optimaalisimmasta arvosta ei-hyväksyttävään arvoon. Pisarakoon ja viskositeetin haluttavuutta kuvaamaan käytettiin funktiota

$$d = \frac{1}{1 + e^{-\frac{y-a}{b}}},$$

missä  $y = x$ -akseli,  $b =$  käyrän kulmakerroin ja  $a =$  vapaavalintainen arvo.

Käytettiin DOE-functions-pakettiin kuuluvaa des.one.sided-funktiota, johon arvot sijoitetaan muodossa des.one.sided (y,a,b). Oikeat arvot a:lle ja b:lle haettiin kokeilemalla erilaisten käyrien piirtämistä R-ohjelmalla ja valitsemalla sopivimmat. Koska stabiilisuuskäyrästä tahdottiin todella jyrkkä, sen haluttavuuskäyrän funktioksi valittiin  $e^{-19x}$ . Haluttavuuskäyrät on esitetty liitteessä 10.

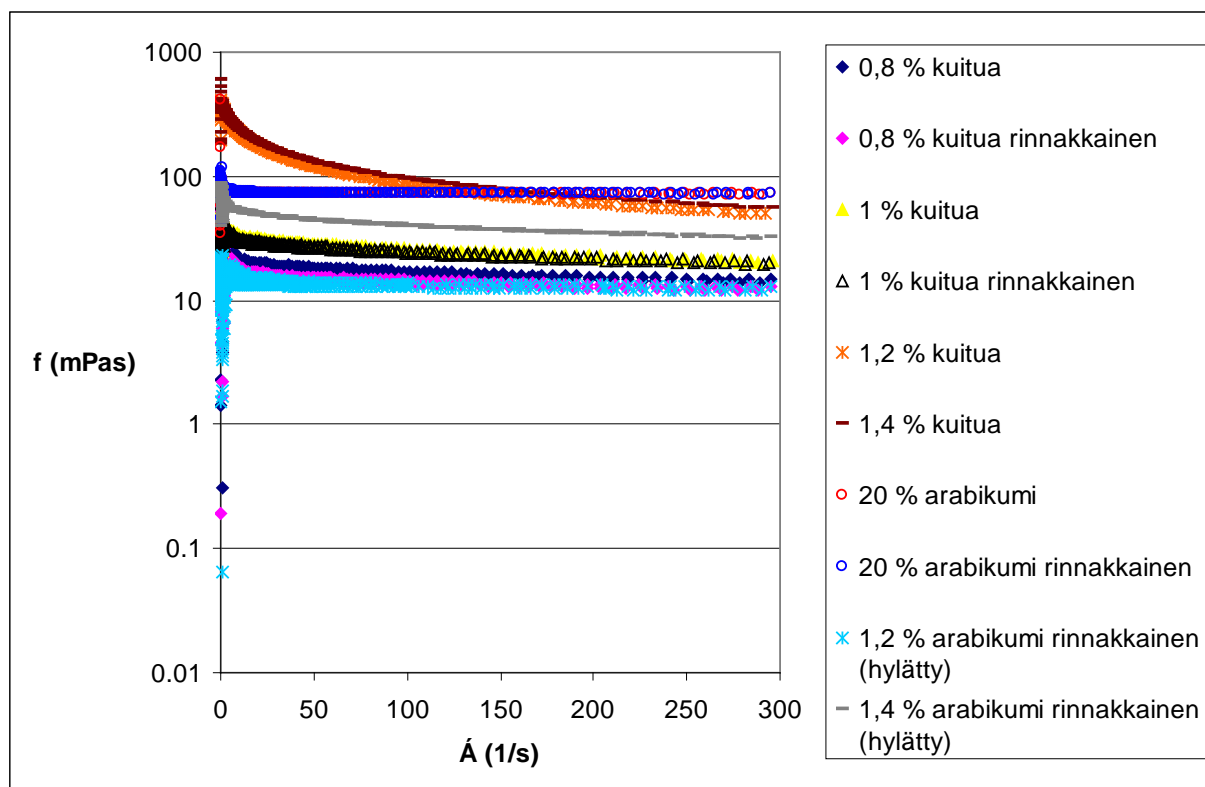
Muodostettiin yhdistetyn haluttavuuden vastepinta, jossa haluttavuus oli 1, kun kaikkien vasteiden haluttavuus oli 1, ja jossa haluttavuus oli nolla, kun yhdenkin vasteen haluttavuus oli nolla. Eri vasteiden haluttavuuksia voitiin tahdottaessa painottaa enemmän kuin muiden vasteiden haluttavuuksia. Koska ainoastaan KMK:n pitoisuus oli tilastollisesti merkitsevä muuttuja malleissa, vain sen optimaalisinta arvoa voitiin arvioida yhdistetyn haluttavuuden vastepintakuvista.

## 7 Tulokset ja tulosten tarkastelu

### 7.1 Esikokeet

#### 7.1.1 Kuituliuosten viskositeettimittaukset

Kauran kuitumateriaalilla valmistettujen kuituliuosten joukosta 1-prosenttinen kuituliuos valittiin parhaiten 20-prosenttisen arabikumiliuoksen viskositeettia vastaavaksi (liite 1 ja kuva 7). Viskositeetti-arvot 1,2 % kuitua sisältävälle rinnakkaisnäytteelle ja 1,4 % kuitua sisältävälle rinnakkaisnäytteelle olivat poikkeavan matalat, joten näitä tuloksia ei pidetty luotettavina. Poikkeavat tulokset johtuivat luultavasti kuidun epätäydellisestä liukenemisestä.



Kuva 7. Kuituliuosten viskositeettikäyriä.

### 7.1.2 Kuitupitoisuuden haarukointi emulsiokokein

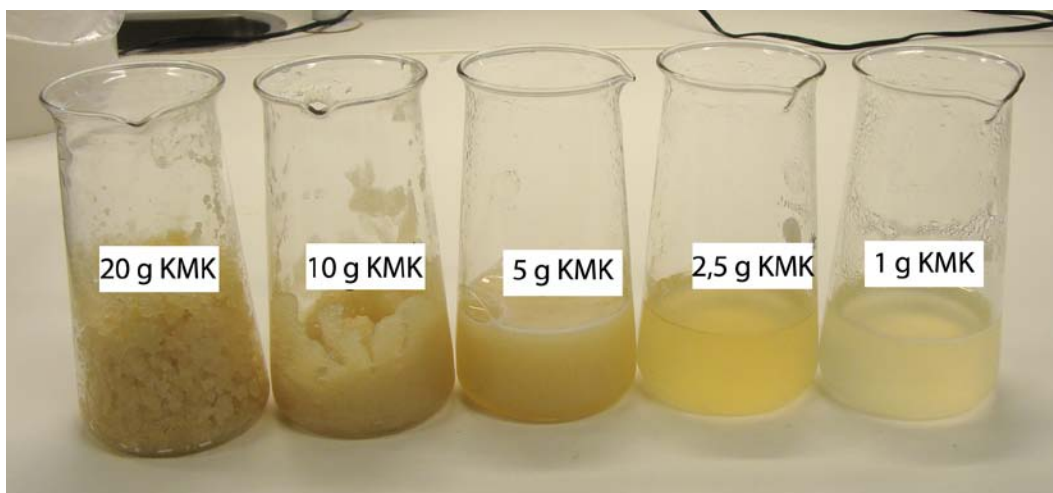
Valmistettujen 0 % ; 0,2 % ja 1 % kaurakuitua sisältävien emulsioiden vertailussa 1 % kaurakuitua sisältävien emulsioiden havaittiin kuitenkin olevan geelimäisiä ja siten liian viskooseja sumutuskuivattaviksi. 0,2 % kuitua sisältävän emulsion ei havaittu silmämääräisesti arvioituna olevan liian viskoosi sumutuskuivattavaksi.

Viskositeetiltaan matalin 0 % kuitua sisältävä emulsio arvioitiin ominaisuuksiltaan sumutuskuivaukseen parhaiten soveltuvaksi emulsioksi.

Kaurakuidun lisäämisestä emulsioihin päätettiin esikokeiden tulosten perusteella jatkossa luopua, sillä kaurakuidun lisäys nostaisi sumutuskuivattavien emulsioiden viskositeetin liian korkeaksi. Emulsiot päätettiin jatkossa valmistaa ilman jäähaudetta, sillä matalan lämpötilan todettiin nostavan emulsion viskositeettia.

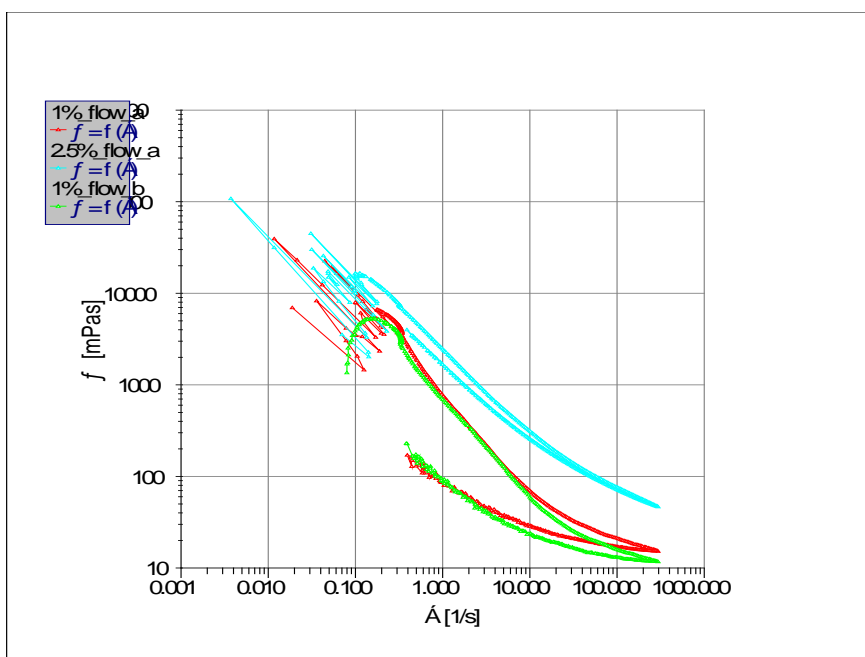
### 7.1.3 KMK:n pitoisuuden haarukointi

Emulsioliuosten valmistusvaiheessa KMK:n havaittiin nostavan emulsioiden viskositeettia voimakkaasti. KMK:ta 10 g ja 20 g sisältävät vesiliuokset geeliiytyivät (kuva 8), joten niiden kyseiset pitoisuudet todettiin liian korkeiksi sumutuskuivausta varten eikä näistä ”liuoksista” valmistettu emulsioita.



Kuva 8. KMK-pitoisuudeltaan erilaiset (20 %; 10 %; 5 %; 2,5 %; 1 %) vesiliuokset.

KMK:ta 5 % sisältävä emulsio oli geelityvä toisin kuin KMK:ta 2,5 % sisältävä emulsio, joten KMK:n maksimipitoisuuden emulsiossa arvioitiin tulosten perusteella olevan noin 3 prosenttia. Emulsioiden geelityminen johtuu luultavasti ionisidoksista, joiden katkeaminen selittäisi viskositeetin palautumattomuuden.



Kuva 9. 1 % ja 2,5 % KMK:ta sisältävien emulsioiden viskositeettikäyrät.

Viskositeettimittauksissa havaittiin, että 1,0 % ja 2,5 % KMK:ta sisältävien emulsioiden viskositeetti ei palaudu (kuva 9). Geelitymättömien emulsioiden viskositeettimittausten tulokset on esitetty taulukossa 4.

Taulukko 4. Geelitymättömien emulsioiden viskositeettimittausten tulokset

Deamidoidun kauramateriaalin pitoisuus (%)	K-arvo
1,0	0,03451
2,5	0,7078

## 7.2 Emulsiomääritykset

Koe-emulsioiden pisarakokomääritys-, viskositeetti- ja stabiilisuustulokset on esitetty taulukossa 5. Stabiilisuusestymäärityksen perusteella hyväksyttävänä pidettiin emulsioita,

joiden kermoittumisindeksi oli nolla. Emulsioihin ei lisätty säilöntäainetta, mutta lyhyehkön säilytysajan (26 tuntia) vuoksi mikrobikasvun vaikutusta tuloksiin ei pidetty merkittävänä. Epävarmuustekijänä pisarakomittauksissa on mitattujen emulsioiden korkea pisarakonsentraatio, jolloin laite saattoi mitata useamman pienen pisaran yhtenä suurempana pisarana. Yhtenä epävarmuustekijänä pisarakomittauksissa olivat myös emulsioiden laimennokset. Emulsiota laimennettaessa osa emulgaattoreista saattoi vapautua pisaroiden pinnoilta (McClements 2005: 303), ja emulsion ominaisuudet mahdollisesti muuttuvat vesipitoisuuden noustessa rajusti. Pisarakokotuloksia on syytä käyttää ennen kaikkea emulsioiden keskinäiseen vertailuun.

*Taulukko 5. Satunnaistamaton 1. koesuunnitelma ja tulokset. Hajonnat saman emulsion rinnakkaisista mittauksista. Pisarakomäärityksissä hajonta rinnakkaisille laimennoksille samasta näytteestä.*

<b>emulsio</b>	aika (min)	paine (bar)	KMK (%)	D43 (µm)	K-arvo [Pa s <sup>n</sup> ]	Kermoittumis- indeksi 26h (%)
<b>1</b>	3	400	0,7	27,5 ± 0,0	0,010 ± 0,000	76,67 ± 0,00
<b>2</b>	3	400	2,4	122,0 ± 0,9	1,040 ± 0,042	0,00 ± 0,00
<b>3</b>	3	800	0,7	23,7 ± 0,9	0,008 ± 0,000	87,22 ± 0,96
<b>4</b>	3	800	2,4	98,1 ± 2,6	1,546 ± 0,013	0,00 ± 0,00
<b>5</b>	10	400	0,7	24,3 ± 0,7	0,008 ± 0,001	83,33 ± 0,00
<b>6</b>	10	400	2,4	77,3 ± 5,4	0,754 ± 0,027	0,00 ± 0,00
<b>7</b>	10	800	0,7	18,9 ± 0,3	0,008 ± 0,000	90,89 ± 1,54
<b>8</b>	10	800	2,4	89,9 ± 2,3	1,278 ± 0,010	0,00 ± 0,00
<b>9</b>	6,5	600	1,55	30,1 ± 2,5	0,080 ± 0,002	0,00 ± 0,00
<b>10</b>	6,5	600	1,55	47,0 ± 0,5	0,111 ± 0,001	0,00 ± 0,00
<b>11</b>	6,5	600	1,55	16,8 ± 0,2	0,043 ± 0,001	0,00 ± 0,00
<b>12</b>	12,45	600	1,55	17,4 ± 0,9	0,090 ± 0,001	0,00 ± 0,00
<b>13</b>	0,55	600	1,55	21,7 ± 0,3	0,106 ± 0,002	0,00 ± 0,00
<b>14</b>	6,5	940	1,55	38,9 ± 14,4	0,029 ± 0,001	0,00 ± 0,00
<b>15</b>	6,5	260	1,55	29,0 ± 5,9	0,294 ± 0,000	0,00 ± 0,00
<b>16</b>	6,5	600	2,995	105,1 ± 3,4	1,914 ± 0,001	0,00 ± 0,00
<b>17</b>	6,5	600	0,105	20,6 ± 0,8	0,005 ± 0,000	97,78 ± 0,96

### 7.3 Mallintaminen

Yllättäen jokaisen tulosten perusteella estimoidun mallin mukaan ainoastaan KMK:n pitoisuus vaikutti tilastollisesti merkitsevästi ( $p < 0,05$ ) vasteen vaihteluun (liitteet 7, 8 ja 9). Tosin viskositeettituloksiin perustuvan mallin mukaan KMK-pitoisuuden ja homogointipaineen yhteisvaikutus oli melkein tilastollisesti merkitsevä. On mahdollista, että vasteeseen vaikuttavat tekijät ovat niin monimutkaisia, että mallit eivät täysin kykene tätä vaihtelua selittämään, ja voi siis olla, että muilla muuttujilla (homogointipaine ja -aika) on suurempi merkitys vasteen vaihteluun kuin malleista käy ilmi.

#### D<sub>43</sub>-malli:

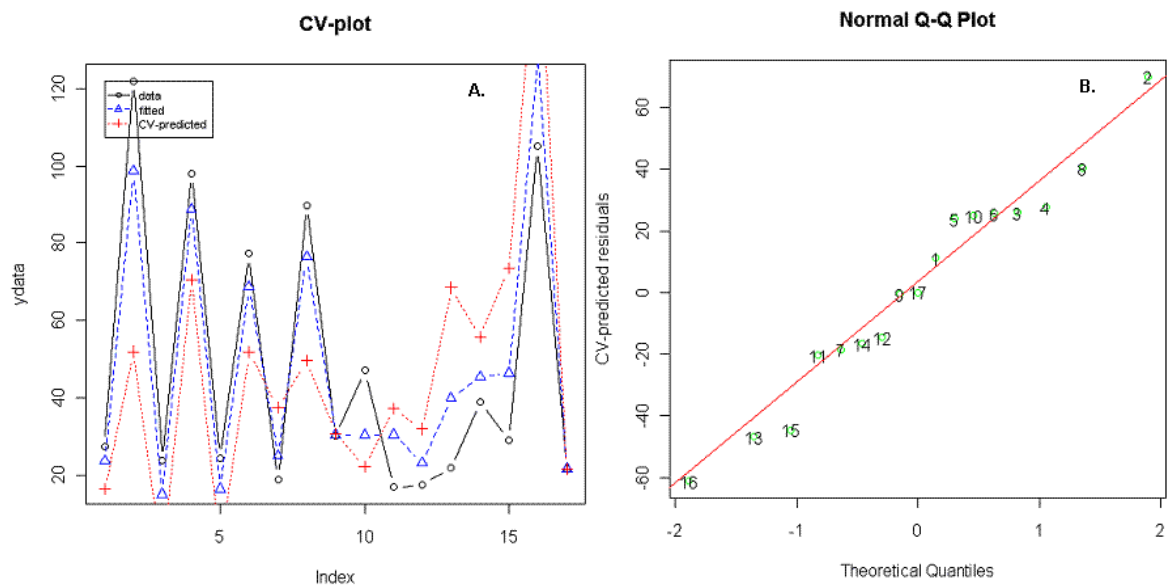
$Q^2$  eli ennustusselitysaste kertoo, kuinka suuren prosenttiosuuden vasteen vaihtelusta malli kykenee selittämään. Hyvän matemaattisen mallin ennustusselitysasteen ja selityasteen ero ei ole kovin suuri. (Taavitsainen 2008.)

*Taulukko 6. Mallien selitysasteet ja ennustusselitysasteet.*

Malli	R <sup>2</sup>	Q <sup>2</sup>
Pisarakoko (D <sub>43</sub> )	0,8621	0,0604
Viskositeetti (K-arvo)	0,9609	0,7045
Stabiilisuus (kermoittumisindeksi)	0,8987	0,2306

D<sub>43</sub>-mallissa  $Q^2$  on pieni ja R<sup>2</sup>:n ja Q<sup>2</sup>:n ero on suuri, joten malliin on syytä suhtautua varauksella (taulukko 6). Pisarakokomäärityksen mahdollinen mittausvirhe suuresta pisarakonsentraatiosta johtuen voi selittää heikkoa ennustusselitysastetta. On myös mahdollista että PAMAS-laitteisto mittaa öljypisaroiden lisäksi myös emulsion sisältämiä muita komponentteja pisaroina. CV-plot-kuvasta nähdään, että mallilla ennustettujen pisteiden ja kokeellisesti määritettyjen tulospisteiden välillä on huomattavia eroavaisuuksia (kuva 10 A).

