# Erikoiskasvit

# Kasvimateriaalien uutto- ja tislausmahdollisuudet

**Mikko Junttila**

**TKI-asiantuntija**
**Kemia ja biotalous**
**Centria ammattikorkeakoulu**

**TIIVISTELMÄ**

Kiinteä-neste-uutto on yksi menetelmistä, jota voidaan käyttää korkeamman jalostusarvon tuotteiden valmistamiseen kasvimateriaaleista. Uutossa kiinteästä kasvimateriaalista siirretään haluttuja arvoaineita uutossa käytettyyn liuottimeen. Tässä hankkeessa mukana olleet erikoiskasvit, maraljuuri ja siankärsämö sisältävät mm. antioksidanttisia yhdisteitä, joita uuttamalla voidaan valmistaa tuotteita, joissa näiden aineiden pitoisuudet ovat korkeammat kuin itse kasvissa ja saattaa ne myös mahdollisesti helpommin hyödynnettävään muotoon. Kiinteä-neste-uuton periaate on ollut tunnettu jo tuhansia vuosia. Menetelmää kehitetään edelleen hyödyntämällä uusia vasta kehitteillä olevia tekniikoita. Tässä raportissa esitellään teknisesti vähemmän vaativia ja jo pitkään hyödynnettyjä kiinteä-neste-uuttomenetelmiä. Näiden menetelmien käyttöönotto ei vaadi erikoisosaamista eivätkä investoinnit menetelmiin ole kovin suuret.

Nopeutetun uuton laite ASE (accelerated solvent extractor) on uuttomenetelmä, jota hyödynnetään runsaasti Centrialla tehtävässä biomassojen tutkimuksessa. Myös tämän hankkeen aikana laite osoittautui hyödylliseksi. Korkean noin 100 bar:n uuttopaineen ja automaattisen uutteen erottamisen kiintoaineesta johtuen tutkimus on nopeampaa ja siten myös pidempien uuttosarjojen teko on mahdollista. Hankkeen aikana ASE-laitetta käytettiin antioksidanttisten yhdisteiden ja 20-hydroksiekdysonin pitoisuuksien määrittämiseen hankkeessa mukana olleista tuoreista ja kuivatuista kasvimateriaaleista. Näytteet uutettiin kaksi kertaa, uutteet yhdistettiin ja uutteista analysoitiin tutkittavien yhdisteiden pitoisuudet. Parhaimmillaan uutteita ei tarvinnut jatko käsitellä vaan ne voitiin analysoida sellaisenaan.

Eteeriset öljyt on yksi mahdollinen kaupallistettava tuote erikoiskasveissa. Yleisin menetelmä eteeristen öljyjen eristämiseen kasvimateriaalista on vesihöyrytislaus. Toinen yleistymässä oleva menetelmä on ylikriittinen hiilidioksidiuutto. Molempien menetelmien toimintaperiaate on esitetty tässä raportissa. Väinönputken juurista ja siemenistä eristetty eteerinen öljy on kaupallinen tuote. Juurista eristettyä öljyä käytetään mm. alkoholijuomien maustamiseen. Tässä hankkeessa osoitettiin, että myös väinönputken lehdet sisältävät eteerisiä öljyjä. Öljystä tunnistettiin mm. terpinen-4-oli niminen yhdiste, jota esiintyy esimerkiksi teepuun lehdistä eritetyssä eteerisessä öljyssä ja jota hyödynnetään mm. hajusteiden valmistuksessa. Centrialla testattiin väinönputken eri osien vesihöyrytislausta. Todennäköisesti väärin ajoittuneesta sadonkorjuusta johtuen tislaukset tuottivat kirjallisuudessa ilmoitettujen määrien alarajoilla olevia määriä eteerisiä öljyjä lukuun ottamatta lehdistä erotettua vesiliukoista eteeristä öljyä.

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

TIIVISTELMÄ ..... 2
1. JOHDANTO ..... 4
2. KASVIMATERIAALIEN LIUOSUUTTO ..... 5
2.1 MASEROINTI ..... 5
2.2 INFUUSIO ..... 6
2.3 DIGESTIO ..... 7
2.4 KEITTÄMINEN (Decoction) ..... 7
2.5 PERKOLOINTI ..... 7
2.6 UUTTEIDEN KUIVAUS ..... 8
3. ASE-UUTTOLAITE APUNA KASVIMATERIAALIEN ESIKÄSITTELYIDEN JA UUTTOJEN VAIKUTUSTEN TUTKIMUKSESSA ..... 10
4. ETEERISET ÖLJYT JA NIIDEN ERISTÄMINEN KASVIMATERIAALEISTA ..... 12
4.1 ETEERISTEN ÖLJYJEN ERISTÄMINEN VESIHÖYRYTISLAUKSELLA ..... 13
4.2 ETEERISTEN ÖLJYJEN ERISTÄMINEN YLIKRIITTISELLÄ HIILIDIOKSIDIUUTOLLA ..... 14
4.3 VÄINÖNPUTKEN VESIHÖYRYTISLAUKSET CENTRIALLA ..... 16
4.3.1 TISLAUSLAITTEISTON RAKENTAMINEN ..... 16
4.3.2 VESIHÖYRYTISLAUKSET ..... 17
4.3.3 VESIHÖYRYTISLAUSTEN TULOKSET ..... 19
4.3.4 ERISTETTYJEN ETEERISTEN ÖLJYJEN GC-MS -ANALYYSI ..... 20
5. JOHTOPÄÄTÖKSET JA SUOSITUKSET ..... 21
LÄHTEET ..... 22
LIITTEET ..... 24
LIITE 1. Elokuussa 2023 väinönputken siemenistä vesihöyrytislatun eteerisen öljyn GC-MS -kromatogrammi ja yhdisteiden tunnistuksia. ..... 24
LIITE 2. Elokuussa 2023 väinönputken juuresta vesihöyrytislatun eteerisen öljyn GC-MS -kromatogrammi ja yhdisteiden tunnistuksia. ..... 25
LIITE 3. Elokuussa 2023 väinönputken lehdistä vesihöyrytislatun ja vedestä heksaanilla uutetun eteerisen öljyn GC-MS -kromatogrammi ja yhdisteiden tunnistuksia. ..... 26
LIITE 4. Kesäkuussa 2023 väinönputken lehdistä vesihöyrytislatun eteerisen öljyn GC-MS -kromatogrammi ja yhdisteiden tunnistuksia. ..... 27
LIITE 5. Loppukesästä 2022 väinönputken lehdistä vesihöyrytislatun ja vedestä heksaanilla uutetun eteerisen öljyn GC-MS-kromatogrammi ja yhdisteiden tunnistuksia. ..... 28

## 1. JOHDANTO

Luonnonmateriaalien uuttamisella on jo pitkät perinteet (Kuva 1). Jo muinaiset sivilisaatiot jatkojalostivat kasvimateriaaleja eristämällä niistä ravintoaineita ja muita komponentteja mm. esteettisiin ja hengellisiin tarkoituksiin. Egyptiläiset yli 4000 vuotta sitten oli ensimmäinen sivilisaatio, joka hyödynsi neste-kiinteä-uuttoa väri- ja aromiaineiden eristämisessä ja materiaalien valmistuksessa. Muinaisesta Irakista löytyneiden saviastioiden uskotaan käytetyn Soxleth-uutoissa mm. parfyymien valmistukseen. Tislaaminen on ollut tunnettua jo Kreikan ja Rooman sivilisaatiosta lähtien. Etanolin tislaamisen noin tuhat vuotta sitten sanotaan olleen käänteentekevää niin lääketieteessä, ruuan valmistuksessa kuin uutoissa. Uudenlaisen liuottimen käyttäminen mahdollisti erilaisten väri- ja makuaineiden sekä antioksidanttisten komponenttien eristämisen kasvimateriaaleista. (Chemat et al, 2020)

**Kuva 1.** Eliksiirin valmistusta vuodelta 1224. Lähde: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/1/1f/Folio_Materia_Medica_Dioscurides_Met_13.152.6_%28cropped%29.jpg

Tässä raportissa esitellään vuosituhansien kehitystyön tuloksena syntyneitä erilaisia neste-kiinteä-uuttomenetelmiä, joita hyödynnetään yhä tänä päivänä. Menetelmät eivät ole teknisesti vaativia eivätkä investoinnit menetelmissä käytettäviin laitteisiin ole kohtuuttoman suuret. Siten ne soveltuvat kasvimateriaalien jatkojalostamiseen myös pienemmässäkin mittakaavassa.

Eteeriset öljyt ovat yksi mahdollinen tuote, jota voidaan eristää kasveista. Neste-kiinteä-uuttomenetelmien lisäksi tässä raportissa esitellään kaksi eteeristen öljyjen erotusmenetelmää, vesihöyrytislauksen ja ylikriittisen hiilidioksidiuuton. Centrialla on tutkittu väinönputken eri osien vesihöyrytislausta. Tässä raportissa esitetään niiden kokeiden tuloksia.

## 2. KASVIMATERIAALIEN LIUOSUUTTO

Kasvimateriaalin liuosuutto on kiinteä/neste erotusprosessi, jossa kiinteä kasvimateriaali asetetaan kontaktiin nestemäisen liuottimen kanssa. Kasvimateriaalissa olevat halutut komponentit liukenevat ja varastoituvat käytettyyn liuottimeen. Prosessissa saatu liuos on nimeltään uute. Kuivauute saadaan poistamalla uuton jälkeen uutteen nestekomponentti.

Usein termiä ”uute” käytetään väärin. Ainoastaan kiinteä/neste erotusprosessilla voidaan tuottaa uutteita. Virheellisesti usein myös kuivattua ja jauhettua kasvimateriaalia markkinoidaan ”uutteena” vaikka kyseessä ei varsinaisesti ole uute.

