

# Elintarviketieteiden valintakoe 29.05.2023

## Osa 1

Vastaa kysymykseen tehtävänannossa mainitun aineiston perusteella, jos aineisto on mainittu. Joissain tehtävissä saatat tarvita vastaamiseen (myös) taitoja ja tietoja, joita ei aineistosta löydy.

Jotkut kysymykset sisältävät laskuja. Laskuissa mahdollisesti tarvittavia lisätietoja löytyy liitteestä 4. Laskemiseen voi käyttää valintakoejärjestelmän laskinta.

Osan 1 kysymykset ovat monivalintatehtäviä tai oikein/väärin-väittämiä. Vastausvaihtoehtojen määrä voi vaihdella. Kussakin tehtävässä kuitenkin vain yksi vastausvaihtoehto pitää paikkansa ja näin ollen voit valita jokaisessa kohdassa vain yhden vastausvaihtoehdon.

Oikeasta vastauksesta saatava pistemäärä on ilmoitettu kysymyksen yhteydessä. Väärästä vastauksesta saa -0,5 tai -1 pistettä. Vastaamatta jättämisestä saa 0 pistettä.

**Liite 1** Torp AM, Bahl MI, Boisen A, Licht TR (2022). Optimizing oral delivery of next generation probiotics. *Trends in Food Science & Technology*, 199, 101–109. [Linkki aineistoon](#) tai [Linkki pdf-tiedostoon](#).

**Liite 2** Pupa P, Apiwatsiri P, Sirichokchatchawan W, Pirarat N, Muangsin N, Shah AA, Prapasarakul N (2021). The efficacy of three double microencapsulation methods for preservation of probiotic bacteria. *Scientific Reports*, 11:13753. [Linkki aineistoon](#) tai [Linkki pdf-tiedostoon](#).

**Liite 3** Sanasto. [Linkki pdf-tiedostoon](#).

### Laskin

Tässä osiossa on käytössä funktiolaskin, jonka voi avata oikeassa reunassa olevasta Laskin-painikkeesta. Laskimen voi piilottaa painamalla avatun laskimen vasemmassa reunassa olevaa punaista x-merkkiä. Laskimen piilottaminen ei hävitä laskimen näytöllä olevaa laskutoimitusta. Laskutoimitukset saa osin syötettyä myös näppäimistöltä.

### Tehtävä 1.1

Vastaa liitteen 1 perusteella. Mikä seuraavista probioottiin liittyvistä väitteistä on oikein?

(1 p, väärästä vastauksesta -0,5 p)

1	-0.5	Kuidut ovat hyviä probiootteja.
2	-0.5	Vain muutamilla probiooteilla on terveysvaikutuksia.
3	1	<b>Uusia probiootteja etsitään ihmisen suolistomikrobistosta. (oikea vastaus)</b>
4	-0.5	Sappisuolat edistävät probioottien tarttumista suolen pintaan.
–	0	<i>Ei vastausta</i>

### Tehtävä 1.2

Vastaa liitteen 1 perusteella. Mikä seuraavista bifidobakteereihin liittyvistä väitteistä on oikein?

(1 p, väärästä vastauksesta -0,5 p)

1	-0.5	Ne kuolevat hapen vaikutuksesta.
2	-0.5	Ne estävät ihmistä lihomasta.
3	-0.5	Niitä käytetään probiootteina erityisesti kotieläintuotannossa.
<b>4</b>	<b>1</b>	<b>Ne ovat gram-positiivisia. (oikea vastaus)</b>
5	-0.5	Ne eivät kestä sumutuskuivausta.
–	0	<i>Ei vastausta</i>

### Tehtävä 1.3

Vastaa liitteen 1 perusteella. Merkitse, onko väittämä artikkelin perusteella oikein vai väärin.

(á 1 p, yhteensä 4 p; väärästä vastauksesta á -0,5 p)

**Väittämä 1:** Probiootit vaativat aina täysin anaerobisia olosuhteita.

1	-0.5	Oikein
<b>2</b>	<b>1</b>	<b>Väärin (oikea vastaus)</b>
–	0	<i>Ei vastausta</i>

**Väittämä 2:** Sumutuskuivaus on hyvä tapa prosessoida erityisesti hapelle herkkiä probiootteja.

1	-0.5	Oikein
<b>2</b>	<b>1</b>	<b>Väärin (oikea vastaus)</b>
–	0	<i>Ei vastausta</i>

**Väittämä 3:** Antioksidantit poistavat happea probioottivalmisteesta.

1	-0.5	Oikein
<b>2</b>	<b>1</b>	<b>Väärin (oikea vastaus)</b>
–	0	<i>Ei vastausta</i>

**Väittämä 4:** Happi voi aiheuttaa vahinkoa bakteereille.

1	1	Oikein (oikea vastaus)
2	-0.5	Väärin
-	0	Ei vastausta

#### Tehtävä 1.4

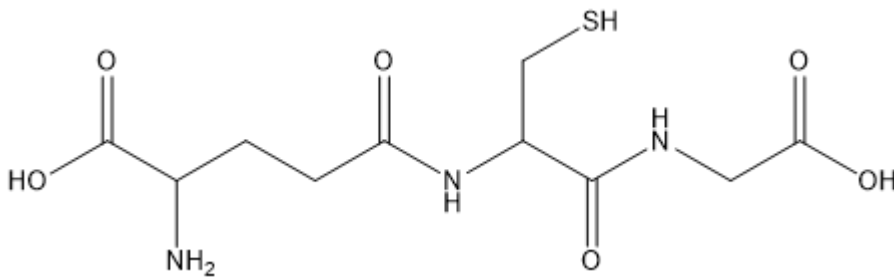
Vastaa liitteen 1 perusteella. Mikä oheisista anaerobisten probioottien pakkaskuivaukseen liittyvistä väitteistä on väärin?

