Erikoiskasvit

Kuivauksen vaikutus erikoiskasvien aktiivisten yhdisteiden säilyvyyteen

Tatu Hiltunen
TKI-asiantuntija
Kemia ja biotalous
Centria-ammattikorkeakoulu

Tietoa hankkeesta

Tämä raportti on tehty osana Erikoiskasvit -hanketta. Erikoiskasvit -hankkeen tavoitteena on edistää kestävän kehityksen mukaista erikoiskasvien viljelyä, mikä voisi korvata samalla lihantuotantoa ja vähentää ilmastovaikutuksia, sekä edistää jatkojalostusta ja vientiä. Hanke sisältää markkinakatsauksen erikoiskasvien globaalista markkinatilanteesta sekä viennin potentiaalista. Hankkeessa selvitetään erikoiskasviviljelyn nykytilanne sekä erikoiskasvien viljelyn ja esikäsittelyn koneellistamismahdollisuuksia. Valituille kasviraaka-aineille optimoidaan tehoaineiden uutto- ja kuivausprosesseja sekä kehitetään laaduntodentamismenetelmiä. Pilot-mittakaavan pakastekuivaimen toiminta optimoidaan ja testataan sekä tehdään kasviraaka-aineiden kuivauskokeiluja. Toimenpiteiden tuloksena aktivoidaan lisää erikoiskasviviljelijöitä ja mikroyrittäjiä erityisesti pakastekuivainkokeilujen kautta sekä optimoidaan uusia jatkojalostusmenetelmiä ja laaduntodentamismenetelmiä. Pitkällä aikavälillä lisääntynyt sekä viljeltyjen että villien kasviraaka-aineiden jalostaminen uusiksi tuotteiksi tuo lisää työmahdollisuuksia myös esimerkiksi maahanmuuttajille sekä alkutuotantoon että teollisuuteen.

Kasvipohjaisten raaka-aineiden jalostaminen terveystuotteiksi, luonnonkosmetiikaksi ja jopa lääkkeiksi on iso bisnes maailmalla. Merkittävinä pullonkauloina kasvulle ja uusien yritysten syntymiselle ovat mm. riittävä raaka-aineiden saanti, raaka-aineiden ja tuotteiden laadun todentaminen erityisesti vientiä varten, GMP (good manufacturing practices) sekä jalostusprosessien riittämätön tunteminen ja osaaminen. Kasviraaka-aineiden viljely ja jalostus ml. pakastekuivaus ovat myös Keski-Pohjanmaalla mahdollisuus lisätä työpaikkoja, mikäli jalostuksesta, kuten erilaisista uutoista ja kuivauksesta sekä pakastekuivauksesta olisi enemmän tietoa saatavilla. Viljelijät Keski-Pohjanmaalla ovat kiinnostuneita erikoiskasvien jalostusmahdollisuudesta mm. kuivaamalla ja uuttamalla. Viljelijöiden omat resurssit ja osaaminen eivät tällä hetkellä riitä toimialan kehittämiseen, ja he tarvitsevat ulkopuolista kehittämisapua sekä tietoa liiketoiminnan vauhdittamiseksi. Viljelijät ja useat metsänomistajat odottavat tietoa kasvimateriaalien kannattavista jalostusmahdollisuuksista sekä laaduntodentamisohjeita, mikä lisää laadukkaiden raaka-aineiden hyödyntämismahdollisuuksia ja avaa uusia jalostusmahdollisuuksia korkeamman hinnan premium-tuotteiksi.

Centria TUTKIMUS JA KEHITYS
Kokkola Karleby
KANNUS JUURET ELÄMÄLLE
Perho
KAUSTISEN seutu
Vipuvoimaa EU:lta 2014–2020
Euroopan unioni Euroopan aluekehitysrahasto
kpedu
KESKI-POHJANMAAN LIITTO MELLERSTA ÖSTERBOTTENS FÖRBUND

Sisällysluettelo

Tietoa hankkeesta 2
Käytetyt lyhenteet ja symbolit 4
1. Johdanto 5
2. Kasvimateriaalin kuivaus 6
2.1. Kuivausmenetelmät 6
2.2. Kuivauksen energiatehokkuuden parantaminen 7
3. Materiaalit ja menetelmät 8
3.1. Kasvimateriaali 8
3.2. Kuivaimet 8
3.3. Näytteiden esikäsittely 8
3.4. Näytteiden kuivaus 10
3.5. Kosteuspitoisuuden määritys 12
3.6. Näytteiden uuttaminen 12
3.7. Aktiivisten yhdisteiden määritys 13
3.7.1. Fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuuden määritys 13
3.7.2. Antioksidanttisten yhdisteiden kokonaispitoisuuden määritys 13
3.7.3. Flavonoidien kokonaispitoisuuden määritys 14
3.7.4. 20-hydroksiekdysonipitoisuuden määritys 14
4. Tulosten analysointi 15
4.1. Kuivausnopeus ja energiatehokkuus 15
4.2. Tehoaineiden säilyvyys kuivauksen aikana 18
4.2.1. TPC, TAC & TFC säilyvyys siankärsämön kukintojen kuivauksessa 18
4.2.2. TPC, TAC & TFC säilyvyys väinönputken lehtien kuivauksessa 19
4.2.3. Maraljuuren juurten aktiivisten yhdisteiden välinen korrelaatio 20
4.2.4. TPC, TAC & TFC säilyvyys maraljuuren juuren kuivauksessa 21
4.2.5. 20-hydroksiekdysonin säilyvyys kuivauksessa 23
5. Johtopäätökset 25
5.1. Energiatehokkuuden ja aktiivisten yhdisteiden säilyvyyden optimointi 25
5.2. Esikäsittelyn vaikutus aktiivisten yhdisteiden säilyvyyteen 28
6. Suositukset 29
Lähdeluettelo 30

Käytetyt lyhenteet ja symbolit

20E = Hydroksiekdysoni

ρA = neliömassa (g/cm2)

GAE = gallushappoa vastaavat yhdisteet

g/E = energiatehokkuus

m_D = kuivatun näytteen massa

m_W = kostean näytteen massa

m_{Wi} = kostean näytteen massa ajanhetkellä i

p = näytteen suhteellinen kosteus

p_i = näytteen suhteellinen kosteus ajanhetkellä i

p-% = näytteen suhteellinen kosteus-%

p_i-% = näytteen suhteellinen kosteus-% ajanhetkellä i

QE = Kversetiiniä vastaavat yhdisteet

T = lämpötila (°C)

TAC = Antioksidanttien kokonaispitoisuus (Total Antioxidant Content)

TE = Trolox-standardia vastaavat yhdisteet

TFC = Flavonoidien kokonaispitoisuus (Total Flavonoid Content)

TPC = Fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuus (Total Phenolic Content)

1. Johdanto

Tämä raportti on tehty osana Erikoiskasvit hanketta. Kasvimateriaalin kuivauksen tarkoituksena on parantaa niiden säilyvyyttä, sillä mikrobit eivät kasva kuivissa olosuhteissa. Kuivauksessa kuitenkin menetetään usein kaupallisesti arvokkaita yhdisteitä. Erikoiskasvit hankkeessa on tutkittu erilaisten kuivausmenetelmien vaikutusta maraljuuren, väinönputken ja siankärsämön aktiivisten yhdisteiden säilyvyyteen sekä energiatehokkuuteen.

Raportissa käydään aluksi läpi lyhyesti kuivauksen teoriaa sekä vaihtoehtoisia menetelmiä. Centria on ollut aiemmin osatoteuttajana MORENPBIZ-hankkeessa, jossa erilaisia kuivausmenetelmiä on käsitelty syvällisemmin. Tässä raportissa keskitytään tutkimaan, kuinka kuivauksen olennaiset muuttujat vaikuttavat kasvimateriaalin aktiivisten yhdisteiden pitoisuuteen. Hankkeessa tutkittuja aktiivisia yhdisteitä olivat fenoliset yhdisteet (TPC), antioksidanttiset yhdisteet (TAC), flavonoidit (TFC) sekä maraljuurelle ominainen ekdysteroni 20-hydroksiekdysoni (20E). Kuivauskokeissa käytetyt esikäsittely-, kuivaus-, uutto- ja analyysimenetelmät on kuvattu kattavasti.

Hankkeessa tehdyt kuivauskokeet jakautuivat kasvukaudelle 2022 sekä kasvukaudelle 2023. Kasvukaudella 2022 tehdyissä yksimuuttujakokeita keskityttiin tutkimaan kuivauslämpötilan sekä kuivaintyypin vaikutusta aktiivisten yhdisteiden säilyvyyteen. Yksimuuttujakokeissa kuivaukset tehtiin säteily-, konvektio- ja vakuumikuivaimilla. Kuivattavat kasvimateriaalit olivat väinönputken lehdet, siankärsämön kukinnot sekä maraljuuren juuri. Kasvukaudella 2023 keskityttiin optimoimaan maraljuuren juurien aktiivisten yhdisteiden säilyvyyttä kuivauksessa sekä energiatehokkuutta. Kasvukauden 2023 kuivauskokeet tehtiin faktoriaalisen koesuunnitelman pohjalta, jossa muuttujina olivat kuivaintyyppi, lämpötila sekä neliömassa.

Raportin kokeellisessa osassa kuivauskokeiden tulokset sekä näiden pohjalta tehdyt johtopäätökset on esitetty yksityiskohtaisesti. Raportin lopussa on annettu hankkeessa saatujen tulosten pohjalta suosituksia, mitä erikoiskasvien kuivauksessa tulee ottaa huomioon, kuinka kuivaukset kannattaa toteuttaa ja mitä osa-alueita tulisi tutkia vielä lisää.

Centria TUTKIMUS JA KEHITYS
kpedu
Kokkola Karleby
KANNUS JUURET ELÄMÄLLE
Perho
KAUSTISEN seutu
KESKI-POHJANMAAN LIITTO MELLERSTA ÖSTERBOTTENS FÖRBUND
Vipuvoimaa EU:lta 2014–2020
Euroopan unioni Euroopan aluekehitysrahasto

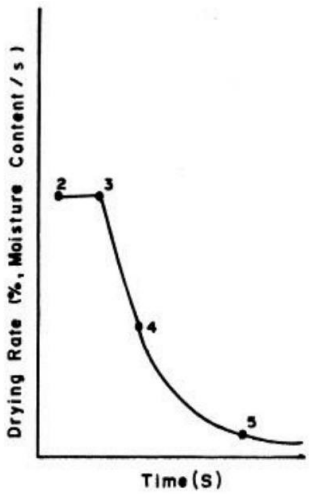
2. Kasvimateriaalin kuivaus

Erilaisia hyötykasvien kuivaukseen soveltuvia menetelmiä on kartoitettu More Natural Products Business by Enhanced Quality and Energy Efficiency of Drying (MoreNPBiz) -hankkeessa, jota Centria ammattikorkeakoulu koordinoi. Oheinen teksti on lyhennelmä MoreNPBiz-hankkeessa tehdystä laajemmasta selvityksestä, joka on kokonaisuudessaan saatavilla osoitteesta https://virtaaluonnosta.files.wordpress.com/2020/07/kasvimateriaalin-kuivaus-ja-sovellukset-artikkeli.pdf*. Tekstin muotoilua on muutettu, mutta asiasisältö on pidetty alkuperäisen tekstin mukaisena. Selvitystyön on tehnyt Hampus Lundholm Ljungkvist (Luulajan teknillinen yliopisto, LTU) ja tekstin ovat suomentaneet Teemu Huotari ja Jaana Väisänen (Oulun ammattikorkeakoulu, Oamk).*

2.1. Kuivausmenetelmät

Kuivausprosessi on monimutkainen virtausmekaaninen tapahtuma, jonka aikana veden olomuoto muuttuu nesteestä kaasuksi. Prosessin kulkua säätelevät muuttujat voidaan jakaa kolmeen kategoriaan: kuivausmenetelmä, kuivaavan materiaalin ominaisuudet ja kuivattavan tuotteen ominaisuudet. Sopivan kuivaustekniikan valinnassa tarvitaan teknistaloudellista arviointia ja ymmärrystä yrityksen tuotevalikoimasta ja mittakaavasta. Kannattavuuden kannalta olennaista on määritellä kuivaamiskauden ajankohta ja kesto, tuotteen laatuvaatimukset ja tuotannon volyymi.

Osa kasvin kosteudesta on sitoutunut solurakenteisiin ja osa kevyesti sidottuna tai vapaana. Tämä vuoksi kuivuminen etenee kahdessa vaiheessa. Ensimmäisessä vaiheessa kuivuminen etenee vakionopeudella ja toisessa vaiheessa kuivumisnopeus hidastuu vähitellen (Kuva 1). Ensimmäisessä vaiheessa tuotteen pinta on vapaan veden kyllästämää, vaikka tuotteen pinta tuntuisi kuivalta. Vettä haihtuu tuotteesta tasaisella nopeudella, kunnes diffuusio tai veden siirtyminen syvemmistä osista ei enää pysty ylläpitämään haihtumista vakionopeudella. Tätä hetkeä kutsutaan tuotteen kriittiseksi kosteuspitoisuudeksi, mistä käynnistyy hidastuvan kuivumisen vaihe. Ensimmäisen vaiheen kuivumisnopeus määräytyy pääosin ympäristöolosuhteiden perusteella. Toisessa vaiheessa kuivumisnopeus määräytyy tuotteen sisäisen diffuusionopeuden perusteella. Tuotteilla on erilaiset diffuusionopeudet ja kriittiset kosteuspitoisuudet.



Kuva 1. Kuivumisen vaiheet. Väli 2-3 kuvaa tasaisen kuivumisen vaihetta ja väli 3-5 hidastuvaa vaihetta.

Maataloustuotteiden kosteuden poistossa menetelmät perustuvat tyypillisesti haihdutukseen. Muita keinoja ovat muun muassa linkoaminen tai osmoosikuivaus, jossa kosteuden poisto perustuu pitoisuuseroihin. Tavallisia kuivausmenetelmiä ovat erilaiset konvektiiviset kuivausmenetelmät, säteilykuivaus ja tyhjiökuivaus (vakuumikuivaus). Konvektiokuivaus on kuivausmenetelmistä yleisin

ja se tunnetaan kirjallisuudessa myös perinteisenä kuivauksena. Konvektiokuivauksessa kosteus haihdutetaan tuotteesta puhaltamalla kuivattavan materiaalin läpi lämmitettyä ilmaa. Konvektiokuivausmenetelmiä ovat esimerkiksi lavakuivaus, hihnakuivaus, kaappikuivaus ja leijupetikuivaus. Kuivaus voi perustua myös lämpösäteilyyn ja tällaisia kuivausmenetelmiä ovat esimerkiksi aurinkokuivaus ja mikroaaltokuivaus. Vakuumikuivauksessa vaadittu lämpöenergia on pienempi, sillä nesteet haihtuvat helpommin matalassa paineessa. Vakuumikuivaus mahdollistaa matalammat kuivauslämpötilat, minkä lisäksi happipitoisuus on matala, jolloin tuotteen väri ja arvoaineet säilyvät muita menetelmiä paremmin. Toisaalta tyhjiökuivauksen käyttökustannukset ovat tyypillisesti korkeat. Tyhjiökuivaus voidaan yhdistää säteily- ja konvektiokuivaukseen. Pakastekuivaus on yksi vakuumikuivausmenetelmistä.