Puutteistaan huolimatta liuosuutolla on jo pitkät perinteet kasvimateriaalien jatkojalostuksessa. Perinteisten uuttomenetelmien puutteisiin pyritään vastaamaan kehittämällä uusia uuttomenetelmiä, jotka hyödyntävät uudenaikaisia teknologioita. Muun muassa ultraäänen, mikroaaltouunin, entsyymien ja ylikriittisten nesteiden hyödyntämistä uutoissa on tutkittu. Uudenaikaiset uuttomenetelmät ovat vielä kehitysasteella ja niiden skaalaaminen isoon mittakaavaan on vielä kesken (Kumar ja Sit, 2022). Ne ovat myös perinteisiä liuosuuttomenetelmiä kalliimpia ja voivat myös vaatia erityisosaamista. Tässä raportissa esitellään lyhyesti perinteisiä liuosuuttomenetelmiä, joita on taloudellisesti mahdollista hyödyntää myös pienemmän mittakaavan liuosuutoissa. Perinteiset liuosuuttomenetelmät eivät edellytä myöskään nykyaikaisissa uuttomenetelmissä käytettyjen teknologioiden omaksumista.

### 2.1 MASEROINTI

Maserointi on uuttotekniikka, joka suoritetaan huoneen lämpötilassa. Kasvimateriaali voi tapauskohtaisesti olla joko kuivattua tai tuoretta. Ennen maserointia kokonainen kasvimateriaali hienonnetaan materiaalin pinta-alan kasvattamiseksi. Tämä parantaa kasvimateriaalin sekoittumista maseroinnissa käytettyyn liuottimeen ja uutettavien komponenttien siirtymistä liuottimeen. Liuottimen valintaan vaikuttavat kasvimateriaali, kasvimateriaalista uutettavat komponentit ja maseroinnista saatavan uutteen käyttötarkoitus. Liuottimena voi olla esimerkiksi vesi, kasviöljy, etanoli, jokin muu orgaaninen liuotin (esimerkiksi metanoli, asetoni, kloroformi) tai kahden tai useamman liuottimen seos. Tinktuuroissa liuotin on useimmiten vesi-etanoli seos. Jos halutaan valmistaa alkoholitonta tinktuuraa, etanoli voidaan korvata esimerkiksi glyserolilla. Maserointi suoritetaan ilmatiiviissä suljetussa astiassa (Kuva 2). Uuttosaantoa parannetaan sekoittamalla kasvimassaa toistuvasti maseroinnin aikana. Maserointi lopetetaan erottamalla kasvimassa liuottimesta esimerkiksi siivilöimällä. Kasvimassassa oleva liuotin puristetaan ulos uuttosaannon parantamiseksi. Liuokset yhdistetään ja kirkastetaan suodattamalla, laskeuttamalla tai sentrifugoimalla seos.

**Kuva 2.** Esimerkki maserointiastiasta (Albrigi in Herba, 2023).

Menetelmänä maserointi on erittäin yksinkertainen ja siten myös edullinen. Sen huonona puolena ovat pitkät uuttoajat ja heikko uuttotehokkuus (usein osa uutettavista komponenteista jää kasvimassaan). Uutot voivat kestää tunneista viikkoihin. Jos uutettavat komponentit ovat arvokkaita voi kasvimassan uudelleen maserointi uuttotehokkuuden parantamiseksi olla kannattavaa. Menetelmää suositaan erityisesti silloin kun kasvimateriaalista eristettävät komponentit ovat herkkiä korkeammille lämpötiloille.

Seuraavaksi esiteltävät liuosuuttomenetelmät poikkeavat maseroinnista siten että uutettavien aineiden siirtymistä kasvimassasta uuttoliuottimeen tehostetaan lämmittämällä joko uutossa käytettävää liuotinta, lämmittämällä itse uuttoprosessia tai hyödyntämällä liuottimen virtausta kasvimassan läpi.

## 2.2 INFUUSIO

Infuusio on uuttomenetelmä, jota käytetään kasvimateriaaleille, jotka sisältävät sellaisia haihtuvia yhdisteitä, jotka helposti vapautuvat veteen, öljyyn tai alkoholiin. Tyypillisesti infuusioprosessissa käytetty liuotin kiehautetaan (tai lämmitetään muuten sopivaan lämpötilaan) ja kaadetaan kasvimassan päälle. Ennen uuttoa kasvimassa jauhetaan karkeasti (hienoksi jauhamista kannattaa välttää). Kasvimassan annetaan liueta nesteeseen sopivan ajan. Uuttoaika riippuu siitä, millaista infuusiota tehdään. Se voi olla muutamasta sekunnista (jotkin kiinalaiset teet) useisiin kuukausiin (tietyt alkoholituotteet). Uuttoajan jälkeen kasvimassa poistetaan esimerkiksi siivilää (Kuva 3). Jäljelle jää infuusio, joka voidaan käyttää heti tai pullottaa ja säilyttää kylmässä. Suodatinpaperista tehty teepussi on käytetyin menetelmä kasvimateriaalin erottamiseen infuusiosta. Myös musliinikankaista pussia voidaan käyttää siihen tarkoitukseen.

**Kuva 3.** Kasvimateriaalin infuusiosta erottamiseen käytettyjä välineitä.

## 2.3 DIGESTIO

Digestio on liuosuuttoprosessi, joka eroa maseraatiosta siten että koko uuttoprosessin ajan käytetään kohtalaista lämpötilaa. Lämpötilaksi valitaan niin matala lämpötila, ettei se muuta kasvimateriaalista uutettavien komponenttien koostumusta. Käytetyimmät lämpötilat ovat 35 °C ja 40 °C:n välillä. Joskus lämpötila voi olla niinkin korkea kuin 50 °C. Lämpötilan vaikutuksesta liuoksen viskositeetti pienene mikä edistää uutettavien komponenttien liukenemista. Digestiota käytetään sellaisten kovempien jauhettujen kasvimateriaalien uuttamiseen, jotka sisältävät huonommin liukenevia komponentteja. Uuttoajat voivat vaihdella puolesta tunnista vuorokauteen. Uuttoprosessia voidaan nopeuttaa sekoittamalla uuttoseosta.

## 2.4 KEITTÄMINEN (Decoction)

Keittämistä käytetään uuttomenetelmänä silloin kun kasvimassasta uutettavat komponentit eivät ole lämpöherkkiä. Menetelmä sisältää jatkuvan veden keittämisen uuton ajan yleensä avoimessa reaktorissa. Uuttoaika on lyhyt 15–60 minuuttia. Juurille, lehdille, kukille ja lehteville varsille uuttoaika on lyhyt ja oksille ja muille koville osille uuttoaika on pidempi. Pidemmissä uutoissa uuton aikana haihtunut vesi voidaan korvata jatkuvasti uudella vedellä tai antaa haihtua, kunnes saavutetaan haluttu veden määrä. Keiton jälkeen neste erotetaan joko siivilöimällä tai suodattamalla esimerkiksi liinan läpi. Kasvimassaan jäänyt vesi puristetaan ulos massasta ja yhdistetään erotettuun keitteeseen. Veden ja kasvimassan suhde keitoissa vaihtelee 4:1:stä 16:1:een.

## 2.5 PERKOLOINTI

Perkolointi on yleisin menetelmä tinktuurojen ja nestemäisten uutteiden valmistukseen. Perkoloinnissa käytettävän laitteen nimi on perkolaattori (Kuva 4). Metallista tai lasista tehty kartionmuotoinen astia on avoin molemmista päistä. Yläosassa on pyöreä porattu kansi, jonka läpi voidaan lisätä liuotinta ja joka puristaa kevyesti perkolaattorissa olevaa kasvimateriaalia. Alaosassa on hana, jonka avulla voidaan säätää liuottimen virtausnopeutta kasvimassan läpi. Kuivattu ja jauhettu kasvimateriaali kostutetaan erillisessä astiassa sopivalla määrällä uutossa käytettävällä liuottimella ja jätetään seisomaan noin neljän tunnin ajaksi. Tämä jälkeen kasvimateriaali siirretään perkolaattoriin siten että liuotin jakautuu tasaisesti kasvimassaan ja kasvimassa on täysin kontaktissa liuottimen kanssa. Perkolaattori täytetään liuottimella ja alaosan hana avataan, kunnes liuos tippuu tasaisesti ulos perkolaattorista. Hana suljetaan ja materiaalin annetaan seistä perkolaattorissa 24 tunnin ajan. Hana avataan ja liuottimen annetaan tippua hitaasti ulos perkolaattorista.

Perkolaattoriin lisätään liuotinta, kunnes ¾ halutusta kokonaistilavuudesta on kerätty. Kasvimassa puristetaan ja puristunut liuos yhdistetään uuttoliuottimeen. Uute suodatetaan tai kirkastetaan dekantoimalla.

**Kuva 4.** Perkolaattori (indiamart, 2023).

## 2.6 UUTTEIDEN KUIVAUS

Kun uuttojen lopullisena tuotteena on kuivauute täytyy uuttoliuotin haihduttaa. Liuottimen haihduttaminen tuo yhden lisävaiheen valmistusprosessiin ja siten kasvattaa myös kustannuksia. Kuivauksella voidaan kuitenkaan saavuttaa etuja, jotka tekevät kuivauksesta kannattavan. Esimerkiksi tuotteen säilyttäminen on helpompaa ja kuljetuskustannukset ovat pienemmät. Oikein säilytettynä kuivauutteet voivat myös säilyttää aktiivisten aineiden pitoisuuden paremmin kuin nestemäiset uutteet. Esimerkiksi antioksidanttiset yhdisteet reagoivat nestemäisessä muodossa helpommin ilman hapen kanssa kuin kiinteässä olomuodossa olevat vastaavat yhdisteet.

Kuvassa 5 on esitetty kolme erilaista laitetta, joilla nesteen poistaminen uutteista voidaan suorittaa. Vasemmalla kuvassa oleva laite on nimeltään pyöröhaihdutin. Laitteella voidaan poistaa kaikenlaisia liuottimia. Erityisen hyvin se sopii matalan kiehumispisteen omaavien orgaanisten liuottimien (esim. etanoli, asetoni, metanoli, kloroformi) poistamiseen. Laitteeseen imetään alipaine mikä laskee liuottimien kiehumispistettä. Tällöin liuottimet alkavat kiehumaan alhaisemmassa lämpötilassa eikä haihduttaminen kuluta niin paljon energiaa. Matala lämpötila säilyttää myös paremmin kuivattavat aktiiviset aineet. Laitteessa höyrystyneet liuottimet jäähdytetään ja palautetaan nestemäiseen muotoon. Liuottimien kierrättäminen voi tällöin olla mahdollista.