(1 p, väärästä vastauksesta -0,5 p)

1	-0.5	Soluja jäädytetään -20 – -80 °C:een.
2	-0.5	Vesi sublimoituu kiinteästä tilasta kaasuksi.
3	1	<b>Askorbiinihappoa voidaan käyttää suojaamaan osmoottiselta paineelta. (oikea vastaus)</b>
4	-0.5	Kysteiiniä ja riboflaviinia voidaan käyttää suojaamaan hapen vaikutukselta.
5	-0.5	Erilliset voimakkaat lämpö- ja kylmäsittelyt voivat parantaa pakkaskuivauskestävyyttä.
-	0	Ei vastausta

#### Tehtävä 1.5

Kuvassa on glutationi. Mikä seuraavista sitä koskevista väitteistä on oikein?



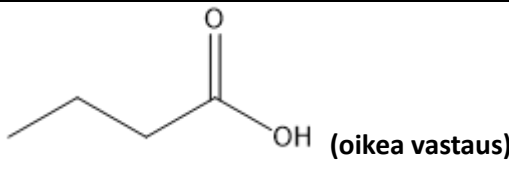
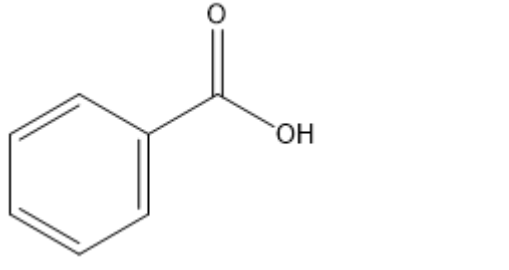
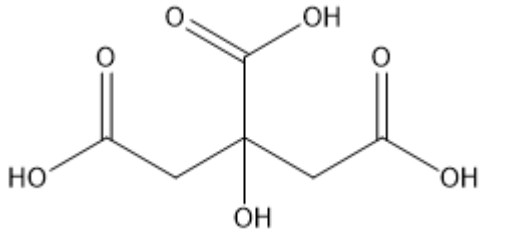
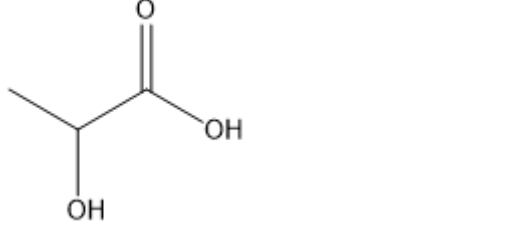
(1 p, väärästä vastauksesta -0,5 p)

1	-0.5	Glutationi on pitkäketjuinen aminohappo.
2	-0.5	Glutationimolekyylissä on yksi peptidisidos.
3	1	<b>Glutationi voi parantaa mikrobien pysymistä elinvoimaisina pakkaskuivauksessa. (oikea vastaus)</b>
4	-0.5	Glutationi on kahden arvoinen rasvahappo.
-	0	Ei vastausta

### Tehtävä 1.6

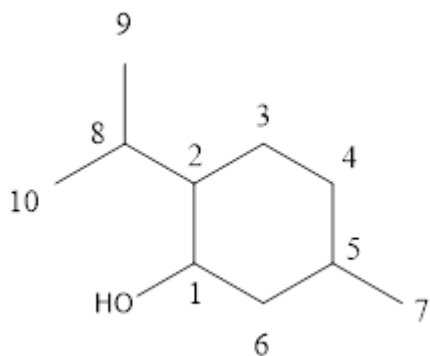
Mikä seuraavista yhdisteistä on lyhytketjuinen rasvahappo?

(2 p, väärästä vastauksesta -1 p)

1	2	 <chem>CCCC(=O)O</chem> (oikea vastaus)
2	-1	 <chem>c1ccccc1C(=O)O</chem>
3	-1	 <chem>OC(=O)CC(O)(CC(=O)O)C(=O)O</chem>
4	-1	 <chem>CC(O)C(=O)O</chem>
-	0	<i>Ei vastausta</i>

### Tehtävä 1.7

Kuinka monta kiraalista hiiltä on kuvan mentolimolekyylissä?



(2 p, väärästä vastauksesta -1 p)

1	-1	Ei yhtään
2	-1	Yksi
3	-1	Kaksi
4	2	<b>Kolme (oikea vastaus)</b>
5	-1	Neljä
6	-1	Viisi
7	-1	Kuusi
8	-1	Seitsemän
9	-1	Kahdeksan
10	-1	Yhdeksän
11	-1	Kymmenen
-	0	<i>Ei vastausta</i>

### Tehtävä 1.8

Vastaa liitteen 2 perusteella. Merkitse, onko väittämä artikkelin perusteella oikein vai väärin.

(á 1 p, yhteensä 4 p; väärästä vastauksesta á -0,5 p)

**Väittämä 1:** Sumutuskuivauksella saatiin mikrokapseloitua enemmän maitohappobakteereja kuin muilla menetelmillä.

1	-0.5	Oikein
2	1	<b>Väärin (oikea vastaus)</b>
–	0	<i>Ei vastausta</i>

**Väittämä 2:** Ekstruusiolla valmistetut mikrokapselit olivat suurempia kuin muilla menetelmillä valmistetut mikrokapselit.

1	1	<b>Oikein (oikea vastaus)</b>
2	-0.5	Väärin
–	0	<i>Ei vastausta</i>

**Väittämä 3:** Ekstruusiolla valmistetut mikrokapselit olivat rakenteeltaan hiutalemaisasia.

1	-0.5	Oikein
2	1	<b>Väärin (oikea vastaus)</b>
–	0	<i>Ei vastausta</i>

**Väittämä 4:** Kapselointitehokkuus ei eronnut merkitsevästi kapseloitaessa eri maitohappobakteereja ekstruusiomenetelmällä.

1	1	<b>Oikein (oikea vastaus)</b>
2	-0.5	Väärin
–	0	<i>Ei vastausta</i>

### Tehtävä 1.9

Vastaa liitteen 2 perusteella. Merkitse, onko väittämä artikkelin perusteella oikein vai väärin.