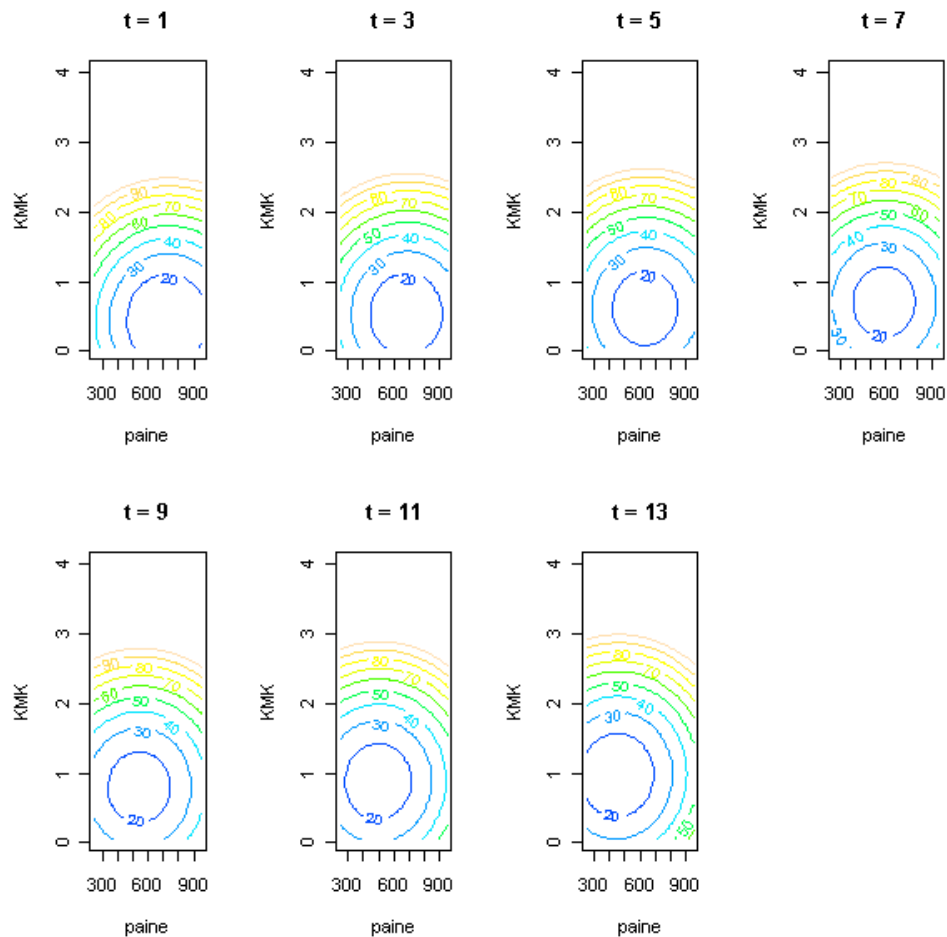
Q-Q Plot –kuva tarkasteltaessa selvä poikkeama trendiviivalta osoittaa pisteen poikkeavan normaalijakaumasta. Myös sellaiset ääripisteet, joissa etäisyys lähimpään pisteeseen on poikkeavan suuri, voivat olla mahdollisia poikkeavia havaintoja. Koepisteet 2 ja 16 ovat siis mahdollisia poikkeavia havaintoja (kuva 10 B). CV-plot-kuva varmistaa, että koepisteet 2 ja 16 ovat poikkeavia havaintoja ja näistä kahdesta koepiste 2 poikkeaa enemmän normaalijakaumasta (kuva 10 A). Poikkeavien havaintojen syynä voi olla joko pisarakokomittaustulosten epävarmuustekijät tai se, että tuloksiin vaikuttavat tekijät ovat niin monimutkaisia, ettei malli kykene niitä selittämään. Pisteissä käytetyt KMK-pitoisuudet ovat suuret, ja pisteessä 2 käsittely on keskivertoa hellävaraisempi, mikä voi vaikuttaa poikkeuksellisen suurten pisarakokotulosten syntymiseen. Toistokokeiden keskihajonnaksi laskettiin 15,15 (liite 6).



Kuva 10. Pisarakokomallin A.) CV-plot-kuva ja B.) Q-Q plot -kuva.

Vastepintakuvista nähdään, millä muuttujien arvoilla keskimääräinen pisarakoko on pienin. Koska KMK:n pitoisuus oli mallin ainoa tilastollisesti merkitsevä muuttuja, vastepintakuvista voidaan ennustaa ainoastaan KMK:n pitoisuuden optimikohtaa, joka on vastepintakuvien perusteella välillä 0–1,5 % (kuva 11). Vastepintakuvan

ennusteeseen on kuitenkin syytä suhtautua varauksella mittauksiin liittyvien epävarmuustekijöiden vuoksi.



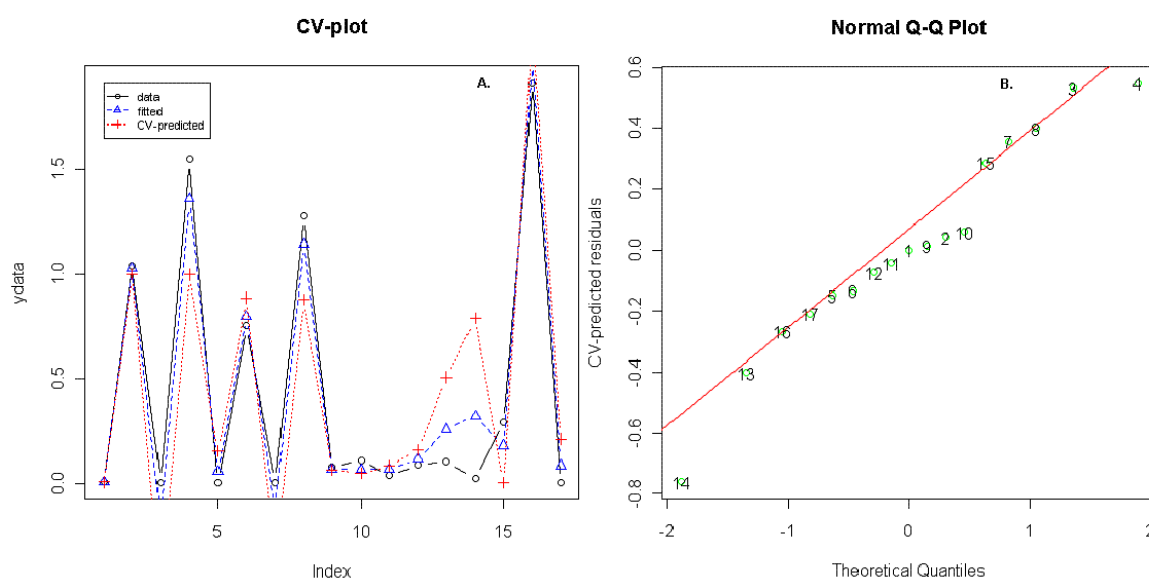
Kuva 11. Pisarakokomallin perusteella piirretyt vastepintakuvat.

Kanoninen analyysi kertoo, onko derivaattojen nollakohta minimi-, maksimi- vai satulapiste. Kanonisesta analyysistä saadaan toisen asteen pinnan ominaisarvot (vektorissa  $\$B$ ). Jos kaikki arvot ovat positiivisia, kyseessä on minimipiste. Mikäli kaikki arvot ovat negatiivisia, kyseessä on maksimipiste, ja mikäli arvot ovat erimerkkisiä, kyseessä on satulapiste. (Taavitsainen 2008.) Kanonisen analyysin mukaan  $D_{43}$ -mallin mukaan kyseessä on satulapinta (liite 7). Vastepinnan ollessa satulapinta voidaan mallin mukaan saavuttaa kuinka pieniä (tai suuria) arvoja hyvänsä, mikä ei voi tässä tapauksessa pitää paikkaansa. Lisätietoa kanonisesta analyysistä löytyy muun muassa lähteestä Box & Draper (2007).



### Viskositeettimalli:

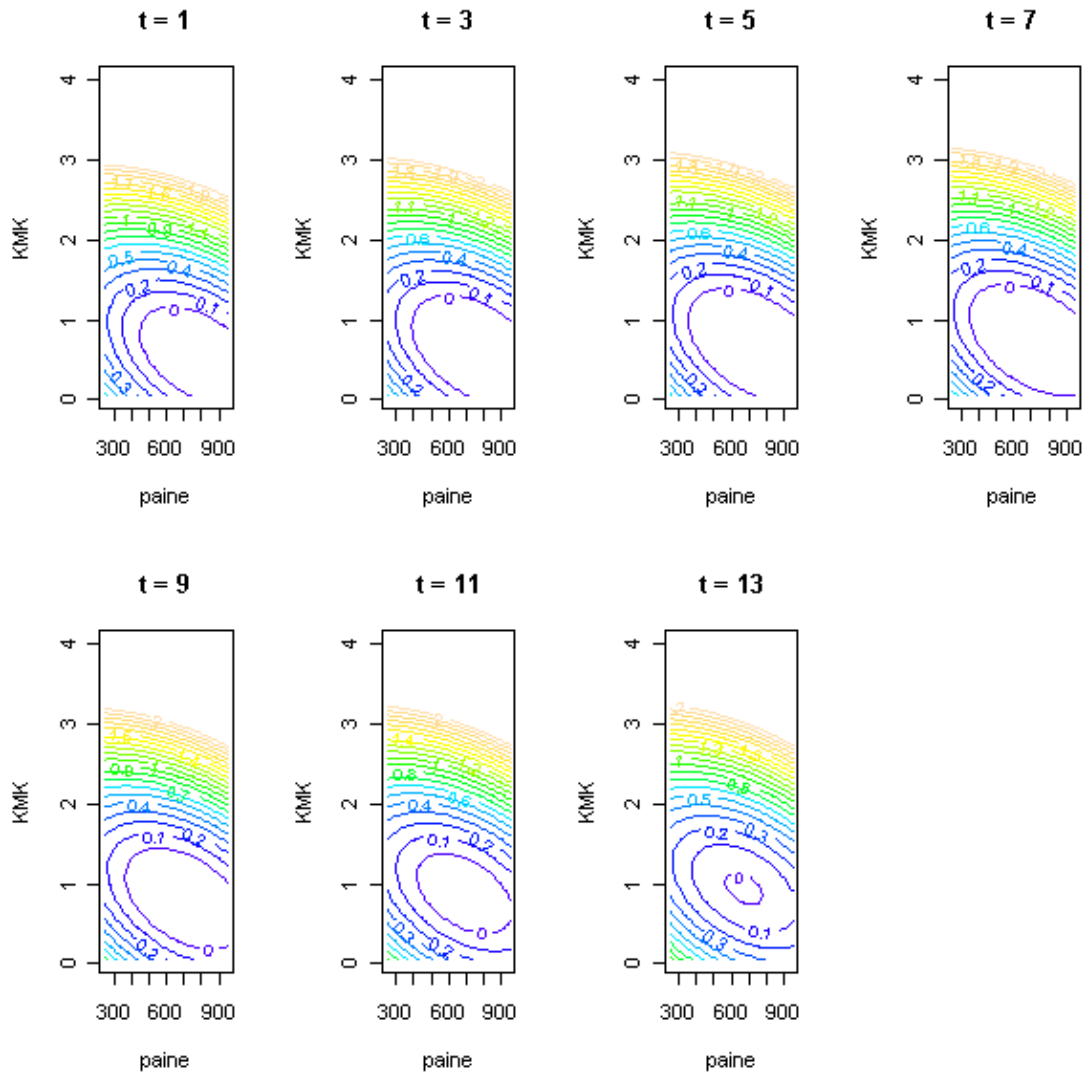
Viskositeettimallin  $R^2$ :n ja  $Q^2$ :n ero on melko suuri (taulukko 6). CV-plot-kuvan perusteella mallin ennusteet vaikuttavat suhteellisen hyviltä suurimmassa osassa pisteitä (kuva 12 A). Q-Q Plot -kuvan perusteella koepiste 14 on mahdollinen poikkeava havainto (kuva 12 B), ja CV-plot-kuva varmistaa tämän. Kokeessa käytetty todella korkea homogointipaine (940 bar) voisi selittää viskositeetin rajua laskua. On mahdollista, että homogointipaineen vaikutus viskositeettiin on monimutkaisempaa kuin malli kykenee kuvaamaan. Esimerkiksi paine voi vaikuttaa viskositeettiin aiempaa enemmän tietyn paineen ylityttyä. Selvitys siitä, onko kyseessä mittausvirhe vai mallin puute, vaatisi toistokokeita. Viskositeettitulosten keskihajonnaksi saatiin toistokokeiden perusteella 0,03 (liite 6).



Kuva 12. Viskositeettimallin A.) CV-plot-kuva ja B.) Q-Q-plot-kuva.

Koska KMK:n pitoisuus oli ainoa tilastollisesti merkitsevä muuttuja, vastepintakuvista voidaan ennustaa ainoastaan KMK:n pitoisuuden optimikohtaa, joka vastepintakuvien perusteella on välillä 0–1,5 % (kuva 13). Kanonisen analyysin mukaan derivaattojen nollakohta on minimipiste (liite 8) eikä vain paikallinen minimikohta. Kokeilla pyrittiin löytämään mahdollisimman matalan viskositeetin stabiili emulsio, joten jatkokokeita oli

järkevää tehdä mallin ennustaman viskositeetin minimipisteen kohdalla ja läheisyydessä.



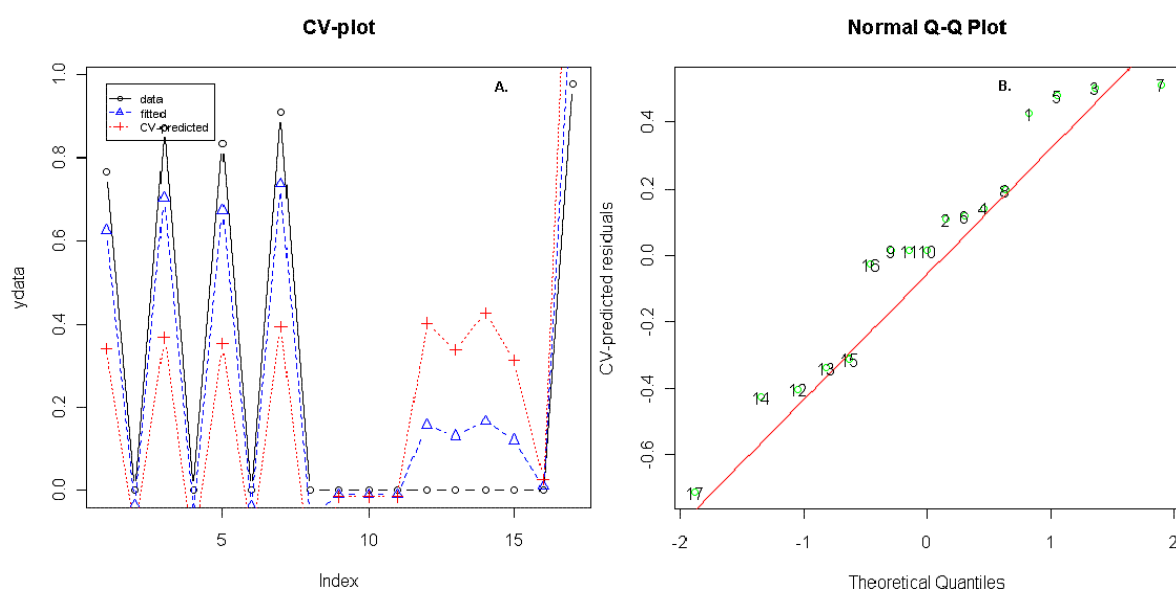
Kuva 13. Viskositeettimallin perusteella piirretyt vastepintakuvat.

### Stabiilisuusmalli:

$R^2$ :n ja  $Q^2$ :n välinen ero on suuri (taulukko 6). CV-plot-kuvan ennustettujen pisteiden ja sovitettujen pisteiden välillä on eroavaisuuksia (kuva 14 A). Q-Q Plot -kuvan perusteella piste 17 on mahdollinen poikkeava havainto (kuva 14 B), ja CV-plot-kuvasta nähdään, että kyseinen piste poikkeaa normaalijakaumasta. Koepisteessä 17

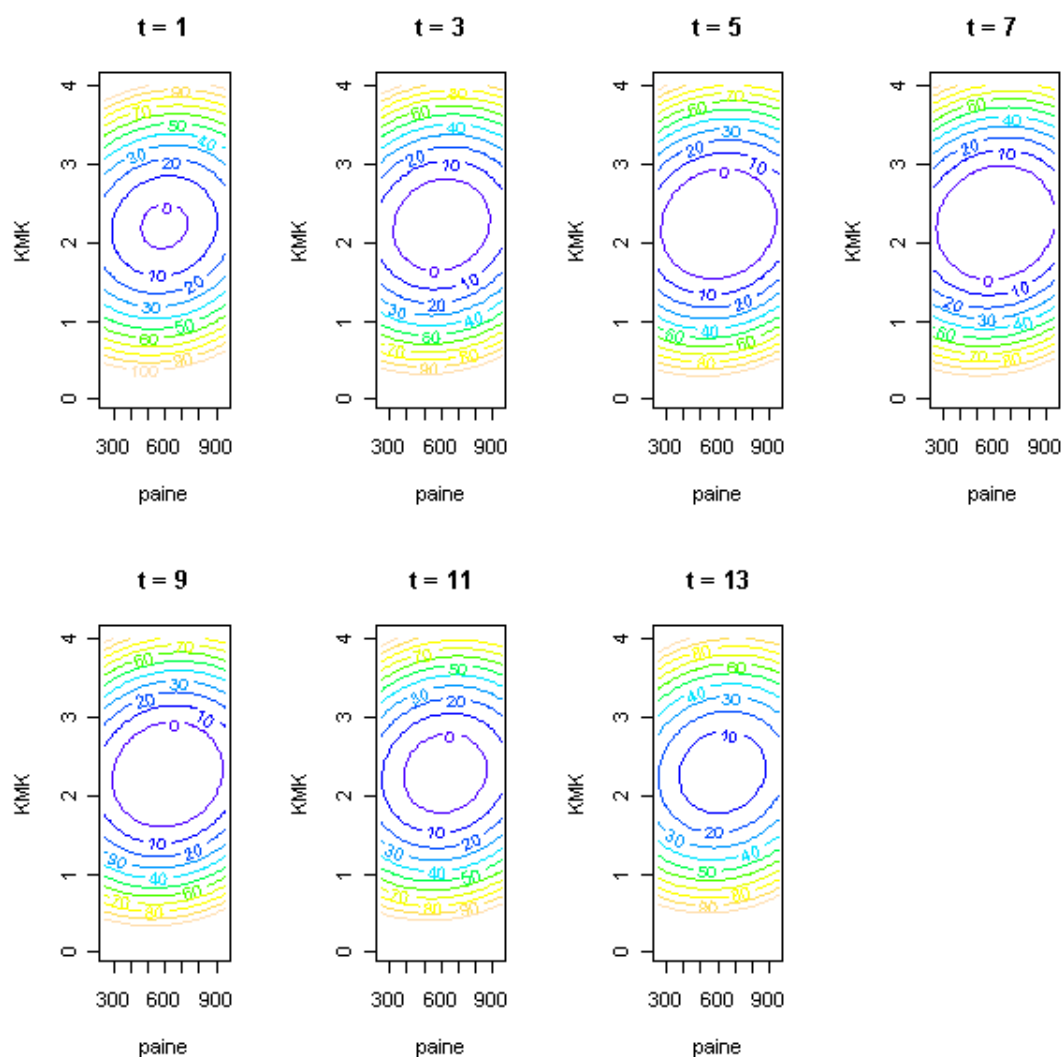
käytetty todella pieni emulgaattorimäärä selittää korkean kermoittumisindeksituloksen, ja mallin ennusteen mukaan kyseisen arvon tulisi olla vielä suurempi.