**Kuva 5.** Esimerkkejä kuivauslaitteista, joita voidaan käyttää liuottimien haihduttamiseen uutteista. Vasemmalla pyöröhaihdutin (AuroraProScientific, 2023), keskellä ruiskukuivain (Food drying oven, 2023) ja oikealla pakastekuivain (Cole-Parmer, 2023).

Ylhäällä kuvassa 5 keskellä oleva laita on nimeltään ruiskukuivain. Ruiskukuivaimen käyttöä kuivaamisessa suositellaan silloin kun kuivataan lämpöherkkiä materiaaleja tai kun kuivattavalle materiaalille halutaan erittäin tasalaatuinen hieno partikkelikoko. Liuoksen tai lietteen kuivaaminen laitteessa tapahtuu kuuman kaasun avulla. Ruiskukuivaimessa kuivattava syöte ruiskutetaan pieninä pisaroina kuumaan höyryvirtaukseen mikä saa aikaan syötteessä olevan nesteen nopean haihtumisen. Kun neste haihtuu, muodostuu kiinteässä olomuodossa oleva tuote, joka kerätään laitteen pohjalle rumpuun tai sykloniin. Yleensä ilma toimii kuivattavana väliaineena. Jos liuotin on herkästi syttyvää kuten esimerkiksi etanoli tai kun kuivattava tuote reagoi herkästi ilman hapen kanssa kuivattavana väliaineen käytetään kuumaa typpeä.

Pakastekuivaus (Kuva 5 oikealla) on menetelmä missä uutteessa oleva vesi ensin jäädytetään ja poistetaan sen jälkeen sublimoimalla (vesi muuttaa olomuotoa suoraan jäästä höyryksi). Sublimointia tehostetaan tekemällä se yleensä alipaineessa. Menetelmää käytetään yleisesti, kun halutaan kuivatussa lopputuotteessa säilyttää samat korkeat ominaisuudet kuin tuotteella on ollut ennen kuivausta. Jäätyneessä olomuodossa oleva vesi estää mahdolliset kemialliset, biokemialliset sekä mikrobiologiset prosessit, jotka voisivat huonontaa kuivatun tuotteen laatua. Vaikuttavien aineiden pitoisuudet eivät laske pakastekuivauksen aikana. Kuivausmenetelmänä pakastekuivaus on huomattavasti hitaampi kuin kaksi muuta edellä esitettyä menetelmää. Pakastekuivauksessa kuivauksen kustannuksiin vaikuttaa eniten juuri kuivausaika. Prosessiparametrit pitää valita siten että kuivausaika on mahdollisimman lyhyt menettämättä pakastekuivauksen tuomio etuja tuotteen laatuun.

## 3. ASE-UUTTOLAITE APUNA KASVIMATERIAALIEN ESIKÄSITTELYIDEN JA UUTTOJEN VAIKUTUSTEN TUTKIMUKSESSA

Nopeutetun uuton laite ASE (accelerated solvent extractor) hyödyntää korkeaa n. 100 bar painetta uutoissa (Kuva 6). Paineen vaikutuksesta uutossa käytettävä liuotin pysyy nestemäisessä olomuodossa nesteen kiehumispistettä korkeammassakin lämpötilassa. Lämpötilan ja paineen yhteisvaikutuksesta liuottimen viskositeetti pienenee mikä edistää liuottimen siirtymistä kasvimassan partikkeleiden sisälle sekä edistää kasvimassasta uutettavien arvoaineiden liukenemista käytettävään liuottimeen. Käytännössä arvoaineiden uuttuminen kasvimassasta tapahtuu nopeammin ja tehokkaammin. Uuton jälkeen liuosuute suodattuu automaattisesti uutossa olleesta kasvimassasta. ASE-laitetta käytetään analyysinäytteiden valmistukseen tutkimuksessa. Suuren mittakaavan uuttoihin laitetta ei voi käyttää. ASE-laitteessa käytettävää uuttotekniikka ei toistaiseksi ole onnistuttu skaalaamaan suuren mittakaavan uuttoihin.

**Kuva 6.** Vasemmalla ASE-laite ja oikealla näyte, ASE:ssa käytettävä näytepanos, uute ja kuivattu uute.

Erikoiskasvit projektin aikana ASE-laitetta hyödynnettiin tutkittaessa kesällä 2022 tehtyjen alustavien maraljuuren juurille, siankärsämön kukinnoille ja väinönputken maanpäällisille osille tehtyjen kuivausten vaikutuksia aktiivisten aineiden pitoisuuksiin kuivatuissa kasvimateriaaleissa. Muuttujina näissä kuivauksissa olivat kuivauslämpötila ja kolme eri kuivausmenetelmää. ASE-laitetta hyödynnettiin myös tutkittaessa kesän 2023 aikana kuivauksen lämpötilan, kuivauksessa käytetyn kuivausmenetelmän sekä kuivauksessa olleen kasvimateriaalin määrän vaikutusta maraljuuren juurissa olevien aktiivisten aineiden pitoisuuksiin kuivauksen jälkeen (raportti: Kuivauksen vaikutus erikoiskasvien aktiivisten yhdisteiden säilyvyyteen).

ASE-uuttoihin punnittiin tarkkaan n. 2 g kuivattua ja jauhettua kasvimateriaalia. 33 ml näytepanos (Kuva 6) täytettiin ko. näytteellä sekoitettuna hiekkaan siten että näytepanos tuli lähes täyteen. Uutossa käytettävä liuotin, lämpötila ja uuttoaika valittiin sen mukaan mikä kirjallisuudesta löytyneiden tietojen mukaan on osoittautunut toimivaksi. Fenoliset yhdisteet kaikista eri kasvimassoista uutettiin 60 % etanolilla 60 °C:n lämpötilassa 20 minuuttia. 20-hydroksiekdysonin uuttoon maraljuuren juurista, lehdistä ja siemenistä

käytettiin 100 % metanolia. Lämpötila uutoissa oli 50 °C ja uuttoaika 20 minuuttia. Jokainen näyte uutettiin kahdesti (yhdellä uutolla saadaan suurin osa mutta ei kaikkia vaikuttavia aineita eristettyä kasvimassasta). Uuttojen jälkeen uutteet yhdistettiin ja mitattiin uutteen kokonaistilavuus. Uutteet säilytettiin pakastimessa, kunnes ne analysoitiin.

Erikoiskasvit hankkeen aikana valmistettiin myös tinktuuroja maseroimalla eri kasvimateriaaleja etanoli-vesi-seoksessa. Tinktuuroista tutkittiin maseroinnin aikana uuttuneiden vaikuttavien aineiden säilyvyyttä. Lisätietoja tinktuurojen valmistuksesta ja analyysituloksista löytyy raportista (raportti: Kasvipohjaisten tinktuuroiden valmistus ja säilyvyyden seuranta).

## 4. ETEERISET ÖLJYT JA NIIDEN ERISTÄMINEN KASVIMATERIAALEISTA

Eteeriset öljyt ovat kasvien valmistamia helposti haihtuvien lukuisten (jopa satojen) yhdisteiden seos. Helposti haihtuva tarkoittaa periaatteessa sitä, että avoimessa astiassa huoneen lämpötilassa ja paineessa olevat nestemäiset eteeriset öljyt haihtuvat nopeasti ja jäljelle jää tyhjä astia. Nämä haihtuvat yhdisteet ovat se minkä voimme haistaa kasvista. Kasvit valmistavat eteerisiksi öljyiksi luokiteltuja yhdisteitä lukuisista eri syistä: houkutellakseen pölyttäjiä, tehdäkseen itsensä syömäkelvottomaksi hyönteisille ja eläimille, taistellakseen tauteja vastaan tai kasvit jopa tekevät maan niiden ympärillä myrkylliseksi muille kasveille, jotka kilpailisivat niiden kanssa auringon valosta, kosteudesta ja ravinteista. Eteerisiä öljyjä voi kertyä kaikkiin kasvin osiin: kukkiin, lehtiin, juureen, kaarnaan, puuainekseen, siemeniin tai maavarteen (Kuva 7). Joissakin tapauksissa kaikki kasvin osat sisältävät eteerisiä öljyjä. Öljyn laatu ja määrä voi kuitenkin riippua siitä mistä kasvinosasta sitä eristetään. Eteeristen öljyjen määrä vaihtelee suuresti kasvilajin mukaan (0,015 %:sta yli 20 %:n) (Consumer Health Protection Committee (CD-P-SC), 2016).

**Kuva 7.** Esimerkkejä kasveista ja kasvien osista, joista eristetään eteerisiä öljyjä.

Lukuisista eri kasvilajeista eristettyjä eteerisiä öljyjä voidaan käyttää raaka-aineina muun muassa luonnonlääkkeiden valmistuksessa tai säilöntäaineina tai antioksidantteina lääkeaineissa, ruuassa sekä maatalous- ja kosmetiikkatuotteissa. Yksittäisillä komponenteilla eteerisissä öljyissä on todettu olevan antibakteerisia, sieniä tuhoavia, virusten lisääntymistä estäviä, hyönteisiä hävittäviä tai kilpailevien kasvien kasvua hidastavia vaikutuksia. Näitä yksittäisten yhdisteiden ominaisuuksia voidaan käyttää parantamaan erilaisten tuotteiden laatua, pidentämään tuotteiden elinkaarta tai suojelemaan tuotteita tuhohyönteisiltä tai kasvitaudeilta. Eteerisillä öljyillä ja muilla kasviuutteilla voi olla merkittävä rooli maatalouden modernisoinnissa. On arvioitu, että eteerisillä öljyillä voitaisiin muun muassa korvata osittain tai kokonaan kemikaalit, joita käytetään parantamaan hedelmien ja vihannesten säilyvyyttä sadonkorjuun jälkeen. (Bolouri et al., 2022)

Eteeristen öljyjen käytössä tulisi osoittaa tiettyä varovaisuutta, kun niiden hyödyntämistä harkitaan eri teollisuuden aloilla. Vaikka kyseessä on luonnontuotteesta eristetty aine, koostuu se erilaisista kemiallisista yhdisteistä. Bioaktiiviset yhdisteet eteerisessä öljyssä tulisi

tunnistaa ja selvittää niiden vaikutus ihmiseen. Tähän ei riitä ihmisen ulkopuolella tehdyt *in vitro* tutkimukset vaan tulokset tulisi todentaa myös *in vivo* laajoissa kliinisissä tutkimuksissa (Bolouri et al., 2022). Lisätietoa eteeristen öljyjen käytöstä kosmetiikassa löytyy Consumer Health Protection Committeen raportista (2016) ja tietoa millaisia vaatimuksia eteerisille öljyille on EU-markkinoilla, löytyy Center for the Promotion of Imports selvityksestä (2023).