2.2. Kuivauksen energiatehokkuuden parantaminen

Kuivaamisen energiatehokkuutta voidaan parantaa ilman kierrätyksellä, lämpöpumpuilla ja lämmittämättömällä ilmalla tehtävän esikuivauksen avulla. Kun kuivaus on saavuttanut hidastuvan kuivumisen vaiheen, poistoilman kosteuspitoisuus alkaa laskea ja lämpötila nousta. Kuivausilman mukana poistuva lämpö voidaan hyödyntää sekoittamalla poistoilma tuoreeseen lämmitysilmaan ja kierrättämällä se takaisin kuivuriin. Sekoitetun ilman lämmitys vaatii vähemmän lämmitystehoa kuin pelkän tuoreen ilman lämmitys, mutta toisaalta kuivausaika pidentyy kuivausilman korkeammasta kosteuspitoisuudesta johtuen. Tästä johtuen ilman takaisinkierrätyksen aloittaminen tulee ajoittaa oikein määrittämällä hetkellinen kuivaussuhde, eikä kierrätystä tule aloittaa tasaisen kuivumisen vaiheessa. Yksinkertaisemmassa ajomallissa ohjaus voidaan tehdä kuivaussuhteen sijaan pelkkien lämpötilatietojen perusteella: mitä suurempi lämpötilaero tulo- ja poistoilman välillä on, sitä nopeammin kuivuminen tapahtuu.

Lämpöpumpun toiminta perustuu aineen höyrystymisen vaatimaan suureen lämpömäärään ja sen vapautumiseen kondensoitumisessa. Sen avulla saadaan siirrettyä lämpöenergiaa kylmemmästä aineesta lämpimämpään aineeseen erilaisten kylmäaineiden välityksellä. Lämpöpumpulla voidaan vähentää kuivauksen energiankulutusta 20-40% verrattuna sähkövastuksella lämmittämiseen. Lisäksi lämpöpumpuilla saadaan laskettua kuivausilman kosteuspitoisuutta. Lämpöpumpun investointikustannukset voivat kuitenkin kasvaa suuriksi ja järkevä takaisinmaksu aika tulee investointia tehdessä varmistaa. Yksinkertaisin tapa vähentää kasvimateriaalin koko kuivausprosessin energiankulutusta on tehdä esikuivaus lämmittämättömällä ulkoilmalla heti sadonkorjuun jälkeen. Esikuivauksen kannattavuus ja energiansäästö riippuvat kuitenkin paljon ulkoilman lämpötilasta ja suhteellisesta kosteudesta sekä puhallettavan ilmavirran määrästä.

3. Materiaalit ja menetelmät

Kuivauskokeet tehtiin kahdessa osassa: kasvukaudella 2022 sekä kasvukaudella 2023. Kasvukaudella 2022 (toukokuu-elokuu) tarkasteltavat muuttujat olivat kuivaintyyppi sekä lämpötila, muiden muuttujien ollessa vakioita. Kasvukauden 2023 kuivauskokeet tehtiin ainoastaan maraljuuren juurilla ja tavoitteena oli löytää kuivausolosuhteet, joissa sekä energiatehokkuus että aktiivisten yhdisteiden säilyvyys saataisiin maksimoitua. Koesarja tehtiin faktoriaalisen (k^5) monimuuttujakoesuunnitelman (DoE (Design of Experiments)) pohjalta. Kasvukaudella 2023 tehtäviä kuivauskokeita rajoitti hankkeen päättymisajankohta kasvukauden lopussa (elokuu 2023). Maraljuuren juuri valittiin kokeiden kasvimateriaaliksi, sillä sitä oli saatavilla heti keväällä, roudan sulettua. Kummankaan kasvukauden kokeissa poistoilman ilmankosteutta ei mitattu.

Kuivauksen vaikutusta kasvimateriaalien aktiivisten yhdisteiden saantoon tutkittiin. Mitatut aktiiviset yhdisteryhmät olivat fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuus (TPC), antioksidanttisten yhdisteiden kokonaispitoisuus (TAC) sekä flavonoidien kokonaispitoisuus (TFC). Lisäksi kuivauksen vaikutusta maraljuurelle ominaisen ekdysteronin, 20-hydroksiekdysonin (20E), pitoisuuteen tutkittiin. Pitoisuusmittaukset pyrittiin määrittämään ennen ja jälkeen kuivauksen.

3.1. Kasvimateriaali

Kuivatut kasvit olivat maraljuuri (*Rhaponticum carthamoides)*, siankärsämö *(Achillea millefolium)* ja väinönputki (*Angelica archangelica*). Kasvimateriaali kuivauskokeita varten saatiin Kentalan tilalta.

3.2. Kuivaimet

Erikoiskasvimateriaalin kuivaukseen käytetyt kuivaimet olivat Marlemi Oy Hyötykasvikuivuri ORAKAS -konvektiokuivain (Kuva 2 A), memmert säteilykuivain (Kuva 2 B) ja MMM Group Vacucell 55 Eco Line -vakuumikuivain (Kuva 2 C), johon oli liitetty vacuubrand MD 4C NT kalvotoiminen vakuumipumppu. Pakastekuivainta hyödynnettiin aktiivisten yhdisteiden lähtöpitoisuuden määrityksissä. Kasvukauden 2022 kuivauskokeissa käytettiin kaikkia kolmea kuivainta: konvektiokuivainta, säteilyuunia sekä vakuumiuunia. Kasvukauden 2023 kuivauskokeista säteilykuivain jätettiin pois mittaussarjasta ja kuivaukset tehtiin konvektio- ja vakuumikuivaimilla. Pakastekuivain ei ollut osana koesarjoja, vaan sitä käytettiin ainoastaan aktiivisten yhdisteiden lähtöpitoisuuksia määritettäessä.

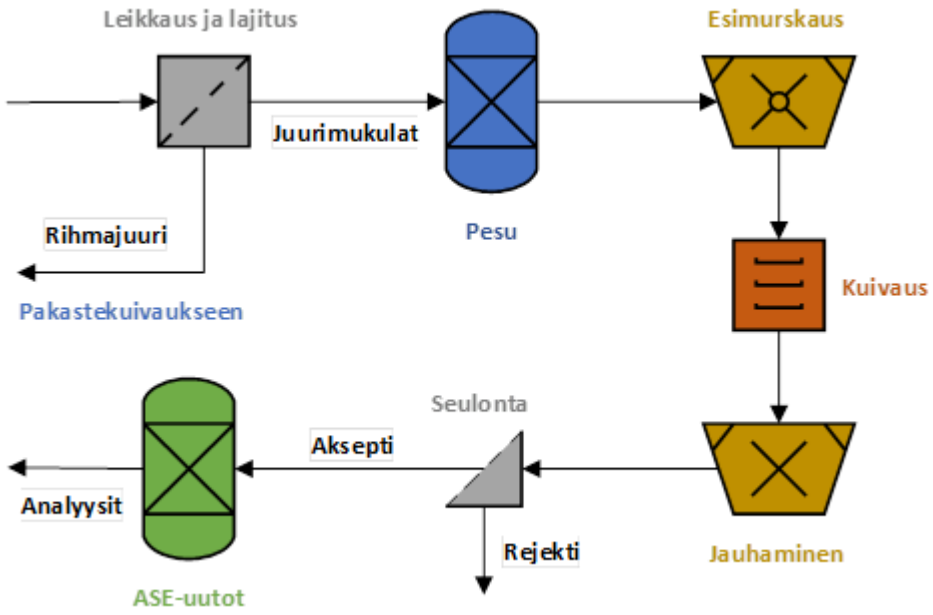
Kuva 2. Kuivauskokeissa käytetyt kuivaimet. A) vakuumiuuni, B) konvektiouuni & C) säteilyuuni.

3.3. Näytteiden esikäsittely

Näytteiden vaatima esikäsittely riippui tutkittavasta kasvimateriaalista; lehtimateriaalille riitti kevyt puistelu ja harjaus, kun taas maraljuuren juuret vaativat huomattavasti monimutkaisemman

esikäsittelyn. Maraljuuren juurimukulat ja hiusjuuret sitovat suuren määrän multaa, joka täytyi poistaa ennen näytteiden kuivausta, jotta se ei päätyisi lopputuotteeseen ja häiritsisi analyyseja. Kasvukauden 2023 koejärjestelyjen virtauskaavio on esitetty kuvassa Kuva 3. Ensimmäisessä vaiheessa helposti irtoava multa ja hiekka poistettiin näytteistä ravistelemalla. Seuraavassa vaiheessa juurimukuloiden enimmät hiusjuuret leikattiin pois ja mukulat pakattiin pesupusseihin, 3-4 kpl/pussi. Irti leikatut rihmajuuret pakastekuivattiin ja otettiin talteen jatkoanalyyseja varten. Pesupusseihin pakatut juurimukulat pestiin kylmällä vedellä tavanomaisen pyykinpesukoneen huuhteluohjelmalla. Vedenkulutuksen mittausta ei pidetty tarpeellisena, sillä käytettyä pesukonetta ei ole optimoitu kasvimateriaalin pesuun.

Seuraavaksi juurimukulat esikuivattiin vetokaapissa ylimääräisen pintakosteuden poistamiseksi. Esikuivauksen kesto oli noin vuorokausi. Esikuivatut mukulat pilkottiin käsin pienemmiksi paloiksi ja pilkotut näytteet pakastettiin. Seuraavassa vaiheessa pestyt juurimukulat siirrettiin esimurskausvaiheeseen, jossa ne murskattiin pienemmiksi kappaleiksi käyttämällä Retsch SM 300 leikkaavaa myllyä. Esimurskauksessa näytteestä tulee homogeenisempaa, mikä eliminoi paikallisia kosteuseroja näytteen sisällä. Murskauksen jälkeen näytteet kuivattiin joko vakuumi- tai konvektiokuivaimella. Kuivatut näytteet jauhettiin hienoksi ja jauhe seulottiin. Seulan läpäissyt aksepti uutettiin ASE-laitteella (kappale 3.1.6. Näytteiden uuttaminen), mitä seurasivat kokonaisfenolipitoisuuden (TPC, kappale 3.2.1. Fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuuden määritys), kokonaisantioksidanttipitoisuuden (TAC, kappale 3.2.2. Antioksidanttisten yhdisteiden kokonaispitoisuuden määritys), kokonaisflavonoidipitoisuuden (TFC, kappale 3.2.3. Flavonoidien kokonaispitoisuuden määritys) sekä 20-hydroksiekdysonipitoisuuden (20E, kappale 3.2.4. 20-hydroksiekdysonipitoisuuden määritys) määritys.



Kuva 3. Kasvukauden 2023 koejärjestelyjen virtauskaavio.

Ensimmäisissä kokeissa esimurskausvaihe ohitettiin ja näytteet kuivattiin ilman homogenisointia. Kokeissa havaittiin, että ehjien juurimukuloiden sisällä oli pesuvaiheesta huolimatta edelleen runsaasti multaa, joka poikkeaa sekä tiheydeltään että vedenpidätyskyvyltään kasviaineksesta. Näin ollen hetkellisen kosteuden arviointi osoittautui mahdottomasti suurten paikallisten kosteuserojen vuoksi ja erot gravimetrisesti arvioidun ja todellisen kosteuden välillä olivat yli 10 %-yksikköä. Jotta koesarja olisi voitu tehdä kyseisellä menetelmällä loppuun, olisi yhden kuivauksen näytekokoa täytynyt kasvattaa niin paljon, jotta paikallisten kosteuserojen merkitys koko näytteessä muuttuisi häviävän pieneksi. Näyteköön kasvattamista rajoittaa kuivausuunien kapasiteetti sekä käytettävissä olevan kasvimateriaalin ja aikaresurssin rajallisuus. Jotta kasvimateriaalin ominaisuudet eivät muuttuisi prosessoinnissa liikaa, leikkaavassa myllyssä ei käytetty ollenkaan partikkelikokoa tasaavaa viiraa. Näin ollen kuivattavan materiaalin partikkelikoko jäi hyvin karkeaksi.

3.4. Näytteiden kuivaus

Kasvukaudella 2022 kuivauskokeet tehtiin yksimuuttujakokeina maraljuuren juurille, väinönputken lehdille sekä siankärsämön kukinnoille. Koejärjestelyissä näytettä punnittiin jokaiseen kuivaukseen 60 g. Kuivauslämpötilat (T) olivat kokeissa 40, 50, 60 ja 70 °C.

Kasvukaudella 2023 kuivauskokeet tehtiin ainoastaan maraljuuren juurille. Kokeet toteutettiin faktoriaalisen ($k^s = 2^3$) koesuunnitelman mukaisesti. Koesuunnitelmassa muuttujia olivat kuivaintyyppi (vakuumikuivain tai konvektiokuivain), lämpötila (T) ja näytepedin paksuus , neliömassan (ρA) avulla ilmaistuna. Koesarjan vasteet olivat fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuus (TPC) ja energia-yksikkö kohden tuotetun kuivan näytteen (kuiva-aine 90 %) massa (g 90 % dw/kWh). Faktoriaalinen koesuunnitelma oli kaksitasoinen ja valittuja muuttujia oli kolme ($k^s = 2^3$). Koesuunnitelmassa jokaiselle jatkuvalle muuttujalle (T ja ρA) valitaan ylä- (1) ja alataso (-1) sekä keskipiste (0). Kuivaintyyppi oli vakiomuuttuja, jolla on vain kaksi tasoa. Koesuunnitelman muuttujat ja eri tasoja vastaavat arvot on esitetty taulukossa Taulukko 1. Koejärjestely toteutettiin täydellisenä faktoriaalisena koesarjana, eli kaikkien tarkastelupisteiden vasteet mitattiin. Kaikki kuivaukset tehtiin rinnakkaisina. Taulukossa Taulukko 2 on esitetty faktoriaalisen koesuunnitelman erilaiset kombinaatiot.

Taulukko 1. Koesuunnitelman (DoE) muuttujat ja eri tasoja vastaavat arvot.