Kermoittumisindeksi ei kuitenkaan voi olla yli 100 %. Tuloksia, jotka pysyvät vakiona tietyllä alueella (kermoittumisindeksi 0) ja lähtevät kasvamaan tietystä pisteestä lähtien, on vaikeaa kuvata lineaarisella tai differentiaalisella mallilla, mikä voi olla syynä pisteiden 12–15 poikkeavaan käytökseen. Pisteet 12–15 eivät kuitenkaan poikkea normaalijakaumasta. Toistokokeiden perusteella keskihajonnaksi saatiin 0 (liite 6).



Kuva 14. Stabiilisuusmallin A.) CV-plot-kuva ja B.) Q-Q-plot-kuva.

Koska KMK:n pitoisuus oli ainoa tilastollisesti merkitsevä muuttuja, vastepintakuvista voidaan ennustaa ainoastaan KMK:n pitoisuuden optimikohtaa, joka vastepintakuvien perusteella on välillä 1,5–3 % (kuva 15). Kanonisen analyysin perusteella vastepintakuvan minimikohta on minimipiste eikä vain paikallinen minimikohta (liite 9). Kokeilla pyrittiin löytämään mahdollisimman pienen kermoittumisindeksi-arvon emulsio, joten jatkokokeita oli järkevää tehdä mallin ennustaman minimipisteen kohdalla ja läheisyydessä.

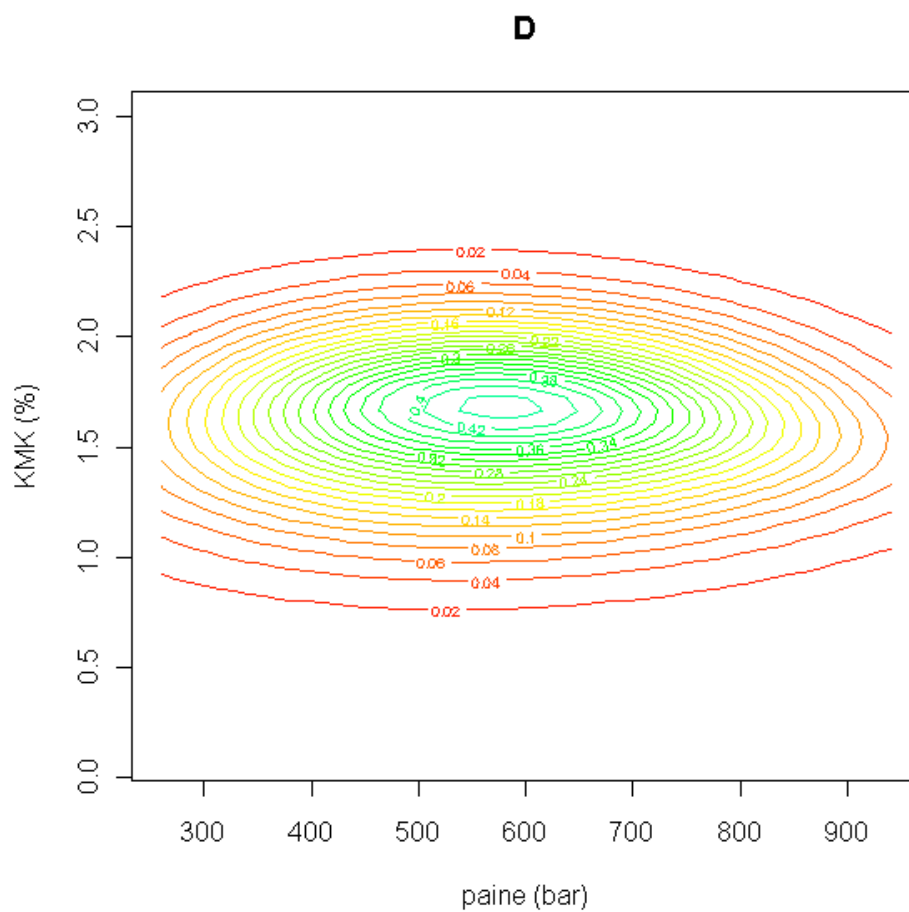


Kuva 15. Stabiilisuusmallin perusteella piirretyt vastepintakuvat.

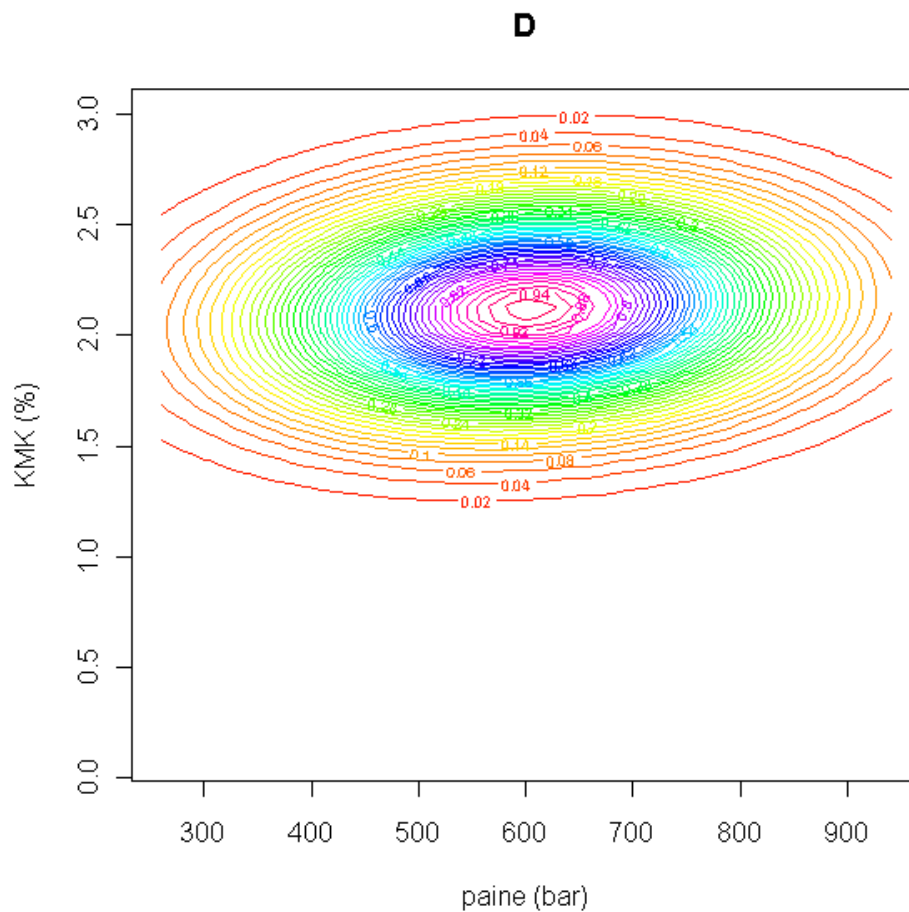
#### 7.4 Yhdistetyn haluttavuuden vastepintakuvat

Optimin etsintää jatkettiin mallien avulla piirretyin yhdistetyn haluttavuuden vastepintakuvan avulla (kuva 16 ja 17). Koska keskimääräisten pisarakokotulosten malli oli huonompi kuin kaksi muuta mallia ja oli syytä epäillä suuren pisarakonsentraation vaikuttavan pisarakomittaustuloksiin, kyseistä mallia päätettiin painottaa vähemmän yhdistetyn haluttavuuden vastepintakuvan piirtämisessä kuin kahta muuta mallia (kuva 17). Yhdistetyn haluttavuuden vastepintakuva, jossa vain stabiilisuusmalli ja

viskositeettimalli on otettu huomioon, ja vastepintakuvat yksittäisten muuttujien suhteen on esitetty liitteessä 12.



Kuva 16. Yhdistetty haluttavuusvastepinta (ei painotuksia). Ainoastaan KMK:n pitoisuuden optimia voidaan arvioida kuvan perusteella.



*Kuva 17. Yhdistetty haluttavuusvastepintakuva. Stabiilisuutta (40 %) ja viskositeettia (40 %) on painotettu suhteessa pisarakokoon (20 %). Ainoastaan KMK:n pitoisuuden optimia voidaan arvioida kuvan perusteella.*

### 7.5 Optimin etsintä haarukointikokein

Viskositeetti- ja stabiilisuustuloksia painottavan yhdistetyn haluttavuuden vastepintakuvan (kuva 17) perusteella päädyttiin valitsemaan jatkokokeiden KMK:n pitoisuudeksi 2 %. Homogenointiajaksi valittiin 10 minuuttia. Homogenointipaineeksi valittiin käytännön kokeissa hyväksi todettu 600 baaria. Keskihajonnan selvittämiseksi tehtiin yksi toistokoe ja kokeet pienemmällä KMK:n pitoisuudella (1,7 %) sekä suuremmalla KMK:n pitoisuudella (2,3 %), jotta voitiin arvioida, onko 2 % KMK:n optimaalinen pitoisuus emulsiossa. Tulokset on esitetty taulukossa 7.

*Taulukko 7. Ensimmäisen haarukointikoesuunnitelman emulsiomääritysten tulokset. Hajonnat saman emulsion rinnakkaisista mittauksista. Pisarakokomäärityksissä hajonta rinnakkaisille laimennoksille samasta näytteestä.*

emulsio	KMK (m-%)	paine (bar)	aika (min)	K-arvo [Pa s <sup>n</sup> ]	D <sub>43</sub> (µm)	kermoittumisindeksi 26 h (%)
1	2	600	10	0,693 ± 0,021	29,6 ± 1,3	0,00 ± 0,00
2	1,7	600	10	0,210 ± 0,005	19,5 ± 4,2	0,00 ± 0,00
3	2,3	600	10	0,858 ± 0,008	50,0 ± 0,5	2,78 ± 0,96
4	2	600	10	0,683 ± 0,002	40,3 ± 3,0	0,00 ± 0,00

Emulsioista ensimmäinen, toinen ja neljäs olivat välittömästi homogenoinnin jälkeen juoksevia, mutta kolmas emulsio oli paksua ja vain juuri ja juuri juoksevaa.

Stabiilisuusmittauksissa 26 tunnin seurannan jälkeen ensimmäinen ja toinen emulsio olivat silmämääräisesti arvioituna tasaisia (ei erottumista eikä ilmakuplia emulsiossa).

Kolmas emulsio oli todella kuplainen ja neljännessä emulsiossa oli havaittavissa muutamia kuplia.

1,7 %:n KMK:n pitoisuudella saadut tulokset olivat paremmat kuin 2 %:n pitoisuudella saadut tulokset. K-arvo ja D<sub>43</sub>-arvo olivat pienemmät kyseisellä emulsiolla ja emulsio pysyi stabiilina. K-arvon keskihajonnaksi laskettiin 0,007 (liite 13). D<sub>43</sub>:n keskihajonnaksi saatiin 7,6. Kermoittumisindeksin keskihajonta oli 0. Jatkokokeiden pisarakokotuloksia on syytä verrata vain keskenään, mutta ei CC-koesuunnitelman tuloksiin, sillä koeolosuhteet olivat koesarjoissa toisistaan poikkeavat.

Kolmas emulsio erottui, joten KMK:n pitoisuus 2,3 % todettiin liian korkeaksi stabiilin emulsion aikaansaamiseksi. Lisäksi emulsion 3 korkea viskositeetti ja suuri keskimääräinen pisarakoko olisivat jo riittäneet emulsion hylkäysperusteeksi.

Painottamattoman yhdistetyn haluttavuusvastepintakuvan ennustama haluttavuuden arvo kyseiselle KMK:n pitoisuudelle on varsin pieni (kuva 16), mikä vastaa hyvin kokeellisesti saatua tulosta. Todennäköisenä syynä emulsion 3 erottumiseen on emulsion suuri keskimääräinen pisarakoko. Eräs selitys emulsion erottumiselle voisi mahdollisesti olla pinta-aktiivisen aineen eli KMK:n kriittisen pitoisuuden ylittyminen. Pinta-aktiivisten aineiden konsentraation ylittäessä kriittisen rajan (CMC, critical

micelle concentration) pinta-aktiiviset aineet alkavat aggregoitua keskenään ja muodostavat misellejä. Pinta-aktiivisten aineiden konsentraation ollessa kriittisen rajan alapuolella pintajännitys laskee pinta-aktiivisten aineiden konsentraation kasvaessa, mutta CMC:n ylityttyä pintajännitys ja osmoottinen paine pysyvät suhteellisen vakioina. (Lindman 2002.) Misellien ominaisuudet poikkeavat yksittäisten pinta-ainemonomeerien ominaisuuksista. Misellien pinta-aktiivisuus on pieni, toisin kuin monomeereillä, koska niiden pintaa peittää hydrofiilinen kerros. (McClemens 2005: 31.) Pinta-aktiivisten aineiden muodostamat misellit voivat aiheuttaa emulsion jatkuvan faasin öljypisaroiden välille puoleensavetävän voiman (depletion flocculation). Pisaroiden flokkulaationopeus kasvaa misellien konsentraation noustessa, sillä pisaroiden vetovoima toisiaan kohtaan kasvaa. Konsentraation ylittäessä tietyn rajan flokkulaation nopeus yleensä laskee, koska jatkuvan faasin viskositeetti nousee niin korkeaksi, että pisaroiden liike jatkuvassa faasissa estyy. (McClements 2005: 303–304.) Viskositeetin nousu KMK-pitoisuuden nousun myötä voisi selittää, miksi 2,3 %:n KMK-pitoisuutta korkeammilla KMK:n konsentraatioilla on saatu aikaan stabiileja emulsioita (taulukko 5). Pinta-aktiivisten aineiden muodostamat misellit voivat myös siirtää öljymolekyylejä pisarasta toiseen ja nopeuttaa Ostwaldin ”kypsymistä” (Ostwald ripening) (McClements & Dungan 1993), mikä voi heikentää emulsion stabiilisuutta.

Optimin etsintää jatkettiin tekemällä jatkokokeita vielä pienemmillä KMK:n pitoisuuksilla. Tulokset on esitetty taulukossa 8.

*Taulukko 8. Toisen haarukointikoesuunnitelman emulsiomäärittysten tulokset. Hajonnat saman emulsion rinnakkaisista mittauksista. Pesarakokomäärittelyksissä hajonta rinnakkaisille laimennoksille samasta näytteestä.*

emulsio	KMK (m-%)	paine (bar)	aika (min)	K-arvo [Pa s <sup>n</sup> ]	D <sub>43</sub> (µm)	kermoittumis- indeksi 26 h (%)
5	1,4	600	10	0,081 ± 0,002	14,8 ± 0,6	0,00 ± 0,00
6	1,55	600	10	0,029 ± 0,000	9,5 ± 0,3	0,00 ± 0,00

Viides ja kuudes emulsio olivat juoksevia välittömästi homogenoinnin jälkeen. Stabiilisuusmäärittelyksessä emulsiot olivat 26 tunnin seurannan jälkeen tasaisia. Emulsio 6 todettiin tulosten perusteella parhaaksi emulsioksi, sillä emulsio pysyi stabiilina ja sen



K-arvo ja keskimääräinen pisarakoko olivat tähän mennessä pienimmät. Seuraavaksi varmistettiin kokeellisesti, että erot optimaalisimman emulsion ja 1,4 % KMK:ta sisältävän emulsion koetuloksissa ovat riittävän suuret eivätkä johdu koevirheestä tekemällä yksi koe vielä pienemmällä KMK:n pitoisuudella 1,25 %. Parhaalle emulsiolle tehtiin myös toistokoe keskihajonnan selvittämiseksi ja tuloksen varmistamiseksi. Paineen ja ajan vaihtelujen vaikutusta koetuloksiin tutkittiin vaihtelemalla yhtä muuttujaa kerrallaan. Tulokset on esitetty taulukossa 9.

*Taulukko 9. Kolmannen haarukointikoesuunnitelman emulsiomäärittysten tulokset. Hajonnat saman emulsion rinnakkaisista mittauksista. Pisarakomäärittelyssä hajonta rinnakkaisille laimennoksille samasta näytteestä.*

emulsio	KMK (m-%)	paine (bar)	aika (min)	K-arvo [Pa s <sup>n</sup> ]	D <sub>43</sub> (µm)	kermoittumis- indeksi 26 h (%)
7	1,55	600	5	0,076 ± 0,001	13,1 ± 1,2	0,00 ± 0,00
8	1,25	600	10	0,014 ± 0,000	12,4 ± 0,0	46,67 ± 6,67
9	1,55	600	10	0,053 ± 0,002	11,5 ± 0,0	0,00 ± 0,00
10	1,55	300	10	0,300 ± 0,002	19,9 ± 1,2	0,00 ± 0,00

Emulsioista 7–10 kaikki neljä olivat juoksevia välittömästi homogoinnin jälkeen. Stabiilisuuserityksessä 26 tunnin seurannan jälkeen emulsio 7 oli tasainen, emulsio 8 oli täysin erottunut, emulsiossa 9 oli havaittavissa muutamia kuplia ja emulsio 10 oli tasainen. Emulsio, joka sisälsi 1,55 % KMK:ta ja oli homogoinnattu 600 baarin paineella 10 minuutin ajan, todettiin edelleen ominaisuuksiltaan parhaaksi emulsioksi. Todettiin myös, että KMK:n pitoisuutta ei voi kovin paljon laskea 1,55 %:sta, sillä 1,25 % KMK:ta sisältänyt emulsio ei pysynyt stabiilina. Syynä faasiin erottumiseen on luultavasti emulgaattorin liian pieni pitoisuus, jolloin emulgaattoria ei ole ollut riittävästi peittämään öljypisaroiden pintoja kokonaan, jolloin pisaroita ympäröivään faasienväliseen membraaniin jää aukkoja. Kahden tällaisen pisanan tullessa lähelle toisiaan voi tapahtua pisaroiden yhdistymistä varsinkin homogointikäsiteltyssä. (McClements 2005: 314.) Emulsioiden 6 ja 9 K-arvojen keskihajonaksi saatiin 0,016 (liite 15). D<sub>43</sub>-arvojen keskihajonaksi laskettiin 1,4. Kermoittumisindeksien keskihajonta oli 0.

Painottamattoman yhdistetyn haluttavuusvastepintakuvan ennustama haluttavuus KMK:n pitoisuudelle 1,25 % oli todella pieni (kuva 16), joten kokeiden perusteella kyseinen vastepintakuva onnistui ennustamaan varsin hyvin optimialueen. Todettiin, että 300 baarin homogointipaineella emulsion viskositeettia kuvaava K-arvo nousi huomattavasti ja keskimääräinen pisarakoko kasvoi, joten homogointipainetta ei ole järkevää laskea 300 baariin.