(á 1 p, yhteensä 4 p; väärästä vastauksesta á -0,5 p)

**Väittämä 1:** Probiootin todettiin sietävän happamuutta ja sappea silloin, kun sen pesäkeluku oli yli 1000 pmy/ml hapossa ja sapessa inkuboinnin jälkeen.

1	-0.5	Oikein
2	1	<b>Väärin (oikea vastaus)</b>
–	0	<i>Ei vastausta</i>

**Väittämä 2:** Sekä ekstrudoidut että sumutuskuivatut probiootit kykenivät sietämään happoa ja sappea kuuden kuukauden säilytyksen ajan.

1	1	<b>Oikein (oikea vastaus)</b>
2	-0.5	Väärin
–	0	<i>Ei vastausta</i>

**Väittämä 3:** Kapseloimattomat probiootit säilyivät huoneenlämmössä kuuden kuukauden ajan yhtä elinkelpoisina kuin kapseloidut probiootit.

1	-0.5	Oikein
2	1	<b>Väärin (oikea vastaus)</b>
–	0	<i>Ei vastausta</i>

**Väittämä 4:** Kapseloitujen probioottien elinkelpoisuuden välillä ei havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja kuusi kuukautta kestäneen huoneenlämmössä säilyttämisen jälkeen.

1	-0.5	Oikein
2	1	<b>Väärin (oikea vastaus)</b>
–	0	<i>Ei vastausta</i>

### Tehtävä 1.10

Vastaa liitteen 1 perusteella. Mikä seuraavista tekijöistä voi suojata probioottia ja edesauttaa sen pysymistä elävänä?

(1 p, väärästä vastauksesta -0,5 p)

1	-0.5	Mahalaukun matala pH.
<b>2</b>	<b>1</b>	<b>Probiootin mikrokapselointi. (oikea vastaus)</b>
3	-0.5	Erilaiset kuumennuskäsittelyt.
4	-0.5	Probioottien sitominen sappisuoloihin.
–	0	<i>Ei vastausta</i>

### Tehtävä 1.11

Vastaa liitteen 1 perusteella. Mikä seuraavista kolonisaatioestettä koskevista vaihtoehdoista on väärin?

(1 p, väärästä vastauksesta -0,5 p)

1	-0.5	Se suojaa patogeenien hyökkäyksiltä.
2	-0.5	Se perustuu mikrobien kilpailuun.
3	-0.5	Probiootilla voi olla hyödyllinen vaikutus suolistossa, vaikka se pysyvästi tarttuisikaan suoliston pintaan.
<b>4</b>	<b>1</b>	<b>Se varmistaa probioottien tarttumisen suolen pintaan. (oikea vastaus)</b>
–	0	<i>Ei vastausta</i>

### Tehtävä 1.12

Vastaa liitteen 1 perusteella. Mikä seuraavista väitteistä on oikein?

(1 p, väärästä vastauksesta -0,5 p)

1	-0.5	Pastörinti parantaa bakteerien elinvoimaa.
2	-0.5	Autoklavointi on hellävaraisempi käsittely kuin pastörinti.
3	-0.5	Pakkaskuivauksessa nestemäinen vesi höyrystyy.
<b>4</b>	<b>1</b>	<b>Pakkaskuivausmenetelmä on keksitty yli 100 vuotta sitten. (oikea vastaus)</b>
–	0	<i>Ei vastausta</i>



### Tehtävä 1.13

Vastaa liitteen 1 perusteella. Merkitse, onko väittämä artikkelin perusteella oikein vai väärin.

(á 1 p, yhteensä 4 p; väärästä vastauksesta á -0,5 p)

**Väittämä 1:** Solunsisäisen veden poistaminen pakkaskuivauksen aikana aiheuttaa mikrobeille stressiä.

1	1	Oikein (oikea vastaus)
2	-0.5	Väärin
–	0	<i>Ei vastausta</i>

**Väittämä 2:** Jääkiteiden muodostuminen sumutuskuivauksen aikana aiheuttaa mikrobeille stressiä.

1	-0.5	Oikein
2	1	Väärin (oikea vastaus)
–	0	<i>Ei vastausta</i>

**Väittämä 3:** Suojaavien aineiden lisääminen ennen kuivausta aiheuttaa mikrobeille stressiä.

1	-0.5	Oikein
2	1	Väärin (oikea vastaus)
–	0	<i>Ei vastausta</i>

**Väittämä 4:** Mekaaninen käsittely aiheuttaa mikrobeille stressiä.

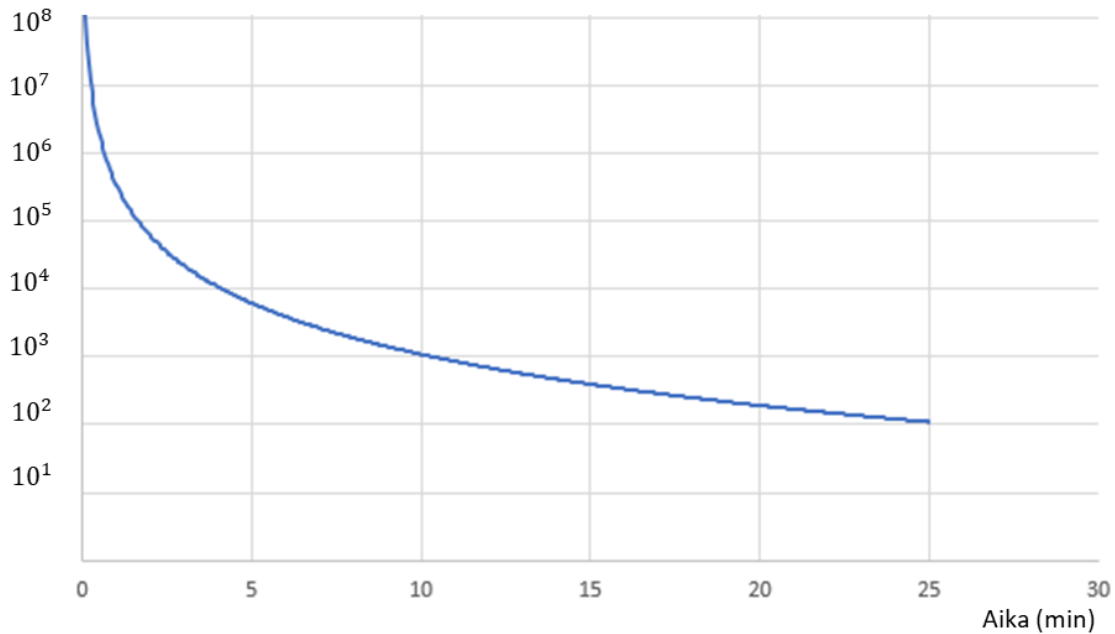
1	1	Oikein (oikea vastaus)
2	-0.5	Väärin
–	0	<i>Ei vastausta</i>