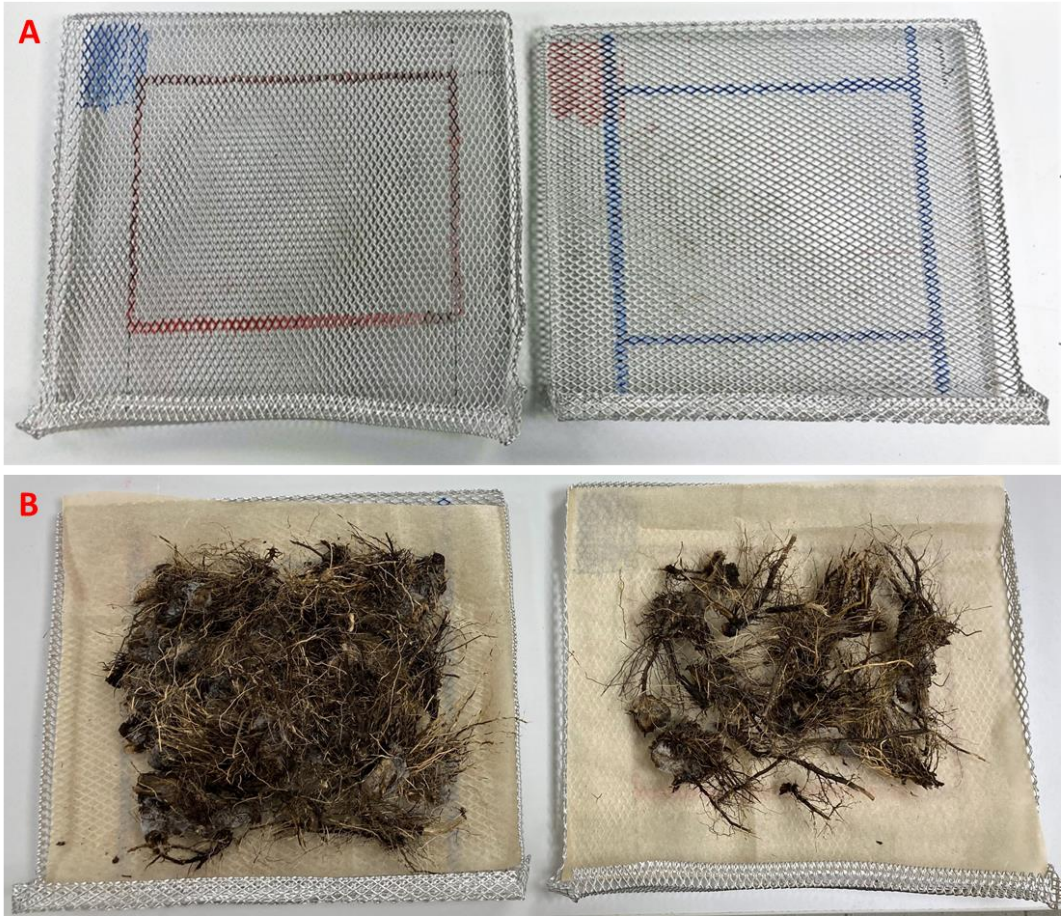
Muuttujat	**-1**	**1**	**0**
Lämpötila (A)	40 °C	60 °C	50 °C
Neliömassa (B)	0,30 g/cm^2	0,60 g/cm^2	0,45 g/cm^2
Kuivain (C)	Konvektiouuni	Vakuumiuuni	-

Taulukko 2. Koesuunnitelman (DoE) muuttujat ja näiden kombinaatiot.

Kombinaatio	**Lämpötila (A)**	**Neliömassa (B)**	**Kuivain (C)**
(1)	-1	-1	-1
a	1	-1	-1
b	-1	1	-1
c	1	1	-1
ab	-1	-1	1
ac	1	-1	1
bc	-1	1	1
abc	1	1	1
0	0	0	-1
0C	0	0	1

Ritilöille rajattiin 18 x 23 cm (korkeus x leveys) alueet, jolloin alueen pinta-ala on 414 cm^2. Näytteiden kuivaukseen käytetyt ritilät on esitetty kuvassa Kuva 4 A. Kuivattavat näytteet ladottiin rajatun alueen sisälle tasaiseksi patjaksi. Jakamalla näytteen massa (g) rajatun alueen pinta-alalla (cm^2), saadaan näytteen neliöpaino yksikössä g/cm^2. Taulukossa **Error! Reference source not found.** on esitetty koesarjan näytteiden eri tasojen neliömassoja vastaavien näytteiden massat grammoina. Kuvassa Kuva 4 B on esitetty kaksi näytettä, joiden neliömassat ovat 0,6 ja 0,3 g/cm^2.

Taso	Näytteen massa - g	Neliömassa - g/cm2
1	250	0,60
-1	125	0,30
0	187,5	0,45



Kuva 4. A) Näytteiden kuivauksessa käytetyt ritilät & B) Vasen: näyte, jonka neliöpaino on 0,6 g/cm^2 ja oikea: näyte, jonka neliöpaino 0,3 g/cm^2.

3.5. Kosteuspitoisuuden määritys

Kuivauskokeissa näytteiden tavoitekosteus oli 10 %, mitä yleisesti pidetään riittävänä kosteutena, jolla mikrobitoiminta on erittäin vähäistä. Näytteiden kosteuden kehitystä kuivauksen aikana seurattiin reaaliaikaisesti, punnitsemalla näytteitä määräajoin: Ensimmäiset neljä tuntia näytteitä punnittiin puolen tunnin välein, minkä jälkeen punnitusväli kasvatettiin tuntiin. Näytteillä, joilla tavoitekosteuden saavuttamiseen kului enemmän kuin 9 h, harvennettiin mittausväliä edelleen. Näytteiden suhteellinen kosteus-% (p-%) alkutilanteessa sekä näytteiden suhteelliset kosteus-%:t (p_i-%) kuivauksen eri vaiheissa määritettiin gravimetrisesti kaavojen 1-2 ja 3-4 mukaisesti.

$$p = \frac{m_W - m_D}{m_W} \quad (1)$$

$$p - \% = p \times 100\% \quad (2)$$

missä p=näytteen suhteellinen kosteus, p-%=näytteen suhteellinen kosteus-%, m_W=kostean näytteen massa, m_D=kuivatun näytteen massa.

$$p_i = \frac{m_{Wi} - m_D}{m_{Wi}} \times 100\% \quad (3)$$

$$p_i - \% = p_i \times 100\% \quad (4)$$

missä p_i=näytteen suhteellinen kosteus ajanhetkellä i, p_i-%=näytteen suhteellinen kosteus-% ajanhetkellä i, m_{Wi}=kostean näytteen massa ajanhetkellä i, m_D=kuivatun näytteen massa.

3.6. Näytteiden uuttaminen

Näytteiden uuttoon käytettiin Dionex ASE 350 -uuttolaitetta (Accelerated Solven Extraction), joka on esitetty kuvassa Kuva 5. Fenolisten yhdisteiden (TPC), antioksidanttisten yhdisteiden (TAC) ja flavonoidien (TFC) mittauksia varten valmistetuissa uutteissa liuottimena käytettiin etanolia (Siankärsämö ja väinönputki 80 % v/v ja maraljuuri 50 % v/v) ja 20-hydroksiekdysonin (20E) pitoisuuden määritystä varten uutto tehtiin metanolilla (99,9 % v/v). Jokaista uuttoa kohden näytettä punnittiin kasvimateriaalista riippuen 1-2 g kuivaa massaa, kuitenkin siten, että samalla kasvilla kuivan massan määrä oli aina sama. Uutot toteutettiin kahden peräkkäisen uuton sarjana, jolloin varmistutaan, että kaikki uuteaineet saadaan uutettua. Perättäiset uutteet yhdistettiin lopuksi yhdeksi näytteeksi. Jokainen näyte uutettiin kahtena rinnakkaisena uuttosarjana.

Kuva 5. Kasviuutteiden valmistukseen käytetty Dionex ASE 350 -uuttolaite.

3.7. Aktiivisten yhdisteiden määritys

Tutkitut kasvimateriaalit sisältävät erilaisia fenolisia yhdisteitä, joilla on sekä lääketieteellistä arvoa että käyttökohteita esimerkiksi kosmetiikassa. Eräs fenolisten yhdisteiden alaryhmä ovat flavonoidit, joista tanniinit koostuvat. Osalla fenolisista yhdisteistä on happiradikaaleilta suojaavia antioksidanttisia ominaisuuksia, mutta antioksidanttisia ominaisuuksia on myös muilla kuin fenolisilla yhdisteillä. Tällaisia yhdisteitä ovat esimerkiksi klorofyllit eli lehtivihreä (Lanfer-Marquez et al., 2005). Lisäksi maraljuuri sisältää 20-hydroksiekdysoni (20E) nimistä ekdysteronia, jota voidaan käyttää ravintolisinä sekä lääkkeenä.

Tutkitut kasvimateriaalit sisältävät erilaisia fenolisia yhdisteitä. Eräs fenolisten yhdisteiden alaryhmä ovat flavonoidit, joista esimerkiksi tanniinit koostuvat. Osalla fenolisista yhdisteistä on antioksidanttisia ominaisuuksia eli ne suojaavat happiradikaaleilta kuten DPPH• (2,2-difenyyli-2-pikryylihyrdatsyylihydraatti) ja ABTS, 2,20-azinobis (3-etyylibentsotiatsoliini-6-sulfonihappo) (Miliauskas et al., 2004). Antioksidanttisia ominaisuuksia esiintyy kuitenkin myös muilla kuin fenolisilla yhdisteillä. Tällaisia yhdisteitä ovat esimerkiksi klorofyllit eli lehtivihreä. Näiden lisäksi maraljuuri ainakin 50 erilaista ekdysteronia, joita voidaan eristää pääasiassa maraljuuren juuresta (Kokoska & Janovska, 2009). Näistä merkittävimpiä ovat 20-hydroksiekdysoni (20E), ajugasteroni C, integristeroni A, 29-hydroksi-24(28)-dehydromakisteroni C ja makisteroni C. Tässä hankkeessa keskityttiin tutkimaan 20-hydroksiekdysonin (20E) pitoisuuksia. 20E:lla on kaupallista potentiaalia esimerkiksi ravintolisissä, lääkeaineena sekä kosmetiikassa. (Buděšínský et al., 2008; Napierała et al., 2020) Lääkekäytössä maraljuuren ekdysteronien on osoitettu lievittävän glutamaatin aiheuttamia hermosoluvauriota (Wu et al., 2017). Lisäksi ekdysteroneja sisältävillä voiteilla on havaittu olevan seborrooinisen ekseeman (taliköhnä) aiheuttamaa kutinaa lievittävä vaikutus, mutta vaikutuksen uskotaan olevan samansuuntaista myös muiden ihosairauksien aiheuttamaan kutinaan (Napierała et al., 2020).

3.7.1. Fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuuden määritys

Fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuuden (Total Phenolic Content (TPC)) määritykseen käytettiin Folin-Ciocalteun menetelmää. Aluksi 0,5 ml sopivasti laimennettua uutetta, 2,5 ml Folin-Ciocalteun fenolireagenssia (0,2 M) ja 2,0 ml natriumkarbonaattiliuosta (75 g/l) sekoitettiin keskenään. Seosta lämmitettiin lämpimässä vesihauteessa 50 °C, 5 min ajan. Lämmityksen jälkeen näyte jäähdytettiin nopeasti huoneenlämpöiseksi jääkylmässä vesihauteessa. Absorbanssin määritys tehtiin Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis -spektrofotometrillä, 760 nm aallonpituudella. Standardisuoran määritykseen käytettiin gallushappostandardeja (0,01–0,1 mg/ml) ja saadut tulokset ilmaistaan gallushappoekvivalentteina (Gallic acid equivalent (GAE)) lähtömateriaalin kuivapainoa kohden (mg GAE/g dw).

3.7.2. Antioksidanttisten yhdisteiden kokonaispitoisuuden määritys

Antioksidanttien kokonaispitoisuuden (Total Antioxidant Content (TAC)) määritykseen käytettiin CUPRAC-menetelmää (Cupric ion reducing antioxidant capacity). Menetelmässä 1 ml kuparikloridia (0,01 M), 1 ml ammoniumasetaattia (1,0 M), 1 ml neokuproiinia (0,0075 M), 1 ml deionisoitua vettä sekä 0,1 ml uutetta sekoitettiin keskenään. Reaktion annettiin tapahtua 30 min ajan huoneenlämmössä ja pimeässä. Mittaus tehtiin Agilent Cary 60 UV-Vis -spektrofotometrillä, 450 nm aallonpituudella. Standardisuoran määritykseen käytettiin Trolox-liuoksia (0,01–0,25 mM), joilloin saadut pitoisuudet ilmaistaan Trolox-ekvivalentteina (Trolox equivalent (TE)) lähtömateriaalin kuivapainoa kohden (mmol TE/g dw). Jokaisesta näytteestä tehtiin kaksi rinnakkaista mittausta.

3.7.3. Flavonoidien kokonaispitoisuuden määritys

Flavonoidien kokonaispitoisuuden määritykseen käytettiin menetelmää, jossa flavonoidien pitoisuus ilmaistaan kversetiini-ekvivalentteina. Menetelmässä 0,5 ml laimennettua näytettä sekoitetaan 1,5 ml etanolia, 0,1 ml 10 % alumiininitraattia ($Al(NO_3)_3 \bullet 9H_2O$) ja 0,1 ml 1 M kaliumasetaattia (CH_3CO_2K) sekä 2,8 ml ultrapuhdasta vettä. Standardisuoran määritykseen käytettiin kversetiini standardiliuoksia (0,01-0,15 mg/ml). Näytteiden annettiin reagoida pimeässä 30 min ajan, minkä jälkeen näytteet analysoitiin välittömästi. Analyysi tehtiin käyttäen Agilent Cary 60 UV-Vis spektro-fotometriä, aallonpituudella 415 nm:n. Menetelmällä flavonoidipitoisuus ilmaistaan yksikössä kverestiini-ekvivalenttia (Quercetin equivalent (QE)) lätömateriaalin kuivapainoa kohden (mg QE/g dw). Jokaisesta näytteestä tehtiin kaksi rinnakkaista mittausta.