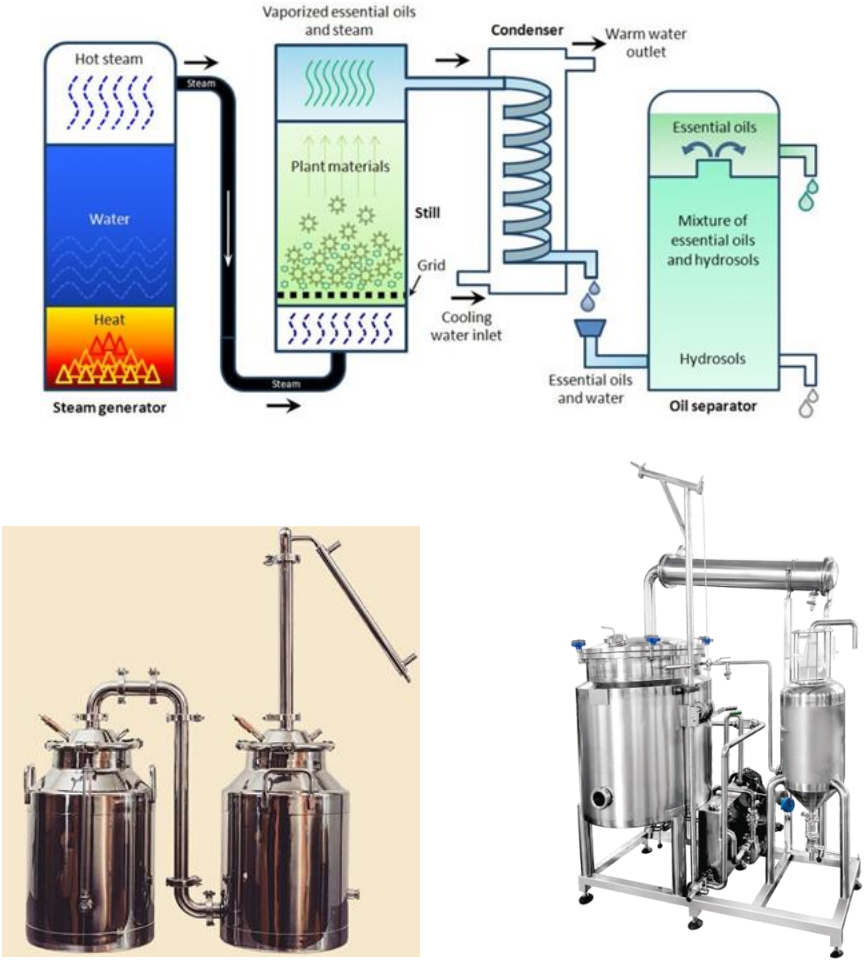
Eteeristen öljyjen eristämiseen kasvimateriaalista on kehitetty erilaisia menetelmiä. Yksi vanhimmista mutta nykyään harvoin käytetty menetelmä (enfleurage) on kukintojen tai kukkien terälehtien uuttaminen puhdistetuilla ja hajuttomilla kasvi- tai eläinrasvoilla. Uutettavan materiaalin annetaan seistä rasvassa muutamasta päivästä viikkoihin. Tänä aikana kukintojen 'tuoksu' siirtyy rasvaan. Eteeriset öljyt erotetaan rasvasta etanolin avulla. Jäljelle jäänyt rasva voidaan käyttää esimerkiksi saippuoiden valmistuksessa. Sitrushedelmien kuorista eteerisiä öljyjä voidaan eristää puristamalla. Kuorissa oleva mehu ja öljy ensin kylmäpuristetaan ja puristeessa oleva kiintoaine poistetaan esimerkiksi sentrifugoimalla. Eteeriset öljyt erottuvat mehun päälle mistä ne voidaan erottaa. Eteerisiä öljyjä voidaan eristää myös tislaamalla niitä vedestä. Sellaisia kukintoja, joiden vesihöyrytislaaminen ei tuota toivottua tulosta voidaan upottaa kiehuvaan veteen, mistä eteeriset öljyt eristetään höyrystyvän veden mukana. Höyrystynyt vesi ohjataan jäähdyttimeen. Jäähtynyt vesi ja jäähtynyt eteerinen öljy siirtyvät keräysastiaan missä ne erottuvat toisistaan.

Seuraavaksi esitellään tarkemmin yleisimmin käytetyn ja myös tässä projektissa hyödynnetyn eteeristen öljyjen eristysmenetelmän vesihöyrytislauksen. Tarkastelussa on myös yksi liuotinuuttomenetelmä, ylikriittinen hiilidioksidiuutto. Menetelmän kehittyessä ja mahdollisesti laitteiden tullessa edullisemmaksi se voi tulevaisuudessa olla entistä merkittävämpi tapa myös pienemmille valmistajille ja tuottajille eristää vaikuttavia aineita kasvimateriaaleista.

### 4.1 ETEERISTEN ÖLJYJEN ERISTÄMINEN VESIHÖYRYTISLAUKSELLA

Vesihöyrytislaus on käytetyin menetelmä eteeristen öljyjen eristämiseen kasvimateriaalista. Vain 7 % eteerisistä öljyistä erotetaan jollakin muulla menetelmällä kuin vesihöyrytislauksella. Vesihöyrytislauksen etuja ovat menetelmän yksinkertaisuus, uuttoon käytetyn väliaineen vesihöyryn helppo saatavuus edullisesti ja väliaineen kierrätettävyys. Menetelmän muita etuja ovat mm. hyvät uuttosaannot ja matalat operointikustannukset. Eteeristen öljyjen koostumukseen erotusmenetelmällä ei ole suurta vaikutusta. (ScienceDirect, 2023a)

Kuvassa 8 on esitetty kaaviokuvassa vesihöyrytislauksen periaate ja esimerkkejä vesihöyrytislauslaitteistoista. Erillisessä säiliössä (kaaviokuvassa 2. säiliö vasemmalta) olevaan kasvimateriaalin johdetaan ulkopuolelta (1. säiliö vasemmalla) kuumaa vesihöyryä. Vesihöyryn täytyy olla niin kuumaa (n. 100 °C), että sen vaikutuksesta kasvin solurakenne hajoaa ja eteeriset öljyt vapautuvat. Lämmön vaikutuksesta soluista vapautuneet eteeriset öljyt höyrystyvät ja siirtyvät vesihöyryn mukana tislausastiasta jäähdyttimeen (2. astia oikealta). Jäähdyttimessä höyry jäähtyy ja tiivistyy takaisin nesteeksi. Jäähtynyt neste ohjataan keräysastiaan (1. astia oikealla) missä veteen liukenemattomat eteeriset öljyt erottuvat vedestä omaksi kerroksekseen veden päälle (Tongnuanchan ja Benjakul, 2014). Tislausta voidaan tehostaa esikäsittelemällä kasvimateriaali ennen tislausta esimerkiksi jauhamalla tai liottamalla kasvimassaa vedessä (ScienceDirect, 2023a).




**Kuva 8.** Yllä kaaviokuva vesihöyrytislauksesta (Tongnuanchan ja Benjakul, 2014) ja alla esimerkkejä vesihöyrytislauslaitteistoista. Vasemmalla tislauslaitteessa astioiden koko 30 l (Clawhammer Supply, 2023) ja oikealla uuttoastian koko 300–1000 l (Cedarstone Industry, 2023).

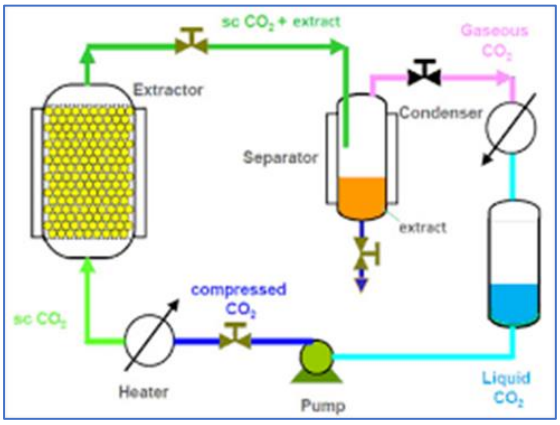
Eteeristen öljyjen vesihöyrytislauksen sivutuotteena syntyy aina hydrosolia. Tislauksessa jäähdyttimessä nestemäiseksi vedeksi tiivistynyt vesihöyry sisältää aina kasvimateriaalista tislauksessa erottuneita kasvin nesteitä eli kasvin aromeita ja vaikuttavia aineita. Myöskään eteeristen öljyjen erottuminen veden-öljyn-erottimessa ei ole koskaan täydellistä vaan osa eteerisistä öljyistä jää veteen. Hydrosolin eteeristen öljyjen pitoisuus vaihtelee 0,01–0,1 %:n välillä. Hydrosolit ovat suosittuja luonnonkosmetiikassa ja ovat toisinaan vesihöyrytislauksen päätuotteita. Hydrosoleilla on muitakin nimiä, muun muassa hydrolaatti, kukkaisvesi tai kasvivesi. (Nature By Amppu, 2023)