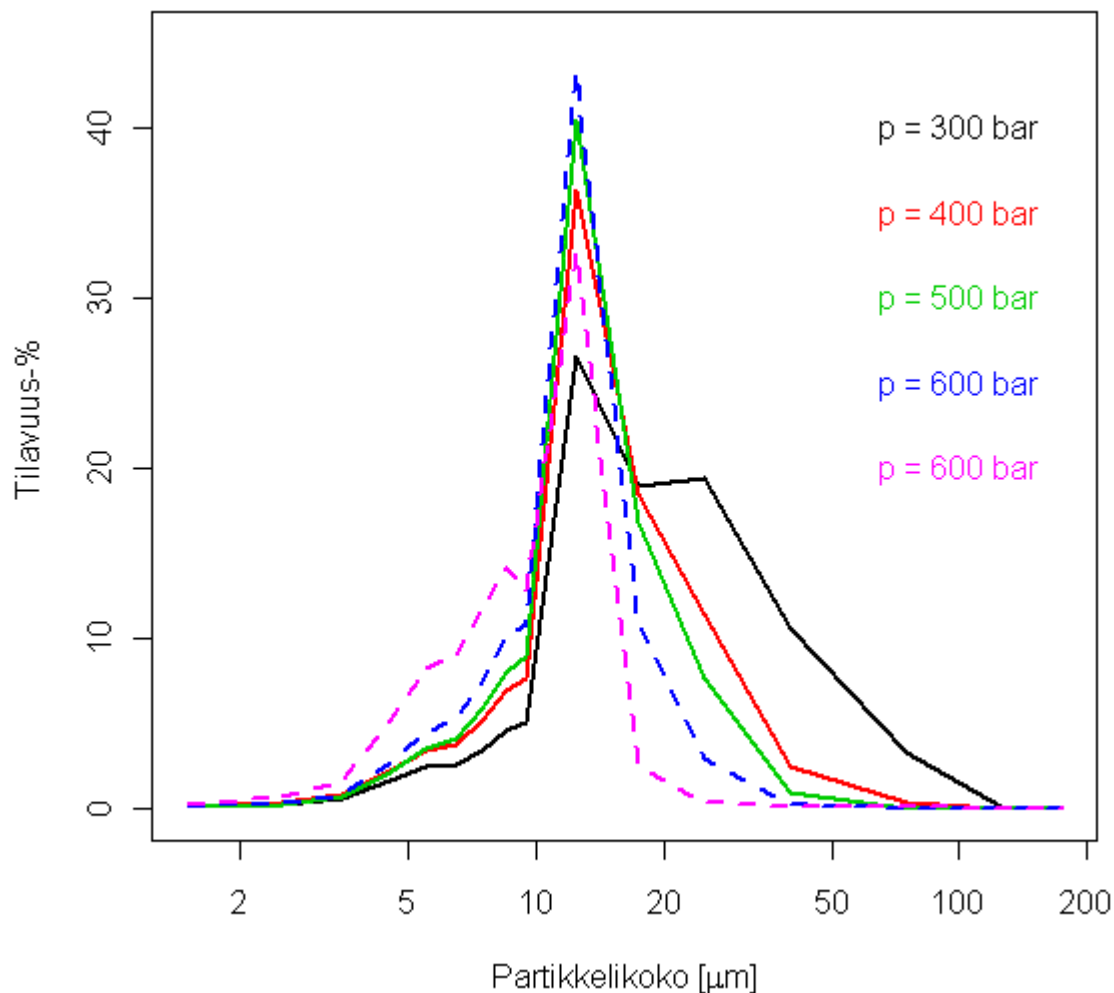
Optimaalisimmaksi todetulla KMK:n pitoisuudella (1,55 %) ja 10 minuutin homogointiajalla tehtiin kaksi koe-emulsiota 300 ja 600 baarin välisillä homogointipaineilla. Matalampi homogointipaine laskisi kustannuksia ja laiterajoituksia, mutta painetta ei voitu laskea liiaksi, jottei emulsioiden laatu kärsisi. Tulokset on esitetty taulukossa 10.

*Taulukko 10. Neljännen haarukointikoesuunnitelman emulsiomääritysten tulokset. Hajonnat saman emulsion rinnakkaisista mittauksista. Pisarakokomäärittelyssä hajonta rinnakkaisille laimennoksille samasta näytteestä.*

emulsio	KMK (m-%)	paine (bar)	aika (min)	K-arvo [Pa s <sup>n</sup> ]	D <sub>43</sub> (µm)	kermoittumis- indeksi 26 h (%)
11	1,55	500	10	0,110 ± 0,005	13,0 ± 0,5	0,00 ± 0,00
12	1,55	400	10	0,288 ± 0,009	14,2 ± 0,3	0,00 ± 0,00

Emulsiot 11 ja 12 olivat välittömästi homogoinnin jälkeen juoksevia. Todettiin, että homogointipaineen laskeminen heikensi emulsioiden laatua (taulukko 10). Paineen laskiessa emulsioiden K-arvot nousivat ja keskimääräinen pisarakoko kasvoi hieman. Kaikki jatkokokeet koottuna on esitetty liitteessä 17.

## 7.6 Tulosten tarkastelu

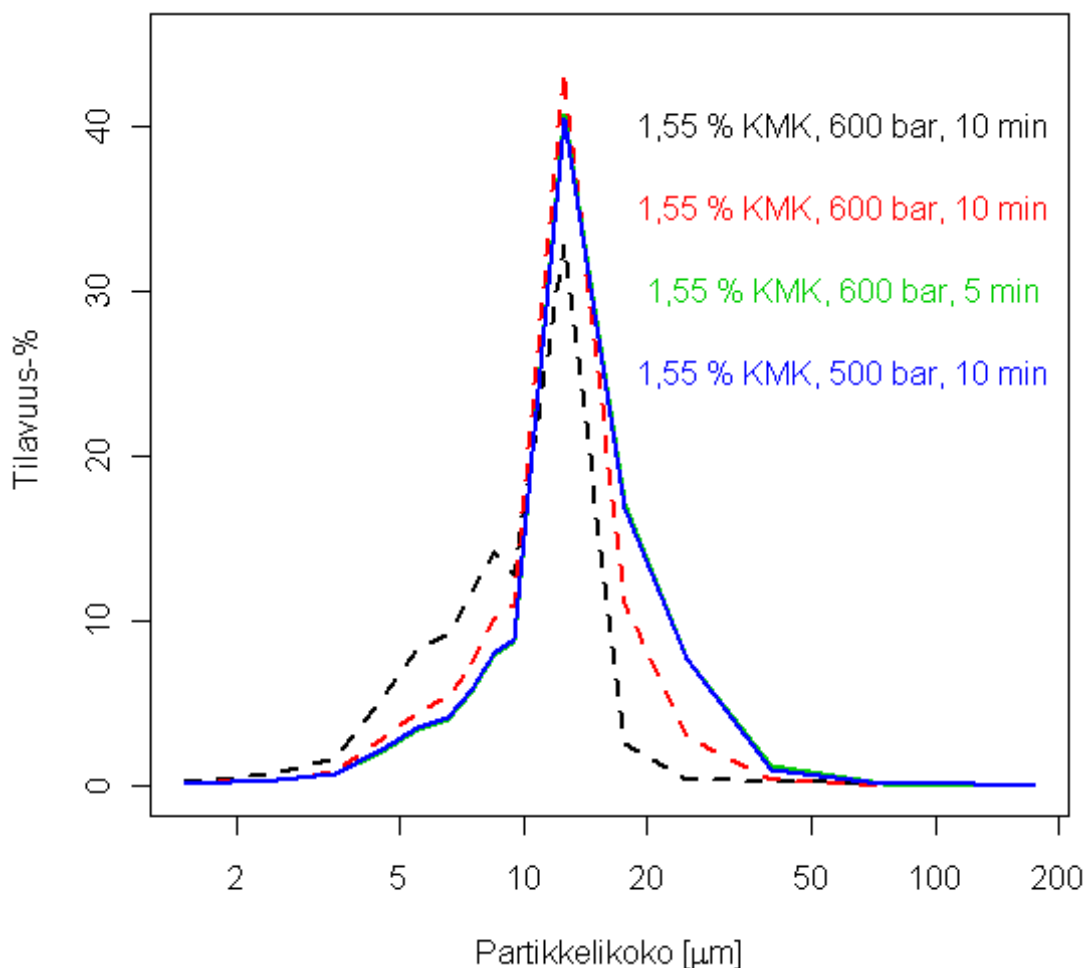


Kuva 18. Emulsioiden pisarakokojakaumat eri homogenointipaineilla: 300 bar (emulsio 10); 400 bar (emulsio 12); 500 bar (emulsio 11); 600 bar (emulsiot 9 ja 6). Samalla reseptillä valmistetut emulsiot merkitty katkoviivalla.

Emulsioiden pisarakokojakaumat painoutuivat enemmän suurempien pisaroiden suuntaan homogenointipaineen laskiessa (kuva 18). Tulosten perusteella optimaalisin emulsio saatiin siis KMK:n pitoisuudella 1,55 %, 600 baarin paineella ja 10 minuutin homogenointiajalla. Ominaisuuksiltaan parhaiksi valituista emulsioista optimiemulsion pisarakokojakauma oli myös eniten painottunut pienien pisaroiden suuntaan (kuva 19). Optimaalisimmaksi valitulla reseptillä valmistettujen emulsioiden K-arvot ovat pienemmät kuin esikokeissa valmistettujen 20-prosenttisten arabikumin vesiliuosten

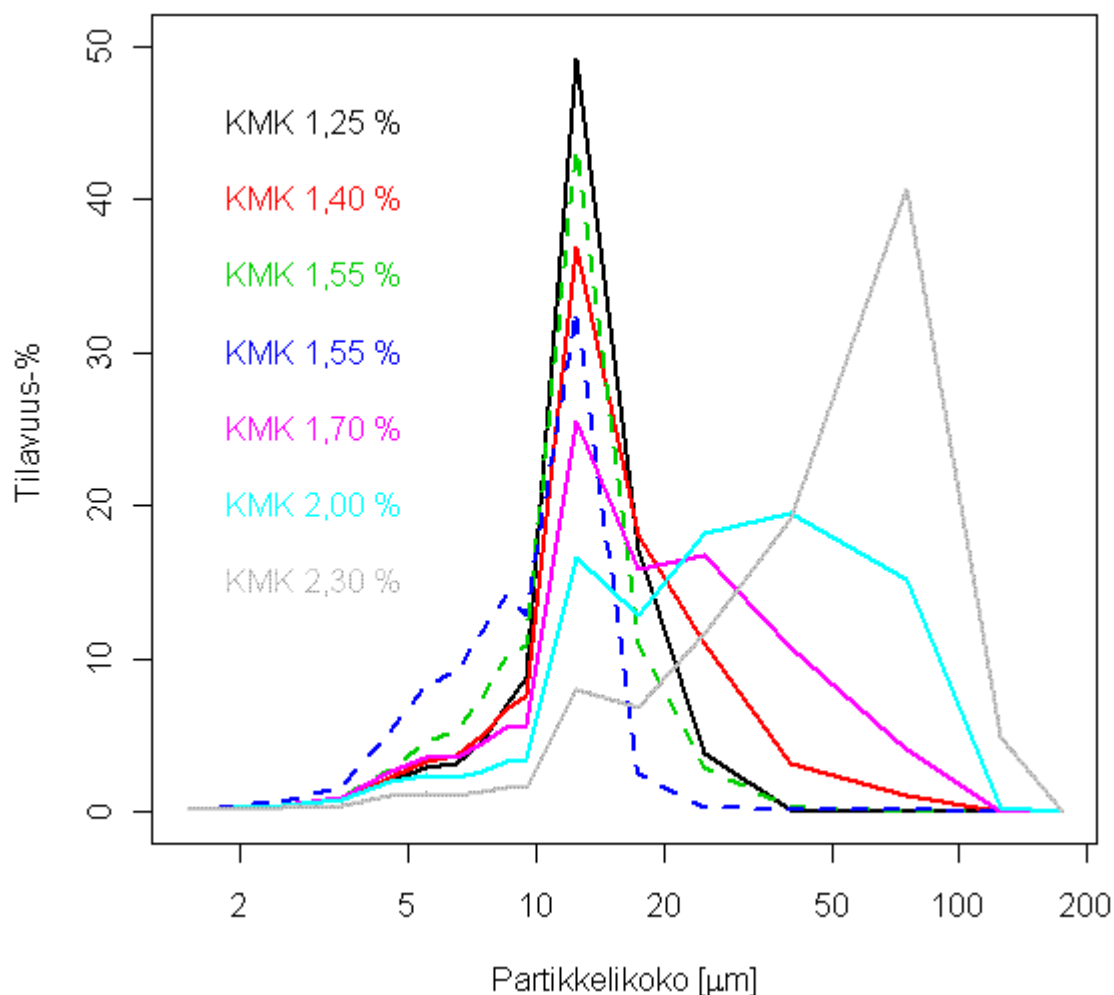
K-arvot, mikä myös viittaa siihen, että optimaalisimmaksi valitulla reseptillä valmistetut emulsiot soveltuvat sumutuskuivattaviksi (liite 1, taulukot 8 ja 9). Valmistetuissa arabikumiliuoksissa ei tosin ollut öljyä mukana.

Painottamaton yhdistetty haluttavuusvastepintakuvan ennustus optimaalisimmalle KMK:n pitoisuudelle on varsin lähellä saatua tulosta (kuva 16). Tutkimuksessa optimaalisimman emulsion valinnassa ei painotettu kustannuksia, vaan etsittiin stabiilia matalimman viskositeetin ja pienimmän keskimääräisen pisarakoon emulsiota kustannuksia huomioimatta. Kustannukset huomioon ottava optimointi tarjoaisi mahdollisuuden lisätutkimuksille.



Kuva 19. Parhaiksi valittujen emulsioiden pisarakokojakaumat: optimi: emulsiot 6 ja 9; toiseksi parhaaksi valittu: emulsio 7; kolmanneksi parhaaksi valittu: emulsio 11. Samalla reseptillä valmistetut emulsiot merkitty katkoviivalla. Kuvan vihreä käyrä jää suureksi osaksi sinisen käyrän alle.

Toiseksi parhaita emulsioita keskimääräisen pisarakoon, viskositeetin ja stabiilisuuden suhteen olivat emulsio 7 (1,55 % KMK, 600 bar, 5 min) ja emulsio 11 (1,55 % KMK, 500 bar, 10 min). Kuvassa 20 on emulsioiden pisarakojakaumia eri KMK:n pitoisuuksilla. Hyvästä pisarakojakaumasta huolimatta emulsio 8 (1,25 % KMK) erottui, mikä johtuu luultavasti emulsion liian pienestä emulgaattori- ja stabilointiainemäärästä. Emulsion 5 (1,4 % KMK) ja emulsion 2 (1,7 % KMK) ja erityisesti emulsion 1 (2,0 % KMK) ja emulsion 3 (2,3 % KMK) pisarakojakaumat painottuvat enemmän suurempien pisaroiden suuntaan kuin optimaalisimmaksi valitulla reseptillä valmistetut emulsiot 6 ja 9 (1,55 % KMK). Voimakkaasti suurien pisaroiden suuntaan painottunut pisarakojakauma on luultavimmin emulsion 3 (2,3 % KMK) erottumisen syynä.



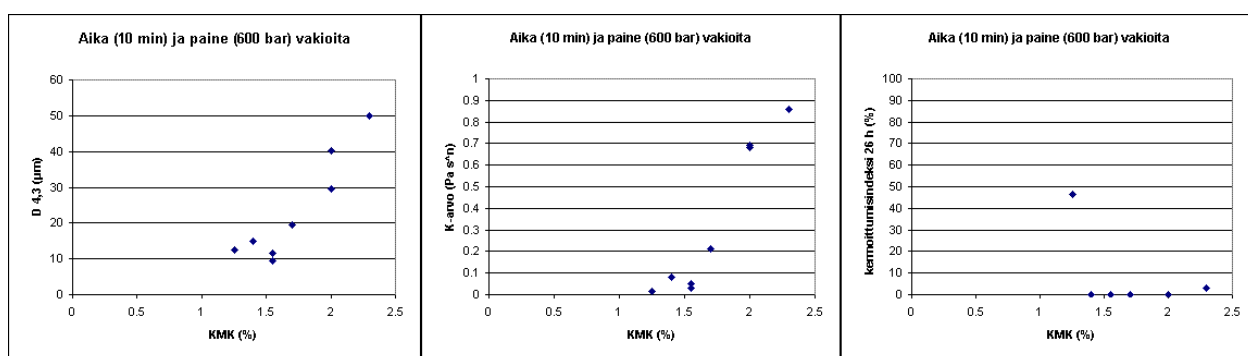
Kuva 20. Emulsioiden pisarakojakaumat eri KMK:n pitoisuuksilla: 1,25 % (emulsio 8); 1,4 % (emulsio 5); 1,55 % (emulsiot 9 ja 6); 1,7 % (emulsio 2); 2,00 (emulsio 1) ja 2,30 (emulsio 3). Kaikki emulsiot on valmistettu käsittelyllä 600 bar 10 min. Samalla reseptillä valmistetut emulsiot merkitty katkoviivalla.

Homogenointipaineen muutosten todettiin kokeiden perusteella vaikuttavan selkeästi enemmän emulsion ominaisuuksiin, etenkin viskositeettiin, kuin homogenointiajan muutokset. Kustannussäästöjä haettaessa homogenointiajan vähentäminen vaikuttaisi vähiten emulsion ominaisuuksiin. Muuttujista KMK:n pitoisuus todettiin kriittisimmäksi muuttujaksi, kuten mallit ennustivatkin, ja kyseisellä muuttujalla on ehdottomasti suurin vaikutus emulsion ominaisuuksiin.

### **7.7 Mallien muuttujien tilastollisten merkitsevyyksien arviointi jatkokokeiden tulosten perusteella**

Emulsiokokeista, joissa kaksi muuttujaa pysyivät vakioina ja yksi muuttui, piirrettiin kuvaajia. Kuvaajien avulla pyrittiin havainnoimaan muuttujien mahdollisia vaikutuksia emulsion ominaisuuksiin.

Piirrettiin kuvat emulsiokokeista, joissa muuttujista aika ja paine pysyvät vakioina ja KMK:n pitoisuus vaihtelee (kuva 21).  $D_{43}$ - ja K-arvotulosten vaihtelu on jyrkkää suhteellisen pienillä KMK-pitoisuuden muutoksilla, ja KMK:n pitoisuudella näyttäisi olevan selkeä vaikutus emulsion pisarakokoon, viskositeettiin ja stabiiliuteen, kuten matemaattisista malleista kävi ilmi. Jokaisen vasteen kohdalla erot useiden koepisteiden välillä ovat suurempia kuin 1. koesuunnitelman toistokokeille saadut keskihajonnat ( $D_{43}$  15,1  $\mu\text{m}$ , K-arvo 0,034 ja kerмоittumisindeksi 0 %), eli tulosten erot ovat riittävän suuret, jotta voidaan todeta KMK:n pitoisuuden vaikuttavan emulsion ominaisuuksiin. Kuvan 21 pisteiden mittausten aiheuttamat keskihajonnat sekä rinnakkaisten emulsioiden keskihajonnat on esitetty taulukossa 11.

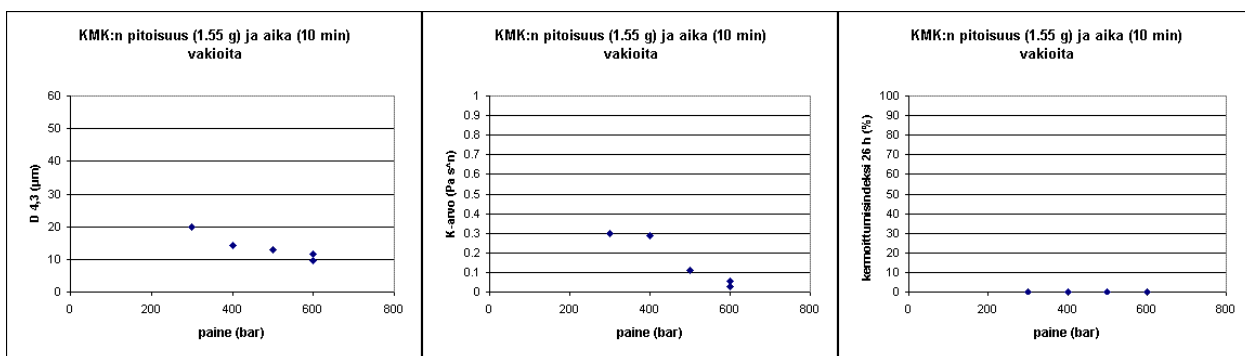


Kuva 21. Aika ja paine vakiot, KMK vaihtelee.