3.7.4. 20-hydroksiekdysonipitoisuuden määritys

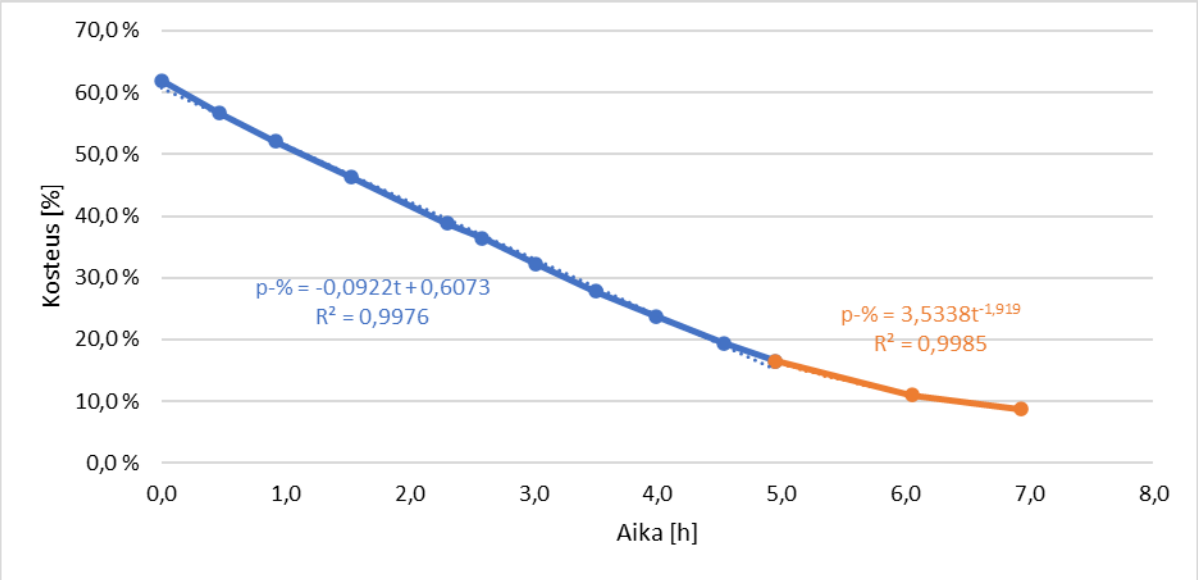
Maraljuuren sisältämien 20-hyrdoksiekdysonien (20E) pitoisuuden määritykseen käytettiin korkean erotustarkkuuden nestekromatografiaan (HPLC) perustuvaa menetelmää. Käytetty HPLC-laitteisto oli Shimadzu LC-20, johon oli liitetty DAD-detektori (Diode array detector). Analyyseissä käytetty kolonni oli Agilent Poroshell 120 SB-C18 (4.6 x 75 mm, 2.7-Micron). Mittaukset tehtiin gradienttiajoina, joissa mobiilifaasit olivat A: asetonitriili ja B: deionistoitu vesi, joka sisälsi 0,1 % fosforihappoa (H_3PO_4). Mittaukset toteutettiin gradienttiajona, jossa veden osuus virtauksesta vaihteli välillä 80-90 %. Kolonnin lämpötila oli 40 °C, eluentin virtausnopeus 1 ml/min ja injektoidun näytteen määrä 10 µL. 20-hydroksiekdysonin pitoisuusmääritystä tehtiin standardisuoran avulla, jossa 20E-standardien pitoisuudet olivat 10, 15, 20, 25 ja 30 ng/ml. Kontrollinäytteenä käytettiin 20 mg/ml näytettä. Standardina käytettiin puhdasta 20-hydroksiekdysonia. Menetelmällä saadut 20E-pitoisuudet voidaan esittää yksikössä mg/g dw.

4. Tulosten analysointi

Kuivauskokeissa päämääränä oli löytää sellaiset olosuhteet, joissa kasvien aktiiviset yhdisteet säilyvät parhaiten sekä kuivaus olisi mahdollisimman energiatehokasta. Kuivausten energiatehokkuuden kannalta kuivaukseen kulunut aika on yksi tärkeimmistä muuttujista. Aktiivisten yhdisteiden säilyvyyttä tutkittaessa vasteita olivat fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuutta (TPC), Antioksidanttisten yhdisteiden kokonaispitoisuutta (TAC) sekä flavonoidien kokonaispitoisuutta (TFC). Lisäksi maraljuuren osalta tutkittiin myös 20-hydroksiekdysonin säilyvyyttä (20E).

4.1. Kuivausnopeus ja energiatehokkuus

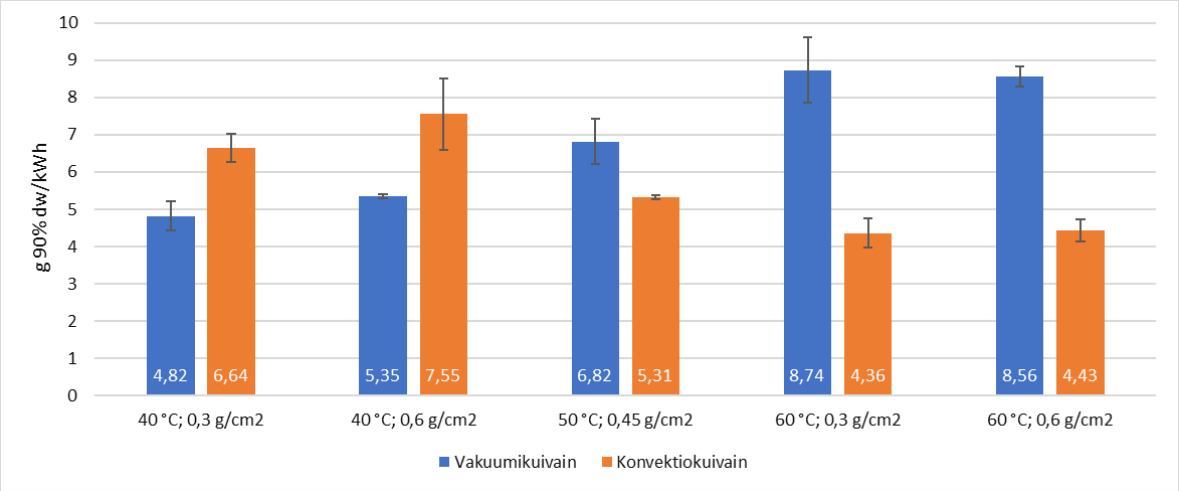
Kasvukauden 2023 maraljuuren juuren kuivauskokeissa kosteuspitoisuuden havaittiin laskevan aluksi hyvin lineaarisesti. Lähestyttäessä 10 % kosteuspitoisuutta, kosteuden muutosnopeus hidastuu ja se alkaa seurata eksponenttiyhtälöä. Ilmiön havainnollistamiseksi kuvassa Kuva 6 on esitetty koesarjan erään konvektiouunissa kuivatun näytteen kosteuspitoisuuden kehitys ajan funktiona. Näytteen kuivauslämpötila oli 60 °C ja neliömassa 0,3 g/cm^2. Kuvaajalta nähdään, että alussa kosteuden (p-%) kehitys seuraa sinisellä kuvattua lineaarista yhtälöä p-% = -0,0922t + 0,6073 (R^2 = 0,9976) ajan (t) funktiona. Kuivauksen lopussa kosteus muuttuu oranssilla kuvatun eksponentiaalisen yhtälön p-% = 3,5338t$^{-1,919}$ (R^2 = 0,9985) mukaisesti. Saatujen yhtälöiden avulla voidaan ratkaista hetkellinen kosteus näytteissä, sijoittamalla aika muuttujan t paikalle.



Kuva 6. Kosteuden kehitys ajan funktiona eräässä koesarjan näytteessä (T = 60 °C, ρA = 0,3 g/cm^2 & konvektiokuivain).

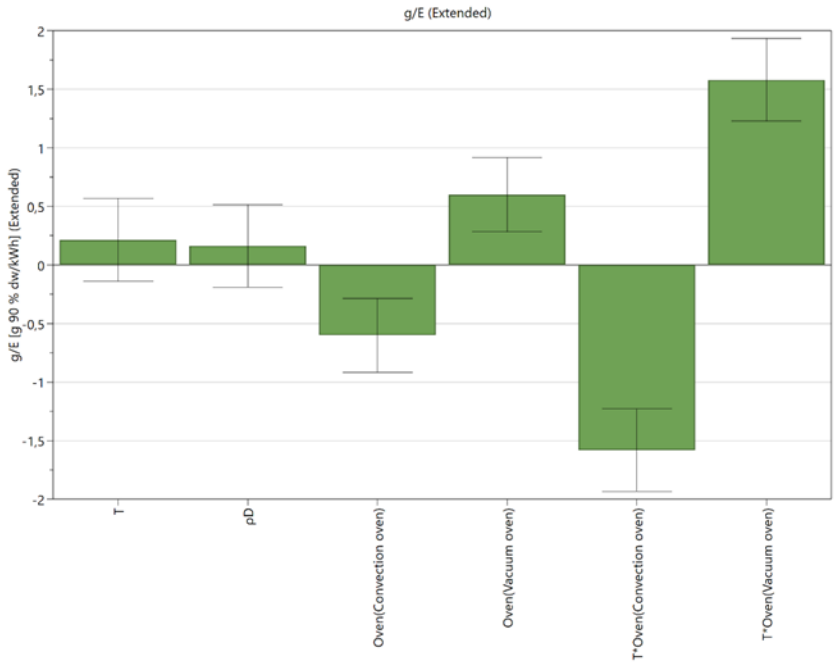
Mittaustulosten perusteella näytteiden alkukosteudessa eri kuivauserien välillä oli hajontaa, huolimatta näytteen esikäsittelyvaiheesta, joilla paikalliset kosteuserot oli pyritty minimoimaan valmistamalla mahdollisimman tasalaatuista näytettä. Jotta mittaustulokset olisivat keskenään vertailukelpoisia, normalisoitiin 10 % tavoitekosteuden saavuttamiseen kulunut aika jokaiselle näytteelle laskennallisesti. Käytännössä tämä tarkoitti, että kosteus-aika-kuvaajan avulla jokaiselle näytteelle määritetty kosteuspitoisuuden kehitystä kuvaavaa yhtälöä muokattiin siten, että kaikkien y-akselin leikkauskohdaksi valittiin kaikille näytteille sama lähtökosteuden alkuarvo. Kosteuden muutosnopeusyhtälön kulmakertoimet pidettiin alkuperäisen yhtälön mukaisina. Sijoittamalla uuden yhtälön p-%-termin paikalle tavoitekosteus (10 %) ja ratkaisemalla yhtälö muuttujan t suhteen, ratkaisuksi saatiin tavoitekosteuteen pääsemiseen kulunut aika, mikäli lähtökosteus olisi ollut kaikissa näytteissä sama.

Kuvassa Kuva 7 on esitetty lämpötilan, neliöpainon sekä kuivaimen vaikutus energiankulutukseen eri kuivausparametreillä. Kuvaaja kertoo kuinka monta grammaa kuivaa (kosteus 90 %) maraljuuren juurta voidaan tuottaa energiayksikköä kohden (kWh). Mitä suurempi suhdeluku on, sitä energiatehokkaampi kuivaus on. Kuvaajan perusteella energiatehokkuus, kun kuivauslämpötila on suuri ja kuivaus tehdään vakuumiuunissa (60 °C; 0,3 g/cm^2 & 60 °C; 0,6 g/cm^2). Tällöin syöttämällä systeemin 1 kWh energiaa, voidaan tuottaa 8,74 ja 8,56 g 90 % kuivaa maraljuuren juurta.



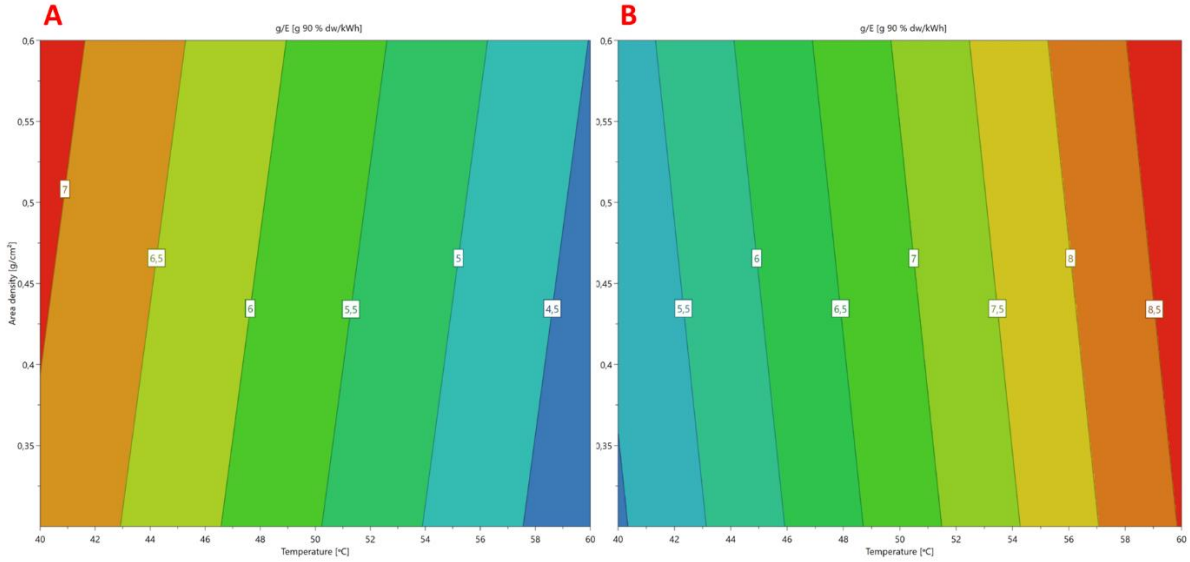
Kuva 7. Energiayksikköä kohden tuotetun 90 % kuivan maraljuuren massa.

Oheisen pylväsdiagrammin perusteella ei voida kuitenkaan tehdä johtopäätöksiä, mitkä muuttujat ovat lopulta merkitsevimpiä energiatehokkuuden kannalta. Merkittävien muuttujien tunnistamisessa hyödynnettiin MODDE Pro -koesuunnitteluohjelmistoa: sen avulla voidaan määrittää energiatehokkuuden kannalta merkitsevät muuttujat sekä näiden mahdolliset yhteisvaikutukset faktoriaalisen koesuunnitelman pohjalta. Kuvassa Kuva 8 on esitetty energiatehokkuuden (g/E) kanalta merkitsevimmät muuttujat. Mitä korkeampi pylväsdiagrammin vihreä pylväs on, sitä merkitsevämpi kerroin on kyseessä. Nollatasosta ylöspäin osoittava pylväs tarkoittaa, että muuttujalla on positiivinen, eli nostava, vaikutus vasteeseen. Mikäli pylväs osoittaa alaspäin, on muuttujalla negatiivinen vaikutus vasteeseen. Musta virhepylväs kertoo kohinan määrästä: mitä pienempi musta pylväs on, sitä varmemmin muuttuja on merkitsevä. Kuvasta havaitaan, että lämpötilan (T) ja uunin (Oven) yhteisvaikutus on merkitsevin muuttuja energiatehokkuutta tarkasteltaessa. Tulosten perusteella uuni (Oven) on yksittäisistä muuttujista selvästi lämpötilaa (T) neliömassaa (ρD) merkitsevämpi. Huomioitavaa on myös, että uunin ja uunin sekä lämpötilan yhteisvaikutukset ovat molemmilla uuneilla päinvastaiset.