### 4.2 ETEERISTEN ÖLJYJEN ERISTÄMINEN YLIKRIITTISELLÄ HIILIDIOKSIDIUUTOLLA

Ylikriittinen hiilidioksidiuutto on yksi erotusteknologioista, jossa hyödynnetään ylikriittistä nestettä erottamaan komponentteja kasvimateriaalista. Aineen ylikriittisellä tilalla tarkoitetaan sellaisia olosuhteita (paine, lämpötila), missä aineen kaasu- ja nestefaasia ei voi enää erottaa toisistaan. Ylikriittisen hiilidioksidin käyttö liuosuutossa eliminoi orgaanisten liuottimien käyttöä, mikä puolestaan vähentää liuottimista aiheutuvaa varastointia ja liuottimien hävitystä. Jotkin aineet (esim. lipidit ja vahat) liukenevat nopeammin ylikriittiseen hiilidioksidiin. Ylikriittisessä nesteessä pintajännityksen puuttuminen ja alhainen

viskositeetti edesauttavat liuottimen pääsyä kasvimassassa oleviin pieniin huokosiin, joihin tavallinen liuotin ei niin helposti pääse. Hiilidioksidi on edullinen liuotin, joka on myös kierrätettävissä. Ylikriittinen hiilidioksidiuutto on prosessina energiatehokas ja matalasta uuttolämpötilasta johtuen se säilyttää hyvin uutteen kemiallisen koostumuksen. (ScienceDirect, 2023b)

Kuvassa 9 on esitetty ylikriittisen hiilidioksidiuuton toimintaperiaate ja esimerkki uuttolaitteesta. Kasvimateriaalilla täytettyyn uuttoastiaan (keltainen) pumpataan ylikriittiseen tilaan paineistettua ja sopivaan lämpötilaan (yleensä 40–60 °C) lämmitettyä hiilidioksidia. Uuton jälkeen hiilidioksidi ja siihen liuenneet komponentit siirretään erotusastiaan. Erotusastiassa painetta lasketaan hiilidioksidin erottamiseksi liuenneista aineista. Kaasuuntunut hiilidioksidi siirretään takaisin paineistukseen missä se muutetaan takaisin ylikriittiseen tilaan. Erotusastiaan jää jäljelle liuottimesta vapaa uute.



**Kuva 9.** Oikealla kaaviokuva ylikriittisestä hiilidioksidiuutosta (ExtrateX, 2023) ja vasemmalla ylikriittinen hiilidioksidiuuttolaite (Isolatesystems, 2023). Kuvan laitteessa kaksi 100 l uuttoastiaa.

Vesihöyrytislauksella eristetyt eteeriset öljyt ja ylikriittisellä hiilidioksidiuutolla tuotetut uutteet samasta kasvimateriaalista eivät ole täysin samanlaiset tuotteet. Korpinen et al., (2021) ovat vertailleet kuivatusta väinönputken juuresta vesihöyrytislauksella ja ylikriittisellä hiilidioksidiuutolla saatuja tuotteita. Vesihöyrytislauksen saanto oli 1,0 % ja hiilidioksidiuuton 2,0 % juuren kuivapainosta. Vesihöyrytislauksella saadussa eteerisessä öljyssä oli enemmän haihtuvia yhdisteitä, kun taas ylikriittisellä hiilidioksidiuutolla eristetyssä uutteessa oli enemmän kumariineja, alkaaneja sekä rasvahappoja ja -alkoholeja. Hiilidioksidiuutolla saadun tuotteen antimikrobiset ominaisuudet olivat heikommat kuin vesihöyrytislauksella saadun eteerisen öljyn.

Kriittinen hiilidioksidiuuttolaite on yksittäisenä investointina kallis ja laitteen takaisinmaksuaika voi olla pitkä. Jotta laitetta voisi hyödyntää myös pienempiä määriä tuottavat tahot olisi laitteen kehityttävä edelleen ja hintojen tultava alas. Uudenlaisia laitteen käyttökonsepteja kehittämällä voidaan myös saavuttaa toivottuja tuloksia. Yksi tällainen uudenlainen konsepti on maaseudun oloihin tarkoitetun liikuteltavan ja useamman tuotteen valmistuksessa käytettävän kriittisen hiilidioksidiuuttolaitteen käyttö. Konseptin taloudellistekninen tarkastelu on antanut lupaavia tuloksia. Konseptin potentiaali perustuu mm. siihen, että käyttämällä samaa laitetta erilaisten raaka-aineiden jatkojalostamiseen mahdollistetaan uuttolaitteen jatkuva käyttö ympärivuotisesti. Nykytiedon perusteella kriittisellä hiilidioksidiuutolla valmistettavat tuotteet esimerkiksi Erikoiskasvit -hankkeessa

mukana olleista kasveista väinönputkesta, maraljuuresta ja ruusunjuuresta olisivat kilpailukykyisiä perinteisillä menetelmillä valmistettujen tuotteiden kanssa. Tarkastelussa minimihinnat väinönputkesta eristetylle eteeriselle öljylle ja maraljuuri- ja ruusunjuuriuuttelle olivat 650 €/kg, 260 €/kg ja 160 €/kg. Kannattavuuslaskelmat osoittavat konseptin teollisen hyödyntämisen olevan mahdollista huomioiden 40 %:n sisäinen korko, 2,5 vuoden takaisinmaksuaika ja 20 M€ nettonykyarvoa 20 vuodelta. (Khalati, Oinas ja Faven, 2023)

## 4.3 VÄINÖNPUTKEN VESIHÖYRYTISLAUKSET CENTRIALLA

Erikoiskasvit -hankkeen alkaessa Centrialla ei ollut varsinaista vesihöyrytislauslaitteistoa. Aluksi tislauksia kokeiltiin vetokaappiin rakennetuilla laboratoriosta löytyvillä lasiosilla. Pian kuitenkin huomattiin, ettei niillä pysty rakentamaan laitteistoa, jossa tislattavan materiaalin määrä olisi niin suuri, että näkyviä tuloksia saataisiin aikaan. Centrialle oli joitakin vuosia aikaisemmin hankittu 5 l lasireaktori, jota oli jo käytetty liuosuutoissa. Jos lasireaktorin ympärille pystyttäisiin rakentamaan vesihöyrytislauslaitteisto, saataisiin tislattavan kasvimateriaalin määrää kasvatettua niin suureksi että mahdollisesti myös eteerisiä öljyjä saataisiin eristettyä.

### 4.3.1 TISLAUSLAITTEISTON RAKENTAMINEN

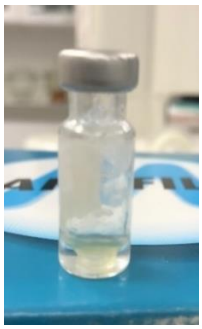
Ensimmäiset kokeilut 5 l:n lasireaktorilla tehtiin loppukesästä 2022. Silloin kasvimateriaalina testauksissa käytettiin Kentalan tilata saatuja väinönputken lehtiä (Kuva 10). Tulokset eivät heti olleet toivotunlaiset. Laitteistoon vaihdettiin lasiosia ja kokeilua jatkettiin uudella erällä alkusyksystä kerättyjä väinönputken lehtiä. Lehdistä erittyi erittäin voimakas tuoksu ja oletettiin että tällä kertaa lehdissä olisi runsaasti eteerisiä öljyjä. Myös tilasuksen aikana tuoksut olivat huomattavasti voimakkaammat kuin ensimmäisellä kerralla. Jäähtyneen vesikerroksen päälle ei kuitenkaan erottunut erillistä kerrosta eteerisistä öljyistä (jäähtyneestä vedestä onnistuttiin jälkeenpäin erottamaan eteerisiä öljyä uuttamalla ne heksaanilla). Oletuksena oli, että laitteistoa pitää parantaa edelleen. Laitteistoon ostettiin lasisilta, millä palautusjäähdytin saatiin pystyasentoon ja jäähdyttimen alle ostettiin veden-öljyn erotin keräämään ja erottamaan jäähtyneen vesihöyryn mahdollisesta tuotteesta (Kuva 11). Laitteistoa testattiin onnistuneesti loppuvuodesta 2022 appelsiinin kuorilla.

**Kuva 10.** Väinönputki (*Angelica archangelica ssp. littoralis)*

**Kuva 11.** Vasemmalla väinönputken lehtien vesihöyrytislausta Centrian tislauslaitteella kesällä 2023. Oikealla laitteistossa käytetty 250 ml:n veden-öljyn-erotin.

### 4.3.2 VESIHÖYRYTISLAUKSET

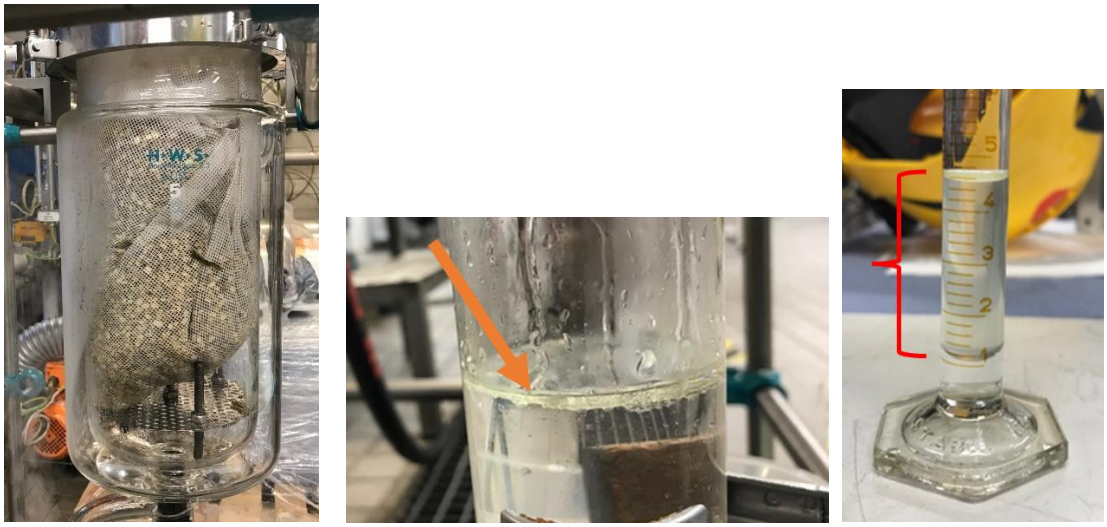
Ensimmäiset vesihöyrytilaukset uudella kasvukaudella tehtiin väinönputken lehdille juhannusviikolla 2023. Kentalan tilalta saatiin kaksi erää lehtiä (lehdissä erittäin mieto tuoksu), jotka säilytettiin jääkaapissa ennen tislausta. Näytteiden keräämistä seuraavana päivänä Kentalan tilan näytteestä poistettiin paksuimmat lehtivarret. Kentalan tilalta saadusta lehtimassasta käsiteltiin n. 2,5 kg (märkäpaino) ja naapuritilalta saadusta näytteestä n. 1,5 kg (märkäpaino) vesihöyrytislauksissa. 5 l:n lasireaktoriin mahtuu kerralla n. 850 g tuoreita lehtiä (Kuva 10). Kentalan tilan lehdet tislattiin kolmessa ja naapuritilan lehdet kahdessa erässä. Jokaista erää tislattiin n. 1 h ajan. Molemmista lehtieristä saatiin pieni määrä kellertävää eteeristä öljyä kerättyä vesikerroksen päältä (Kuva 12). Eristettyjen eteeristen öljyjen määrän arvioitiin olevan alle 0,1 % tislauksessa olleiden lehtimassojen kuivapainosta.