### Tehtävä 1.14

Alla oleva kuvaaja esittää bakteerin eloonjäämistä tietyissä kasvatusoloissa: Elävien bakteerien lukumäärä väheni kuvaajan mukaisesti. Vastaa kohtiin a ja b kuvaajan perusteella.

(a-kohta 2 p, b-kohta 1 p, yhteensä 3 p; väärästä vastauksesta a-kohdassa -1 p ja b-kohdassa -0,5 p)

Bakteerien lukumäärä



#### 1.14 a)

Bakteereista oli tässä kokeessa elossa 10 minuutin kuluttua:

(2 p, väärästä vastauksesta -1 p)

1	-1	38 %
2	-1	10 %
3	-1	1 %
4	-1	0,01 %
5	2	<b>0,001 % (oikea vastaus)</b>
6	-1	0,00001 %
–	0	<i>Ei vastausta</i>

### 1.14 b)

Bakteerien tuhoutuminen oli nopeinta aikayksikköä kohden aikavälillä:

(1 p, väärästä vastauksesta -0,5 p)

1	-0.5	15–25 min
2	1	<b>0–5 min (oikea vastaus)</b>
3	-0.5	10–20 min
4	-0.5	Ei voi päätellä kuvaajan perusteella.
–	0	<i>Ei vastausta</i>

## Osa 2

Vastaa kysymykseen tehtävänannossa mainitun aineiston perusteella, jos aineisto on mainittu. Joissain tehtävissä saatat tarvita vastaamiseen (myös) tietoja, joita ei aineistosta löydy.

Kirjoita vastauksesi sanallisesti vastattaviin tehtäviin selkeästi käyttäen oikeakielisiä kokonaisia virkkeitä, ei esimerkiksi luettelaviivoja tai pelkästään listoja. Vastauksesi selkeys ja oikeakielisyys otetaan huomioon joidenkin tehtävien arvioinnissa ("kieli").

Jotkut kysymykset sisältävät laskuja. Laskuissa mahdollisesti tarvittavia lisätietoja löytyy liitteestä 4. Laskemiseen voi käyttää valintakoejärjestelmän laskinta. Merkitse laskutehtävissä välivaiheet näkyviin ja pidä yksiköt mukana laskuissa.

Anna lopullinen vastaus tehtävässä pyydetyllä tavalla.

Tehtävien välivaiheita merkitessä käytä seuraavia merkintöjä:

- yhtä suuri kuin = (esim.  $x = y$ )
- yhteenlasku + (esim.  $x + y$ )
- vähennyslasku – (esim.  $x - y$ )
- kertolasku \* (esim.  $x * y$  tai  $x * (-y)$ )
- jakolasku / (esim.  $x / y$ )
- potenssilasku, eksponentti ^ (esim.  $x ^ y$  tai  $x ^{-y}$ )

Jos käytät yllä olevista eriäviä merkintöjä, selvennä merkit vastauksen alussa.

Jokaisen vastauksen kohdalla on määritelty vastauksen enimmäispituus merkkeinä (mukaan lukien välilyönnit).

**Liite 1** Torp AM, Bahl MI, Boisen A, Licht TR (2022). Optimizing oral delivery of next generation probiotics. *Trends in Food Science & Technology*, 199, 101–109. [Linkki aineistoon](#) tai [Linkki pdf-tiedostoon](#).

**Liite 2** Pupa P, Apiwatsiri P, Sirichokchatchawan W, Pirarat N, Muangsin N, Shah AA, Prapasarakul N (2021). The efficacy of three double microencapsulation methods for preservation of probiotic bacteria. *Scientific Reports*, 11:13753. [Linkki aineistoon](#) tai [Linkki pdf-tiedostoon](#).