Kuva 8. Energiatehokkuuden (g/E) kannalta merkitsevimmät muuttujat maraljuuren juuren kuivauksessa.

Sijoittamalla merkitsevien muuttujien kertoimet (lukuarvot) regressioyhtälöön, voidaan ratkaista yhtälö jokaisella lämpötilan ja neliömassan arvolla. Saatujen tulosten pohjalta voidaan MODDEa hyödyntäen piirtää molemmille uuneille vyöhykekaaviot. Vyöhykekaavio konvektiokuivaimelle on esitetty kuvassa Kuva 9 A ja vakuumikuivaimelle kuvassa Kuva 9 B. Vyöhykekaaviolla x-akseli esittää lämpötilaa (T) ja y-akseli neliömassa (ρA). Vyöhykkeiden sisällä olevat lukuarvot kuvaavat vasteen (energiatehokkuus) lukuarvoja vyöhykkeen alueella. Vasteen lukuarvot kasvavat liikuttaessa siniseltä vyöhykkeeltä kohti punaista.



Kuva 9. Energiatehokkuuden vyöhykekaaviot A) konvektiokuivaimelle ja B) vakuumikuivaimelle.

Verrattaessa kuivaimien vyöhykekuvaajia, havaitaan niiden olevan keskenään täysin päinvastaiset: Konvektiokuivaimella energiatehokkuus on parhaimmillaan (7 g 90 % dw/kWh), kun lämpötila on 40-41 °C. Vakuumikuivaimella paras energiatehokkuus (8,5 g 90 % dw/kWh) saavutetaan, lämpötila on 58-60 °C. Yhteistä molemmille kuivaimille on, että energiatehokkuus paranee, kun neliömassaa kasvatetaan.

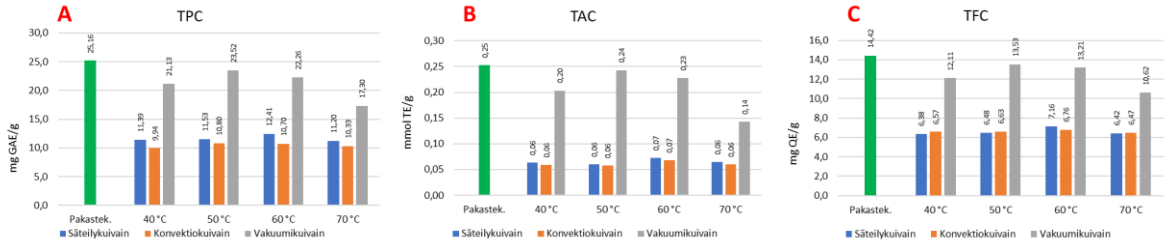
4.2. Tehoaineiden säilyvyys kuivauksen aikana

Kasvukaudella 2022 yksimuuttujakokeissa kuivattiin sekä siankärsämön kukintoja että väinönputken lehtiä. Yksimuuttujakokeet tehtiin siankärsämön kukinnoille neljässä eri lämpötilassa, mutta väinönputken lehtiä ei kuivattu 40 °C lämpötilassa, sillä käytössä ollut kasvimateriaali ei riittänyt täyden koesarjan toteutukseen. Maraljuuren juurille

4.2.1. TPC, TAC & TFC säilyvyys siankärsämön kukintojen kuivauksessa

Siankärsämön kukintojen aktiivisten yhdisteiden pitoisuudet kuivauksen jälkeen on esitetty kuvassa Kuva 10. Kuvasta nähdään, että pakastekuivatuissa näytteissä (vihreä pylväs) sekä vakuumi-kuivatuissa näytteissä (harmaa pylväs) pitoisuudet ovat jokaisen tehoaineen osalta hyvin samalla tasolla. Säteilykuivatuissa (sininen pylväs) ja konvektiokuivatuissa (oranssi pylväs) näytteissä kaikkien aktiivisten yhdisteiden pitoisuudet ovat pakastekuivattuihin sekä vakuumikuivattuihin näytteisiin nähden merkittävästi pienemmät. Säteilykuivattujen ja konvektiokuivattujen näytteiden pitoisuuksien välillä ei kuitenkaan ole merkittävää eroa. TPC- ja TFC-pitoisuudet ovat kyseisissä näytteissä noin puolet vakuumikuivattujen näytteiden pitoisuuksista.

Farhadi et al. 2020 tekemissä kokeissa flavonoidien pitoisuudet suhteessa fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuuteen olivat selvästi pienemmät verrattaessa tässä hankkeessa saatuihin tuloksiin. Heidän tekemissään mittauksissa fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuudeksi siankärsämön kukin75,09 mg GAE/g kuivaa uutetta ja 6,10 µg RE/g kuivaa uutetta) Farhadi et al. 2020 kokeissa flavonoidipitoisuudet on ilmaistu rutiiniekvivalentteina, kun taas hankkeen tulokset on esitetty kversetiiniekvivalentteina. Näin ollen erot tuloksissa saattavat johtua erilaisista mittayksiköistä ja siankärsämön kukintojen flavonoidit vastaavat paremmin kversetiiniä kuin rutiinia (sitrusflavonoidi, jossa aglykoni on kversetiini ja glykoni on rutinoosi). Mikäli haluaa maksimoida fenolisten yhdisteiden saannon, tulee kukinnot kerätä mahdollisimman aikaisessa vaiheessa ennen hedelmien kehittymistä, sillä siankärsämön fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuuden on havaittu laskevan kasvuvaiheen mukaan, siirryttäessä kasvukaudella eteenpäin. Kasvuvaiheella ei ole havaittu olevan suurta vaikutusta flavonoidien kokonaispitoisuuteen. (Farhadi et al., 2020)



Kuva 10. Siankärsämön kukintojen aktiivisten yhdisteiden säilyvyys kuivauksessa. A) Fenolisten yhdisteiden pitoisuus, B) Antioksidanttisten yhdisteiden pitoisuus ja C) Flavonoidien pitoisuus.

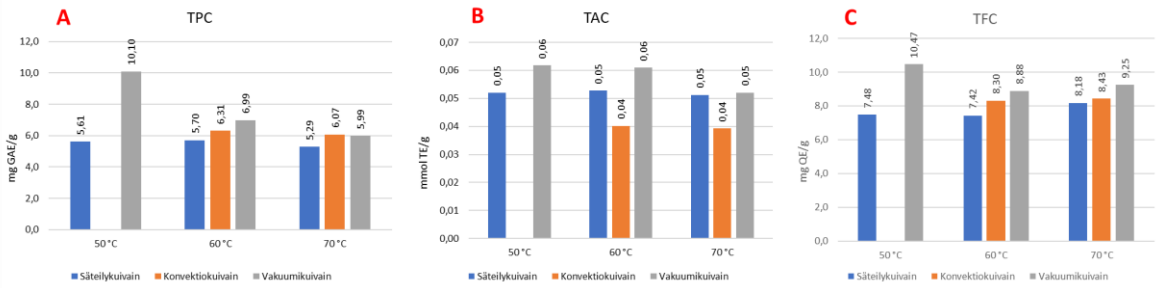
Tulosten perusteella siankärsämön kukintojen aktiiviset yhdisteet eivät ole lämpötilan osalta erityisen herkkiä kuivaukselle, sillä kaikkien yhdisteiden pitoisuudet säilyvät konvektiokuivaimessa ja säteilykuivaimessa lähes vakioina. Vakuumikuivaimessa lämpötilan nostamisella vaikuttaisi olevan lievä negatiivinen vaikutus vasteeseen. Aktiivisten yhdisteiden säilyvyys vaikuttaisi olevan selvästi enemmän riippuvainen käytetystä kuivaintyypistä kuin lämpötilasta. Kuivaintyypillä vaikuttaisi

olevan erityisen suuri vaikutus antioksidanttien säilyvyyteen, sillä TAC-pitoisuudet vakuumi-kuivatuissa näytteissä ovat noin kolminkertaiset verrattaessa muihin kuivaimiin, lukuun ottamatta 70 °C:ssa kuivattuja näytteitä. Eri kuivaimissa kuivattuja siankärsämön kukintoja on esitetty kuvassa Kuva 11.

Kuva 11. A) säteilykuivaimessa, B) konvektiokuivaimessa ja C) vakuumikuivaimessa kuivattuja siankärsämön kukintoja.

4.2.2. TPC, TAC & TFC säilyvyys väinönputken lehtien kuivauksessa

Väinönputken lehtien aktiivisten yhdisteiden pitoisuudet kuivauksen jälkeen on esitetty kuvassa Kuva 12 ja eri kuivaimissa kuivattuja väinönputken lehtiä on esitetty kuvassa Kuva 13. Toisin kuin siankärsämön kukinnoissa, erot väinönputken lehtien aktiivisten yhdisteiden pitoisuuksissa eri kuivainten välillä ei ole suuria eroja. Yleisesti fenolisten yhdisteiden saannot väinönputken lehdistä ovat selvästi pienempiä verrattaessa siankärsämön kukintoihin. Väinönputken lehtien mittaussarjassa ainoa selvästi erottuva tulos on 50 °C:ssa vakuumikuivaimessa kuivattu näyte, jossa TPC-pitoisuus (10,1 mg GAE/g) on korkeampi muihin tuloksiin verrattuna. Vastaava ilmiö on nähtävissä myös TFC-pitoisuuksissa, mutta erot ovat pienemmät. Verrattaessa 60 ja 70 °C kuivattuja näytteitä, havaitaan, että pitoisuudet eivät siankärsämön kukintojen tavoin enää juurikaan muutu lämpötilan kasvaessa. Mutta toisin kuin siankärsämön kukinnoilla, väinönputken lehtien osalta vaikuttaisi, että kuivausmenetelmällä ei ole ainakaan korkeissa lämpötiloissa yhtä suurta merkitystä. Tulosten perusteella siankärsämön kukinnot ovat potentiaalisempi fenolisten yhdisteiden lähde kuin väinönputken lehdet.



Kuva 12. Väinönputken lehtien aktiivisten yhdisteiden säilyvyys kuivauksessa. A) Fenolisten yhdisteiden pitoisuus, B) Antioksidanttisten yhdisteiden pitoisuus ja C) Flavonoidien pitoisuus.

Kuva 13. A) säteilykuivaimessa, B) konvektiokuivaimessa ja C) vakuumikuivaimessa kuivattuja väinönputken lehtiä.

Verrattaessa väinönputken lehtien TPC- ja TFC-pitoisuuksia, havaitaan, että TFC-pitoisuus on kaikissa näytteissä suurempi kuin vastaava TPC-pitoisuus. Tuloksesta erikoisen tekee se, että flavonoidit kuuluvat fenolisiin yhdisteisiin, joten TPC-pitoisuuden tulisi olla TFC-pitoisuutta suurempi. Todennäköisesti tuloksen taustalla ovat käytetyt mittausmenetelmät: Sekä TPC- että TFC-pitoisuudet on määritetty vertaamalla standardiliuoksiin, jotka sisältävät gallushappoa (TPC) ja kversetiiniä (TFC). Näin ollen pitoisuudet ovat vain arvioita edellä mainittujen yhdisteiden kanssa samankaltaisten yhdisteiden pitoisuudesta. Tulosten perusteella voidaan kuitenkin päätellä, että väinönputken lehtien fenolisista yhdisteistä todennäköisesti valtaosa on flavonoideja.

Väinönputken lehtien flavonoidien suhteellisen osuuden fenolisista yhdisteistä on aiemminkin osoitettua olevan korkea. Topal et al. 2021 ovat tekemissä kokeissa väinönputken lehtiuutteen fenolisista yhdisteistä noin puolet olivat flavonoideja, kun flavonoidipitoisuus oli 26,69 µg KE/mg kuivaa uutetta ja fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuus oli 53,50 µg GAE/mg kuivaa uutetta. Samoissa kokeissa väinönputken lehtiuutteilla havaittiin olevan korkeampi antioksidanttiaktiivisuus kuin α-tokoferolilla, joka on yksi E-vitamiinin muodoista. (Topal et al., 2021).

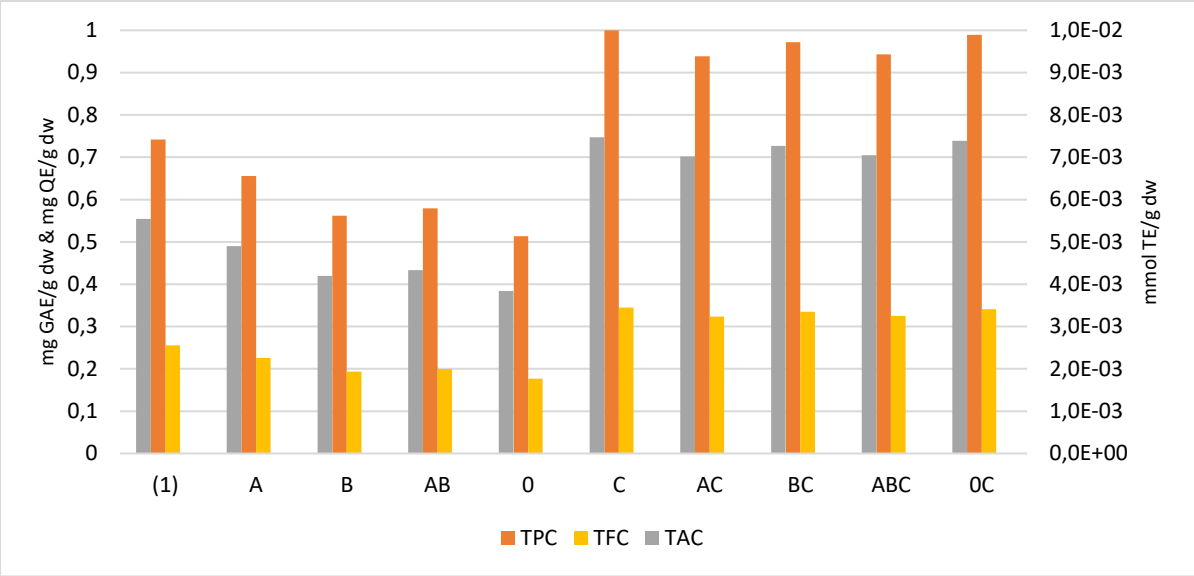
4.2.3. Maraljuuren juurten aktiivisten yhdisteiden välinen korrelaatio

Kasvukauden 2022 kuivauskokeissa havaittiin, että maraljuuren juurilla fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuudet (TPC) korreloivat vahvasti antioksidanttisten yhdisteiden (TAC) ja flavonoidien (TFC) pitoisuuksien kanssa. Tästä johtuen kasvukauden 2023 kuivauskokeissa TPC-pitoisuudet määritettiin jokaiselle näytteelle, kun taas TAC- ja TFC-pitoisuudet määritettiin osalle näytteistä, mutta kuitenkin jokaiselle erilaiselle kombinaatiolle vähintään kerran. Saatujen mittaustulosten pohjalta laadittiin yhdisteryhmien väliset korrelaatiokertoimet, jotka on esitetty taulukossa Taulukko 3. Positiivinen korrelaatio on sitä vahvempi, mitä lähempänä se on lukuarvoa 1. Käytännössä tämä tarkoittaa, että muutos kuivausolosuhteissa saa aikaan mitattavissa vasteissa yhtä suuren suhteellisen muutoksen. Näin ollen muiden aktiivisten yhdisteiden pitoisuudet voidaan määrittää laskennallisesti, kun tiedetään yhden tehoaineen pitoisuudet. Taulukossa Taulukko 3 esitetyn muuntokertoimen avulla voidaan ratkaista muiden tehoaineiden pitoisuudet kertomalla sen aktiivisen yhdisteen pitoisuus sen yhdisteen muuntokertoimella, joka halutaan ratkaista. Esimerkiksi TAC-pitoisuus voidaan ratkaista kertomalla vastaavan näytteen tunnettu TPC-pitoisuus muuntokertoimella 0,00747, jolloin tulos saadaan yksikössä mmol TE/g dw. Flavonoidipitoisuus saadaan yksikössä mg QE/g dw.