**Kuva 12.** Juhannusviikolla 2023 väinönputken lehdistä eristettyjä eteerisiä öljyjä 2 ml:n näyteastiassa (vasemmalla öljy Kentalan tilan lehtierästä ja oikealla öljy naapuritilan lehtierästä).

Seuraavat vesihöyrytislauskokeet tehtiin elokuun puolessa välissä 2023. Kentalan tilalta saatiin näytteet väinönputken lehdistä, siemenistä ja juurista. Näytteet säilytettiin pakastimessa ennen tislausta. Uudesta näyte-erästä käsiteltiin ensin lehdet. Lehdissä oli huomattavasti miedompi tuoksu kuin edellisvuonna alkusyksystä kerätyissä lehdissä. Lehdistä karsittiin lehtivarret. Tislauksessa käsiteltyjen lehtien märkäpaino oli 1,4 kg. Tislaus tehtiin kahdessa erässä siten että molempia lehtieriä tislattiin tunnin ajan. Tällä kertaa veden-öljyn-erottimeen ei erottunut vesikerroksen päälle eteerisiä öljyjä. Tuoksusta päätellen veteen oli liuennut tislauksessa komponentteja lehtimassasta. Näiden erottamiseksi tehtiin viidesosalle kertyneestä vedestä (2450 ml) heksaaniuutto. Vesinäyte uutettiin kaksi kertaa n. 200 ml heksaania, heksaanit yhdistettiin, kuivattiin $CaSO_4$:llä ja suodatettiin. Lopuksi heksaani poistettiin alipaineessa pyöröhaihduttimella (Kuva 5) ilman lämmitystä. Jäljelle jäi 0,15 g kirkasta öljymäistä tuotetta. Eteeristen öljyjen kokonaismäärä oli 0,75 g.

Vesihöyrytislausta varten siemenet laitettiin verkkopussiin (Kuva 13). Siementen märkäpaino oli 810 g. Siemeniä tislattiin tunnin ajan. Siementen tislauksessa veden-öljyn-erottimeen erottui selvä heikosti keltainen eteeristen öljyjen kerros vesikerroksen päälle (Kuva 13). Siemenistä saatiin erotettua eteerisiä öljyjä 3,4 ml.



**Kuva 13.** Väinönputken siemenet laitettiin verkkopussissa reaktoriin (vasemmalla). Väinönputken siemenistä tislattuja eteerisiä öljyjä veden-öljyn-erottimessa vesikerroksen päällä (keskellä) ja eteeriset öljyt mittalasissa uuton jälkeen (oikealla).

Tislausta edeltävänä päivänä väinönputken juuret otettiin sulamaan ja kuivumaan vetokaappiin. Seuraavana aamuna irtonainen multa ravisteltiin pois ja juuret pestiin kylmällä vedellä. Lopuksi juurissa ollut kasvin varren osa katkaistiin pois (Kuva 14). Juuret laitettiin verkkopussiin ja siirrettiin 5 l:n lasireaktoriin tislausta varten. Juurten märkäpaino ennen tislausta oli n. 2,3 kg. Juuria tislattiin 1 h ajan. Veden-öljyn-erottimeen muodostui ohut heikosti keltainen kerros eteerisiä öljyjä veden päälle. Öljy erotettiin ja öljyn määrä mitattiin mittalasilla. Väinönputken juurista saatiin eristettyä eteerisiä öljyjä 1,2 ml.

**Kuva 14.** Väinönputken pestyjä juurakoita ylhäällä vasemmalla. Ylhäällä oikealla pesty juurakko ilman varsiosaa. Juurista eristetty eteerinen öljy mittalasissa alhaalla.

### 4.3.3 VESIHÖYRYTISLAUSTEN TULOKSET

Taulukossa 1 on esitetty elokuun puolessa välissä tehtyjen väinönputken lehtien, siementen ja juurten vesihöyrytislausten tulokset. Tislattavan näytteen määrä taulukossa on ilmaistu näytteen kuivapainona. Juurten ja lehtien kuivapaino määritettiin Centrialla. Siementen kuivapaino arvioitiin kirjallisuudesta siemenille löytyvien tietojen perusteella. Tilavuutena mitatun öljyn määrä muutettiin grammoiksi käyttämällä tiheyttä 0,85 mg/ml. Juurista ja siemenistä eristetyn öljyn määrä on hieman pienempi kuin kirjallisuudessa on ilmoitettu (Taulukko 1). Eteeristen öljyjen määrän kannalta juurten korjuu aika ei ollut paras mahdollinen. Otollisempi aika on alkusyksystä, kun kasvi on jo siirtynyt talvehtimisvaiheeseen (Kylin, 2010). Lehdistä erotetun öljyn määrä on hieman suurempi johtuen todennäköisesti toisenlaisesta erotusmenetelmästä. Toisin kuin alkukesän tislauksissa nyt eteerisistä öljyistä ei muodostunut erillistä kerrosta veden päälle veden-öljyn-erottimessa vaan vesiliukoiset öljyt uutettiin hydrosolista heksaanilla.

**Taulukko 1.** Tulokset elokuussa 2023 tehdyistä väinönputken eri osien vesihöyrytislauksista.

| Materiaali | Kuivapaino (g) | Öljyä (g) | Öljyä (%)* | Öljyä (%)** |
|---|---|---|---|---|
| **Juuret** | **304** | **1,02** | **0,3** | **0,5–1,0** |
| **Siemenet** | **660** | **2,81** | **0,4** | **0,6–1,5** |
| **Lehdet*** ** | **202** | **0,75** | **0,4** | **0,2–0,3** |

* öljyn määrä tislatun materiaalin kuivapainosta
**kirjallisuudesta löytyvät tiedot eristetyille öljymäärille tislatun materiaalin kuivapainosta (Kylin, 2010).
***Öljy uutettiin hydrosolista heksaanilla vesihöyrytislauksen jälkeen.

#### 4.3.4 ERISTETTYJEN ETEERISTEN ÖLJYJEN GC-MS -ANALYYSI

Kesän 2023 aikana sekä loppukesästä 2022 eristetyt väinönputken eteeriset öljyt analysoitiin GC-MS:llä. Öljyjen analyyseistä saadut kromatogrammit sekä pääkomponenttien tunnistukset on esitetty Liitteissä 1–5. Selvästi väinönputken eri osista eristetyt öljyt ovat koostumukseltaan erilaisia. Siemenistä eristetty öljy koostuu pääosin β-fellandreenistä (Liite 1). Öljystä löytyy pieniä määriä muitakin komponentteja mutta verrattuna muihin öljyihin se näyttää olevan koostumukseltaan kaikkein yksipuolisin. Juuresta eristetty öljy koostuu pääasiassa matalalla kiehuvista komponenteista (Liite 2). α- ja β-fellandreenin lisäksi se sisältää muun muassa D-limoneenia sekä β-myrseeniä.

Väinönputken siemenistä ja juuresta eristetty öljy on kaupallinen tuote ja niiden koostumus on varsin hyvin tunnettu. Sen sijaan lehdistä eristetyn öljyn koostumuksesta ei kirjallisuudesta näytä löytyvän tietoa. Merkittävin löytö lehtien sisältämän eteeristen öljyjen GC-MS -analyysissa oli se, että öljystä löytyy terpinen-4-oli (tunnetaan myös nimellä 4-karvomentenoli) nimistä yhdistettä (Liite 3). Kyseistä yhdistettä löytyy huomattavia määriä mm. teepuusta, muskotista ja marunasta eristetyistä eteerisistä öljyistä (Augustus Oils Ltd, 2023). Terpinen-4-oli yhdisteellä on voimakas desinfioiva, sterilisoiva ja antiseptinen vaikutus. Ainetta käytetään mm. päivittäin käytettävissä kemian tuotteissa kuten shampoissa ja saippuoissa (Foreverest, 2023). Huomattavaa on, että kesäkuussa ja elokuussa väinönputken lehdistä eristetyt eteeriset öljyt olivat erilaiset. Kesäkuussa eristetty öljy oli veteen liukenematonta, kun taas elokuussa öljy oli täysin vesiliukoista. Näin ollen myös niiden kemiallinen koostumus on erilainen. Öljyistä tunnistetuista pääkomponenteista vain β-myrseeni oli sellainen yhdiste, jota löytyi molemmista öljyistä (Liitteet 3 ja 4). Loppukesästä 2022 väinönputken lehdistä eristetty vesiliukoinen öljy sisältää samoja komponentteja kuin elokuussa 2023 eristetty öljy mm. terpinen-4-olia (Liite 5 taulukossa nimellä 3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (R)-).