Taulukko 11. Kuvan 21 koepisteiden suurimmat keskihajonnat.

	D <sub>43</sub> (µm)	K-arvo [Pa s <sup>n</sup> ]	kermoittumis- indeksi (%)
Saman näytteen suurin keskihajonta kuvan pisteistä (mittauksen aiheuttama keskihajonta)	4,2	0,021	6,67
Rinnakkaisten emulsioiden (6 ja 9) suurin keskihajonta (valmistuksen + mittauksen aiheuttama keskihajonta)	1,4	0,016	0

Piirrettiin kuvat emulsiokokeista, joissa muuttujista aika ja KMK:n pitoisuus pysyivät vakioina ja homogenointipaine vaihteli (kuva 22). Matemaattisten mallien mukaan homogenointipaineen vaihtelulla ei ole tilastollisesti merkitsevästi vaikutusta emulsion ominaisuuksiin. D<sub>43</sub>-tuloksissa on havaittavissa laskeva trendi paineen kasvaessa, mutta erot tuloksissa ovat pienemmät kuin 1. koesuunnitelman toistokokeille saatu keskihajonta 15,1 µm, joten tulosten erot ovat riittämättömiä johtopäätöksen tekemiselle. K-arvojen erot ovat monen pisteen välillä suurempia kuin 1. koesuunnitelman toistokokeille saatu K-arvojen keskihajonta 0,034, ja kuvan tulosten perusteella paineen nosto näyttäisi aiheuttavan emulsion viskositeetin laskua. Kuvan tulokset ovat jatkokokeista eikä niitä käytetty mallin tekemiseen, mikä selittää mallin väitteen ja jatkokokeiden tulosten ristiriitaisuutta. Stabiilisuusmääritystuloksissa ei ole eroja eri homogenointipaineilla, joten paineen muutoksella ei vaikuttaisi olevan suurta merkitystä stabiilisuustuloksiin. Kuvan 22 pisteiden mittausten aiheuttamat keskihajonnat ja rinnakkaisten emulsioiden keskihajonnat on esitetty taulukossa 12.

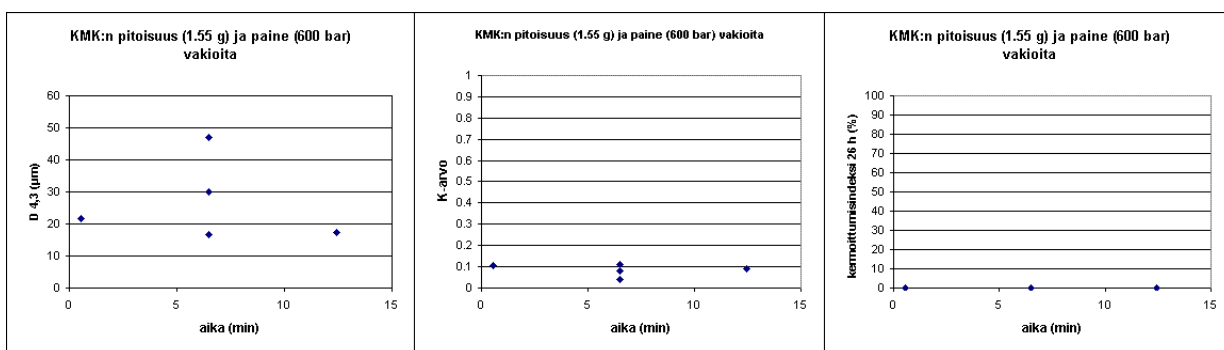


Kuva 22. Aika ja KMK vakioita, paine vaihtelee.

Taulukko 12. Kuvan 22 koepisteiden suurimmat keskihajonnat.

	D <sub>43</sub> (µm)	K-arvo [Pa s <sup>n</sup> ]	kermoittumis- indeksi (%)
Saman näytteen suurin keskihajonta kuvan pisteistä (mittauksen aiheuttama keskihajonta)	1,2	0,009	0
6. ja 9. emulsion keskihajonta (valmistuksen + mittauksen aiheuttama keskihajonta)	1,4	0,016	0

Piirrettiin kuvat emulsiokokeista, joissa muuttujista KMK:n pitoisuus ja paine pysyivät vakioina ja aika vaihteli (kuva 23). Homogenointiajan vaihtelulla ei näyttäisi olevan selkeää vaikutusta emulsion ominaisuuksiin. Kuvan toistokokeet ovat 1. koesuunnitelman toistokokeita, joista keskihajonnan suuruus on nähtävissä. Kuvan 23 pisteiden mittausten aiheuttamat keskihajonnat ja rinnakkaisten emulsioiden keskihajonnat on esitetty taulukossa 13.



Kuva 23. KMK ja paine vakioita, aika vaihtelee.



*Taulukko 13. Kuvan 23 koepisteiden suurimmat keskihajonnat.*

	D <sub>43</sub> ( $\mu\text{m}$ )	K-arvo [Pa s <sup>n</sup> ]	kermoittumis- indeksi (%)
Saman näytteen suurin keskihajonta kuvan pisteistä (mittauksen aiheuttama keskihajonta)	2,5	0,002	0
9., 10. ja 11. emulsion keskihajonta (valmistuksen + mittauksen aiheuttama keskihajonta)	15,1	0,034	0

## 8 Yhteenveto

Työn tarkoituksena oli optimoida KMK:ta sisältävän emulsion valmistusprosessia. Kokeilla etsittiin sellaiset homogeenointiolosuhteet (homogeenointipaine ja -aika) ja KMK:n pitoisuus, jolla emulsion viskositeetti olisi mahdollisimman matala, emulsion keskimääräinen pisarakoko olisi mahdollisimman pieni ja emulsio olisi stabiili 26 tuntia valmistamisen jälkeen. KMK:n sisältämä modifioitu kauraproteiini toimi emulsioissa emulgaattorina. KMK sisälsi myös osin happohydrolyysissa ja homogeenoinnissa pilkkoutunutta  $\beta$ -glukaania, joka nosti emulsioiden viskositeettia ja näin paransi emulsioiden stabiiliutta.

Tutkimustulokset osoittivat, että optimoinnin avulla voitiin valmistaa stabiileja, pisarakooltaan pieniä ja viskositeetiltaan matalia KMK-pohjaisia öljy vedessä -emulsioita, jotka voidaan sumutuskuivata mikrokapseleiksi. Mikrokapselointiin teoreettisesti soveltuvien emulsioiden saatiin aikaan KMK:n pitoisuudella 1,55 %, 600 baarin homogeenointipaineella ja 10 minuutin homogeenointiajalla. Kaikki kolmetoista 1,55 % KMK:ta sisältäneet eri käsittelyillä valmistetut emulsiot pysyivät stabiilina 26 tuntia valmistamisen jälkeen, joten kyseisellä KMK:n pitoisuudella on mahdollista saada aikaan stabiileja emulsioita erilaisilla homogeenointikäsittelyillä.

Painottoman yhdistetty haluttavuusvastepintakuva ennusti varsin hyvin emulsion optimaalisimman KMK:n pitoisuuden. Muuttujista KMK:n pitoisuudella oli selkeästi voimakkain vaikutus emulsion ominaisuuksiin. Jatkokokeiden tulosten perusteella homogeenointipaineen nosto näyttäisi laskevan emulsion viskositeettia.

Mikrokapselointitutkimusta KMK:lla jatketaan ja kauramateriaalin käyttömahdollisuuksia selvitetään Helsingin yliopiston elintarvike- ja ympäristötieteiden laitoksella. Emulsion valmistusprosessin sekä KMK:n valmistusprosessin optimointi, jossa otettaisiin huomioon taloudelliset näkökulmat, tarjoaisi mahdollisuuden lisätutkimuksille.

## Lähteet

Andjelic, Iva. Optimizing Drug Delivery – Formulation Development and Scaleable Manufacturing Methodology: Nanoemulsions and Nanosuspensions Prepared by Ultrahigh-shear Fluid Processing. Pdf-dokumentti. International Workshop on Drug Delivery Systems. Prague 15–18.5.2007.

Augustin, Mary Ann & Hemar, Yacine 2009. Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chemical Society Reviews Articles* 38, s. 902–912.

Bae, E. K. & Lee, S. J. 2008. Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin. *Journal of Microencapsulation* 25 (8), s. 549–560.

Barbosa M. – Borsarelli, C. – Mercadante, A. 2005. Light stability of spray-dried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. *Food Research International* 38 (8–9), s. 989–994.

Bhandari, B. R. – Dumoulin, E. D. – Richard, H. M. J. – Noleau, I. – Lebert, A. M. 1992. Flavor Encapsulation by Spray Drying : Application to Citral and Linalyl Acetate. *Journal of Food Science* 57 (1), s. 217–221.

Bos, Martin A. & van Vliet, Ton 2001. Interfacial rheological properties of adsorbed protein layers and surfactants: a review. *Advances in Colloid and Interface Science* 91 (3), s. 437–471.

Box, George E. P. & Draper, Norman R. 2007. Response surfaces, mixtures, and ridge analyses. 2nd edition. New Jersey: John Wiley & Sons, inc.

Burkus, Zvonko & Temelli, Feral 2000. Stabilization of emulsions and foams using barley  $\beta$ -glucan. *Food Research International* 33 (1), s. 27–33.

Campanella, O. H. – Dorward, N. M. – Singh, H. 1995. A study of the rheological properties of concentrated food emulsions. *Journal of Food Engineering* 25 (3), s. 427–440.

Charve, Joséphine & Reineccius, Gary A. 2009. Encapsulation Performance of Proteins and Traditional Materials for Spray Dried Flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57 (6), s. 2486–2492.

Dalgleish, Douglas G. 2003. Food Emulsions: Their structures and properties. Teoksessa Stig Friberg, Kåre Larsson & Johan Sjöblom (editors). *Food Emulsions*. USA: Marcel Dekker, Inc.

Danviriyakul, S. – McClements, D. – Decker, E. – Nawar, W. – Chinachoti, P. 2002. Physical stability of spray-dried milk fat emulsion as affected by emulsifiers and processing conditions. *Journal of Food Science* 67 (6), s. 2183–2189.

Del Castillo, Enrique – Montgomery, Douglas C. – McCarville, Daniel R. 1996. Modified Desirability Functions for Multiple Response Optimization. *Journal of Quality Technology* 28 (3), s. 337–345.

Demetriades, Kyros & McClements, D. Julian 2000. Influence of sodium dodecyl sulfate on the physicochemical properties of whey protein-stabilized emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 161 (3), s. 391–400.

Derringer George & Suich Ronald 1980. Simultaneous optimization of several response variables. *Journal of Quality Technology* 12 (4), s. 214–219.

Derringer, G. C. 1983. A Statistical Methodology for Designing Elastomer Formulations to Meet Performance Specifications. *Kautschuk Gummi Kunststoffe* 5, s. 349–352.

Derringer, George C. & Geary, Carol L.: Optimization of processes and products. Tutkielma. Meeting of the Canadian Plastics Institute. Toronto 17.10.1988.

Derringer, George C. 1969. Sequential method for estimating response surfaces. *Industrial and Engineering Chemistry* 61 (12), s. 6–13.

Desrumaux, Anne & Marcand, Julie 2002. Formation of sunflower oil emulsions stabilized by whey proteins with high-pressure homogenization (up to 350 MPa): effect of pressure on emulsion characteristics. *International Journal of Food Science and Technology* 37 (3), s. 263–269.

Dickinson, E. 2009. Hydrocolloids and emulsion stability. Teoksessa Phillips, G. O. & Williams, P. A. (editors). *Handbook of Hydrocolloids*. Great Britain: Woodhead Publishing Limited.

Dickinson, Eric & Stainsby, George (editors). 1988. *Advances in food emulsions and foams*. Essex: Elsevier Applied Science Publishers Ltd.

Doublier, Jean-Louis & Wood, Peter J. 1995. Rheological properties of aqueous solutions of (1→3),(1→4)- $\beta$ -D-glucan from oats (*Avena sativa* L.). *Cereal Chemistry* 72 (4), s. 335–340.

Drusch, Stephan 2007. Sugar beet pectin: A novel emulsifying wall component for microencapsulation of lipophilic food ingredients by spray-drying. *Food Hydrocolloids* 21 (7), s. 1223–1228.

Dziezak, Judie 1988. Microencapsulation and Encapsulated Ingredients. *Food Technology* 4, s. 136–151.

- Floury, J. – Desrumaux A. – Axelos, M. – Legrand, J. 2003. Effect of high pressure homogenisation on methylcellulose as food emulsifier. *Journal of Food Engineering* 58 (3), s. 227–238.
- Floury, J. – Desrumaux, A. – Axelos, M. – Legrand, J. 2002b. Degradation of methylcellulose during ultra-high pressure homogenisation. *Food Hydrocolloids* 16 (1), s. 47–53.
- Floury, J. – Desrumaux, A. – Lardières, J. 2000. Effect of high pressure homogenization on droplet size distributions and rheological properties of model oil-in-water emulsions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 1 (2), s. 127–134.
- Floury, J. – Desrumaux, A. – Legrand, J. 2002a. Effect of ultra-high-pressure homogenization on structure and rheological properties of soy protein-stabilized emulsions. *Journal of Food Science* 67 (9), s. 3388–3395.
- Forssell, Pirkko – Myllärinen, Päivi – Hakala, Piia – Poutanen, Kaisa 2007. Potential Use of Carbohydrates as Stabilizers and Delivery Vehicles. Teoksessa Biliaderis, Costas G. & Izydorczyk, Marta S. (editors). *Functional Food Carbohydrates*. Taylor & Francis Group.
- Francis, Frederick J. (editor). 1999. *Wiley Encyclopedia of Food Science and Technology*. 2nd edition. John Wiley & Sons.
- Galazka, Vanda B. – Dickinson, Eric – Ledward, Dave A. 1996. Effect of high pressure on the emulsifying behavior of  $\beta$ -lactoglobulin. *Food Hydrocolloids* 10 (2), s. 213–219.
- Gharsallaoui, Adem - Roudaut, Gaëlle - Chambin, Odile - Voilley, Andrée - Saurel, Rémi 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International* 40, s. 1107–1121.
- Gibbs, B. F. – Kermasha, S. – Alli, I. – Mulligan, C. N. 1999. Encapsulation in the food industry: a review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 50 (3), s. 213–224.
- Gouin, Sébastien 2004. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science & Technology* 15 (7–8), s. 330–347.
- Granelli, K. – Fäldt, P. – Appelqvist, L-Å – Bergenståhl, B. 1996. Influence of Surface Structure on Cholesterol Oxidation in Model Food Powders. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 71 (1), s. 75–82.
- Harrington, E. C. Jr. 1965. The Desirability Function. *Industrial Quality Control* 21 (10), s. 494–498.
- Hawkins, Douglas M. – Basak, Subhash C. – Mills, Denise 2003. Assessing Model Fit by Cross-Validation. *Journal of Chemical Information and Modeling* 43 (2), s. 579–586.

- Hogan, Sean A. – McNamee, Brian F. – O’Riordan, E. Dolores – O’Sullivan, Michael 2001a. Emulsification and microencapsulation properties of sodium caseinate/carbohydrate blends. *International Dairy Journal* 11 (3), s. 137–144.
- Hogan, Sean A. – McNamee, Brian F. – O’Riordan, E. Dolores – O’Sullivan, Michael 2001b. Microencapsulation Properties of Sodium Caseinate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (4), s. 1934–1938.
- Ishido, E. – Hakamata, K. – Minemoto, Y. – Adachi, S. – Matsuno, R. 2002. Oxidation process of linoleic acid encapsulated with a polysaccharide by spray-drying. *Food Science and Technology Research* 8 (1), s. 85–88.
- Islam, A. M. – Phillips, G. O. – Sljivo, A. – Snowden, M. J. – Williams, P. A. 1997. A review of recent developments on the regulatory, structural and functional aspects of gum arabic. *Food Hydrocolloids* 11 (4), s. 493–505.
- Jafari, Seid Mahdi - He, Yinghe - Bhandari, Bhesh 2007. Effectiveness of encapsulating biopolymers to produce sub-micron emulsions by high energy emulsification techniques. *Food Research International* 40, s. 862–873.
- Jafari, Seid Mahdi – Yinghe, He – Bhandari, Bhesh 2006. Nano-emulsion production by sonication and microfluidization – A comparison. *International Journal of Food Properties* 9 (3), s. 475–485.
- Johansson, Liisa – Karesoja, Mikko – Ekholm, Päivi – Virkki, Liisa – Tenhu, Heikki 2008. Comparison of the solution properties of (1→3),(1→4)-β-D-glucans extracted from oats and barley. *LWT – Food Science and Technology* 41 (1), s. 180–184.
- Karbstein, Heike & Schubert, Helmar 1995. Developments in the continuous mechanical production of oil-in-water macro-emulsions. *Chemical Engineering and Processing* 34, s. 205–211.
- Kato, Akio – Tanaka, Atsushi – Lee, Yoshinori – Matsudomi, Naotoshi – Kobayashi, Kunihiko 1987. Effects of Deamidation with Chymotrypsin at pH 10 on the Functional Properties of Proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 35 (2), s. 285–288.
- Kaukovirta-Norja, A. & Lehtinen, P. 2007. Traditional and modern oat-based foods. Teoksessa Hamaker, Bruce R. (editor). *Technology of functional cereal products*. CRC Press.
- Käyttöohje 2006 = SBSSC Instruction Manual. PAMAS GmbH.
- Keogh, M. K. – O’Kennedy, B. T. – Kelly, J. – Auty, M. A. – Kelly, P. M. – Fureby, A. – Haahr, A.-M. 2001. Stability to Oxidation of Spray-Dried Fish Oil Powder Microencapsulated Using Milk Ingredients. *Journal of Food Science* 66 (2), s. 217–224.

- Kim, Y. D. – Morr, C. V. – Schenz, T. W. 1996. Microencapsulation Properties of Gum Arabic and Several Food Proteins: Liquid Orange Oil Emulsion Particles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44 (5), s. 1308–1313.
- Kivelä, R. – Pitkänen, L. – Laine, P. – Aseyev, V. – Sontag-Strohm, T. 2010. Influence of homogenisation on the solution properties of oat  $\beta$ -glucan. Hyväksytty julkaistavaksi lehdessä *Food Hydrocolloids*.
- Kulmyrzaev, A. – Sivestre, M. P. C. – McClements, D. J. 2000. Rheology and stability of whey protein stabilized emulsions with high  $\text{CaCl}_2$  concentrations. *Food Research International* 33 (1), s. 21–25.
- Lagoueyte, N. & Paquin, P. 1998. Effects of microfluidization on the functional properties of xanthan gum. *Food Hydrocolloids* 12 (3), s. 365–371.
- Lam, Xanthe M. & Cleland, Jeffrey L. 1999. Formulation and delivery, protein pharmaceuticals. Teoksessa Flickinger, Michael C. (editor). *Encyclopedia of Bioprocess technology: Fermentation, Biocatalysis and Bioseparation* 1–5. Wiley-Interscience.
- Lazaridou, Athina – Biliaderis, Costas G. – Izydorczyk, Marta S. 2007. *Functional Food Carbohydrates*. Taylor & Francis Group.
- Lee, C. J. – Horsley, R. D. – Manthey, F. A. – Schwarz, P. B. 1997. Comparisons of  $\beta$ -glucan Content of Barley and Oat. *Cereal Chemistry* 74 (5), s. 571–575.
- Lee, S.-J. & Ying, D. Y. 2008. Encapsulation of fish oils. Teoksessa Garti, Nissim (editor). *Delivery and controlled release of bioactives in foods and nutraceuticals*. Woodhead Publishing.
- Lindman, Björn 2002. *Physico-Chemical Properties of Surfactants*. Teoksessa Holmberg, Krister (editor). *Handbook of Applied Surface and Colloid Chemistry*. 1st edition. John Wiley & Sons.
- Liu X. D. – Furuta, T. – Yoshii, H. – Linko, P. 2000. Retention of emulsified flavor in a single droplet during drying. *Food Science and Technology Research* 6 (4), s. 335–339.
- Liu, X. D. – Atarashi, T. – Furuta, T. – Yoshii, H. – Aishima, S. – Ohkawara, M. – Linko P. 2001. Microencapsulation of emulsified hydrophobic flavors by spray drying. *Drying Technology* 19, s. 1361–1374.
- Liu, Xiang-Dong – Atarashi, Takuroh – Furuta, Takeshi – Yoshii, Hidefumi – Aishima, Shizuo – Ohkawara, Masaaki – Linko, Pekka 2001. Microencapsulation of emulsified hydrophobic flavors by spray drying. *Drying Technology* 19 (7), s. 1361–1374.
- Loksuwan, Jarunee 2007. Characteristics of microencapsulated  $\beta$ -carotene formed by spray drying with modified tapioca starch, native tapioca starch and maltodextrin. *Food Hydrocolloids* 21 (5–6), s. 928–935.