Taulukko 3. Aktiivisten yhdisteiden väliset korrelaatio- ja muuntokertoimet.

	TPC-TAC	TPC-TFC	TAC-TFC
Korrelaatio	0,968	0,959	0,965
Muuntokerroin	0,00747	0,345	46,6

Yhdisteiden välistä korrelaatiota on havainnollistettu kuvassa Kuva 14. Kuvassa pitoisuudet on normalisoitu siten, että näytettä, jossa TPC-pitoisuus oli korkein (C), on käytetty vertailulukuna, jolloin se saa itse lukuarvon 1 ja muut saavat arvon väliltä 0-1. Pylväsdiagrammista nähdään, että jokaisen yhdisteryhmän osalta erot eri näytteiden välillä ovat aina suhteellisesti samat. On tärkeää huomata, että korrelaatioiden avulla laskennallisesti saadut lukuarvot ovat vain suuntaa antavia. Mikäli on tärkeää tietää yhdisteiden tarkat pitoisuudet, täytyy näiden määritykseen käyttää analyyttisiä menetelmiä. Korrelaatiot aktiivisten yhdisteiden tuloksissa viittaavat siihen, että maraljuuren juuren antioksidanttiset yhdisteet ovat pääasiassa fenolisia yhdisteitä. Myös fenolisten yhdisteiden flavonoidien välinen korrelaatio vastaa odotuksia, sillä flavonoidit ovat fenolisia yhdisteitä ja ovat osa tanniinien molekyylirakennetta.



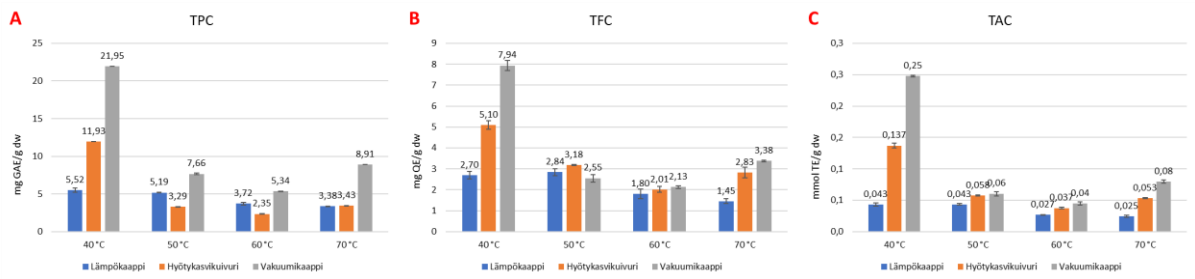
Kuva 14. TPC:n, TFC:n ja TAC:n välinen korrelaatio.

Miliauskas et al. 2004 tekemissä kokeissa havaittiin, että maraljuuren lehtien ja varsien antioksidanttipitoisuudet sekä fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuuksien välillä oli selkä korrelaatio. Heidän tekemissään kokeissa flavonoidien ja flavanolien pitoisuuksien sekä fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuuksien välillä oli vain lievä korrelaatio (Miliauskas et al., 2004). Eroja tuloksissa selittää todennäköisesti erot maraljuuren kasvinosien välillä; lehtien ja varsien fenoliset yhdisteet poikkeavat juurten fenolisista yhdisteistä.

4.2.4. TPC, TAC & TFC säilyvyys maraljuuren juuren kuivauksessa

Kasvukauden 2022 yksimuuttujakokeiden maraljuuren juuren aktiivisten yhdisteiden mittaustulokset on esitetty kuvassa Kuva 15. Kuvasta nähdään, että kaikkien aktiivisten yhdisteiden pitoisuudet putoavat merkittävästi näytteissä, joissa lämpötila oli yli 40 °C. Tulosten perusteella vakuumikuivain säilyttää aktiiviset yhdisteet parhaiten, etenkin 40 °C lämpötilassa, jolloin fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuudeksi mitattiin 21,95 mg GAE/g dw. Kuivauskokeissa mitatut fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuudet ovat keskinkertaisia, eikä niitä voida pitää erityisen korkeina tai matalina. Tältä osin tulokset vastaavat maraljuuren maanpäällisten osien fenolisten yhdisteiden mittaustuloksia. Miliauskas et al. 2004 tekemissä kokeissa maraljuuren lehtien ja varsien havaittiin sijoittuvat keskikastiin verrattaessa muihin erikoiskasveihin ja yrtteihin. Esimerkiksi keltapensashanhikki (*Potentilla fruticosa*) ja tuoksukurjenpolvi (Geranium macrorrhizum) sisältävät lähes kolmin- ja kaksinkertaiset määrät fenolisia yhdisteitä maraljuureen verrattuna. Toisaalta tähkälaventelin

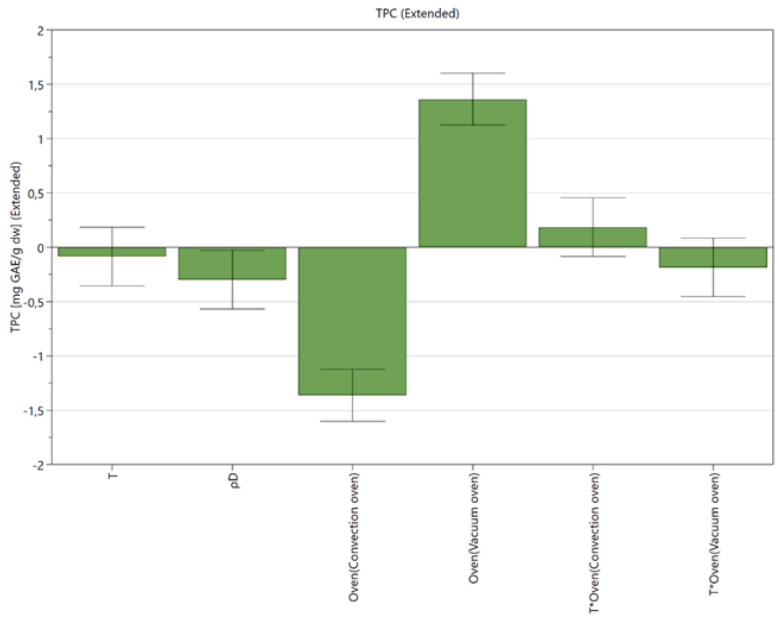
(Lavandula angustifolia) ja punahatun (*Echinacea purpurea*) TPC-pitoisuudet ovat alle puolet maraljuuren verrattuna. (Miliauskas et al., 2004)



Kuva 15. Maraljuuren juurten aktiivisten yhdisteiden säilyvyys kuivauksessa. A) Fenolisten yhdisteiden pitoisuus, B) Flavonoidien pitoisuus ja C) Antioksidanttisten yhdisteiden pitoisuus.

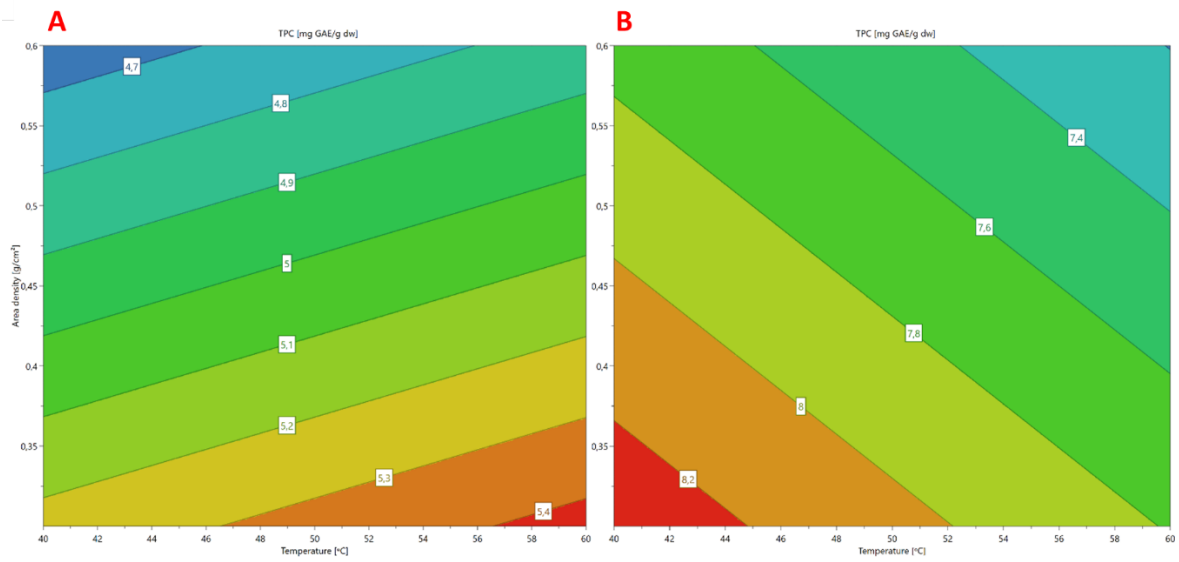
Kuivauskokeiden mittaustulosten perusteella maraljuuren juuren flavonoidipitoisuudet ovat noin kolmasosa fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuudesta. Näin ollen flavonoidit muodostavat merkittävän osan maraljuuren juuren fenolista yhdisteistä. Vastaava havainto on tehty maraljuuren lehtien ja varsien osalta. Miliauskas et al. 2004 tekemissä mittauksissa flavonoidien ja flavanolien pitoisuudet olivat yli puolet (ilmoitettu rutin ekvivalentteina, mg RE/g) fenolisten yhdisteiden kokonaismäärästä. Kyseisissä mittauksissa maraljuuren flavonoidipitoisuudet olivat mittaussarjan korkeimpien joukossa. (Miliauskas et al., 2004)

Kasvukaudella 2023 kuivauskokeissa tutkittiin, mitkä tekijät ovat kuivauksessa fenolisten yhdisteiden (TPC) säilyvyyden kannalta merkitsevimpiä muuttujia. Merkitsevimmät muuttujat on esitetty kuvassa Kuva 16. Kuvasta nähdään, että kuivain (Oven) on merkitsevin muuttuja. Huomioitavaa on, että kertoimet ovat uunien osalta vastakkaismerkkiset. Käytännössä tämä tarkoittaa, että vakuumikuivain säilyttää fenoliset yhdisteet selvästi konvektiouunia paremmin. Tulosten perusteella neliömassa (ρA) on toiseksi merkitsevin muuttuja ja sillä on negatiivinen vaikutus fenolisten yhdisteiden säilyvyyteen. Lämpötilan (T) kerroin on itsessään hyvin pieni, mutta lämpötilan ja kuivaimien yhteisvaikutukset ovat hieman merkitsevämpiä.



Kuva 16. Maraljuuren juuren kokonaisfenolipitoisuuden (TPC) kannalta merkitsevät muuttujat.

Merkitsevien muuttujien avulla piirretyt vyöhykekaaviot konvektiokuivaimelle (A) ja vakuumikuivaimelle (B) on esitetty kuvassa Kuva 17. Kuvasta nähdään, että energiatehokkuuden tavoin myös fenolisten yhdisteiden vyöhykekuvaajat ovat kuivaimille ovat toistensa peilikuvat. Kuvasta nähdään, että konvektiokuivaimessa TPC-pitoisuus säilyy korkeimmillaan, kun lämpötila (T) on 57-60 °C ja vakuumikuivaimessa puolestaan fenoliset yhdisteet säilyvät parhaiten lämpötiloissa 40-45 °C. Molemmille kuivaimille on yhteistä, että neliömassan (ρA) kasvattaminen heikentää TPC:n säilyvyyttä, mikä korostuu konvektiokuivaimella. Vertaamalla kaavioita, havaitaan myös, että fenoliset yhdisteet säilyvät paremmin vakuumikuivaimessa kuin konvektiokuivaimessa.



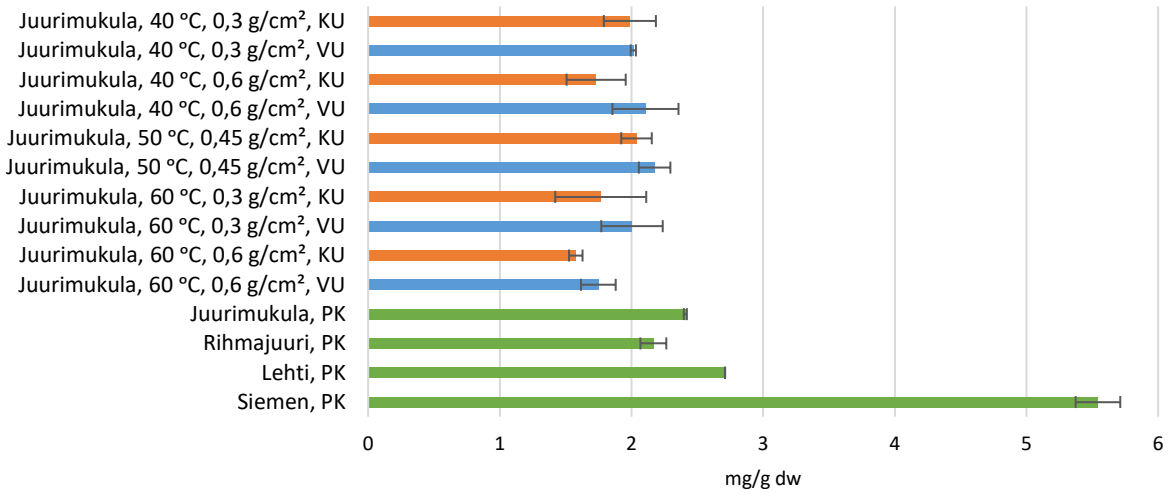
Kuva 17. Kuivausolosuhteiden vaikutus fenolisten yhdisteiden pitoisuuteen (TPC) A) konvektiokuivaimessa ja B) vakuumikuivaimessa.