## 5. JOHTOPÄÄTÖKSET JA SUOSITUKSET

Tässä hankkeessa tutkituista kasveista väinönputken lehtien hyödyntäminen eteerisen öljyn tuottamisessa on varmaankin lähimpänä kaupallistamista. Menetelmä öljyn eristämiseen on olemassa. Jatkotutkimuksen tehtävänä olisi selvittää öljyn sisältämän terpinen-4-olin sekä muita komponenttien pitoisuudet ja missä vaiheessa kasvukautta lehdissä (ja mahdollisesti myös varressa) on eniten eteerisiä öljyjä. Väinönputken juurissa eteeristen öljyjen määrä on suurimmillaan kasvukauden lopussa. Hankkeen aikana suoritettujen vesihöyrytislausten perusteella sama pätee suurella todennäköisyydellä myös lehtien suhteen. Väinönputkesta hyödynnetään eteeristen öljyjen tuotannossa juuret ja siemenet. Jatkotutkimukset osoittavat voidaanko myös kasvin vihreät osat hyödyntää samassa tarkoituksessa.

Kasvimateriaalien jatkojalostukseen eristämällä niistä arvokkaita komponentteja on olemassa useita kiinteä-neste-uuttomenetelmiä. Sopivan uuttomenetelmän valintaan vaikuttaa monikin seikka: millaisesta kasvimateriaalista on kyse (kovaa, pehmeää?), mitä kasvimateriaalista halutaan eristää (kestävätkö eristettävät arvoaineet lämmitystä ja mihin liuottimeen liukenevat?) ja millainen tuotteen halutaan olevan (liuos, jauhe?). Uuton kustannukset on myös otettava huomioon. Pitkät uuttoajat ja uuttoliuottimen tai itse uuton lämmittäminen luonnollisesti kasvattavat uuton kustannuksia. Kuivauutteen valmistuksessa uuttoliuottimen poistaminen on lisäkustannuserä. Myös investointikustannukset nousevat, jos tarvitaan laitteistoa, jolla lämmitys voidaan suorittaa tai liuotin poistaa uutteesta. Edellä mainituista sekoista johtuen on haastavaa antaa yleispäteviä suosituksia uuttomenetelmän valinnassa. Tämän raportin pohjalta voi kuitenkin tehdä jonkinlaisia suunnitelmia millaista uuttoa voisi tehdä ja millaista laitteistoa tarvitaan.

Vesihöyrytislaus on perinteinen ja käytetyin menetelmä eteeristen öljyjen eristämiseen kasvimassasta. Menetelmänä vesihöyrytislaus on verrattain yksinkertainen ja helppo toteuttaa. Markkinoilta löytyy monen kokoisia vesihöyrytislauslaitteita aina kotikäyttöön tarkoitetusta laitteista teollisessa tuotannossa käytettyihin laitteisiin. Omiin tarpeisiin sopivan vesihöyrytislaimen löytäminen ei liene kovin vaikeaa. Eteeristen öljyjen pitoisuus tässä hankkeessa mukana olleissa kasveissa on varsin pieni, parhaimmillaan noin 1,5 % kasvimateriaalien kuivapainosta mutta yleensä huomattavasti tätä vähemmän. Merkittävän öljymäärän eristämiseen tarvitaankin suuria määriä tuoretta kasvimassaa mikä tekee eteeristen öljyjen eristämisestä näistä kasveista kaupallisesti haastavaa toimintaa. Kannattavaa eteeristen öljyjen eristämisestä voi tulla silloin, jos eteeriset öljyt pystytään omassa tuotannossa yhdistämään johonkin muuhun tuotteeseen esimerkiksi käyttämään saippuoissa hajusteina tai alkoholituotteiden maustamisessa.

Erikoiskasvien tuotteistaminen vaatii lisätutkimusta. Mahdollisimman paljon haluttuja arvoaineita sisältävän ja siten myös kaupallisesti arvokkaimman tuotteen valmistaminen ei välttämättä ole kovin yksinkertaista. Optimaalinen kiinteä-neste-uuttomenetelmä vaihtelee sen mukaan mitä kasvimateriaalista ollaan eristämässä ja millaisesta kasvimateriaalista eristäminen tapahtuu. Optimaalinen menetelmä siirtää mahdollisimman hyvin arvoaineita uutossa käytettyyn liuottimeen liuottamatta kasvimateriaalin muita komponentteja ja toisaalta säilyttää mahdollisimman hyvin uutettujen arvoaineiden kemiallisen koostumuksen. Kasvimateriaalin sadonkorjuuajallakin on oma merkityksensä arvokkaiden tuotteiden valmistuksessa. Arvoaineiden pitoisuudet saattavat vaihdella suurestikin kasvukauden aikana. Otollisin hetki sadonkorjuulle kunkin kasvin ja kasvista eristettävien arvoaineiden kohdalla tulisi selvittää, kun erikoiskasveja tuotteistetaan.

**LÄHTEET**


Albrigi in Herba, 2023. https://albrigiinherba.com/ (käytetty 15 09 2023)

Augustus Oils Ltd, 2023. https://www.augustus-oils.ltd.uk/ (käytetty 10 10 2023)

AuroraProScientific, 2023. https://www.auroraprosci.com/4Es-Rotary-Evaporator-RVP100301-LED-Display (käytetty 26 09 2023)

Bolouri, P., Salami, R., Kouhi, S., Kordi, M., Lajayer, B. A., Hadian, J., Astatkie, T. 2022. Applications of Essential Oils and Plant Extracts in Different Industries. Molecules, 27(24), 8999. https://doi.org/10.3390%2Fmolecules27248999

Cedarstone Industry, 2023. Essential Oil Steam Extraction Equipment. https://cedarstoneindustry.com/product/essential-oil-steam-extraction-equipment/ (käytetty 04 09 2023)

Center for the Promotion of Imports, 2023. Entering the European market for essential oils. https://www.cbi.eu/sites/default/files/pdf/research/1382.pdf (käytetty 04 09 2023)

Chemat, F., Vian, M. A., Fabiano-Tixier, A-S., Nutrizio, M., Jambrak, A. R., Munekata P. E. S., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., Binello, A., Cravotto, G., 2020. A review of sustainable and intensified techniques for extraction of food and natural products. Green Chem., 22, 2325-2353. https://doi.org/10.1039/C9GC03878G

Clawhammer Supply, 2023. Essential Oil Steam Distiller (A La Carte). https://www.clawhammersupply.com/products/essential-oil-distiller (käytetty 06 09 2023)

Cole-Parmer, 2023. https://www.coleparmer.co.uk/ (käytetty 27 09 2023)

Consumer Health Protection Committee (CD-P-SC), 2016. Guidance on essential oils in cosmetic products. https://zdravlje.gov.hr/UserDocsImages/2017%20dokumenti%20razni/Guidance%20on%20essential%20oils%20in%20cosmetic%20products_EDQM%202016.PDF

ExtrateX, 2023. Supercritical fluid. https://www.extratex-sfi.com/en/supercritical (käytetty 01 09 2023)

Foreverest, 2023. https://foreverest.net/products/extractives-synthetic/terpinen-4-ol.html (käytetty 10 10 2023)

Food drying oven, 2023. https://fooddryingoven.com/ (käytetty 26 09 2023)

Indiamart, 2023. https://www.indiamart.com/proddetail/ss-conical-percolator-22540737755.html (käytetty 26 09 2023)

Isolatesystems, 2023. CDMH.100-2x-2f. https://isolatesystems.com/ (käytetty 28 08 2023)

Jha, A. K., Sit, N., 2022. Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. Trends in Food Science & Technology, 119, 579-591, https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.019

Khalati, E., Oinas, P., Favén, L. 2023. Techno-economic and safety assessment of supercritical $CO_2$ extraction of essential oils and extracts. J. CO2 Util. 74, 102547. https://doi.org/10.1016/j.jcou.2023.102547

Korpinen, R. I., Välimaa, A-L., Liimatainen, J., Kunnas, S. 2021. Essential Oils and Supercritical $CO_2$ Extracts of Arctic Angelica (*Angelica archangelica L.*), Marsh Labrador Tea (*Rhododendron tometosum*) and Common Tansy (*Tanacetum vulgare*)-Chemical Compositions and Antimicrobial Activities. Molecules, 26(23), 7121. doi: https://doi.org/10.3390%2Fmolecules26237121

Kylin, M. 2010. Angelica archangelica L. https://stud.epsilon.slu.se/818/4/Kylin_M_100128.pdf

Nature by Amppu, 2023. https://amppu.fi/blogi/hydrolaatit-ja-kasvivedet/ (käytetty 06 09 2023)

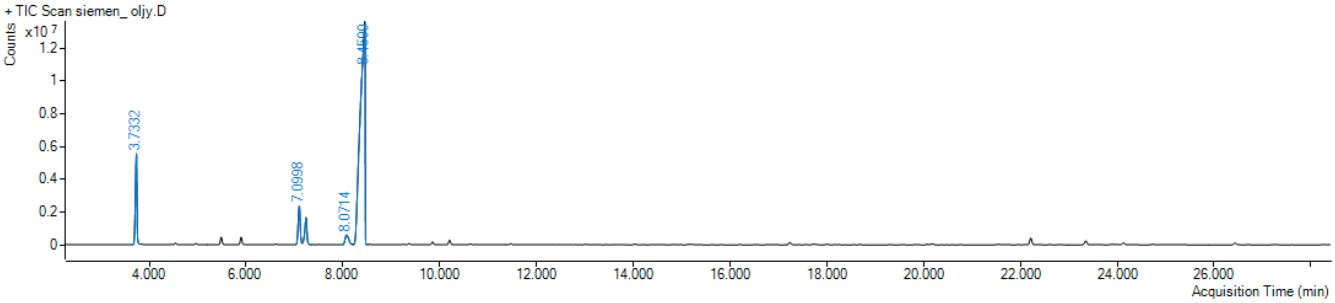
ScienceDirect, 2023a. Steam Distillation. https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/steam-distillation (käytetty 04 09 2023)

ScienceDirect, 2023b. Carbon Dioxide Supercritical Extraction. https://www.sciencedirect.com/topics/engineering/carbon-dioxide-supercritical-extraction (käytetty 27 08 2023)