Ludescher, Richard, D. 1996. Physical and Chemical Properties of Amino Acids and Proteins. Teoksessa Nakai, S. & Modler, H. W. (editors). Food Proteins Properties and Characterization. USA: Wiley-VCH.

M-110Y 2009 = M-110Y-korkeapainehomogenisaattori. (WWW-dokumentti.)  
Microfluidics.

[http://www.microfluidicscorp.com/index.php?option=com\\_content&view=article&id=19&Itemid=76](http://www.microfluidicscorp.com/index.php?option=com_content&view=article&id=19&Itemid=76). Luettu : 4.6.2009.

Ma, C.-Y. & Harwalkar, V. R. 1984. Chemical Characterization and Functionality Assessment of Oat Protein Fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 32 (1), s. 144–149.

Ma, C.-Y. 1983. Chemical Characterization and Functionality Assessment of Protein Concentrates from Oats. *Cereal Chemistry* 60 (1), s. 36–42.

Ma, Ching-Yung & Khanzada, Ghanikhan 1987. Functional Properties of Deamidated Oat Protein Isolates. *Journal of Food Science* 52 (6), s. 1583–1587.

Maa, Yuh-Fun & Hsu, Chung C. 1999. Performance of sonication and microfluidization for liquid-liquid emulsification. *Pharmaceutical Development and Technology* 4 (2), s. 233–240.

Madene, Atmane - Jacquot, Muriel - Scher, Joël - Desobry, Stéphane 2006. Flavour encapsulation and controlled release - a review. *International Journal of Food Science and Technology* 41, s. 1–21.

Marcone et al. 1998. Salt-soluble seed globulins of dicotyledonous and monocotyledonous plants II. Structural characterization. *Food Chemistry* 63 (2), s. 265–274.

Marlett, J. A. 1993. Comparisons of dietary fiber and selected nutrient compositions of oat and other grain fractions. Teoksessa P. J. Wood (editor). *Oat Bran*. AACC.

Matsudomi, Naotoshi – Sasaki, Tetsuyuki – Kato, Akio – Kobayashi, Kunihiko 1985. Conformational Changes and Functional Properties of Acid-modified Soy Protein. *Agricultural and Biological Chemistry* 49 (5), s. 1251–1256.

McClements, D. J. & Dungan, Stephanie R. 1993. Factors That Affect the Rate of Oil Exchange between Oil-in-Water Emulsion Droplets Stabilized by a Nonionic Surfactant: Droplet Size, Surfactants Concentration, and Ionic Strength. *Journal of Physical Chemistry* 97 (28), s. 7304–7308.

McClements, David Julian 2004. Protein-stabilized emulsions. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 9 (5), s. 305–313.

McClements, David Julian 2005. *Food Emulsions Principles, Practices and Techniques*. 2nd edition. CRC Press.



McMurry, John & Simanek, Eric 2007. Fundamentals of Organic Chemistry. 6th edition. USA: Thomson Brooks/Cole.

McNamee, B. F. – O’Riordan, E. D. – O’Sullivan, M. 1998. Emulsification and Microencapsulation Properties of Gum Arabic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46 (11), s. 4551–4555.

Microfluidics1 2009 = Korkeapainehomogenisaattorin toiminta. (WWW-dokumentti.) Microfluidics.

[http://www.microfluidicscorp.com/index.php?option=com\\_content&view=article&id=51&Itemid=81](http://www.microfluidicscorp.com/index.php?option=com_content&view=article&id=51&Itemid=81). Luettu: 20.11.2009.

Microfluidics2 2009 = Korkeapainehomogenisaattorin toiminta. (WWW-dokumentti.) Microfluidics.

[http://www.microfluidicscorp.com/index.php?option=com\\_content&view=article&id=97&Itemid=81](http://www.microfluidicscorp.com/index.php?option=com_content&view=article&id=97&Itemid=81). Luettu: 20.11.2009.

Miller, S. S. – Fulcher, R. G. – Sen, A. – Arnason, J. T. 1995. Oat Endosperm Cell Walls: I. Isolation, Composition, and Comparison with Other Tissues. *Cereal Chemistry* 72 (5), s. 421–427.

Minemoto, Y. – Hakamata, K. – Adachi, S. – Matsuno, R. 2002. Oxidation of linoleic acid encapsulated with gum arabic or maltodextrin by spray-drying. *Journal of Microencapsulation* 19 (2), s. 181–189.

Mirmoghtadaie, Leila – Kadivar, Mahdi – Shahedi, Mohammad 2009. Effects of succinylation and deamidation on functional properties of oat protein isolate. *Food Chemistry* 114 (1), s. 127–131.

Muller, H. G. 1973. An introduction to food rheology. Lontoo: William Heinemann Ltd. Niiranen, Esko. Hiukkaslaskenta öljyjärjestelmien kunnonvalvonnassa. Pdf-dokumentti. Hydrauliiikan mittaukset 2. AEL, Helsinki 12.–14.12.2005.

Nuutila, Anna Maria 2000. Kauran laatuominaisuuksien parantaminen:  $\beta$ -glukaanin, lipaasin ja lipoksygenaasin biosynteesit. Espoo: Valtion teknillinen tutkimuskeskus (VTT).

Onsaard, Ekasit – Vittayanont, Manee – Srigan, Sukoncheun – McClements, D. Julian. 2006. Comparison of properties of oil-in-water emulsions stabilized by coconut cream proteins with those stabilized by whey protein isolate. *Food Research International* 39 (1), s. 78–86.

Parrish, F. W. – Perlin, A. S. – Reese, E. T. 1960. Selective enzymolysis of poly- $\beta$ -D-glucans, and the structure of the polymers. *Canadian Journal of Chemistry* 38, s. 2094–2104.

Pearce, K. N. & Kinsella, J. E. 1978. Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 26 (3), s. 716–723.

Peterson, David M. & Brinegar, A. Chris 1986. Oat Storage Proteins. Teoksessa Webster, Francis H. (editor). Oats: Chemistry and Technology. AACC.

Reineccius, G. A. 2004. The Spray Drying of Food Flavors. *Drying Technology* 22 (6), s. 1289–1324.

Reineccius, G. A. 2006. *Flavor Chemistry and Technology*. 2nd edition. Florida: Taylor & Francis Group.

Reineccius, Gary A. 1994. Flavor Encapsulation. Teoksessa John M. Krochta, Elizabeth A. Baldwin & Myrna O. Nisperos-Carriedo (editors). Edible coatings and films to improve food quality. CRC Press.

Rosenberg M. & Sheu, T-Y. 1996. Microencapsulation of volatiles by spray-drying in whey protein-based wall systems. *International Dairy Journal* 6 (3), s. 273–284.

Rosenberg, M. – Kopelman, I. J. – Talmon, Y. 1990. Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38, s. 1288–1294.

Rosenberg, M. & Sheu, T-Y. 1995. Microencapsulation by Spray Drying Ethyl Caprylate in Whey Protein and Carbohydrate Wall Systems. *Journal of Food Science* 60 (1), s. 98–103.

Shih, Frederick F. 1996. Deamidation and phosphorylation for food protein modification. Teoksessa Magdashi, S. (editor). *Surface Activity of Proteins*. Marcel Dekker, Inc.

Sliwinski, E. L. – Lavrijsen, B. W. M. – Vollenbroek, J. M. – van der Stege, H. J. – van Boekel, M. A. J. S. – Wouters, J. T. M. 2003. Effects of spray drying on physicochemical properties of milk protein stabilized emulsions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 31 (1–4), s. 219–229.

Soottitantawat, A. – Bigeard, F. – Yoshii, H. – Furuta, T. – Ohkawara, M. – Linko, P. 2005. Influence of emulsion and powder size on the stability of encapsulated d-limonene by spray drying. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 6 (1), s. 107–114.

Soottitantawat, A. – Yoshii, H. – Furuta, T. – Ohkawara, M. – Linko, P. 2003. Microencapsulation by spray drying: influence of emulsion size on the retention of volatile compounds. *Journal of Food Science* 68 (7), s. 2256–2262.

Stauffer, Clyde E. 1999. *Emulsifiers* (Eagan press handbook series). American Association of Cereal Chemists. Minnesota: Eagan Press.

Sun, Changhui – Gunasekaran, Sundaram – Richards, Mark P. 2007. Effect of xanthan gum on physicochemical properties of whey protein isolate stabilized oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids* 21 (4), s. 555–564.

Taavitsainen, Veli-Matti. 2008. Esimerkkejä kokeellisesta optimoinnista vastepintojen ja gradientin avulla. Pdf-dokumentti. Metropolia Ammattikorkeakoulu.

Taavitsainen, V-M. – Lehtovaara, A. – Lähtenmäki, M. 2010. Response surfaces, desirabilities and rational functions in optimizing sugar production. Hyväksytty julkaistavaksi lehdessä *Journal of Chemometrics*.

Tanner, Roger I. 2002. *Engineering rheology*. 2nd edition. New York: Oxford University Press.

Taylor, P. 1995. Ostwald ripening in emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 99, s. 175–185.

Tosh, Susan M. – Wood, Peter J. – Wang, Qi 2003. Gelation characteristics of acid-hydrolyzed oat beta-glucan solutions solubilized at a range of temperatures. *Food Hydrocolloids* 17 (4), s. 523–527.

Uddin, M. S. – Hawlader, M. N. A. – Zhu, H. J. 2001. Microencapsulation of ascorbic acid: effect of process variables on product characteristics. *Journal of Microencapsulation* 18 (2), s. 199–209.

Vasishtha, Niraj 2003. *Microencapsulation: Delivering a market advantage*. Prepared Foods 12.

Williams, P. A. & Phillips, G. O. 2003. The use of hydrocolloids to improve food texture. Teoksessa McKenna, B. M. & Kilcast, David (editors). *Texture in food*. Woodhead Publishing.

Wood, P. J. – Weisz, J. – Blackwell, B. A. 1994. Structural studies of (1→3),(1→4)- $\beta$ -D-glucans by  $^{13}\text{C}$ -nuclear magnetic resonance spectroscopy and by rapid analysis of cellulose-like regions using high-performance anion-exchange chromatography of oligosaccharides released by lichenase. *Cereal Chemistry* 71 (3), s. 301–307.

Wood, P. J. 1986. Oat  $\beta$ -glucan: Structure, location, and properties. Teoksessa Webster, F. H. (editor). *Oats: Chemistry and Technology*. Minnesota: American Association of Cereal Chemistry.

Wood, Peter J. 1993. Physicochemical characteristics and physiological properties of oat (1→3),(1→4)- $\beta$ -glucan. Teoksessa P. J. Wood (editor). *Oat Bran*. AACC.

Young, S. L – Sarda, X. – Rosenberg, M. 1993a. Microencapsulation properties of whey proteins. 1. Microencapsulation of anhydrous milk fat. *Journal of Dairy Science* 76 (10), s. 2868–2877.

Young, S. L – Sarda, X. – Rosenberg, M. 1993b. Microencapsulation properties of whey proteins. 2. Combination of whey proteins with carbohydrates. *Journal of Dairy Science* 76 (10), s. 2878–2885.

## Liite 1: Kuitumateriaalin vesiliuosten reseptit ja K-arvot

Taulukko 14. Kuitumateriaalin vesiliuosten reseptit.

		Kuitumateriaalia (g)	Ionivaihdettua vettä (g)
<b>Resepti:</b>	<b>0,8 % kuitupitoisuus</b>	<b>0,08</b>	<b>9,92</b>
Punnittu		0,0808	9,9310
Rinnakk.		0,0833	9,9334
<b>Resepti:</b>	<b>1% kuitupitoisuus</b>	<b>0,1</b>	<b>9,9</b>
Punnittu		0,1019	9,9088
Rinnakk.		0,1007	9,9133
<b>Resepti:</b>	<b>1,2 % kuitupitoisuus</b>	<b>0,12</b>	<b>9,88</b>
Punnittu		0,1212	9,8905
Rinnakk.		0,1206	9,8978
<b>Resepti:</b>	<b>1,4 % kuitupitoisuus</b>	<b>0,14</b>	<b>9,86</b>
Punnittu		0,1406	9,8806
Rinnakk.		0,1411	9,8714
<b>Resepti:</b>	<b>20 % arabikumiliuos</b>	<b>2,27</b>	<b>7,73</b>
Punnittu		2,271	7,7312

Taulukko 15. Kuituliuosten K-arvot.

Kuidun vesiliuos	K-arvo
<b>0,8 % kuitua</b>	<b>0,028</b>
<b>0,8 % kuitua rinn.</b>	<b>0,022</b>
<b>1 % kuitua</b>	<b>0,049</b>
<b>1 % kuitua rinn.</b>	<b>0,044</b>
<b>1,2 % kuitua</b>	<b>0,730</b>
<b>1,2 % kuitua rinn.</b>	0,017
<b>1,4 % kuitua</b>	<b>0,768</b>
<b>1,4 % kuitua rinn.</b>	0,081
<b>20 % arabikumi</b>	<b>0,074</b>
<b>20 % arabikumi rinn.</b>	<b>0,075</b>

## Liite 2: Esikoe-emulsioiden reseptit eri kuitupitoisuuksilla

Taulukko 16. Esikoe-emulsioiden reseptit.

<b>1 % kuitua</b>	
	g
kuitu	1
KMK	2,5
KMS	16,5
vesi	75
öljy	5
yht	100
<b>0.2 % kuitua</b>	
	g
kuitu	0,2
KMK	2,5
KMS	17,3
vesi	75
öljy	5
yht	100
<b>0 % kuitua</b>	
	g
kuitu	0
KMK	2,5
KMS	17,5
vesi	75
öljy	5
yht	100

### Liite 3: Esikoe-emulsioiden reseptit eri KMK:n pitoisuuksilla

Taulukko 17. Esikoe-emulsioiden reseptit.

<b>1 % KMK</b>			<b>2,5 % KMK</b>	
	g			g
KMK	1		KMK	2,5
kuitu	0,1		kuitu	0,1
KMS	19,83		KMS	18,26
vesi	74,07		vesi	74,14
öljy	5		öljy	5
yht	100		yht	100
<b>5 % KMK</b>			<b>10 % KMK</b>	
	g			g
KMK	5		KMK	10
kuitu	0,1		kuitu	0,1
KMS	15,63		KMS	10,39
vesi	74,27		vesi	74,51
öljy	5		öljy	-
yht	100		yht	95
<b>20 % KMK</b>				
	g			
KMK	20			
kuitu	-			
KMS	-			
vesi	75			
öljy	-			
yht	95			

#### **Liite 4: CC-koesuunnitelman R-komennot ja satunnaistettu koesuunnitelma**

minx = c(3,400,0.7)

maxx = c(10,800,2.4)

Z=cc.design(3,3,1.7)

z=decode(Z,minx,maxx,c("t","p","KMK"))

z2=randomize(z)

runorder=c(5,9,16,4,1,2,10,17,8,3,6,7,14,11,13,12,15)

z2=randomize(z,runorder)

*Taulukko 18. Satunnaistettu koesuunnitelma.*

<b>emulsio</b>	<b>t (min)</b>	<b>p (bar)</b>	<b>KMK (g)</b>
1	10	400	0,7
2	6,5	600	1,55
3	6,5	600	2,995
4	3	800	2,4
5	3	400	0,7
6	3	400	2,4
7	6,5	600	1,55
8	6,5	600	0,105
9	10	800	2,4
10	3	800	0,7
11	10	400	2,4
12	10	800	0,7
13	6,5	940	1,55
14	6,5	600	1,55
15	0,55	600	1,55
16	12,45	600	1,55
17	6,5	260	1,55

## Liite 5: Koesuunnitelma 1 ja emulsioiden lämpötilat homogenointien jälkeen

Taulukko 19. Koesuunnitelma 1.

emulsio	t (min)	p (bar)	KMK (%)	Ohje		
1	10	400	0,7	<b>0,7 % KMK</b>	<b>Ohje</b>	<b>Punnitukset</b>
					g	g
				KMK	1,05	1,0517
				KMS	30,37775	30,369
				vesi	111,0722	111,072
				öljy	7,5	7,49
				yht	150	
2	6,5	600	1,55	<b>1,55 % KMK</b>		
					g	
				KMK	2,325	2,3245
				KMS	29,03987	29,038
				vesi	111,1351	111,14
				öljy	7,5	7,49
				yht	150	
3	6,5	600	2,995	<b>2,995 % KMK</b>		
					g	
				KMK	4,4925	4,4924
				KMS	26,76548	26,763
				vesi	111,242	111,241
				öljy	7,5	7,49
				yht	150	
4	3	800	2,4	<b>2,4 % KMK</b>		
					g	
				KMK	3,6	3,6018
				KMS	27,70199	27,7
				vesi	111,198	111,198
				öljy	7,5	7,5
				yht	150	



**Liite 5: Koesuunnitelma 1 ja emulsioiden lämpötilat homogenointien jälkeen**

<b>emulsio</b>	<b>t (min)</b>	<b>p (bar)</b>	<b>KMK (%)</b>	<b>Ohje</b>		
5	3	400	0,7	<b>0,7 % KMK</b>	<b>Ohje</b>	<b>Punnitukset</b>
					g	
				KMK	1,05	1,0505
				KMS	30,37775	30,378
				vesi	111,0722	111,072
				öljy	7,5	7,5
				yht	150	
6	3	400	2,4	<b>2,4 % KMK</b>		
					g	
				KMK	3,6	3,6
				KMS	27,70199	27,7
				vesi	111,198	111,197
				öljy	7,5	7,49
				yht	150	
7	6,5	600	1,55	<b>1,55 % KMK</b>		
					g	
				KMK	2,325	2,3251
				KMS	29,03987	29
				vesi	111,1351	111,136
				öljy	7,5	7,49
				yht	150	
8	6,5	600	0,105	<b>0,105 % KMK</b>		
					g	
				KMK	0,1575	0,1577
				KMS	31,31427	31,312
				vesi	111,0282	111,029
				öljy	7,5	7,5
				yht	150	

**Liite 5: Koesuunnitelma 1 ja emulsioiden lämpötilat homogenointien jälkeen**

<b>emulsio</b>	<b>t (min)</b>	<b>p (bar)</b>	<b>KMK (%)</b>	<b>Ohje</b>		
9	10	800	2,4	<b>2,4 % KMK</b>	<b>Ohje</b>	<b>Punnitukset</b>
					g	
				KMK	3,6	3,6009
				KMS	27,70199	27,701
				vesi	111,198	111,199
				öljy	7,5	7,49
				yht	150	
10	3	800	0,7	<b>0,7 % KMK</b>		
					g	
				KMK	1,05	1,0507
				KMS	30,37775	30,377
				vesi	111,0722	111,072
				öljy	7,5	7,5
				yht	150	
11	10	400	2,4	<b>2,4 % KMK</b>		
					g	
				KMK	3,6	3,6004
				KMS	27,70199	27,702
				vesi	111,198	111,198
				öljy	7,5	7,5
				yht	150	
12	10	800	0,7	<b>0,7 % KMK</b>		
					g	
				KMK	1,05	1,0501
				KMS	30,37775	30,376
				vesi	111,0722	111,072
				öljy	7,5	7,5
				yht	150	