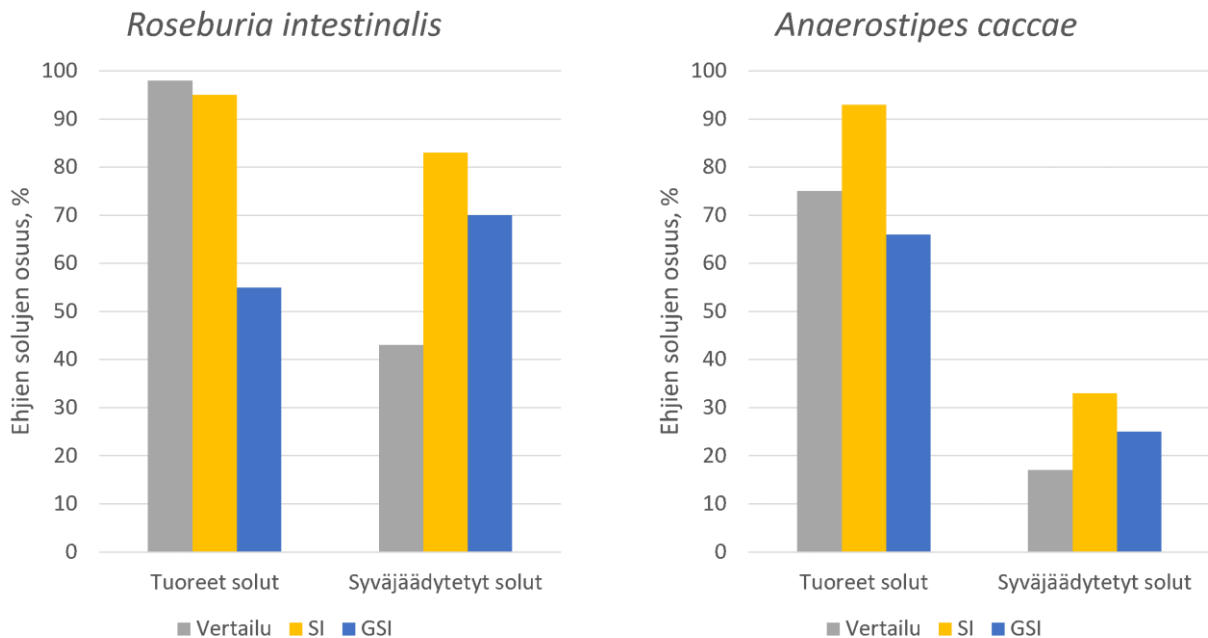
**Liite 3** Sanasto. [Linkki pdf-tiedostoon](#).

## Laskin

Tässä osiossa on käytössä funktiolaskin, jonka voi avata oikeassa reunassa olevasta Laskin-painikkeesta. Laskimen voi piilottaa painamalla avatun laskimen vasemmassa reunassa olevaa punaista x-merkkiä. Laskimen piilottaminen ei hävitä laskimen näytöllä olevaa laskutoimitusta. Laskutoimitukset saa osin syötettyä myös näppäimistöltä.

## Tehtävä 2.1

Tulkitse oheinen kuva, joka käsittelee *Roseburia intestinalis* ja *Anaerostipes caccae* -solujen varastointikestävyyttä syväjäädätyksen (-80 °C) ja sitä seuranneen 3 kk:n varastoinnin aikana 4 °C:ssa. Varastointikestävyyttä selvitettiin liettämällä solut erilaisiin elatusaineisiin. Varastoitujen solujen elinkelpoisuutta verrattiin tuoreisiin soluihin, jotka olivat samoissa elatusaineissa. Solujen vertailuelatusaineena ("Vertailu") oli fosfaattipuskuri. Muihin elatusaineisiin oli lisätty joko sakkaroosia ja inuliinia ("SI") tai sakkaroosia, inuliinia ja glyserolia ("GSI"). Solujen elinkelpoisuutta kuvattiin ehjien solujen osuuksilla.



Pisteytys: 0–5 pistettä.

## Mallivastaus 2.1

Vastauksessa tulisi tulkita kolme asiaa (a–c). Alla on esitetty tulkittavat asiat ja esimerkit kunkin kohdan tulkinnoista.

**a)** Esitellä, miten elatusaineet vaikuttivat tuoreiden ja pakkaskuivattujen *Roseburia intestinalis* -solujen elinkelpoisuuteen? (2 p)

**b)** Esitellä, miten elatusaineet vaikuttivat tuoreiden ja pakkaskuivattujen *Anaerostipes caccae* -solujen elinkelpoisuuteen? (2 p)

**c)** Vertailla *Roseburia intestinalis* ja *Anaerostipes caccae* -solujen elinkelpoisuuksien eri elatusaineissa tuoreissa tai syväjäädytetyissä soluissa. (1 p)

**a)** Vertailuelatusaineessa tuoreet *Roseburia intestinalis* -solut säilyttivät elinkelpoisuutensa lähes 100 prosenttisesti. Sakkaroosin ja inuliinin lisäys heikensi solujen elinkelpoisuutta vain vähän ollen noin 95 %. Sen sijaan, jos elatusaineeseen oli lisätty sakkaroosin ja inuliinin lisäksi myös glyserolia, solujen elinkelpoisuus pieneni noin 55 prosenttiin.

Syväjäädytys heikensi solujen elinkelpoisuutta suuresti. Vertailuelatusaineessa solujen elinkelpoisuus heikkeni hieman yli 40 prosenttiin, kun taas elatusaineissa, joihin oli lisätty sakkaroosia ja inuliinia, elinkelpoisuus säilyi hyvänä ollen hieman yli 80 %, ja elatusaineissa, joihin oli lisätty edellisten lisäksi myös glyserolia, elinkelpoisuus oli myös hyvä (70 %).

Vertailuelatusaineeseen tehdyt lisäykset paransivat selvästi *Roseburia intestinalis* -solujen elinkelpoisuutta syväjäädytyksen ja sitä seuranneen varastoinnin aikana, kun taas tuoreissa soluissa sakkaroosin, inuliinin ja glyserolin lisäys heikensi solujen elinkelpoisuutta.

**b)** Elatusaineesta riippumatta tuoreiden *Anaerostipes caccae* -solujen elinkelpoisuus pieneni noin 65 prosentista noin 92 prosenttiin. Paras elinkelpoisuus oli tuoreissa soluissa, jotka oli siirretty sakkaroosia ja inuliinia sisältävään elatusaineeseen. Heikoin elinkelpoisuus oli soluissa, joiden elatusaineeseen oli lisätty sakkaroosia, inuliinia ja glyserolia.

Syväjäädytys heikensi solujen elinkelpoisuutta suuresti. Vertailuelatusaineessa solujen elinkelpoisuus heikkeni alle 20 prosenttiin. Parhaiten solut säilyivät elatusaineessa, johon oli lisätty sakkaroosia ja inuliinia (noin 32 %). Kun elatusaineeseen lisättiin myös glyserolia, solujen elinkelpoisuus oli noin 25 %.