Molempia vyöhykekuvaajia tarkasteltaessa havaitaan, että optimaaliset kuivausolosuhteet ovat mittausalueen nurkissa. Käytännössä tämä tarkoittaa, että optimointia jatkaessa muuttujia tulisi muuttaa siten, että neliömassaa laskettaisiin edelleen ja vakuumikuivaimessa lämpötilaa laskettaisiin alle 40 °C:n ja konvektiokuivaimessa lämpötilaa nostettaisiin yli 60 °C:n. Tähän viittaavat myös yksimuuttujakokeissa saadut tulokset, joissa näytteiden neliömassat olivat selvästi pienempiä.

4.2.5. 20-hydroksiekdysonin säilyvyys kuivauksessa

20-hydroksiekdysonipitoisuudet (20E) mitattiin maraljuuren neljälle eri kasvinosille, jotka olivat juurimukulat, rihmajuuret, lehdet ja siemenet. Kuivausolosuhteiden vaikutusta 20E:n säilyvyyteen eri kuivausolosuhteissa tutkittiin ainoastaan juurimukulan osalta. Muiden kasvinosien kuivaukseen käytettiin pakastekuivainta. 20E-pitoisuudet maraljuuren eri kasvinosissa kuivauksen jälkeen on esitetty kuvassa Kuva 18. Tulosten perusteella 20E-pitoisuuksuuden sekä lämpötilan, näytepedin paksuuden, kuivaintyypin tai näiden yhteisvaikutusten välillä ei ole nähtävissä selkeitä syyseuraussuhteita, mikä näkyy tuloksissa suurena hajontana. Tästä johtuen regressioyhtälön määrittäminen ja vyöhykekuvaajan piirtäminen ei ollut mahdollista.

Pylväsdiagrammista nähdään, että pakastekuivain säilyttää 20E-pitoisuuden vakuumi- ja konvektiokuivaimia paremmin. Keskimääräinen 20E-pitoisuusuus vakuumikuivatuissa näytteissä oli 1,99 ± 0,16 mg/g dw ja konvektiokuivatuissa näytteissä 1,82 ± 0,19 mg/g dw. Vastaavasti pakastekuivatuissa näytteissä pitoisuudet olivat 2,41 ± 0,012 mg/g dw. Tulosten perusteella voidaan karkeasti sanoa, että mittausalueen sisällä 20E ei ole kuivausherkkä, vaan pitoisuus säilyy kuivauksen aikana hyvin ja tulokset ovat molempien kuivaimien osalta samansuuntaisia.



Kuva 18. 20-hydroksiekdysonipitoisuudet maraljuuren eri kasvinosissa kuivauksen jälkeen. KU = konvektiouuni, VU = vakuumiuuni, PK = pakastekuivain.

Tulosten perusteella 20E esiintyy maraljuuren kaikissa kasvinosissa, mikä tukee aiempia löydöksiä (Kokoska & Janovska, 2009). Korkeimmat 20E-pitoisuudet mitattiin pakastekuivatuille maraljuuren siemenille, jossa pitoisuudet olivat noin kaksinkertaiset muihin näytteisiin verrattaessa. Huomionarvoista on myös, että 20E-pitoisuudet olivat pakastekuivatuissa lehdissä (2,71 mg/g dw) suuremmat kuin pakastekuivatuissa juurimukuloissa (2,41 ± 0,01 mg/g dw) tai rihmajuurissa (2,17 ± 0,10 mg/g dw). Maraljuuren lehdet ovat potentiaalinen 20E-lähde ja niiden korjuu sekä esikäsittely on juuriin nähden helpompaa. Toisaalta on hyvä huomioida, että saanto on laskettu kuivaa lähtöainetta kohden. Lehtien kuiva-ainepitoisuuden ollessa juuria matalampi, tulee niitä kerätä tuorepainolta enemmän, jotta vastaava määrä 20E:tä voidaan erottaa. Lehtien korjuussa tulee huomioida niiden rooli yhteytyksessä: korjuu kesken kasvukauden saattaa häiritä kasvin kehitystä ja kasvua. Näin ollen korjuun ajankohta tulee harkita tarkkaan.

Maraljuurelle tyypilliset 20E-pitoisuudet kuiva-ainetta kohden ovat juurissa 0,04-0,81 %, maanpäällisissä osissa 0,03-1,22 % ja siemenissä 0,27-1,51 % (Kokoska & Janovska, 2009). Tässä hankkeessa mitatut 20E-pitoisuudet vastaavat maraljuuren kaikkien kasvinosien suhteen hyvin kirjallisuusdataa. Kaikki mittaustulokset ovat annettujen vaihteluvälien sisällä, sijoittuen välien keskivaiheille tai hieman alapuolelle (1 mg/g = 0,1 %). Sadonkorjuuajalla sekä kasvuolosuhteista etenkin lämpötilalla on havaittu olevan suuri vaikutus maraljuuren 20E-saantoon (Martinussen et al., 2009). Erikoiskasvit hankkeen kuivauskokeissa sadonkorjuuajan tai kasvuolosuhteiden vaikutusta 20E:n saantoon ei tutkittu, joten korkeammat saannot ovat mahdollisia korjuuajankohtaa muuttamalla.

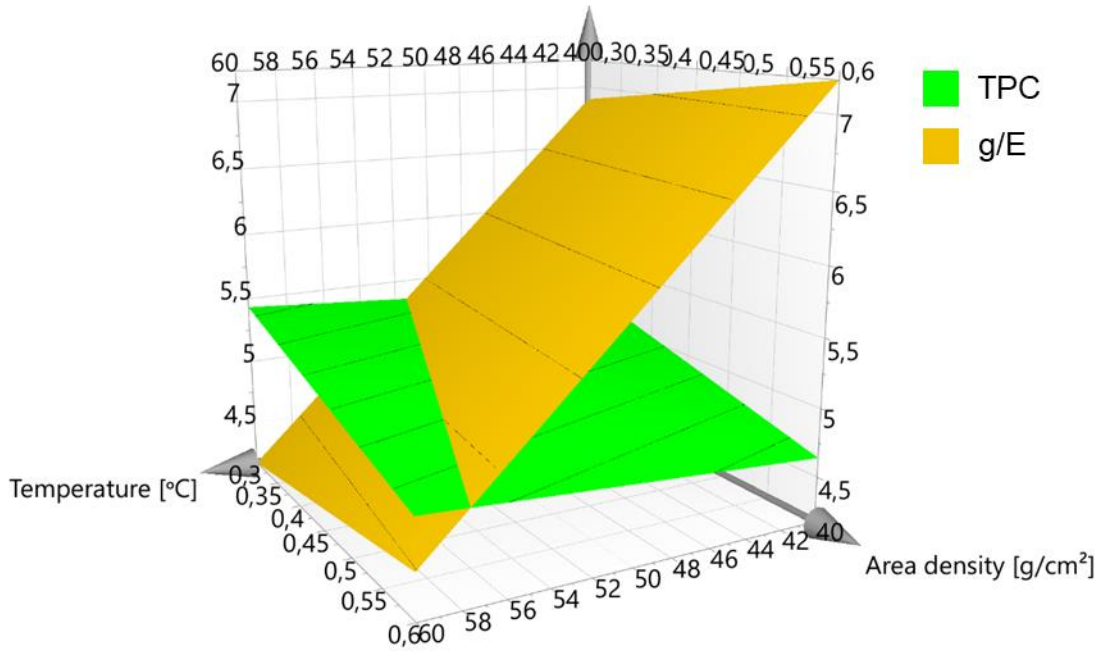
Uuttomenetelmä ja liuotin vaikuttavat hyvin paljon saantoon, joten osa 20E:stä on voinut jäädä lähtöaineeseen. Hankkeessa 20E:n uuttoon käytettiin metanolia (99,9 % v/v), mutta myös muiden liuottimen käyttö on mahdollista. Esimerkiksi käyttämällä luonnollisia syväeutektisia liuottimia (Natural Deep Eutectic Solvents (NADES)) ja ionisia liuottimia (Ionic Liquids (ILs)) pinaatista uuttuvan 20E:n saantoa on voitu parantaa yli 20 %:lla verrattaessa perinteisiin liuottimiin. Erilaisten liuottimien avulla pinaatin kasvinosista on voidaan uuttaa 17-885 µg/g dw (0,017-0,885 mg/g dw) 20E:tä. (Bajkacz et al., 2020) Verrattaessa hankkeessa saatuihin tuloksiin, maraljuuri on lupaavampi 20E-lähde kuin pinaati. Hankkeessa maraljuuren juurille mitatut 20E-pitoisuudet ovat samaa luokkaa kuin Brasiliassa kasvavan Maria-Preta -puun (*Vitex polygama* Cham.) varvuista on voitu eristää metanoliuutolla (0,27 % w/w dw) (Gallo et al., 2006).

5. Johtopäätökset

5.1. Energiatehokkuuden ja aktiivisten yhdisteiden säilyvyyden optimointi

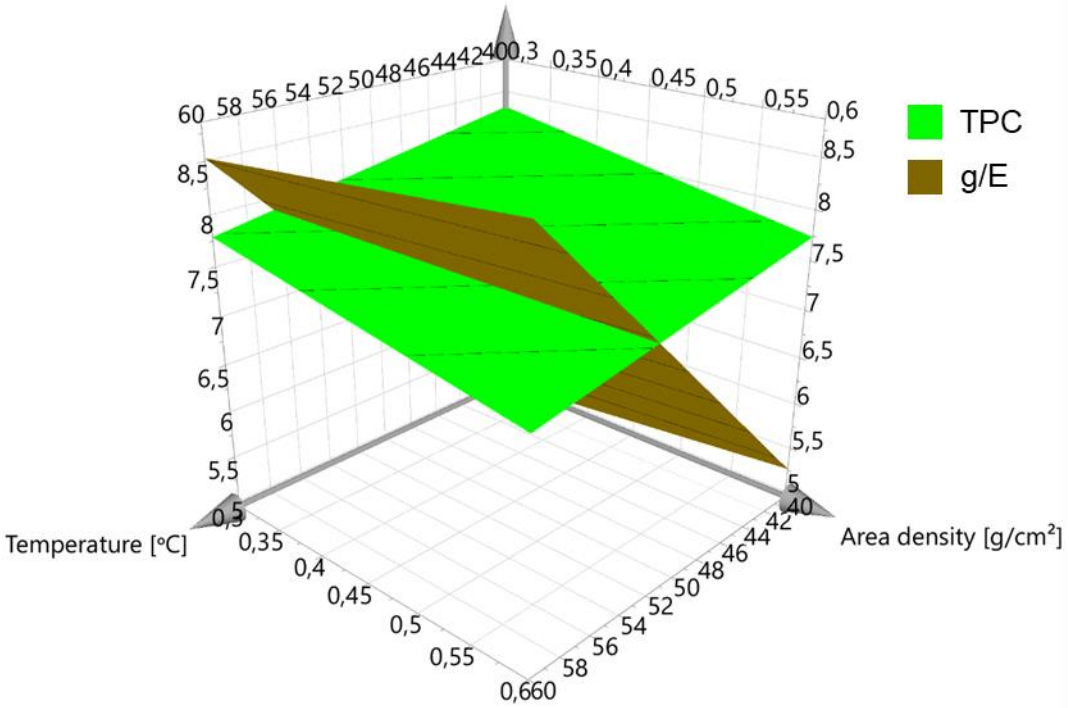
Kappaleissa 4.1. ja 4.2.1 todettiin, että konvektiouunissa energiatehokkuus heikkenee, kun kuivauslämpötilaa nostetaan ja fenolisten yhdisteiden säilyvyys puolestaan paranee, kun lämpötilaa nostetaan. Kun molemmat vyöhykekuvaajat esitetään samassa kuvassa (Kuva 19), nähdään, että energiatehokkuuden (g/E) ja fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuuden (TPC) vyöhykekaaviot leikkaavat toisensa. Ongelmallisen tilanteesta tekee se, että optimoinnissa molempien vasteiden osalta tavoitellaan mahdollisimman suurta lukuarvoa. Käytännössä tämä tarkoittaa, että optimoinnissa joudutaan tekemään kompromisseja: mikäli toista vastetta kasvatetaan, pienenee toinen. Se kuinka merkittävä energiatehokkuus on optimoinnin kannalta, riippuu paljon siitä, mihin hintaan erikoiskasviviljelijä energiansa ostaa ja kuinka paljon mahdolliset menetykset tuotteen aktiivisissa yhdisteissä vaikuttavat tuotteesta saatavaan hintaan. Näin ollen yleispätevää ohjetta aktiivisten yhdisteiden ja energiatehokkuuden yhtäaikaisesta optimoinnista ei voida antaa, vaan molempien vasteiden painoarvo tulee arvioida tapauskohtaisesti.

Huomionarvoista tuloksissa on, että energiatehokkuuden osalta kulmakerroin on fenolisten yhdisteiden kuvaajaan nähden selvästi jyrkempi. Näin ollen muutokset kuivausparametreissä näkyvät suurempina muutoksina energiatehokkuuden kuin fenolisten yhdisteiden vasteessa. Tätä saattaa osin selittää kokeissa käytetyn konvektiokuivaimen heikko eristys. Korkeammissa lämpötiloissa hukkalämmön osuus kasvaa, sillä lämpö johtuu kuivaimen seinän läpi ja osa lämmöstä kuluu kuivainta ympäröivän ilman lämmittämiseen. Mikäli eristystä parannettaisiin, olisi todennäköistä, että konvektiokuivaimen energiatehokkuus paranisi selvästi. Kuivaimen riittävä lämpöeristys on tärkeää huomioida kuivaimeen investoitaessa.