**Liite 5: Koesuunnitelma 1 ja emulsioiden lämpötilat homogenointien jälkeen**

<b>emulsio</b>	<b>t (min)</b>	<b>p (bar)</b>	<b>KMK (%)</b>	<b>Ohje</b>		
13	6,5	940	1,55	<b>1,55 % KMK</b>	<b>Ohje</b>	<b>Punnitukset</b>
					g	
				KMK	2,325	2,3251
				KMS	29,03987	29,04
				vesi	111,1351	111,135
				öljy	7,5	7,51
				yht	150	
14	6,5	600	1,55	<b>1,55 % KMK</b>		
					g	
				KMK	2,325	2,3252
				KMS	29,03987	29,04
				vesi	111,1351	111,135
				öljy	7,5	7,49
				yht	150	
15	0,55	600	1,55	<b>1,55 % KMK</b>		
					g	
				KMK	2,325	2,3252
				KMS	29,03987	29,04
				vesi	111,1351	111,135
				öljy	7,5	7,49
				yht	150	
16	12,45	600	1,55	<b>1,55 % KMK</b>		
					g	
				KMK	2,325	2,3251
				KMS	29,03987	29,04
				vesi	111,1351	111,135
				öljy	7,5	7,49
				yht	150	

## Liite 5: Koesuunnitelma 1 ja emulsioiden lämpötilat homogenointien jälkeen

emulsio	t (min)	p (bar)	KMK (%)	Ohje		
17	6,5	260	1,55	1,55 % KMK	Ohje	Punnitukset
					g	
				KMK	2,325	2,3254
				KMS	29,040	29,04
				vesi	111,135	111,135
				öljy	7,5	7,51
				yht	150	

Taulukko 20. Emulsioiden lämpötilat välittömästi esihomogenoinnin ja homogenoinnin jälkeen.

emulsio	T esihomogenoinnin jälkeen (°C)	T homogenoinnin jälkeen (°C)
1	23,9	-
2	26,8	-
3	26,6	22
4	28,6	20,7
5	24,4	-
6	29,7	-
7	27,7	19,8
8	28,2	28,1
9	26,3	-
10	25,1	-
11	26,8	25,3
12	27,5	16,7
13	28	11,7
14	25,2	19
15	30,4	11,2
16	28,9	22
17	24,9	-
1	27,2	22
2	28	17,6
3	29,5	16,5

**Liite 5: Koesuunnitelma 1 ja emulsioiden lämpötilat homogenointien jälkeen**

emulsio	T esihomogenoinnin jälkeen (°C)	T homogenoinnin jälkeen (°C)
4	30,3	17,6
5	25,8	10,9
6	28,5	17,6
7	26,8	17,7
8	28,6	16,2
9	30,4	15,4
10	31,6	12,3
11	27	17,3
12	27	13,4
K1	28,6	19
K1 r	28,6	17,6
K2	27	15,9
K2 r	27,1	15,5
K3	25,2	23,2
K3 r	27,8	15,3
K4	26,3	13,3
K4 r	26,3	13,8

## Liite 6: R-komennot matemaattisten mallien luomiseen ja arviointiin ja ennustaminen mallin avulla

### D<sub>43</sub>-malli:

```
minx = c(3,400,0.7)
```

```
maxx = c(10,800,2.4)
```

```
Z=cc.design(3,3,1.7)
```

```
z=decode(Z,minx,maxx,c("t","p","KMK"))
```

```
#D43-tulokset satunnaistamattoman koesuunnitelman mukaisessa järjestyksessä  
(viimeinen arvo ennustettu mallilla)
```

```
y=c(27.45427109,122.0202165,23.68778934,98.0966816,24.31450185,77.27499784,18  
.91014326,89.85824334,30.08182921,47.04318841,16.82619382,17.40329159,21.7161  
7655,38.90471688,28.98513196,105.0879495, 21.57406)
```

```
modell1.pamas43=quad.model.fit(Z,y,2)
```

```
modell1=modell1.pamas43
```

```
print(summary(modell1))
```

```
CV.plot(modell1)
```

```
#Q-Q-plot-kuva numeroiduilla koepisteillä
```

```
windows()
```

```
CV.modell1 = CV.model(modell1)
```

```
qqxy = qqnorm(CV.modell1$CVresid,ylab="CV-predicted residuals",col="green")
```

```
text(qqxy$x,qqxy$y,1:17)
```

```
qqline(CV.modell1$CVresid,col="red")
```

## Liite 6: R-komennot matemaattisten mallien luomiseen ja arviointiin ja ennustaminen mallin avulla

```
#PAMAS43-mallin vastepintakuvat
par(mfrow=c(2,4))
for (t in seq(1,13,2)) {
quad.plot(model1,c(250,950),c(0.05,4),color.palette=topo.colors,seq(0,100,10),3,
c(2,3),t,minx,maxx)
title(sprintf('t = %i',t),
xlab= expression(paine),ylab=expression(KMK))
}
```

#17. emulsion D<sub>43</sub>-arvon ennustaminen matemaattisella mallilla:

```
minx = c(3,400,0.7)
maxx = c(10,800,2.4)
Z=cc.design(3,3,1.7)
z=decode(Z,minx,maxx,c("t","p","KMK"))
y=c(27.45427109,122.0202165,23.68778934,98.0966816,24.31450185,77.27499784,18
.91014326,89.85824334,30.08182921,47.04318841,16.82619382,17.40329159,21.7161
7655,38.90471688,28.98513196,105.0879495,20.58533602)

model1=quad.model.fit(Z[-17,],y[-17],2)

print(quad.predict(model1,c(0,0,-1.7)))

#Kanoninen analyysi
print(quad.cana(model1,3))

#Koevirheen laskeminen toistoista
keskipisteet_D43=c(30.08182921,47.04318841,16.82619382)
sd(keskipisteet_D43)
```

## Liite 6: R-komennot matemaattisten mallien luomiseen ja arviointiin ja ennustaminen mallin avulla

### Viskositeettimalli:

```
minx = c(3,400,0.7)
maxx = c(10,800,2.4)
Z=cc.design(3,3,1.7)
z=decode(Z,minx,maxx,c("t","p","KMK"))

#Viskositeettitulokset
y=c(0.0097995,1.04,0.0078245,1.5455,0.0084535,0.7536,0.007761,1.278,0.080025,0.1
1075,0.04257,0.08965,0.1056,0.02861,0.29385,1.914,0.005362)

modell1.visk=quad.model.fit(Z,y,2)

modell1=modell1.visk
print(summary(modell1))
CV.plot(modell1)

windows()
CV.modell1 = CV.model(modell1)
qqxy = qqnorm(CV.modell1$CVresid,ylab="CV-predicted residuals",col="green")
text(qqxy$x,qqxy$y,1:17)
qqline(CV.modell1$CVresid,col="red")
```



## **Liite 6: R-komennot matemaattisten mallien luomiseen ja arviointiin ja ennustaminen mallin avulla**

```
#viskositeettimallin vastepintakuvat
par(mfrow=c(2,4))
for (t in seq(1,13,2)) {
quad.plot(model1,c(250,950),c(0.05,4),color.palette=topo.colors,seq(0,2,0.1),3,
c(2,3),t,minx,maxx)
title(sprintf('t = %i',t),
xlab=expression(paine),ylab=expression(KMK))
}

#Kanoninen analyysi
print(quad.cana(model1,3))

#Koevirheen laskeminen toistoista
keskipisteet_viskositeetti=c(0.080025,0.11075,0.04257)

sd(keskipisteet_viskositeetti)
```

## Liite 6: R-komennot matemaattisten mallien luomiseen ja arviointiin ja ennustaminen mallin avulla

### Stabiilisuusmalli:

```

minx = c(3,400,0.7)
maxx = c(10,800,2.4)
Z=cc.design(3,3,1.7)
z=decode(Z,minx,maxx,c("t","p","KMK"))

#creaming index –tulokset 26h:n jälkeen emulsion valmistamisesta
y=c(76.6666667,0,87.2222,0,83.3333333,0,90.8886667,0,0,0,0,0,0,0,97.778)

modell1.stab=quad.model.fit(Z,y,2)

modell1 = modell1.stab
print(summary(modell1))
CV.plot(modell1)

windows()
CV.modell1 = CV.model(modell1)
qqxy = qqnorm(CV.modell1$CVresid,ylab="CV-predicted residuals",col="green")
text(qqxy$x,qqxy$y,1:17)
qqline(CV.modell1$CVresid,col="red")

#stabiilisuusmallin vastepintakuvat
par(mfrow=c(2,4))
for (t in seq(1,13,2)) {
quad.plot(modell1,c(250,950),c(0.05,4),color.palette=topo.colors,seq(0,100,10),3,
c(2,3),t,minx,maxx)
title(sprintf('t = %i',t),
xlab=expression(paine),ylab=expression(KMK))
}

```

## **Liite 6: R-komennot matemaattisten mallien luomiseen ja arviointiin ja ennustaminen mallin avulla**

```
#Kanoninen analyysi  
print(quad.cana(model1,3))
```

```
#Koevirheen laskeminen toistoista  
keskipisteet_stabiilisuus=c(0,0,0)  
sd(keskipisteet_stabiilisuus)
```

## Liite 7: D<sub>43</sub>-malli ja kanoninen analyysi

### PAMAS D<sub>43</sub>

Call:

$$y \sim X1 + X2 + X3 + I(X1^2) + I(X1 * X2) + I(X2^2) + I(X1 * X3) + I(X2 * X3) + I(X3^2)$$

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-2.378e+01	-6.480e+00	-1.576e-07	8.667e+00	2.337e+01

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	30.4451	11.5472	2.637	0.033590 *
X1	-4.9516	5.3921	-0.918	0.389004
X2	-0.2647	5.3921	-0.049	0.962216
X3	31.5571	5.3921	5.852	0.000629 ***
I(X1^2)	0.3477	5.8782	0.059	0.954489
I(X1 * X2)	4.3586	7.0768	0.616	0.557447
I(X2^2)	5.3252	5.8782	0.906	0.395081
I(X1 * X3)	-5.6333	7.0768	-0.796	0.452166
I(X2 * X3)	-0.2712	7.0768	-0.038	0.970503
I(X3^2)	15.4934	5.8782	2.636	0.033630 *

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 20.02 on 7 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.8621, Adjusted R-squared: 0.6848

F-statistic: 4.863 on 9 and 7 DF, p-value: 0.02447

R<sup>2</sup> Q<sup>2</sup>

0.8621032 0.0603504

## Liite 7: D<sub>43</sub>-malli ja kanoninen analyysi

Kanoninen analyysi PAMAS D<sub>43</sub>:

\$b0

[1] 30.44078

\$b

[,1]

[1,] 31.9745218

[2,] -1.5956798

[3,] 0.4874585

\$B

[1] 15.9473810 6.0463284 -0.8658796

\$eigenvectors

[,1] [,2] [,3]

[1,] -0.18453670 -0.3097114 0.9327513

[2,] -0.05049459 -0.9448096 -0.3237052

[3,] 0.98152764 -0.1068344 0.1587133

\$Xs

[,1] [,2] [,3]

[1,] 0.4066828 -0.1651680 -0.9534045

\$ys

[1] 14.37686

\$r

[,1]

[1,] 57.631841

[2,] 6.648058

[3,] 1.209378

## Liite 8: Viskositeettimalli ja kanoninen analyysi

### Viskositeettimalli:

Call:

$$y \sim X1 + X2 + X3 + I(X1^2) + I(X1 * X2) + I(X2^2) + I(X1 * X3) + I(X2 * X3) + I(X3^2)$$

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.2959807	-0.0497096	0.0001815	0.1114583	0.1830270

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	0.071016	0.108280	0.656	0.532873
X1	-0.042266	0.050562	-0.836	0.430807
X2	0.041823	0.050562	0.827	0.435432
X3	0.568066	0.050562	11.235	9.88e-06 ***
I(X1^2)	0.041132	0.055120	0.746	0.479842
I(X1 * X2)	0.002523	0.066360	0.038	0.970736
I(X2^2)	0.063140	0.055120	1.146	0.289650
I(X1 * X3)	-0.069061	0.066360	-1.041	0.332616
I(X2 * X3)	0.129071	0.066360	1.945	0.092847 .
I(X3^2)	0.339421	0.055120	6.158	0.000464 ***

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.1877 on 7 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9609, Adjusted R-squared: 0.9107

F-statistic: 19.12 on 9 and 7 DF, p-value: 0.0003949

R^2 Q^2

0.9609113 0.7045456

## Liite 8: Viskositeettimalli ja kanoninen analyysi

Kanoninen analyysi viskositeetti:

\$b0

[1] 0.07101585

\$b

[,1]

[1,] 0.56518364

[2,] -0.06256426

[3,] 0.05373511

\$B

[1] 0.35729096 0.05352411 0.03287768

\$eigenvectors

[,1] [,2] [,3]

[1,] -0.1052510 0.4750920 0.8736188

[2,] 0.2126780 0.8689263 -0.4469173

[3,] 0.9714372 -0.1387610 0.1924970

\$Xs

[,1] [,2] [,3]

[1,] -0.3530058 0.7048499 -1.006745

\$ys

[1] -0.1927332

\$r

[,1]

[1,] 1.04209139

[2,] 0.12086228

[3,] 0.09870829

## Liite 9: Stabiilisuusmalli ja kanoninen analyysi

### Stabiilisuusmalli:

Call:

$$y \sim X1 + X2 + X3 + I(X1^2) + I(X1 * X2) + I(X2^2) + I(X1 * X3) + I(X2 * X3) + I(X3^2)$$

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-27.704	-12.140	1.054	6.587	17.167

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	-1.0541	11.4176	-0.092	0.929027
X1	0.7499	5.3316	0.141	0.892111
X2	1.3143	5.3316	0.247	0.812360
X3	-36.5989	5.3316	-6.865	0.000239 ***
I(X1^2)	5.3386	5.8122	0.919	0.388900
I(X1 * X2)	-0.3750	6.9974	-0.054	0.958755
I(X2^2)	5.3386	5.8122	0.919	0.388900
I(X1 * X3)	-1.2916	6.9974	-0.185	0.858785
I(X2 * X3)	-2.2639	6.9974	-0.324	0.755745
I(X3^2)	22.2552	5.8122	3.829	0.006466 **

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 19.79 on 7 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.8987, Adjusted R-squared: 0.7685

F-statistic: 6.902 on 9 and 7 DF, p-value: 0.009255

R^2 Q^2

0.8987270 0.2306014



## Liite 9: Stabiilisuusmalli ja kanoninen analyysi

### Kanoninen analyysi stabiilisuus:

\$b0

[1] -0.01054127

\$b

[,1]

[1,] 0.366085297

[2,] 0.002803735

[3,] 0.012285706

\$B

[1] 0.22354096 0.05520500 0.05057844

\$eigenvectors

[,1] [,2] [,3]

[1,] 0.03711962 0.74521601 -0.66578918

[2,] 0.06592375 -0.66662313 -0.74247402

[3,] -0.99713399 -0.01633097 -0.07387223

\$Xs

[,1] [,2] [,3]

[1,] 0.03154277 0.05312257 0.8258725

\$ys

[1] -0.1612042

\$r

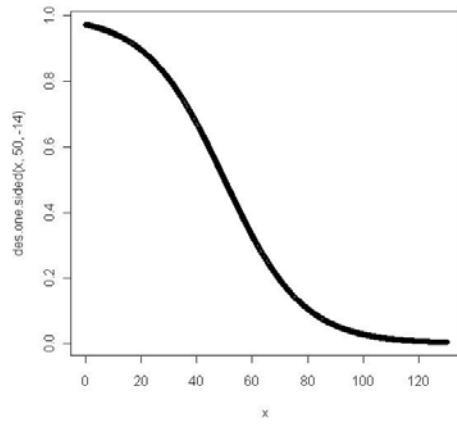
[,1]

[1,] 0.67232871

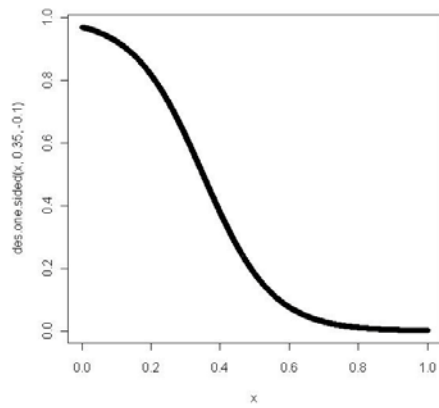
[2,] 0.05541818

[3,] 0.05487252

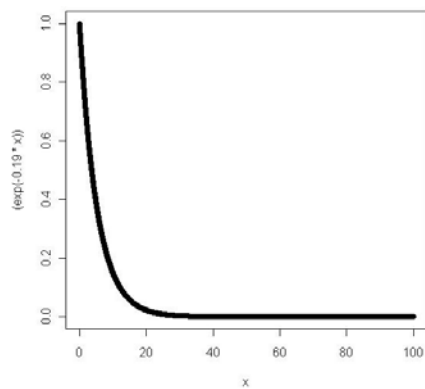
## Liite 10: Haluttavuusfunktiot



Kuva 24. Pisarakoon haluttavuuskäyrä



Kuva 25. Viskositeetin haluttavuuskäyrä



Kuva 26. Stabiilisuuden haluttavuuskäyrä

## Liite 11: Yhdistetyn haluttavuuden vastepintakuvan piirtäminen

```
npoints = 51
x = seq(260,940,length.out=npoints)
y = seq(0.105,2.995,length.out=npoints)
xy = meshgrid(x,y)
X = matrix(0,npoints^2,3)
X[,1] = matrix(rep(1,npoints^2),npoints^2,1)
X[,2] = matrix(xy$x,npoints^2,1)
X[,3] = matrix(xy$y,npoints^2,1)
X = data.frame(X)
names(X) = c('t','paine','KMK')
X = code(X,minx,maxx)
z1 = predict(model1.pamas43,X)
z2 = predict(model1.stab,X)
z3 = predict(model1.visk,X)
d1 = des.one.sided(z1,50,-14)
d2 = exp(-0.19*z2)
d3 = des.one.sided(z3,0.35,-0.1)
D = des.combined(d1,d2,d3)

d1 = t(matrix(d1,npoints,npoints))
d2 = t(matrix(d2,npoints,npoints))
d3 = t(matrix(d3,npoints,npoints))
D = t(matrix(D,npoints,npoints))
zlevels = seq(0,1,0.02)

color.palette = rainbow
```