Sakkaroosi ja inuliini-lisäys paransi *Anaerostipes caccae* -solujen elinkelpoisuutta sekä tuoreissa että syväjäädytetyissä solussa.

**c)** *Roseburia intestinalis* -solut säilyttivät elinkelpoisuutensa useimmissa olosuhteissa paremmin kuin *Anaerostipes caccae* -solut. Ainoastaan GSI-elatusaineessa olleet tuoreet *Anaerostipes caccae* -solut olivat elinkelpoisempia kuin vastaavat *Roseburia intestinalis* -solut. *Anaerostipes caccae* -solut olivat myös herkempiä syväjäädytykselle kuin *Roseburia intestinalis* -solut heikentäen solujen elinkelpoisuutta huomattavasti enemmän.

## Tehtävä 2.2

Vastaa liitteiden 1 ja 2 perusteella. Kerro mitä on mikrokapselointi ja mitkä ovat sen hyödyt, kun prosessoidaan probiootteja.

Pisteytys: Sisältö 0–4 pistettä, kieli 0–1 pistettä, yhteensä 0–5 pistettä.

### Mallivastaus 2.2 (Kielipiste 1 p.)

Mikrokapselointi on menetelmä, jossa herkät ja suojausta tarvitsevat ainesosat (0,25 p), kuten esimerkiksi probiootti, päällystetään eli kapseloidaan suojaavilla materiaaleilla (0,25 p). Kapseloinnin avulla ainesosa voidaan suojata ja pitää toimintakykyisenä tuotantoprosessissa, varastoinnissa ja käyttöolosuhteissa (0,25 p). Mikrokapselointiin voidaan käyttää sumukuivausta, pakkaskuivausta, ekstruusiota ja emulgointi (0,25 p).

Sumutuskuivaus on näistä ongelmallisista, sillä korkea lämpötila ja hapen läsnäolo ovat haitaksi useille probioottisille suolistossa viihtyvälle mikrobeille. Pakkaskuivauksessa uhkana voi olla kylmyys ja jää, jolloin tarvitaan kylmältä suojaavia aineita eli kryoprotektantteja. (0,25 p)

Kuivaavien menetelmien lisäksi on olemassa ei-kuivaavia menetelmiä kuten ekstruusio ja emulgointi. Tällöin liuokseen lisätään sitä kiinteyttävää ja stabiloivaa ainetta, jolloin muodostuu geeli- tai lipidihelmiä, jotka sopivat esimerkiksi jogurttiin lisättävien probioottien käsittelyyn. (0,25 p)

Suojaavien aineiden käyttö on riippuvaista prosessista ja probiootin aktivointialueen optimoinnista. Alginaatti, rasvaton maitojauhe, disakkaridit kuten trehaloosi ja sakkaroosi, aminohapot ja sokerialkoholit ovat tyypillisiä probioottia suojaavia aineita mikrokapseloinnissa. Suojaavien aineiden tulee olla turvallisia ja myrkyttömiä, jos niitä käytetään elintarvikkeissa. (0,5 p)

Suojattavien aineiden kuten probioottisten mikrobien täytyy selviytyä valmistusprosessin olosuhteissa. Tuotteen tulee säilyä hyvin, kestää kuljetusketjua, varastointia ja käyttöönottoa ilman, että sen elinvoimaisuus pienenee merkittävästi (0,5 p). Solunsisäisen veden poistaminen sumutus- tai pakkaskuivauksen aikana aiheuttaa stressiä bakteerisolulle: osmoottinen paine, hapen aiheuttamat vauriot, mekaaninen stressi ja jääkiteiden muodostuminen (0,5 p).

Probiootit tarvitsevat myös suojausta ruoansulatuskanavassa mm. mahahapoilta, sappisuoloilta ja antimikrobisilta entsyymeiltä (0,5 p). Probiooteille voidaan räätälöidä erilaisia suojaavia päällysteitä, jotka sulavat oikeassa kohtaa sulatusprosessissa (0,25 p). Sopiva laukaiseva tekijä on esimerkiksi pH, jolla voidaan säädellä esim. probioottien aktivointia ja kiinnittymistä suoliston limakalvojen pintoihin. Näissä on kuitenkin yksilöllisiä eroja (0,25 p).

### Tehtävä 2.3

Vastaa liitteiden 1 ja 2 perusteella. Työskentelet tuotekehitysjohtajana probiootteja kehittävässä ja valmistavassa yrityksessä. Tehtävänäsi on suunnitella tuotekehitysprojekti, jonka tarkoituksena on löytää ja kehittää tuotteeksi täysin uusi probiootti. Mitä kaikkea pitäisi tutkia ja selvittää ennen kuin tuote voisi olla markkinoilla? Vastaa artikkeleista saamiesi ideoiden perusteella.

Pisteytys: Sisältö 0–6 pistettä, kieli 0–1 pistettä, yhteensä 0–7 pistettä.

#### Mallivastaus 2.3 (Kielipiste 1 p.)

Tuotekehitysprojektin tarkoituksena on kehittää täysin uusi probioottivalmiste. WHO:n määritelmän mukaan probiootit ovat eläviä mikrobeja, joilla on riittävänä annoksena nautittuna terveyttä edistävä vaikutus käyttäjälleen. On siis löydettävä mikrobi, jota voidaan annostella ihmisille (tai eläimille), ja jolla on terveysvaikutuksia. Jotta saataisiin markkinoille sopiva probioottivalmiste kehitettyä, mikrobin pitää kestää valmistusprosessin eri vaiheet niin, että riittävä määrä elinkykyisiä mikrobeja kulkeutuu ruoansulatuskanavassa vaikutuspaikkaansa saakka. (0,5 p)

Tuotekehitysprosessi lähtee liikkeelle uuden mikrobilajin löytämisestä ja tunnistamisesta. Uusia probiootteja voidaan etsiä suolistomikrobistosta (ulostenäytteistä). Lajintunnistuksessa voidaan hyödyntää uuden sukupolven sekvensointimenetelmiä, joiden avulla voidaan löytää aiemmin tutkimattomia mikrobeja. (0,5 p)