Tongnuanchan, P., Benjakul, S., 2014. Essential Oils: Extraction, Bioactiviteis, and Their Uses for Food Preservation. J. Food Sci. 79(7), R1231-R1249. https://doi.org/10.1111/1750-3841.12492

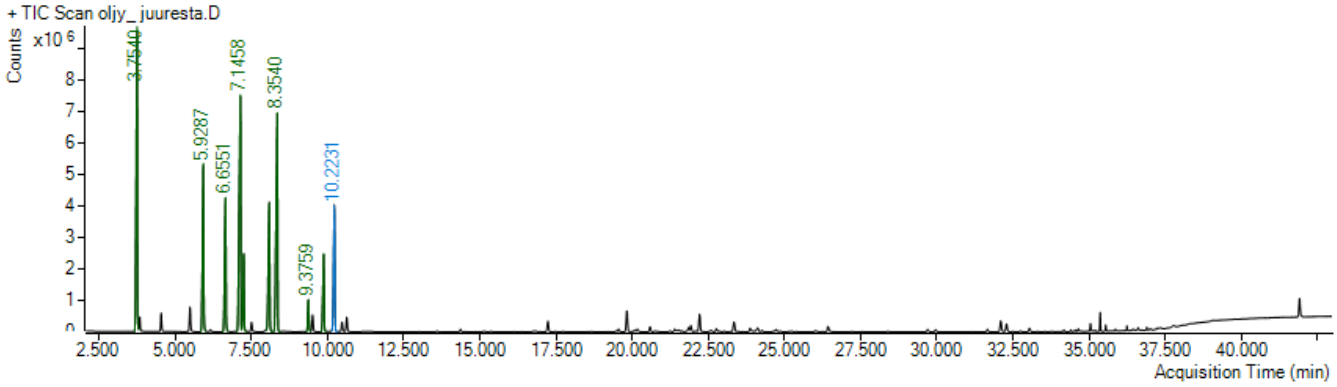
**LIITTEET**

**LIITE 1. Elokuussa 2023 väinönputken siemenistä vesihöyrytislatun eteerisen öljyn GC-MS -kromatogrammi ja yhdisteiden tunnistuksia.**



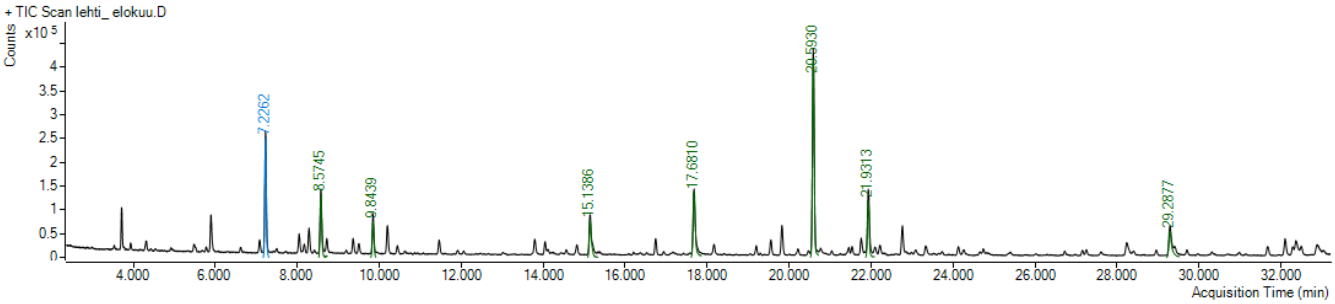

| RT | TUNNISTETTU YHDISTE | OSUMA-TODENNÄKÖISYYS |
|---|---|---|
| 8.4500 | .beta.-Phellandrene | 94.5 |
| 8.0714 | D-Limonene | 94.8 |
| 7.2390 | .beta.-Myrcene | 97.6 |
| 7.0998 | .alpha.-Phellandrene | 95.7 |
| 3.7332 | (1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene | 98.4 |

**LIITE 2. Elokuussa 2023 väinönputken juuresta vesihöyrytislatun eteerisen öljyn GC-MS -kromatogrammi ja yhdisteiden tunnistuksia.**



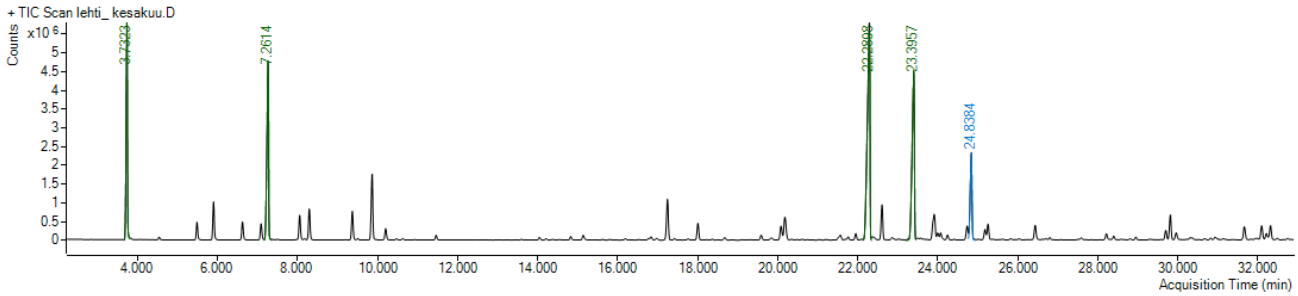

| RT | TUNNISTETTU YHDISTE | OSUMA-TODENNÄKÖISYYS |
|---|---|---|
| 10.2231 | Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl)- | 95.3 |
| 9.8757 | .beta.-Ocimene | 97.7 |
| 9.3759 | trans-.beta.-Ocimene | 97.5 |
| 8.3540 | .beta.-Phellandrene | 97.1 |
| 8.0920 | D-Limonene | 96.9 |
| 7.2523 | .beta.-Myrcene | 97.6 |
| 7.1458 | .alpha.-Phellandrene | 96.4 |
| 6.6551 | 3-Carene | 98.4 |
| 5.9287 | Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)- | 98.6 |
| 3.7540 | (1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene | 98.3 |

**LIITE 3. Elokuussa 2023 väinönputken lehdistä vesihöyrytislatun ja vedestä heksaanilla uutetun eteerisen öljyn GC-MS -kromatogrammi ja yhdisteiden tunnistuksia.**



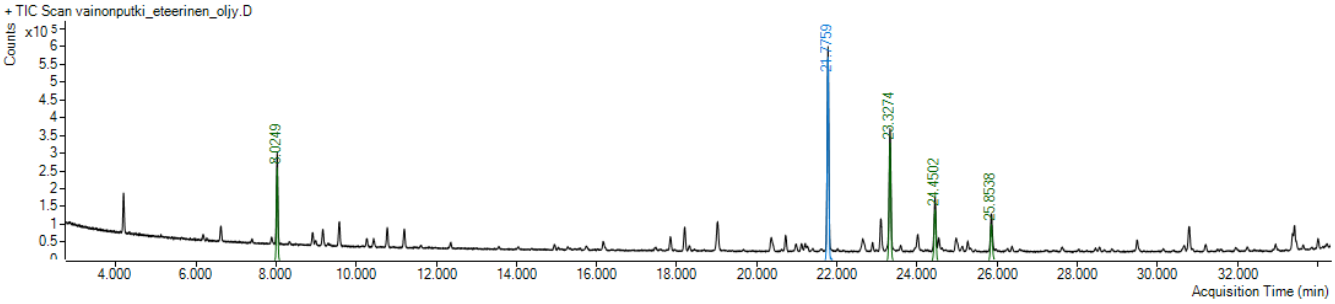

| RT | TUNNISTETTU YHDISTE | OSUMA-TODENNÄKÖISYYS |
|---|---|---|
| 38.4554 | 4H-1-Benzopyran-4-one, 5-hydroxy-7-methoxy-2-methyl-6-(3-methyl-2-butenyl)- | 89.3 |
| 29.2877 | 1,2-Benzisothiazole | 84.1 |
| 21.9313 | (1S,3S,5S)-1-Isopropyl-4-methylenebicyclo[3.1.0]hexan-3-yl acetate | 86.6 |
| 20.5930 | Terpinen-4-ol | 94.3 |
| 17.6810 | Benzaldehyde | 96.7 |
| 15.1386 | Valeric acid, 3-methylbut-2-enyl ester | 90.2 |
| 8.5745 | 2-Hexenal, (E)- | 96.6 |
| 7.2262 | .beta.-Myrcene | 97.0 |

**LIITE 4. Kesäkuussa 2023 väinönputken lehdistä vesihöyrytislatun eteerisen öljyn GC-MS -kromatogrammi ja yhdisteiden tunnistuksia.**




| RT | TUNNISTETUN YHDISTEEN NIMI | OSUMA-TODENNÄKÖISYYS |
|---|---|---|
| 24.8384 | .alpha.-Farnesene | 98.0 |
| 23.3957 | (1R,2S,6S,7S,8S)-8-Isopropyl-1-methyl-3-methylenetricyclo[4.4.0.02,7]decane-rel- | 98.3 |
| 22.2898 | 1,4,7,-Cycloundecatriene, 1,5,9,9-tetramethyl-, Z,Z,Z- | 91.8 |
| 7.2614 | .beta.-Myrcene | 97.6 |
| 3.7323 | (1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene | 98.4 |

**LIITE 5. Loppukesästä 2022 väinönputken lehdistä vesihöyrytislatun ja vedestä heksaanilla uutetun eteerisen öljyn GC-MS-kromatogrammi ja yhdisteiden tunnistuksia.**




| RT | TUNNISTETUN YHDISTEEN NIMI | OSUMA-TODENNÄKÖISYYS |
|---|---|---|
| 25.8538 | .alpha.-Muurolene | 84.1 |
| 24.4502 | Germacrene D | 91.4 |
| 23.3274 | 1,4,7,-Cycloundecatriene, 1,5,9,9-tetramethyl-, Z,Z,Z- | 91.5 |
| 21.7759 | 3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (R)- | 96.5 |
| 8.0249 | .beta.-Myrcene | 97.6 |