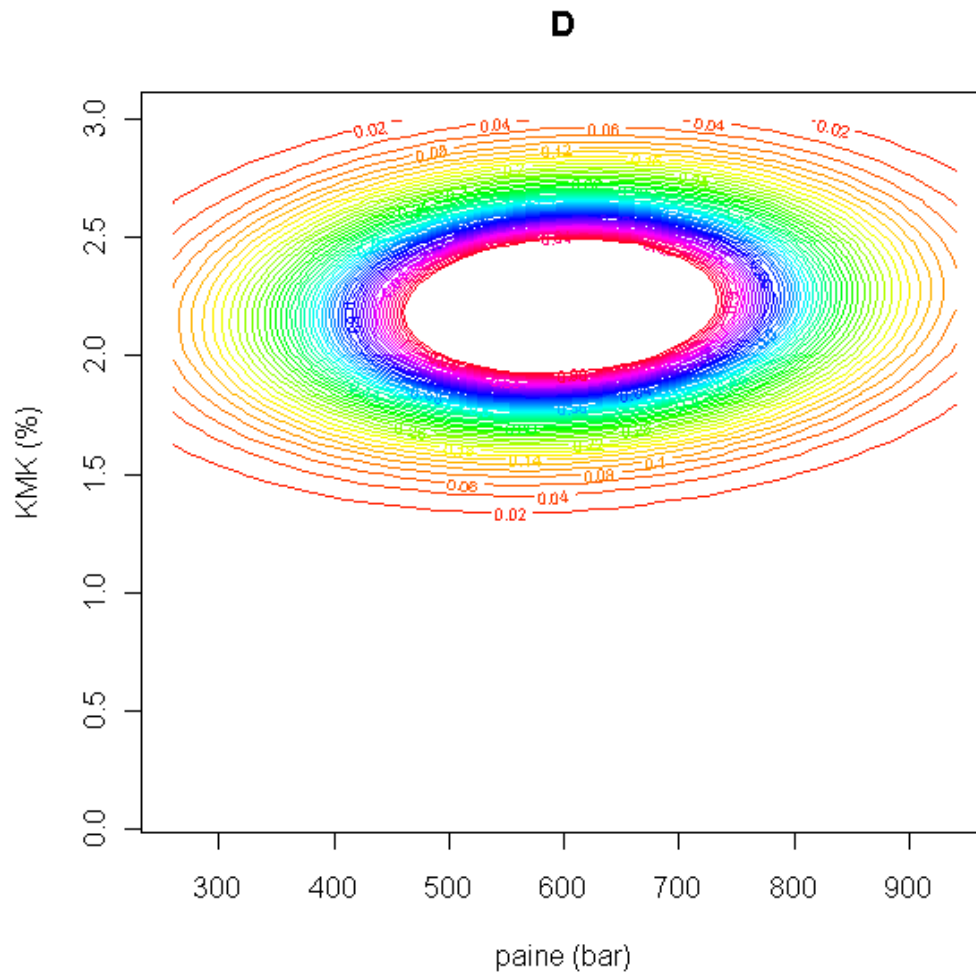
**Liite 11 : Yhdistetyn haluttavuuden vastepintakuvan piirtäminen**

```
zlevels = seq(0,1,0.02)
color.palette = rainbow
contour(x,y,d1,levels=zlevels,
col=color.palette(length(zlevels)))
title(main=expression(d[D43]),xlab='paine (bar)',ylab='KMK (%)')
windows()
contour(x,y,d2,levels=zlevels,
col=color.palette(length(zlevels)))
title(main=expression(d[stabiilisuus]),xlab='paine (bar)',ylab='KMK (%)')
windows()
contour(x,y,d3,levels=zlevels,
col=color.palette(length(zlevels)))
title(main=expression(d[viskositeetti]),xlab='paine (bar)',ylab='KMK (%)')
windows()

#Painottaminen
#D = d1^0.2*d2^0.4*d3^0.4

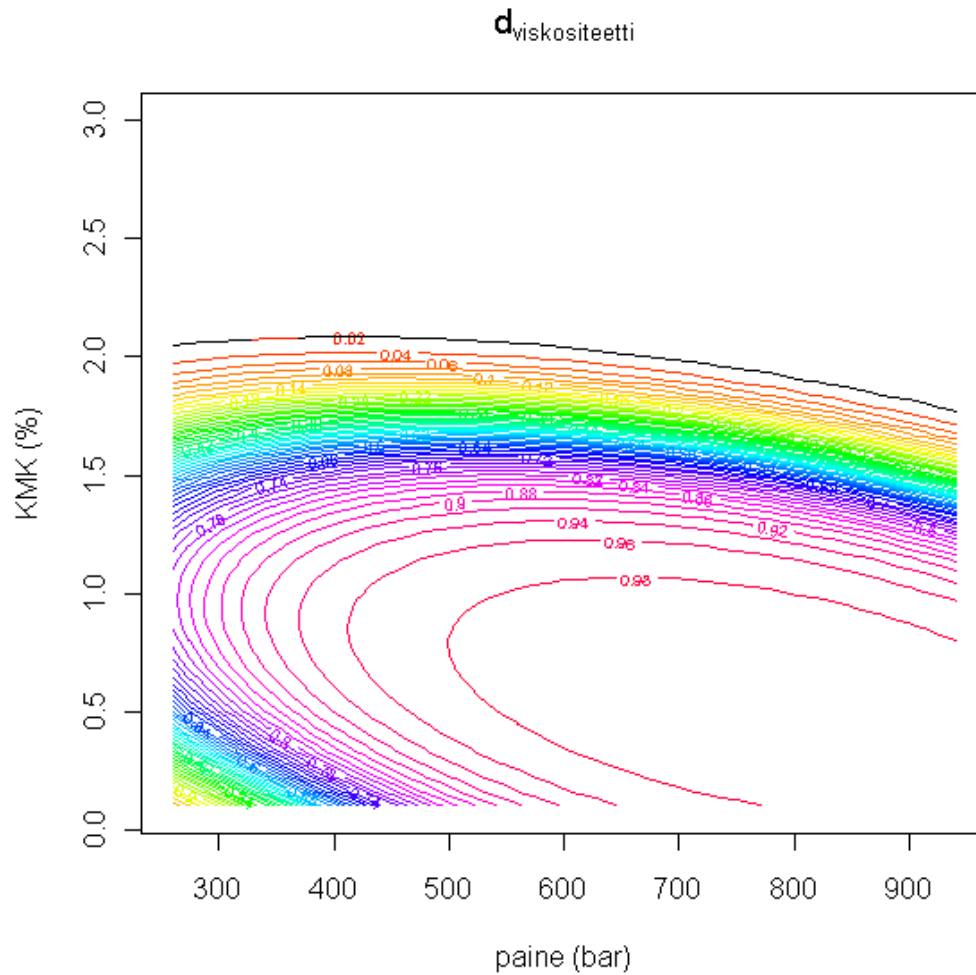
contour(x,y,D,levels=zlevels,
col=color.palette(length(zlevels)))
title(main='D',xlab='paine (bar)',ylab='KMK (%)')
```

**Liite 12: Yhdistetyn haluttavuuden vastepintakuva ilman  $D_{43}$ -mallia ja haluttavuusvastepinnat vain viskositeetin, stabiilisuuden sekä pisarakoon suhteen**



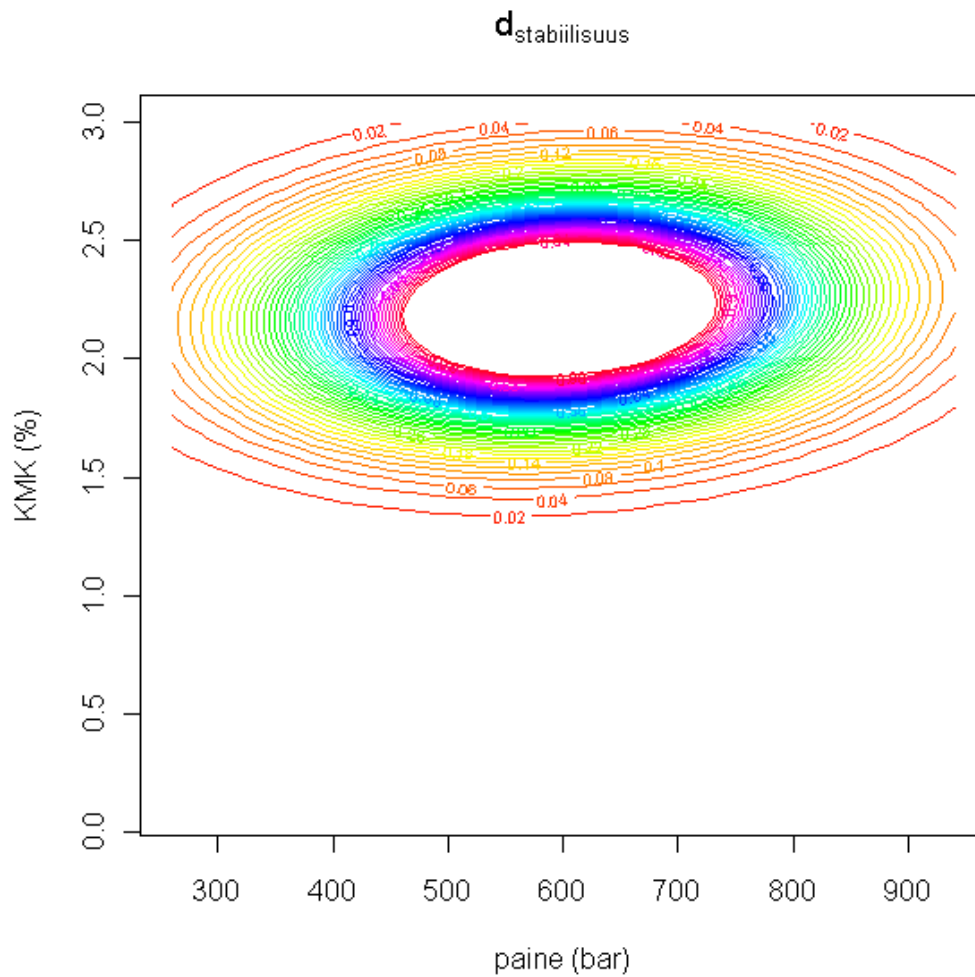
*Kuva 27. Yhdistetty haluttavuusvastepintakuva. Vain stabiilisuus ja viskositeetti on otettu huomioon. Ainoastaan KMK:n pitoisuuden optimia voidaan arvioida kuvan perusteella.*

**Liite 12: Yhdistetyn haluttavuuden vastepinta ilman D43-mallia ja haluttavuusvastepinnat vain viskositeetin, stabiilisuuden sekä pisarakoon suhteen**



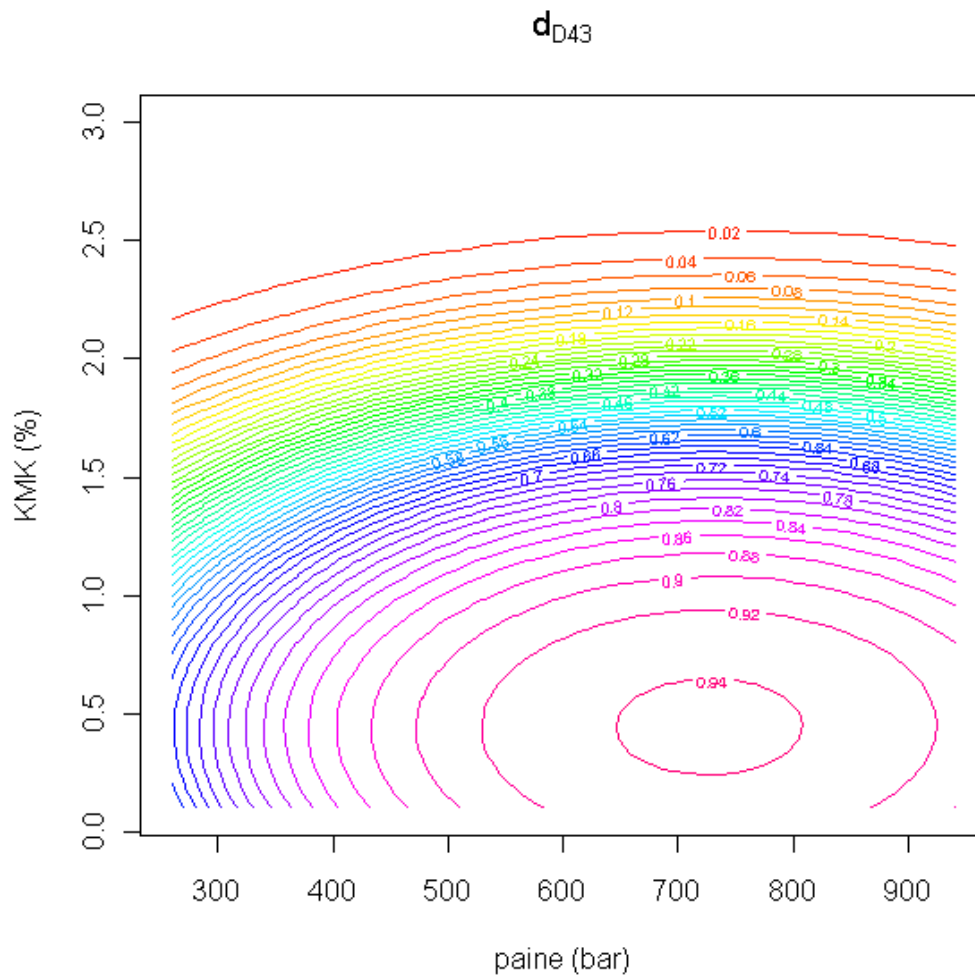
*Kuva 28. Haluttavuusvastepinta viskositeetin suhteen. Ainoastaan KMK:n pitoisuuden optimia voidaan arvioida kuvan perusteella.*

**Liite 12: Yhdistetyn haluttavuuden vastepinta ilman D43-mallia ja haluttavuusvastepinnat vain viskositeetin, stabiilisuuden sekä pisarakoon suhteen**



*Kuva 29. Haluttavuusvastepinta stabiilisuuden suhteen. Ainoastaan KMK:n pitoisuuden optimia voidaan arvioida kuvan perusteella.*

**Liite 12: Yhdistetyn haluttavuuden vastepinta ilman D43-mallia ja haluttavuusvastepinnat vain viskositeetin, stabiilisuuden sekä pisarakoon suhteen**



*Kuva 30. Haluttavuusvastepinta keskimääräisen pisarakoon suhteen. Ainoastaan KMK:n pitoisuuden optimia voidaan arvioida kuvan perusteella.*



## Liite 13: Koesuunnitelma 2

Taulukko 21. Koesuunnitelma 2.

emulsio	t (min)	p (bar)	KMK (%)	ohje		
<b>1</b>	10	600	2	<b>2,0 % KMK</b>		<b>punnitukset</b>
					g	g
				KMK	3	3,001
				KMS	28,33158	28,333
				vesi	111,1684	111,168
				öljy	7,5	7,5
				yht	150	
<b>2</b>	10	600	1,7	<b>1,7 % KMK</b>		
					g	g
				KMK	2,55	2,5501
				KMS	28,80378	28,805
				vesi	111,1462	111,146
				öljy	7,5	7,49
				yht	150	
<b>3</b>	10	600	2,3	<b>2,3 % KMK</b>		
					g	g
				KMK	3,45	3,4501
				KMS	27,85939	27,86
				vesi	111,1906	111,191
				öljy	7,5	7,5
				yht	150	

**Liite 13: Koesuunnitelma 2**

emulsio	t (min)	p (bar)	KMK (%)	ohje		
4	10	600	2	<b>2,0 % KMK</b>		<b>punnitukset</b>
					g	g
				KMK	3	3,0009
				KMS	28,33158	28,332
				vesi	111,1684	111,168
				öljy	7,5	7,51
				yht	150	

#Keskihajonnat

$x=c(0.6933,0.6828)$

sd(x)

[1] 0.007424621

$y=c(29.57,40.305)$

sd(y)

[1] 7.590791

$z=c(0,0)$

sd(0)

[1] 0

### Liite 14 : Koesuunnitelma 3

Taulukko 22. Koesuunnitelma 3.

emulsio	t (min)	p (bar)	KMK (%)	ohje		
<b>5</b>		600	1,4	<b>1,4 % KMK</b>	<b>punnitukset</b>	
					g	g
				KMK	<b>2,1</b>	2,1009
				KMS	29,27597	29,277
				vesi	111,124	111,124
				öljy	7,5	7,5
				yht	150	
<b>6</b>		600	1,55	<b>1,55 % KMK</b>	<b>punnitukset</b>	
					g	g
				KMK	<b>2,325</b>	2,3253
				KMS	29,03987	29,04
				vesi	111,1351	111,136
				öljy	7,5	7,5
				yht	150	

## Liite 15: Koesuunnitelma 4

Taulukko 23. Koesuunnitelma 4.

emulsio	t (min)	p (bar)	KMK (%)	ohje		
<b>7</b>	5	600	1,55	<b>1,55 % KMK</b>		<b>punnitukset</b>
					g	g
				KMK	<b>2,325</b>	2,3252
				KMS	29,03987	29,04
				vesi	111,1351	111,135
				öljy	7,5	7,49
				yht	150	
<b>8</b>	10	600	1,25	<b>1,25 % KMK</b>		
					g	g
				KMK	<b>1,875</b>	1,8751
				KMS	29,51207	29,512
				vesi	111,1129	111,113
				öljy	7,5	7,49
				yht	150	
<b>9</b>	10	600	1,55	<b>1,55 % KMK</b>		
					g	g
				KMK	<b>2,325</b>	2,3252
				KMS	29,03987	29,04
				vesi	111,1351	111,135
				öljy	7,5	7,49
				yht	150	

**Liite 15: Koesuunnitelma 4**

emulsio	t (min)	p (bar)	KMK (%)	ohje		
<b>10</b>	10	300	1,55	<b>1,55 % KMK</b>		<b>punnitukset</b>
					g	g
				KMK	<b>2,325</b>	2,3252
				KMS	29,03987	29,04
				vesi	111,1351	111,135
				öljy	7,5	7,49
				yht	150	

#keskihajonnat

b=c(0.0294,0.0526)

sd(b)

[1] 0.01640488

a=c(9.465,11.45)

sd(a)

[1] 1.403607

k=c(0,0)

sd(k)

[1] 0

## Liite 16: Koesuunnitelma 5

Taulukko 24. Koesuunnitelma 5.

emulsio	t (min)	p (bar)	KMK (%)	ohje		
<b>11</b>	10	500	1,55	<b>1,55 % KMK</b>		<b>punnitukset</b>
					g	g
				KMK	2,325	2,3252
				KMS	29,03987	29,04
				vesi	111,1351	111,135
				öljy	7,5	7,49
				yht	150	
<b>12</b>	10	400	1,55	<b>1,55 % KMK</b>		
					g	g
				KMK	2,325	2,3257
				KMS	29,03987	29,041
				vesi	111,1351	111,135
				öljy	7,5	7,5
				yht	150	

## Liite 17: Jatkokokeet ja niiden tulokset

Taulukko 25. Jatkokokeet ja niiden tulokset.

emulsio	t (min)	p (bar)	KMK (%)	D <sub>43</sub> (µm)	K-arvo [Pa s <sup>n</sup> ]	Kermoittumisindeksi 26 h (%)
1	10	600	2,0	29,6 ± 1,3	0,693 ± 0,021	0,00 ± 0,00
2	10	600	1,7	19,5 ± 4,2	0,210 ± 0,005	0,00 ± 0,00
3	10	600	2,3	50,0 ± 0,5	0,858 ± 0,008	2,78 ± 0,96
4	10	600	2,0	40,3 ± 3,0	0,683 ± 0,002	0,00 ± 0,00
5	10	600	1,4	14,8 ± 0,6	0,081 ± 0,002	0,00 ± 0,00
6	10	600	1,55	9,5 ± 0,3	0,029 ± 0,000	0,00 ± 0,00
7	5	600	1,55	13,1 ± 1,2	0,076 ± 0,001	0,00 ± 0,00
8	10	600	1,25	12,4 ± 0,0	0,014 ± 0,000	46,67 ± 6,67
9	10	600	1,55	11,5 ± 0,0	0,053 ± 0,002	0,00 ± 0,00
10	10	300	1,55	19,9 ± 1,2	0,300 ± 0,002	0,00 ± 0,00
11	10	500	1,55	13,0 ± 0,5	0,110 ± 0,005	0,00 ± 0,00
12	10	400	1,55	14,2 ± 0,3	0,288 ± 0,009	0,00 ± 0,00