Mikrobikantojen ominaisuuksia tutkitaan esikokein laboratoriossa, kehittyneitä viljelymenetelmiä hyödyntäen. Probiootin valmistusta varten on tärkeää selvittää, miten mikrobi sietää erilaisia ympäristötekijöitä, kuten kuivumista, happialtistusta tai lämpötilan tai pH:n vaihtelua. Laboratoriokokeissa tutkitaan myös terveysvaikutuksiin liittyviä mikrobin ominaisuuksia, esimerkiksi kykyä tuottaa lyhytketjuisia rasvahappoja, kuten butyraattia. Terveysvaikutuksia voidaan tutkia myös ihmissoluilla sekä eläinkokeissa. (1,5 p)

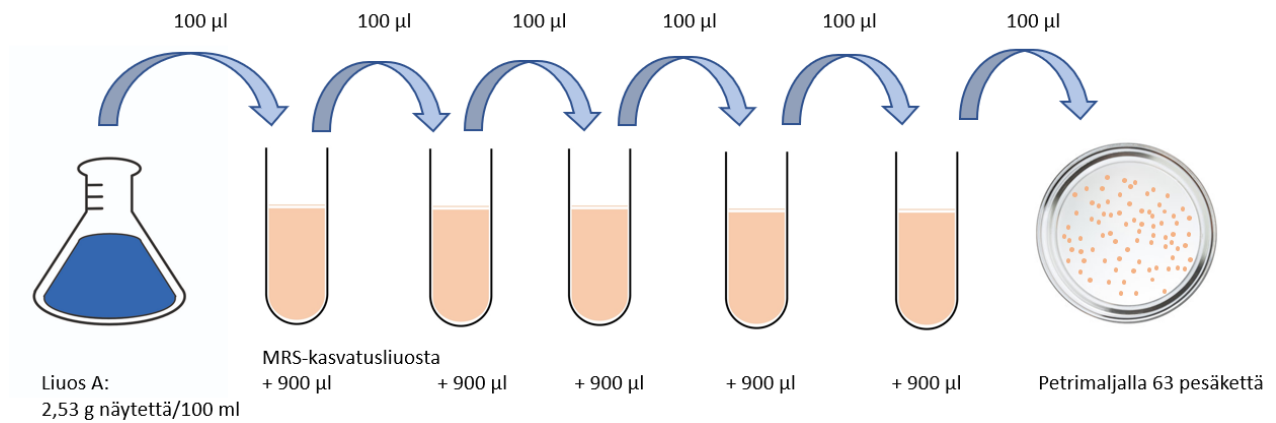
Laajan mittakaavan tuotantoa varten pitää selvittää kyseiselle mikrobille suotuisat viljelyolosuhteet. Samalla voidaan myös testata esimerkiksi osmoadaptation tai muiden stressikäsittelyjen vaikutusta mikrobin prosessointikestävyyteen. Mikrokapseloinnin avulla voidaan parantaa mikrobien kestävyyttä. Probioottivalmisteelle valitaan kyseiselle mikrobille sopiva kapselointimenetelmä, esimerkiksi emulgointi, ekstruusio tai pakkas- tai sumutuskuivaus. Menetelmän valinnassa tulee ottaa huomioon menetelmän hinta, nopeus ja vaikutus kapselointisaantoon. Menetelmästä ja mikrobista riippuen voi tässä vaiheessa olla tarpeen testata suoja-aineiden, kuten kylmältä suojaavien aineiden tai antioksidanttien, vaikutusta mikrobin prosessointikestävyyteen. (1,5 p)

Valitun valmistusprosessin tehokkuutta ja tasalaatuisuutta voidaan arvioida tutkimalla elinkykyisten mikrobien määrää prosessoinnin jälkeen. Varastoinnin ja säilytyksen vaikutusta voidaan tutkia altistamalla valmistetta erilaisille lämpö- ja kosteusolosuhteille eri mittaisten säilytyskokeiden aikana. Mikrobien antibakteeristen ominaisuuksien säilymistä selvitetään tutkimalla, kuinka hyvin ne säilyttävät kykynsä estää patogeenisten bakteerien kasvua. Lisäksi suolahappo- ja sappinestekäsittelyillä voidaan testata, miten mikrobit käyttäytyvät ruoansulatuskanavaa muistuttavissa olosuhteissa. Simuloimalla paksusuolen olosuhteita voidaan in vitro testata pH- ja entsyymiriippuvaisten päällysteiden käytettävyyttä. Myös eläinmalleja voidaan hyödyntää ruoansulatuskanavan olosuhteiden simuloimiseen. (1,5 p)

Probioottivalmisteen kantajatuotteeksi voidaan valita esimerkiksi tabletti tai kapseli, tai se voidaan sisällyttää elintarvikkeisiin. Kantajatuotteen osalta tulee selvittää, että se on aistinvaraisilta ominaisuuksiltaan käyttäjälleen hyväksyttävä, helposti annosteltavissa ja sisältää oikean määrän probiootteja. Valmistusprosessin lopuksi oletetut terveysvaikutukset tulee osoittaa myös ihmisillä tehtävissä tutkimuksissa. Samalla tulee varmistaa, ettei tuotteella ole käyttäjälleen haittavaikutuksia. (0,5 p)

## Tehtävä 2.4

Näyte X ( $m = 2,53 \text{ g}$ ) homogenoitiin 1,5-prosenttiseen algiinaattiliuokseen siten, että tämän muodostuneen liuoksen kokonaistilavuus oli 100 ml. Tästä liuoksesta A tehtiin laimennussarja. Liuosta A pipetoitiin 100  $\mu\text{l}$  koeputkeen, johon lisättiin 900  $\mu\text{l}$  MRS-kasvatusliuosta, josta jatkettiin laimennussarjaa alla olevan kaavion mukaisesti:



Petriمالjalta (kasvatusmaljalta) laskettiin kasvatuksen jälkeen 63 bakteeripesäkettä. Jokaisen bakteeripesäkkeen katsottiin kasvaneen yhdestä bakteerista (pmy).