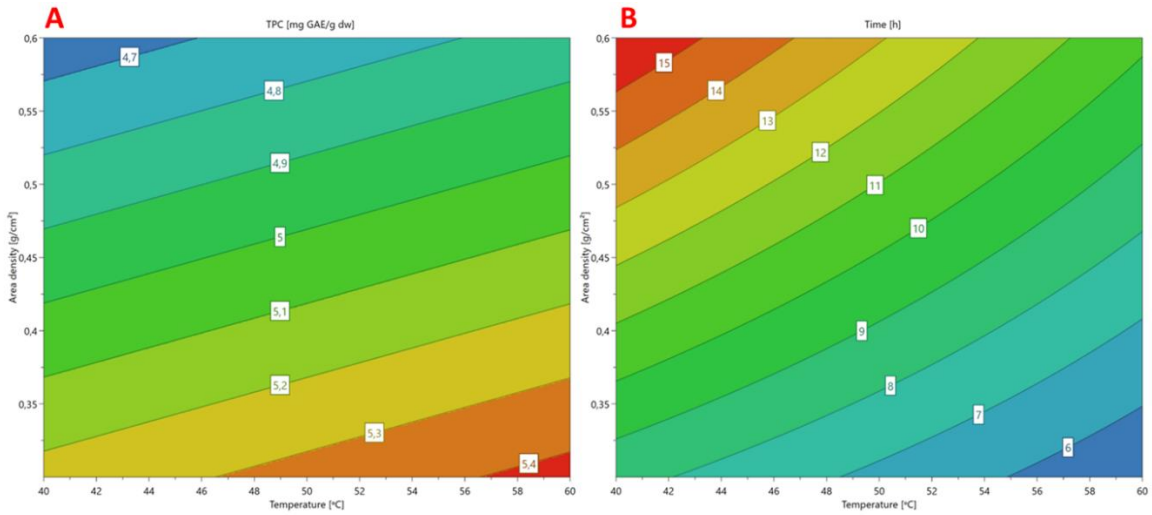
Kuva 19. Kuivausolosuhteiden vaikutus energiatehokkuuteen (g/E) ja fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuuteen (TPC) konvektiokuivaimessa.

Kuivausolosuhteiden vaikutus energiatehokkuuteen (g/E) ja fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuuteen (TPC) vakuumikuivaimessa on esitetty kuvassa Kuva 20. Kuten konvektiokuivaimen tapauksessa, myös vakuumikuivaimessa energiatehokkuus ja aktiivisten yhdisteiden pitoisuuden vyöhykekuvaajat risteävät toisensa. Verrattaessa kuivaimia keskenään, vakuumikuivaimessa lämpötilan ja neliömassan vaikutukset vasteisiin ovat kuitenkin täysin päinvastaiset. Molemmassa tapauksessa lopputulema on kuitenkin, että optimoinnissa on aina tehtävä kompromisseja toisen vasteen suhteen.



Kuva 20. Kuivausolosuhteiden vaikutus energiatehokkuuteen (g/E) ja fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuuteen (TPC) vakuumikuivaimessa.

Erikoista saaduissa tuloksissa on se, että fenolisten yhdisteiden säilyvyys on vakuumiuunissa parhaimmillaan, kun kuivauslämpötila on mittausalueen alarajalla, kun taas konvektiouunissa aktiiviset yhdisteet säilyvät paremmin korkeissa lämpötiloissa. Todennäköisesti tämä on yhteydessä kuivaukseen kuluneeseen aikaan. Kuvassa Kuva 21 fenolisten yhdisteiden pitoisuus (A) on esitetty yhdessä kuivauksessa kuluneen ajan (B) kanssa. Vyöhykekaavioita tarkasteltaessa havaitaan, että kuivauslämpötilaa laskettaessa ja neliömassaa kasvatettaessa kuivaukseen kulunut aika nousee jopa 15 tuntiin, kun pienimmillään kuivausaika konvektiokuivaimessa oli 6 h. Näin ollen fenolisten yhdisteiden saanto on ollut heikointa näytteissä, joissa kuivausaika on ollut hyvin pitkä. Tämä on mahdollisesti seurausta fenolisten yhdisteiden hapettumista: Konvektiokuivaimessa näytepedin läpi puhalletaan jatkuvasti uutta happipitoista ilmaa. Mitä pidempää kuivaus kestää, sitä enemmän ilmaa näytteen läpi kulkee ja kontaktiaika hapen kanssa kasvaa. Vakuumikuivaimessa vastaavaa ilmiötä ei tapahdu, sillä kuivaus tehdään tyhjiössä.



Kuva 21. A) kuivausolosuhteiden vaikutus fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuuteen (TPC) konvektiokuivaimessa ja B) kuivausolosuhteiden vaikutus kuivauksen kestoon (Time) konvektiokuivaimessa.

5.2. Esikäsittelyn vaikutus aktiivisten yhdisteiden säilyvyyteen

Kuivauskokeissa havaittiin, että maraljuuren juuren esikäsittelyn esimurskaus oli välttämätöntä tasalaatuisten näytteiden valmistamisen kannalta. Toisaalta kokeissa havaittiin, että esimurskaus laskee näytteiden fenolisten yhdisteiden kokonaispitoisuutta selvästi. TPC-pitoisuudet esimurskatuissa näytteissä olivat noin 40 % pienemmät kuin vastaavissa näytteissä, jotka jätettiin hyvin karkeiksi. Pakastekuivattuihin näytteisiin verrattaessa erot ovat vielä suuremmat: pakastekuivattujen näytteiden TPC-pitoisuudet olivat noin kolminkertaisia verrattaessa esimurskattuihin näytteisiin Kuvassa Kuva 22 on esitetty käsin revitty, esimurskattu sekä siivutettu ja pakastekuivattu maraljuurinäyte. Kuvasta nähdään, että esimurskauksen jälkeenkin partikkelikoko säilyy hyvin karkeana, mutta vaikutus TPC-pitoisuuteen on yllättävän suuri. Tulosten perusteella näytteisen esimurskauksen vaikutusta TPC:n säilyvyyteen tulisi tutkia lisää ja partikkelikokoa pyrkiä optimoimaan.

Pakastekuivatuissa näytteissä TPC-pitoisuudet olivat 29,4 ± 2,2 mg GAE/g dw, mikä on yli 4,5-kertainen esimurskattuihin ja vakuumi- tai konvektiokuivaimessa kuivattujen näytteiden keskimääräiseen TPC-pitoisuuteen verrattuna (4,6 ± 1,7 mg GAE/g dw). Kyseisessä hankkeessa ei kuitenkaan tutkittu pakastekuivauksen kuivausparametrien vaikutusta kuivauksen, eikä esimerkiksi energiatehokkuutta pyritty optimoimaan, joten suoria vertailuja muihin kuivaimiin ei voida tehdä. Tulosten perusteella kuitenkin vaikuttaa, että pakastekuivaus on fenolisten yhdisteiden säilyvyyden kannalta hellävarainen vaihtoehto ja sen potentiaalia erikoiskasvien kaupalliseen kuivaukseen olisi hyvä tutkia lisää.

Kuva 22. A) Käsin revitty, B) esimurskattu ja C) siivutettu ja pakastekuivattu maraljuurinäyte.

6. Suositukset

Erikoiskasvit hankkeessa tehtyjen kuivauskokeiden tulosten perusteella yleispäteviä kuivausohjeita, jotka soveltuisivat kaikille kasveille ja kasvinosille, ei voida antaa. Hankkeessa saatuja tuloksia voi varauksella soveltaa eri kasvien vastaaville kasvinosille, mutta luotettavien tulosten saamiseksi on suositeltavaa, että hankkeessa tehdyt kokeet toistetaan muille mielenkiinnon kohteena oleville kasveille ja kasvinosille vastaavilla menetelmillä.

Tulosten perusteella maraljuuren juuren aktiivisten yhdisteiden säilyvyys kuivauksen aikana riippuu hyvin paljon sekä esikäsittelystä että kuivaintyypistä. Sama kuivauslämpötila voi antaa erityyppisellä kuivaimella jopa täysin päinvastaisen vasteen. Yhteistä kokeissa käytetyille konvektio- ja vakuumikuivaimille on, että kuivattava materiaali tulisi kuivata mahdollisimman ohuena mattona, jolloin neliömassa on pieni, jolloin aktiivisten yhdisteiden pitoisuudet säilyvät mahdollisimman korkeina. Toisaalta energiatehokkuus paranee, kun neliömassaa kasvatetaan, jolloin samalla energiamäärällä voidaan kuivata enemmän maraljuuren juurta.

Kuivausta optimoitaessa joudutaan tekemään kompromisseja. Energiatehokkuuden ja aktiivisten yhdisteiden säilyvyyden kannalta muutokset kuivauksen lämpötilassa ja neliömassassa näkyvät päinvastaisina vasteina. Se, kumpaa vastetta painotetaan kuivauksessa enemmän, on tapauskohtaista ja riippuu ainakin energiasta maksettavasta hinnasta sekä aktiivisten yhdisteiden pitoisuuden vaikutuksesta tuotteesta saatavaan hintaan. Hankkeessa ei tehty teknistaloudellista tarkastelua, joten kuivauksen kannattavuuteen ei voida tässä vaiheessa ottaa enempää kantaa.

Maraljuuren kuivauksesta tekee erittäin haastavaa juurimukuloiden sisältämä suuri multamäärä. Jotta kaikki multa saadaan poistettua, vaativat juurimukulat intensiivisen esikäsittelyn, ennen kuin arvokkaat yhdisteet voidaan uuttaa talteen. Aluksi maasta kaivetut juurimukulat tulee puhdistaa ravistelemalla, harjaamalla ja pesemällä. Seuraavaksi juuret esimurskataan, kuivataan, jauhetaan ja lajitetaan. Jokainen vaihe vaatii runsaasti käsityötä, mikäli automatisointia ei voida toteuttaa. Lisäksi esikäsittelyn havaittiin selvästi heikentävän maraljuuren aktiivisten yhdisteiden säilyvyyttä kuivauksessa. Esikäsittelyn optimointi on yksi tärkeimmistä askelista kaupallisesti kannattavan prosessin luomisessa.

Kuivauskokeissa havaittiin, että maraljuuren juurten sisältämä 20-hydroksiekdysoni (20E) ei ole kuivausherkkä testausalueen sisäpuolella, joten kuivauksen optimoinnissa voidaan keskittyä muiden yhdisteryhmien säilyvyyden sekä energiatehokkuuden optimointiin. Mittaustulosten perusteella maraljuuren lehtien havaittiin sisältävän jopa yhtä paljon 20-hydroksiekdysoneja kuin maraljuuren juurien. Maraljuuren juuren työläs esikäsittely puoltaa jatkotutkimusten tekemistä maraljuuren lehdille.

Maraljuuren juurille tehdyistä kuivauskokeista saadut tulokset viittaavat kuivausajan olevan etenkin konvektioon perustuvissa kuivaimissa tärkeä muuttuja aktiivisten yhdisteiden säilyvyyden kannalta. Pitkään jatkuvan kuivauksen aikana suurempi määrä ilmaa läpäisee näytepedin, jolloin todennäköisyys aktiivisten yhdisteiden hapettumiselle kasvaa. Vakuumikuivausmenetelmissä systeemiin ei tuoda ilmaa, joten kuivausajalla ei ole yhtä merkittävää vaikutusta aktiivisten yhdisteiden pitoisuuteen.

Lähdeluettelo

Bajkacz, S., Rusin, K., Wolny, A., Adamek, J., Erfurt, K., & Chrobok, A. (2020). Highly efficient extraction procedures based on natural deep eutectic solvents or ionic liquids for determination of 20-hydroxyecdysone in spinach. *Molecules*, *25*(20). https://doi.org/10.3390/molecules25204736

Buděšínský, M., Vokáč, K., Harmatha, J., & Cvačka, J. (2008). Additional minor ecdysteroid components of Leuzea carthamoides. *Steroids*, *73*(5), 502–514. https://doi.org/10.1016/j.steroids.2007.12.021

Farhadi, N., Babaei, K., Farsaraei, S., Moghaddam, M., & Ghasemi Pirbalouti, A. (2020). Changes in essential oil compositions, total phenol, flavonoids and antioxidant capacity of Achillea millefolium at different growth stages. *Industrial Crops and Products*, *152*. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112570

Gallo, M. B. C., Beltrame, F. L., Vieira, P. C., Cass, Q. B., Fernandes, J. B., & Das Graças Fernandes Da Silva, M. F. (2006). Quantitative determination of 20-hydroxyecdysone in methanolic extract of twigs from Vitex polygama Cham. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, *832*(1), 36–40. https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2005.12.006

Kokoska, L., & Janovska, D. (2009). Chemistry and pharmacology of Rhaponticum carthamoides: A review. In *Phytochemistry* (Vol. 70, Issue 7, pp. 842–855). https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.04.008

Lanfer-Marquez, U. M., Barros, R. M. C., & Sinnecker, P. (2005). Antioxidant activity of chlorophylls and their derivatives. *Food Research International*, *38*(8–9), 885–891. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.02.012

Martinussen, I., Volodin, V., & Uleberg, E. (2009). *Effect of Climate on Plant Growth and Level of Adaptogenic Compounds in Maral Root (Leuzea charthamoides (Willd... GRANTS, NORWAY GRANTS: GENETIC AND PHYTOCHEMICAL DIVERSITY OF BLUEBERRIES ORIGINATING FROM BULGARIA AND NORWAY AND THEIR BIOLOGICAL ACTIVITIES RELATED TO HUMAN HEALTH View project Plant-animal interaction View project*. https://www.researchgate.net/publication/236731377

Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., & Van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, *85*(2), 231–237. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.05.007

Napierała, M., Nawrot, J., Gornowicz-Porowska, J., Florek, E., Moroch, A., Adamski, Z., Kroma, A., Miechowicz, I., & Nowak, G. (2020). Separation and hplc characterization of active natural steroids in a standardized extract from the serratula coronata herb with antiseborrheic dermatitis activity. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *17*(18), 1–12. https://doi.org/10.3390/ijerph17186453

Topal, M., Ozturk Sarıkaya, S. B., & Topal, F. (2021). Determination of Angelica archangelica's Antioxidant Capacity and Mineral Content. *ChemistrySelect*, *6*(31), 7976–7980. https://doi.org/10.1002/slct.202102282

Wu, J., Gao, L., Shang, L., Wang, G., Wei, N., Chu, T., Chen, S., Zhang, Y., Huang, J., Wang, J., & Lin, R. (2017). Ecdysterones from Rhaponticum carthamoides (Willd.) Iljin reduce hippocampal excitotoxic cell loss and upregulate mTOR signaling in rats. *Fitoterapia*, *119*, 158–167. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2017.03.015