Mikä oli näytteen X bakteeripitoisuus (bakteeria/g näytettä)?

Pisteytys: 0–6 pistettä.



## Mallivastaus 2.4

Näyteliuoksen A bakteerien lukumäärä millilitrassa:

$$\frac{\text{pesäkkeiden lukumäärä kasvatusmaljalla} \times \text{kokonaislaimennuskerroin } KLK}{\text{kasvatusmaljalle pipetoitu liuosmäärä } V}$$

Pesäkkeiden lukumäärä kasvatusmaljalla PLKM = 63 pesäkettä = 63 bakteeria  
Kasvatusmaljalle pipetoitu liuosmäärä  $V = 0,10 \text{ ml}$

**Kokonaislaimennuskerroin (KLK) = laimennuskerroin 1 x laimennuskerroin 2 x ...** (2p)

$$KLK = 10^1 \times 10^1 \times 10^1 \times 10^1 \times 10^1 = 10^5$$

**Bakteerien pitoisuus liuoksessa A (bakteeria/ml):**

$$\frac{PLKM \text{ (bakteeria)} \times KLK}{V \text{ (ml)}} = \frac{63 \text{ bakteeria} \times 10^5}{0,1 \text{ ml}} = 6,3 \times 10^7 \text{ bakteeria/ml}$$
 (2p)

**Bakteerien kokonaismäärä liuoksessa A,  $N_{(A)}$**

Liuoksen A tilavuus  $V_A = 100 \text{ ml}$

$$N_A \text{ (bakteeria)} = \text{Bakteerien pitoisuus liuoksessa A} \left( \frac{\text{bakteeria}}{\text{ml}} \right) \times V_A \text{ (ml)} = 6,3 \times 10^7 \frac{\text{bakteeria}}{\text{ml}} \times 100 \text{ ml} = 6,30 \times 10^9 \text{ bakteeria}$$
 (1p)

**Bakteerien pitoisuus näytteessä (bakteeria/g):**

Näytteen massa,  $m = 2,53 \text{ g}$

$$\frac{N_{(A)} \text{ (bakteeria)}}{m \text{ (g)}} = \frac{6,30 \times 10^9 \text{ (bakteeria)}}{2,53 \text{ g}} = 2,5 \times 10^9 \frac{\text{bakteeria}}{\text{g}}$$
 (1p)

Yhteensä 6p

### Tehtävä 2.5

Hyödynnä laskussa liitettä 2. Sumutuskuivauksella valmistettiin alginaattiin ja kitosaaniin mikrokapseloituja L25F–bakteereja. Prosessissa muodostui pallomaisia mikrokapseleita, joiden sisällä bakteerit olivat.

a) Laske mikrokapseleiden ulkopinnan pinta-ala, ja anna tulos yksikössä  $\text{m}^2$  kolmen merkitsevän numeron tarkkuudella (3 p)

b) Sumutuskuivuriin syötettiin 100 ml liuosta, jossa oli  $1,34 \times 10^9$  pmy/ml elinvoimaisia bakteereita. Kuivauksessa muodostui 20 000 kpl mikrokapseleita. Laske kuinka monta elinvoimaista bakteeria keskimäärin oli kussakin mikrokapselissa ottaen huomioon kapselointisaannon ja sen laskukaavan. (4 p)

Pisteytys: a-kohta 0–3 pistettä ja b-kohta 0–4 pistettä; yhteensä 0–7 pistettä.

## Mallivastaus 2.5

a)

Kyseiset mikrokapselit ovat muodoltaan pallomaisia, joten tulee laskea pallon pinta-ala. 0,25 p

Pallon pinta-ala lasketaan liitteen 2 taulukossa 1 annetun halkaisijan (13,10  $\mu\text{m}$ ) perusteella: 0,25 p

$$A=4 \pi r^2 = 4 \pi (6,55 \mu\text{m})^2 = 539,1287153 \mu\text{m}^2 \quad 1 \text{ p}$$

Yksikkömuunnos neliömikrometreistä neliömetreiksi:

$$539,1287153 \mu\text{m}^2 = 539,1287153 \times 10^{-12} \text{ m}^2 \quad 1 \text{ p}$$

Lopputulos:  $539 \times 10^{-12} \text{ m}^2$  0,5 p

b)

Artikkelin menetelmissä kuvattu:  $EY = \log N / \log N_0 \times 100$ , 0,25 p  
jossa N on elinvoimaisten bakteerien (pmy) määrä kapselointikäsitellyn jälkeen ja  $N_0$  on elinvoimaisten pmy:iden ennen kapselointikäsitelyä.

Taulukosta 1:  $EY = 74,50 \%$ . 0,25 p

Mikrobien määrä alkuperäisessä liuoksessa  $1,34 \times 10^9$  pmy/ml ja tätä liuosta laitettu kuivuriin 100 ml.

$$N_0 = 100 \times 1,34 \times 10^9 \text{ pmy/ml} = 134 \times 10^9 \text{ pmy} \quad 1 \text{ p}$$

Ratkaistaan N käyttäen kapselointisaannon yhtälöä ja logaritmin laskusääntöjä:

$$\log N / \log N_0 = EY/100$$

$$\log N / \log N_0 = 0,745$$

$$\log N = \log N_0 \times 0,745 = 8,289693075 \text{ pmy}$$

$$N = 10^{8,289693075} \text{ pmy} = 194846709,1 \text{ pmy} \quad 1,25 \text{ p}$$

Lasketaan pmy:iden määrä per mikrokapseli:

$$194846709,1 \text{ pmy} / 20\,000 \text{ kpl} = 9742,335455 \text{ pmy/kpl} \quad 0,75 \text{ p}$$

Lopputulos: 9742 pmy per mikrokapseli 0,5 p